**Информационная система клетки**

**СОДЕРЖАНИЕ**

[1. Информационная система клетки](#_Toc165428759)

[1.1 Кодирование и реализация генетической информации в клетке. Генетический код и его характеристика](#_Toc165428759)

[1.2 Мозаичность генов эукариот. Экспрессия генов](#_Toc165428759)

[1.3 Генный уровень организации наследственного материала. Структура молекулы ДНК. Репликация ДНК](#_Toc165428759)

[1.4 РНК и ее виды. Синтез и-РНК, его этапы (первичный транскрипт, процессинг, сплайсинг](#_Toc165428759)

[1.5 Хромосомный уровень организации наследственного материала. Уровни упаковки генетического материала эукариот](#_Toc165428759)

[1.6 Наследственный аппарат клеток человека. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская классификация хромосом](#_Toc165428759)

[1.7 Геномный уровень организации наследственного материала](#_Toc165428759)

1.8 [Генетическая система клетки. Генная инженерия](#_Toc165428776)

[Список использованных источников](#_Toc165428777)

**1. Информационная система клетки**

**1.1 Кодирование и реализация генетической информации в клетке. Генетический код и его характеристика**

Генетическая информация закодирована в ДНК. Генетический код был выяснен М. Ниренбергом и Х.Г. Корана, за что они были удостоены Нобелевской премии в 1968 году.

*Генетический код* - система расположения нуклеотидов в молекулах нуклеиновых кислот, контролирующая последовательность расположения аминокислот в молекуле полипептида.

*Основные постулаты кода*:

1) Генетический код триплетен. Триплет и-РНК получил название кодона. Кодон шифрует одну аминокислоту.

2) Генетический код является вырожденным. Одна аминокислота шифруется, более чем один кодоном (от 2 до 6). Исключения составляют метиониновый и триптофановый (АУГ, ГУГ). В кодонах для одной аминокислоты первые два нуклеотида чаще всего одинаковы, а третий варьирует.

3) Кодоны не перекрываются. Нуклеотидная последовательность считывается в одном направлении подряд, триплет за триплетом.

4) Код однозначен. Кодон шифрует определенную аминокислоту.

5) АУГ является стартовым кодоном.

6) Внутри гена нет знаков препинания - стоп кодонов: УАГ, УАА, УГА.

7) Генетический код универсален, он един для всех организмов и вирусов.

Раскрытие структура ДНК, материального носителя наследственности способствовало решению многих вопросов: воспроизведение генов, природы мутаций, биосинтез белка и т.д.

Механизм передачи генетического кода способствовал развитию молекулярной биологии, а так же генной инженерии, генной терапии.

ДНК находится в ядре и входит в состав хроматина, а также митохондрии, центросомы, пластиды, а РНК - в ядрышках, матриксе цитоплазмы, рибосомах.

Носителем наследственной информации в клетке является ДНК, а РНК - служит для передачи и реализации генетической информации у про- и эукариот. С помощью и-РНК происходит процесс перевода последовательности нуклеотидов ДНК в полипептид.

У некоторых организмов, кроме ДНК, носителем наследственной информации может быть РНК, например, у вирусов табачной мозаики, полиомиелита, СПИДа.

Мономерами нуклеиновых кислот являются нуклеотиды. Установлено, что в хромосомах эукариот гигантская двуспиральная молекула ДНК образована 4 типами нуклеотидов: адениловый, гуаниловый, тимидиловый, цитозиловый. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания (пуринового Г+А или пиримидинового Ц+Т), дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты.

Анализируя ДНК разного происхождения, Чаргафф сформулировал закономерности количественного соотношения азотистых оснований - *правила Чаргаффа.*

а) количество аденина равно количеству тимина (А=Т);

б) количество гуанина равно количеству цитозина (Г=Ц);

в) количество пуринов равно количеству пиримидинов (Г+А = Ц+Т);

г) количество оснований с 6-аминогруппами равно количеству оснований с 6-кетогруппами (А+Ц = Г+Т).

В то же время соотношение оснований А+Т\Г+Ц является строго видоспецифичным коэффициентом (для человека - 0,66; мыши - 0,81; бактерии - 0,41).

В 1953 году биологом *Дж.Уотсоном* и физиком *Ф.Криком* была предложена пространственная молекулярная модель ДНК.

*Основные постулаты модели заключаются в следующем:*

1. Каждая молекула ДНК состоит из двух длинных антипараллельных полинуклеотидных цепей, образующих двойную спираль, закрученную вокруг центральной оси (правозакрученная - В-форма, левозакрученная - Z-форма, обнаруженная А. Ричем в конце 70-х годов).

2. Каждый нуклеозид (пентоза + азотистое основание) расположен в плоскости, перпендикулярной оси спирали.

3. Две полинуклеотидные цепи скреплены водородными связями, образующимися между азотистыми основаниями.

4. Спаривание азотистых оснований строго специфично, пуриновые основания соединяются только с пиримидиновыми: А-Т, Г-Ц.

5. Последовательность оснований одной цепи может значительно варьировать, но азотистые основания другой цепи должны быть строго комплементарны им.

Полинуклеотидные цепи образуются за счет ковалентных связей между соседними нуклеотидами через остаток фосфорной кислоты, который соединяет углерод в пятом положении сахара с третьим углеродом соседнего нуклеотида. Цепи имеют направленность: начало цепи 3'ОН – в третьем положении углерода дезоксирибозы присоединяется гидроксильная группа ОН, конец цепи - 5'Ф, к пятому углероду дезоксирибозы присоединяется остаток фосфорной кислоты.

Аутосинтетической функцией ДНК является репликация – авторепродукции. Репликация основана на принципах полуконсервативности, антипараллельности, комплементарности и прерывистости. Наследственная информация ДНК реализуется в результате репликации по типу матричного синтеза. Он протекает в по стадиям: связывание, инициация, элонгация, терминация. Процесс приурочен к S-периоду интерфазы. Фермент ДНК-полимераза использует в качестве матрицы одноцепочечную ДНК и в присутствии 4-х нуклеотидов, затравки (РНК) строит вторую цепь ДНК.

Синтез ДНК осуществляется по принципу комплементарности. Между нуклеотидами цепи ДНК образуется фосфодиэфирные связи за счет соединений 3'ОН группы самого последнего нуклеотида с 5'-фосфатом следующего нуклеотида, который должен присоединиться к цепи.

*Различают три основных вида репликации ДНК: консервативный, полуконсервативный, дисперсный.*

***Консервативный* -** сохранность целостности исходной двуцепочечной молекулы и синтез дочерней двуцепочной. Половина дочерних молекул построена полностью из нового материала, а половина - из старого материнского.

***Полуконсервативный* –** Синтез ДНК начинается с присоединения к точке начала репликации фермента хеликазы, который расплетает участки ДНК. К каждой из цепей присоединяется ДНК связывающей белок (ДСБ), препятствующей их соединению. Единицей репликации является репликон – это участок между двумя точками начала синтеза дочерних цепей. Взаимодействие ферментов с точкой начала репликации называется инициацией. Эта точка движется вдоль цепи (3'ОН→5'Ф) и образуется репликативная вилка.

Синтез новой цепи идет прерывисто с образованием фрагментов длиной 700-800-2000 нуклеотидных остатков. Имеется точка начала и конца репликации. Репликон движется вдоль молекулы ДНК и расплетаются ее новые участки. Каждая из материнских цепей является матрицей для дочерней, которая синтезируется по принципу комплементарности. В результате последовательных соединений нуклеотидов цепь ДНК удлиняется (стадия элонгации) с помощью фермента ДНК-лигаза. При достижении нужной длины молекулы синтез прекращается - терминация. У эукариот работает сразу тысячи репликативных вилок. У прокариот - инициация происходит в одной точке кольца ДНК, при этом две репликативные вилки двигаются в 2-х направлениях. В месте их встречи двух цепочечные молекулы ДНК разъединяются.

***Дисперсный -*** распад ДНК на нуклеотидные фрагменты, новая двуцепочечная ДНК состоит из спонтанно набранных новых и родительских фрагментов.

ДНК эукариот по структуре похоже на ДНК прокариот. Различия касаются: количества ДНК по генам, длиной молекулы ДНК, порядком чередования нуклеотидных последовательностей, формой укладки (у эукариот - линейная, у прокариот – кольцевая).

Для эукариот характерна избыточность ДНК: кол-во ее ДНК, участвующее в кодировании, составляет только 2%. Часть избыточной ДНК представлена одинаковыми наборами нуклеотидов, повторяющимися много раз (повторы). Различают многократно и умеренно повторяющиеся последовательности. Они образуют конститутивный гетерохроматин (структурный). Он встроен между уникальными последовательностями. Избыточные гены имеют 104 копий.

***Метафазная хромосома*** (спирализованный хроматин) состоит из двух хроматид. Форма определяется наличием первичной перетяжки - центромеры. Она разделяет хромосому на 2 плеча.

Расположение центромеры определяет основные формы хромосом:

- метацентрические,

- субметацентрические,

- акроцентрические,

- телоцентрические.

Степень спирализации хромосом не одинакова. Участки хромосом со слабой спирализацией называют ***эухроматиновыми.*** Это зона высокой метаболической активности, где ДНК состоит из уникальных последовательностей. Зона с сильной спирализацией - ***гетерохроматиновый***участок, способный к транскрипции. Различают ***конститутивный*** гетерохроматин-генетический инертный, не содержит генов, не переходит в эухроматин, а так же ***факультативный*,** который может переходить в активный эухроматин. Концевые отделы дистальных участков хромосом называют теломеры.

Хромосомы подразделяются на аутосомы (соматических клеток) и гетерохромосомы (половых клеток).

По предложению Левитского (1924) диплоидный набор соматических хромосом клетки был назван ***кариотипом.*** Он характеризуется числом, формой, размерами хромосом. Для описания хромосом кариотипа по предложению С.Г. Навашина их располагают в виде ***идиограммы* -** систематизированного кариотипа. В 1960 году была предложена Денверская международная классификация хромосом, где хромосомы классифицированы по величине и расположению центромеры. В кариотипе соматической клетки человека различают 22 пары аутосом и пару половых хромосом. Набор хромосом в соматических клетках называют ***диплоидным*,** а в половых клетках **- *гаплоидным***(онравен половине набора аутосом). В идиограмме кариотипа человека хромосомы делят на 7 групп, в зависимости от их размеров и формы.

1 - 1-3 крупные метацентрические.

2 - 4-5 крупные субметацентрические.

3 - 6-12 и Х-хромосома средние метацентрические.

4 - 13-15 средние акроцентрические.

5 - 16-18 относительно малые мета-субметацентрические.

6 - 19-20 малые метацентрические.

7 - 21-22 и Y-хромосома наиболее малые акроцентрические.

Согласно ***Парижской классификации*** хромосомы разделены на группы по их размерам и форме, а также линейной дифференцировке.

Хромосомы обладают следующими свойствами (правила хромосом):

1. Индивидуальности - отличия негомологичных хромосом.

2. Парности.

3. Постоянством числа - характерным для каждого вида.

4. Непрерывности - способности к репродукции.

**1.2 Мозаичность генов эукариот. Экспрессия генов**

***Генетический материал -*** компоненты клетки, структурно- функциональное единство которых обеспечивает хранение, реализацию и передачу наследственной информации при вегетативном и половом размножении. Генетический материал обладает универсальными свойствами живого: дискретностью, непрерывностью, линейностью, относительной стабильностью.

*Основными свойствами генетического материала являются:*

- Ген хранит и передает информацию.

- Ген способен к изменению генетической информации (мутации).

- Ген способен к репарации и ее передаче от поколения к поколению (процесс восстановления природной структуры ДНК, поврежденной при нормальном биосинтезе ДНК в клетке химическими или физическими агентами).

- Ген способен к реализации - синтезу белка, кодируемого геном при участии двух матричных процессов: транскрипции и трансляции.

- Генетический материал обладает устойчивостью. Устойчивость генетического материала обеспечивается: - диплоидным набором хромосом; - двойной спиралью ДНК; - вырожденностью генетического кода; - повтором некоторых генов; - репарацией нарушенной структуры ДНК.

Первоначально предполагалось, что ген является неделимой, целостной единицей. В целом ген подвергается мутациям, рекомбинациям и отвечает за функцию. Однако оказалось, что ген дискретен.

Наиболее четко дискретность гена была изучена американским генетиком С. Бензером на примере исследований тонкой структуры генов фага Т4 кишечной палочки. Им было показано, что ген может быть разделен кроссинговером на множество частей. Дискретная организация генов была установлена и у эукариот.

В конце 50-х годов Бензер предполагал, что ген одновременно является целостной и дискретной единицей. При выполнении основной функции - программировании синтеза белка - ген выступает как целостная единица, изменение которой вызывает изменение структуры белковой молекулы. Эту единицу Бензер назвал ***цистроном.*** По величине он примерно равен гену.

Дискретность гена заключается в наличии субъединиц. Элементарная единица изменчивости, единица мутации названа ***мутоном,*** а единица рекомбинации - ***реконом***. Минимальные размеры мутона и рекона равны 1 паре нуклеотидов и называются ***сайт***. Таким образом, ***сайт*** - это структурная единица гена. ***Кодон*** – функциональная единица гена.

В связи с выяснением сложной структуры генов было дифференцированно понятие аллелизма. Различают два вида аллелей: гомо - и гетероаллели. Гомоаллели (изоаллели) - это различие между аллелями, которые касаются только одного сайта ("сайт" от англ. site - местоположение) - отрезка гена, который изменен произошедшей мутацией. Гетероаллели - это аллели, у которых различия касаются разных сайтов.

Размеры генов различны. Число пар нуклеотидов в структурном гене, по-видимому, составляет около тысячи. Самые короткие известные структурные гены - гены транспортных РНК - содержат более 190 нуклеотидных пар, а самые крупные (например, ген фибрина шелка тутового шелкопряда) достигает размера более 16 тыс.пар нуклеотидов.

Вплоть до конца 70-х годов полагали, что гены существуют в виде целого отрезка ДНК. Однако в 1977 г. было показано, что у аденовируса некоторые гены существуют не в виде целого отрезка ДНК, а в виде фрагментом, распределенных вдоль генома.

Последовательность нуклеотидов, составляющая мозаичный ген, вначале переписывается в молекулу про- и РНК, которая является своего рода предшественником и-РНК

Участки, несущие информацию, названы *экзонами,* а не выражающие ее - *интронами.* Например, ген цепи - глобулина человека включает в себя три экзона и два интрона: ген постоянного участка тяжелой цепи иммуноглобулинов мыши содержит 4 экзона и 4 интрона.

Затем про- и РНК подвергается поэтапному сплайсингу и только после этого получается и-РНК, готовая для последующей транскрипции. Объяснение факта существования интронов пока не найдено. Допускается, что в момент образования и-РНК из про- и РНК может иметь место различное сцепление экзонов друг с другом, что приведет к синтезу различных белков. Возможно, интроны служат материалом для образования новых генов в процессе эволюции. Показано, что мутация интронов могут нарушать процесс сплайсинга, останавливать синтез белка и изменять его структуру.

Термин "ген" сразу, как только был предложен, использовался для обозначения наследственных задатков, определяющих развитие тех или иных внешних фенотипических признаков.

*Генетические механизмы экспрессии генов были изучены у микроорганизмов французскими генетиками Ф. Жакобом и Ж. Моно.*

Главное положение этой теории состоит в том, что в ДНК имеются два типа генов:

- структурные - последовательность их нуклеотидов кодирует структуру синтезируемых клеткой макромолекул (полипептидов, белков, р-РНК, т-РНК);

- функциональные или акцепторные - последовательность их нуклеотидов не имеет кодирующей функции, но с помощью присоединения к ним разных белковых факторов управляют работой структурных генов. К ним относят: регуляторы, операторы, модификаторы.

Транспозоны – это мобильные генетические элементы (мобильные ДНК, подвижные гены).

**Мобильные генетические элементы –** это мобильные последовательности ДНК, найденные в геномах всех организмов. Во многих геномах они находятся в изобилии: например, они составляют до 50% человеческой ДНК. Большинство транспозонов способны встраиваться в различные участки ДНК, основываясь на механизмах, которые отличны от рекомбинации гомологичных хромосом. Они часто вызывают мутации, либо вставляясь в другой ген и разрушая это, или вызывая перестройки ДНК, такие как делеции, дупликации и инверсии.

Мобильные элементыбывают автономными и неавтономными. Среди автономных, одни имеют только те последовательности, которые необходимы для их собственного перемещения, тогда как другие имеют сложную структуру и кодируют ряд функций, не связанных непосредственно с перемещением. Неавтономные транспозоны для транспозиции нуждаются в ферментах, кодируемых автономными транспозонами.

У человека транспозоны были обнаружены в 1991, когда Фрэнсис Коллинз и его коллеги обнаружили 31-летнего человека с нейрофиброматозом, вызванным перемещением последовательности *Alu.* Нейрофиброматоз - болезнь, которая вызывает многочисленные опухоли кожи и нервов. В настоящее время установлено, что от 45 до 50% (по данным разных авторов) человеческого генома состоят из последовательностей, происходящих от мобильных элементов, хотя большинство этих элементов является бездействующими и не способны к перемещению. Из них, около 2% - это ДНК транспозоны и приблизительно 42% - ретротраспозоны.

Эволюционное значение мобильных генетических элементов неизвестно, но были предложены три гипотезы объясняющих их происхождение. Гипотезы «клеточной функции» предполагает, что мобильные элементы обеспечивают какую-то важную функцию клетки. Гипотеза «генетической изменчивости» предполагает, что мобильные элементы, вызывая мутации, обеспечивают эволюционную гибкость видов. Гипотеза «эгоистичной ДНК» предполагает, что мобильные элементы не приносят какую-либо пользу клетки, но они широко распространены из-за того, что они могут копироваться и распространяться.

Один или несколько структурных генов, расположенных в бактериальной или вирусной «хромосоме» рядом с группой регуляторных генов, представляют вместе единицу генетической регуляции - ***оперон.***

Принципы работы оперона прокариот рассмотрим на примере работы оперона кишечной палочки, ответственного за усвоение лактозы этой бактерии.

**Лактозный оперон**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Т | 1 | 2 | 3 | оператор | промотор | Сар-белок | регулятор |

Нуклеоид бактериальной клеточной палочки включает различные участки, в том числе и лактозную область (lac оперон). Последняя область включает 3 гена, кодирующие 3 фермента: **в** - галактозидазу, пермеазу, трансацетилазу (z, у, ас). **в** - галактозидаза расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу; пермеаза - способствует проникновению лактозы в клетку. Все гены lak оперона транскрибируются в одну и-РНК, которая транслируется с образованием 3-х белков.

Оперон начинается с участка, к которому присоединяется особый белок-активатор - Сар-белок, активизирующий катаболические гены. Без этого белка фермент РНК-полимераза не может связаться с опероном и начать транскрипцию. Сар-белок предварительно активизируется сам присутствующим в клетке циклическим аденозинмонофосфатом (ц АМФ). Вслед за этим участком лежит просмотр. Это последовательность нуклеотидных пар, опознаваемая РНК-полимераза, которая прикрепляется к промотору и затем продвигается вдоль оперона, транскрибируя его. За промотором находится оператор, состоящий из 21 пары нуклеотидов, который играет важную роль в регуляции работы оперона, так как с ним может связываться особый тормозящий транскрипцию белковый фактор – ***регуляторный белок.*** Заканчивается lak - оперон терминатором - небольшим участком ДНК, служащим стоп-сигналом, прекращающим продвижение РНК-полимеразы и транскрипцию оперона.

Основная регуляция работы структурных генов lak - оперона осуществляется регуляторным белком, который кодируется геном-регулятором. Этот белок синтезируется непрерывно, но в очень небольшом количестве в клетке (одновременно в цитоплазме присутствует не более 10 его молекул). Регуляторный белок обладает сродством с оператором lak-оперон и если в питательной среде нет лактозы, то прикрепляется к оператору и препятствует продвижению РНК-полимеразы от промотора к структурным генам, которые оказываются репрессированными. Синтез кодируемых ферментов не идет. При поступлении в питательную среду лактозы регуляторный белок связывается с лактозой раньше, чем его молекулы достигнут оператора и сильно изменяет свою структуру, вследствие чего теряет способность присоединяться к оператору. Лактоза выполняет роль эффектора -низкомолекулярного вещества, изменяющего свойства белка при соединении с ним. Измененный регуляторный белок перестает связываться с оператором, РНК - полимераза свободно продвигается по оперону, транскрибирует структурные гены и в клетке начинается синтез всех трех ферментов, необходимых для усвоения лактозы, т.е. происходит индукция (экспрессия гена).

Регуляция активности генов у эукариот изучена менее полно, чем у вирусов и прокариот, что обусловлено наличием у них ядра, сложно устроенных хромосом и дифференицацией клеток. Допускается, что в основе регуляции действия генов у эукариот лежат механизмы, в принципе сходные с таковыми у вирусов и прокариот. Однако, есть и существенные отличия.

1) Почти всегда оперон эукариот содержит только один структурный ген в то время как у вирусов и прокариот в большинстве оперонов их бывает несколько, иногда более десятка.

2) У эукариот структурные гены, ответственные за разные звенья той или иной цепи биохимических реакций, как правило, разбросаны по геному, а не сосредоточены в одном опероне, как это часто имеет место у прокариотов.

3) У эукариот существует одновременное групповое подавление активности генов во всем ядре, в целой хромосоме, или в большом ее участке. Такая групповая репрессия генов осуществляется в значительной мере гистонами-белками, входящими в состав эукариотических хромосом. Примером групповой регуляции активности генов - это полное прекращение транскрипции всех генов при сперматогенезе.

4) Существует система регуляции с помощью стероидных гормонов. Последние связываются со специальными белками - рецепторами, расположенными в мембранах клеток - мишеней. Синтез белков - рецепторов контролируется геном тестикулярной феминизации Х - хромосомы. Такой комплекс обеспечивает активацию определенного гена.

5) Транскрипция и трансляция у эукариот разобщены (у прокариот - сопряжены). Синтез и-РНК происходит в ядре, а белков - на рибосоме. Без гормонального сигнала, которые и-РНК остаются не транслированными.

Примером сложной экспрессии генов может служить генный контроль синтеза гемоглобинов у человека. Известно, что гемоглобин является сложным белком четвертичной структуры. Он состоит из четырех полипептидных цепей. Каждая цепь контролируется определенным генным локусом.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Вид Hb** | **Полипептидные цепи** | **Генные локусы** |
| HbА  HbА2  HbF  Hbs | 2б, 2в  2б, 2у  2б, 2г  2б, в, в6-вал | бА, вА  бА, уА2  бА, гF  бА, вА' |

НвА и НвА2 относятся к нормальным гемоглобинам человека. В эритроцитах плода около 80% гемоглобина падает на форму НвF, его молекула состоит из двух цепей **б** и двух цепей **г**. У больных серповидноклеточной анемией имеется особый гемоглобин НВS, который отличается от нормального НвА тем, что у него в одной **в** цепи в 6-ом положении глутаминовая кислота заменена валином (а в гемоглобине НвC-лизином).

Четыре типа гемоглобинов контролируются отдельными генами:

- локус **бА** определяет формирование **б** цепей в течение всей жизни у всех четырех гемоглобинов;

- локус **вА** контролирует формирование **в** цепей только в НвА после рождения;

- локус **гF**определяет синтез г цепи в гемоглобине НвF в течение внутриутробной жизни;

- локус **уА2** определяет синтез **у** цепей в гемоглобине НвА2 в течение всей жизни после рождения.

Локусы **бА, вА, уА2, гF** тесно сцеплены в хромосоме. Все четыре указанных генов - структурные. В их действии имеется сложная экспрессия, благодаря чему возникают четыре типа гемоглобинов.

Экспрессия генов **вА**, **уА2**находится под влиянием генов-регуляторов. У взрослого человека происходит замена **НвF** плода на **НвА**, **НвА2**.

При этом происходит репрессия гена **гF** и включение гена **вА**. Взаимодействие генов **бА, вА, уА2** определяет развитие нормального гемоглобина и является примером межгенного взаимодействия.

При формировании гемоглобина серповидноклеточной анемии наблюдается межаллельное взаимодействие аллели **вА** и ее патологической аллели.

Вышеизложенные данные позволили сформулировать **современную теорию гена**, которая утверждает:

- Ген занимает определенный локус в хромосоме.

- Ген (цистрон) - часть молекулы ДНК; число нуклеотидов в гене неодинаково.

- Внутри гена может происходить рекомбинация и мутация.

- Существуют структурные и функциональные гены.

- Структурные гены контролируют синтез полипептидов (аминокислотных, т-РНК, р-РНК) и белков.

- Функциональные гены контролируют деятельность структурных генов.

- Расположение триплетов в генах структурных колинеарной последовательности аминокислот в полипептиде.

- Генотип, будучи дискретным, функционирует как единое целое.

Многие годы биологи рассматривали гены как статические элементы ДНК, которые занимают определенные положения на хромосомах. Но теперь признается, что многие генетические структуры не занимают четко установленных положений. Генам, которые могут перемещаться, дали множество названий, таких как: ***транспозоны***,мобильные генетические элементы, мобильная ДНК, подвижные гены и «прыгающие» гены.

**1.3 Генный уровень организации наследственного материала. Структура молекулы ДНК. Репликация ДНК**

Изучение этого уровня связано с функциями и строением нуклеиновых кислот.

Известны две группы нуклеиновых кислот: РНК и ДНК.

ДНК находится в ядре и входит в состав хроматина, а также митохондрии, центросомы, пластиды, а РНК - в ядрышках, матриксе цитоплазмы, рибосомах.

Носителем наследственной информации в клетке является ДНК, а РНК - служит для передачи и реализации генетической информации у про- и эукариот. С помощью и-РНК происходит процесс перевода последовательности нуклеотидов ДНК в полипептид.

У некоторых организмов, кроме ДНК, носителем наследственной информации может быть РНК, например, у вирусов табачной мозаики, полиомиелита, СПИДа.

Мономерами нуклеиновых кислот являются нуклеотиды. Установлено, что в хромосомах эукариот гигантская двуспиральная молекула ДНК образована 4 типами нуклеотидов: адениловый, гуаниловый, тимидиловый, цитозиловый. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания (пуринового Г+А или пиримидинового Ц+Т), дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты.

Анализируя ДНК разного происхождения, Чаргафф сформулировал закономерности количественного соотношения азотистых оснований - правила Чаргаффа.

а) количество аденина равно количеству тимина (А=Т);

б) количество гуанина равно количеству цитозина (Г=Ц);

в) количество пуринов равно количеству пиримидинов (Г+А = Ц+Т);

г) количество оснований с 6-аминогруппами равно количеству оснований с 6-кетогруппами (А+Ц = Г+Т).

В то же время соотношение оснований А+Т\Г+Ц является строго видоспецифичным коэффициентом (для человека - 0,66; мыши - 0,81; бактерии - 0,41).

В 1953 году биологом Дж.Уотсоном и физиком Ф.Криком была предложена пространственная молекулярная модель ДНК. Основные постулаты модели заключаются в следующем:

1. Каждая молекула ДНК состоит из двух длинных антипараллельных полинуклеотидных цепей, образующих двойную спираль, закрученную вокруг центральной оси (правозакрученная - В-форма, левозакрученная - Z-форма, обнаруженная А. Ричем в конце 70-х годов).

2. Каждый нуклеозид (пентоза + азотистое основание) расположен в плоскости, перпендикулярной оси спирали.

3. Две полинуклеотидные цепи скреплены водородными связями, образующимися между азотистыми основаниями.

4. Спаривание азотистых оснований строго специфично, пуриновые основания соединяются только с пиримидиновыми: А-Т, Г-Ц.

5. Последовательность оснований одной цепи может значительно варьировать, но азотистые основания другой цепи должны быть строго комплементарны им.

Полинуклеотидные цепи образуются за счет ковалентных связей между соседними нуклеотидами через остаток фосфорной кислоты, который соединяет углерод в пятом положении сахара с третьим углеродом соседнего нуклеотида. Цепи имеют направленность: начало цепи 3'ОН – в третьем положении углерода дезоксирибозы присоединяется гидроксильная группа ОН, конец цепи - 5'Ф, к пятому углероду дезоксирибозы присоединяется остаток фосфорной кислоты.

Аутосинтетической функцией ДНК является репликация – авторепродукции. Репликация основана на принципах полуконсервативности, антипараллельности, комплементарности и прерывистости. Наследственная информация ДНК реализуется в результате репликации по типу матричного синтеза. Он протекает в по стадиям: связывание, инициация, элонгация, терминация. Процесс приурочен к S-периоду интерфазы. Фермент ДНК-полимераза использует в качестве матрицы одноцепочечную ДНК и в присутствии 4-х нуклеотидов, затравки (РНК) строит вторую цепь ДНК.

Синтез ДНК осуществляется по принципу комплементарности. Между нуклеотидами цепи ДНК образуется фосфодиэфирные связи за счет соединений 3'ОН группы самого последнего нуклеотида с 5'-фосфатом следующего нуклеотида, который должен присоединиться к цепи.

Различают три основных вида репликации ДНК: консервативный, полуконсервативный, дисперсный.

***Консервативный* -** сохранность целостности исходной двуцепочечной молекулы и синтез дочерней двуцепочной. Половина дочерних молекул построена полностью из нового материала, а половина - из старого материнского.

***Полуконсервативный* –** Синтез ДНК начинается с присоединения к точке начала репликации фермента хеликазы, который расплетает участки ДНК. К каждой из цепей присоединяется ДНК связывающей белок (ДСБ), препятствующей их соединению. Единицей репликации является репликон – это участок между двумя точками начала синтеза дочерних цепей. Взаимодействие ферментов с точкой начала репликации называется инициацией. Эта точка движется вдоль цепи (3'ОН→5'Ф) и образуется репликативная вилка.

Синтез новой цепи идет прерывисто с образованием фрагментов длиной 700-800-2000 нуклеотидных остатков. Имеется точка начала и конца репликации. Репликон движется вдоль молекулы ДНК и расплетаются ее новые участки. Каждая из материнских цепей является матрицей для дочерней, которая синтезируется по принципу комплементарности. В результате последовательных соединений нуклеотидов цепь ДНК удлиняется (стадия элонгации) с помощью фермента ДНК-лигаза. При достижении нужной длины молекулы синтез прекращается - терминация. У эукариот работает сразу тысячи репликативных вилок. У прокариот - инициация происходит в одной точке кольца ДНК, при этом две репликативные вилки двигаются в 2-х направлениях. В месте их встречи двух цепочечные молекулы ДНК разъединяются.

***Дисперсный -*** распад ДНК на нуклеотидные фрагменты, новая двуцепочечная ДНК состоит из спонтанно набранных новых и родительских фрагментов.

ДНК эукариот по структуре похоже на ДНК прокариот. Различия касаются: количества ДНК по генам, длиной молекулы ДНК, порядком чередования нуклеотидных последовательностей, формой укладки (у эукариот - линейная, у прокариот – кольцевая).

Для эукариот характерна избыточность ДНК: кол-во ее ДНК, участвующее в кодировании, составляет только 2%. Часть избыточной ДНК представлена одинаковыми наборами нуклеотидов, повторяющимися много раз (повторы). Различают многократно и умеренно повторяющиеся последовательности. Они образуют конститутивный гетерохроматин (структурный). Он встроен между уникальными последовательностями. Избыточные гены имеют 104 копий.

ДНК обладает так же свойством ***репарации* –** способностью к восстановлению нарушенной структуры вследствие мутации. В основе этого процесса лежит строение молекулы (двойная полинуклеотидная спираль). Восстановление участков, поврежденных мутациями, происходит по принципу комплементарности.

Центральным процессом метаболизма в клетке связанным с потоком вещества, энергии и информации является гетеросинтетическая функция нуклеиновых кислот - биосинтез белка.

Генетическая информация, содержащаяся в ДНК, передается на рибосомы через и-РНК. Участок ДНК, содержащий информацию, о структуре полипептидной цепи называется геном. У эукариот списывание наследственной информации с генов регулируется гистоновыми белками, которые препятствуют этому процессу. Начало списывания информации связано с освобождением определенного участка ДНК (гена) от гистонов с помощью негистоновых белков, способных узнавать определенные гены.

**1.4 РНК и ее виды. Синтез и-РНК, его этапы (первичный транскрипт, процессинг, сплайсинг**

Биологическая роль РНК связана с процессом реализации наследственной информации с ДНК при синтезе белка. Информационная РНК является посредником между информацией о структуре белка на ДНК ядра и местом синтеза белковых молекул в цитоплазме на рибосомах. РНК не имеет двойной спирали, она представлена одной полинуклиотидной цепью (за исключением двуцепочечных РНК-содержащих вирусов). Содержание РНК в клетке колеблется в зависимости от вида. Существует три вида РНК: рибосомальная, информационная, транспортная. Все виды синтезируются на молекуле ДНК в ядре путём транскрипции.

***Р-РНК - рибосомальная*** входит в состав рибосом (3000-5000 нуклеотидов) (80% от общей массы РНК клетки). Из неё построен каркас рибосом, участвует в инициации, окончании синтеза и отделения готовых молекул белка от рибосом.

***И-РНК - информационная*** (матричная) несет генетическую информацию, транскрибируемую с ДНК о структуре полипептидной цепи в виде кодонов (триплетов нуклеотидов). Молекула включает от 300 до 3000 нуклеотидов и составляет 3-5%.

***Т-РНК - транспортная* –** обеспечивает транспорт активированных аминокислот к рибосомам (тройной комплекс аминоацил т-РНК синтетаза, аминокислота, АТФ). Имеет вторичную структуру в виде листка клевера, на верхушке которого – антикодон.

Молекула ДНК разделена на участки, содержащие информацию о структуре белка, которые называются генами и неинформативные отрезки спейсеры, которые разделяют гены. Спейсеры бывают различной длины и регулируют транскрипцию соседнего гена. ***Транскрибируемые*** спейсеры копируются при транскрипции вместе с геном, и их комплементарные копии появляются на про-и-РНК. ***Нетранскрибируемые*** спейсеры - встречаются между генами гистоновых белков ДНК.

Синтез и-РНК идёт с одной нити двуцепочечной молекулы ДНК по принципу комплементарности. и-РНК является копией не всей молекулы ДНК, а только части её - одного гена или группы генов одной функции. Такая группа генов называется ***оперон.*** Оперон – единица генетической регуляции. Он включает структурные гены, несущие информацию о структуре белков, регуляторные гены, управляющие работой структурных. К регуляторным генам относят: промотор, оператор, терминатор. Промотор находится в начале каждого оперона. Это посадочная площадка для РНК - полимеразы (специфический носитель нуклеотидов ДНК, которую фермент узнаёт благодаря химическому сродству). Оператор управляет транскрипцией. Терминатор включает стоп-кодоны, заканчивающие синтез и-РНК.

У эукариот структурные гены разделены на экзоны и интроны. Экзоны – участки, несущие информацию, а интроны – не несущие информацию.

При синтезе и-РНК сначала образуются:

1) Первичный транскрипт - длинный предшественник и-РНК с полной информацией с молекулы ДНК (про-и-РНК).

2) Процессинг - укорочение первичного транскрипта путем вырезания неинформативных участков ДНК (интронов).

3) Сплайсинг - сшивание информативных участков и образование зрелой и-РНК.

Транскрипция начинается со стартовой точки молекулы ДНК с участием фермента РНК - полимераза, для эукариот - адениловый нуклеотид. Синтез и-РНК проходит в 4 стадии:

1) Связывание РНК-полимеразы с промотором.

2) Инициация - начало синтеза (первая диэфирная связь между АТФ и ГТФ и вторым нуклеотидом и-РНК.

3) Элонгация- рост цепи и-РНК.

4) Терминация - завершение синтеза и-РНК.

**1.5 Хромосомный уровень организации наследственного материала. Уровни упаковки генетического материала эукариот**

Таким образом, уровни упаковки ДНК следующие:

1) Нуклеосомный (2,5 оборота двуспиральной ДНК вокруг восьми молекул гистоновых белков).

2) Супернуклеосомный - хроматиновая спираль (хромонема).

3) Хроматидный - спирализованная хромонема.

4) Хромосома - четвертая степень сперализации ДНК.

В интерфазном ядре хромосомы деконденсированы и представлены хроматином. Деспирализованный участок, содержащий гены, называется эухроматин (разрыхленный, волокнистый хроматин). Это необходимое условие для транскрипции. Во время покоя между делениями определенные участки хромосом и целые хромосомы остаются компактными.

Эти спирализованные, сильно окрашивающиеся участки, называются гетерохроматином. Они неактивны в отношении транскрипции. Различают факультативный и конститутивный гетерохроматин.

Факультативный гетерохроматин информативен, т.к. содержит гены и может переходить в эухроматин. Из двух гомологичных хромосом одна может гетерохроматической. Конститутивный гетерохроматин всегда гетерохроматичен, неиформативен (не содержит генов) и поэтому всегда неактивен в отношении транскрипции.

Хромосомная ДНК состоит из более 108 пар оснований, из которых образуется информативные блоки - гены, расположенные линейно. На их долю приходится до 25% ДНК. Ген - функциональная единица ДНК, содержащая информацию для синтеза полипептидов, или всех РНК. Между генами находятся спейсеры - неинформативные отрезки ДНК разной длины. Избыточные гены представлены большим числом - 104 идентичных копий. Примером являются гены для т-РНК, р-РНК, гистонов. В ДНК встречаются последовательности одних и тех же нуклеотидов. Они могут быть умеренно повторяющимися и высоко повторяющимися последовательностями. Умеренно повторяющиеся последовательности достигают 300 пар нуклеотидов с повторениями 102 - 104 и представляют чаще всего спейсеры, избыточные гены.

Высокоповторяющиеся последовательности (105 - 106) образуют конститутивный гетерохроматин. Около 75% всего хроматина не участвует в транскрипции, он приходится на высокоповторяющиеся последовательности и нетранскрибируемые спейсеры.

**1.6 Наследственный аппарат клеток человека. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская классификация хромосом**

Хромосомы подразделяются на аутосомы (соматических клеток) и гетерохромосомы (половых клеток).

По предложению Левитского (1924) диплоидный набор соматических хромосом клетки был назван ***кариотипом.*** Он характеризуется числом, формой, размерами хромосом. Для описания хромосом кариотипа по предложению С.Г. Навашина их располагают в виде ***идиограммы* -** систематизированного кариотипа. В 1960 году была предложена Денверская международная классификация хромосом, где хромосомы классифицированы по величине и расположению центромеры. В кариотипе соматической клетки человека различают 22 пары аутосом и пару половых хромосом. Набор хромосом в соматических клетках называют ***диплоидным*,** а в половых клетках **- *гаплоидным***(онравен половине набора аутосом). В идиограмме кариотипа человека хромосомы делят на 7 групп, в зависимости от их размеров и формы.

1 - 1-3 крупные метацентрические.

2 - 4-5 крупные субметацентрические.

3 - 6-12 и Х-хромосома средние метацентрические.

4 - 13-15 средние акроцентрические.

5 - 16-18 относительно малые мета-субметацентрические.

6 - 19-20 малые метацентрические.

7 - 21-22 и Y-хромосома наиболее малые акроцентрические.

Согласно ***Парижской классификации*** хромосомы разделены на группы по их размерам и форме, а также линейной дифференцировке.

**1.7 Геномный уровень организации наследственного материала**

***Геном -*** совокупность всех генов гаплоидного набора хромосом данного вида организма. Геномный уровень организации наследственного материала имеет особенности у прокариот и эукариот.

В геноме бактерий подавляющее большинство генов ***уникальны***. Исключением являются гены, кодирующие ***р-РНК и т-РНК***. Эти гены повторяются в геноме бактерий по несколько раз. Следует отметить определенное несоответствие между числом пар нуклеотидов в геноме бактерий и числом генов в них. Так, ДНК кишечной палочки содержит 3, 8 млрд. пар нуклеотидов. Структурных генов у них около 1000, на которые приходится 1-1, 5 млн. пар нуклеотидов. Остается предположить, что значительную часть в ДНК бактерий составляют участки, функции которых пока не ясны. Спирализация ДНК в «хромосоме» прокариот значительно меньше, чем у эукариот.

Геном эукариот:

- большое число генов,

- большее количество ДНК,

- в хромосомах имеется очень сложная система контроля активности генов во времени и пространстве, связанная с дифференциацией клеток и тканей в онтогенезе организма.

Количество ДНК в хромосомах велико и возрастает по мере усложнения организмов. Для эукариот также характерна ***избыточность генов.*** Так, у человека геном содержит число нуклеотидных пар, достаточное для образования более 2 млн. структурных генов, в то время как у человека имеется по данным 2000 года 31 тыс. всех генов.

Больше половины гаплоидного набора генома эукариотов составляют ***уникальные гены,*** представленные лишь по одному разу. У человека таких уникальных генов - 64%, у теленка - 55%, у дрозофилы - 70%.

Морган указал на стабильность структуры генома и постоянство расположения генов в хромосомах.

В 70-х годах у дрозофилы обнаружена группа генов, представленных многими кочующими генами, которые разбросаны по разным участкам хромосом. 30% генов кочуют по хромосомам, не имеют постоянной локализации. Мобильные гены составляют 5% всего генома.

Т.о. в течение последних 10 лет сформировалось представление, что в состав генома про- и эукариот входят гены:

1) имеющие либо стабильную, либо нестабильную локализацию;

2) уникальная последовательность нуклеотидов представлена в геноме единичными или малым числом копий: к ним относятся структурные и регуляторные гены; уникальные последовательности эукариот, в отличии от генов прокариот, имеют мозаичное строение;

3) многократно повторяющиеся последовательности нуклеотидов являются копиями (повторениями) уникальных последовательностей (у прокариот нет). Копии группируются по несколько десятков или сотен и образуют блоки, локализующиеся в определенном месте хромосомы. Повторы реплицируются, но, как правило, не транскрибируются. Они могут играть роль:

- регуляторов генной активности;

- защитного механизма от точковых мутаций;

- хранение и передача наследственной информации;

- механизм эволюции.

**1.8 Генетическая система клетки. Генная инженерия**

Генетического система клетки включает ***генотип ядра*** и ***плазмотип (плазмон) цитоплазмы.*** Генетический аппарат клетки дискретен. В генотипе ядра он представлен хромосомами и генами, входящими в состав хромосом, в плазмотипе цитоплазмы - плазмогенами, которые являются фрагментами пластидной и митохондриальной ДНК.

**Генетический система клетки**

Геном ядра

Плазмон цитоплазмы

Хромосомы

Плазмогены

ДНК митохондрий, пластид и другие факторы.

Гены

Одним из разделов молекулярной генетики и молекулярной биологии, который приблизился к рубежу практических приложений является генная инженерия. ***Генная инженерия -*** это сумма методов, позволяющая переносить гены из одного организма в другой, или - это технология направленного конструирования новых биологических объектов (С.И. Алиханян, 1980г.). К генной инженерии принято относить следующие операции:

- Синтез генов вне организма.

- Выделение из клеток отдельных генов или генетических структур (фрагментов хромосом, целых хромосом, ядер).

- Направленную перестройку выделенных структур.

- Копирование и размножение выделенных генов или синтезированных генов или генетических структур.

- Перенос и включение таких генов или генетических структур в подлежащий изменению геном.

- Экспериментальное соединение геномов в одной клетке.

1) Получение генетического материала.

Осуществляется путем его выделения из генома клеток донора, либо путем его синтеза химическим путем или с помощью и-РНК и фермента обратной транскриптазы (ревертазы). Нужный ген получают путем вырезания его из ДНК с помощью особых ферментов лигазами. Такой способ был разработан на плазмидной ДНК бактерий.

2) Введение генетического материала.

Осуществляется путем трансформации, трансдукции, конъюгации и соматической гибридизации.

***Трансформация -*** способ рекомбинации генов не половым путем за счет переноса и включения фрагментов ДНК от донора к реципиенту (встраивание ДНК одной бактерии в ДНК другой).

***Трансдукция*** – перенос ДНК с помощью фага.

***Конъюгация*** – способ передачи генетической информации у бактерий при контакте.

***Гибридизация соматических клеток*** приводит к слиянию двух протопластов клеток и образованию ядра с диплоидным набором хромосом. Затем гибридная клетка делится, и образуются дочерние гибридные клетки с признаками обоих родителей.

3) Включение новых генов в генетический аппарат клеток.

Новые введенные гены не способны к самостоятельному воспроизведению. Поэтому они вначале вводятся в состав структуры, способной к воспроизведению. Она называется вектором. Это молекула ДНК, которая способна переносить в клетку чужой ген и обеспечивать его размножение там. Векторами могут быть плазмиды бактерий, бактериофаги, вирусы животных, космиды – фрагменты бактериофагов с плазмидами.

С помощью генной инженерии решено ряд проблем биологии: мозаичное строение гена, расшифровка структуры гена, кодирующих иммуноглобулины. В 1980г - получен гормон соматотропин, в 1982 инсулин методом генной инженерии, а также интерферон, витамины, и другие гормоны. Генная инженерия является основой биотехнологии, а в медицине обеспечивает производство вакцин, сывороток, а также диагностику генетических аномалий человека на ранних стадиях развития (генная хирургия - замена поврежденного гена новым), генная терапия клонирования организмов.

В 2001 году усилиями генетиков программы «Геном человека» открыто количество генов, составляющих 31 тыс. генов в геноме человека. Это расширяет возможности использования генетики для медицинских целей.

Однако выращивание гибридов человека и химер, а также все работы по клонированию человека, по мнению большинства ученых-генетиков должны быть запрещены.

Пересадка генов должна проводиться для человека только в терапевтических целях, с помощью соматических клеток. Применение половых клеток для генного лечения возможна только при достаточном доказательстве безопасности такого лечения по сравнению с генной терапией соматическими клетками.

**Список использованных источников**

1. Бочков И.П., Захаров А.Ф., Иванов В.И. «Медицинская генетика». - М.: Медицина, 1984. - с. 50-55.

2. Бекиш О.-Я.Л. Медицинская биология. Курс лекций для студентов мед. ВУЗов. - Витебск, 2000 с. 101-119.

3. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека: в 3-х т., т. 2-й - М.: Мир, 1990. - с.130-132.

4. Биология / Под ред. В.Н. Ярыгина / 1-я книга - М.:Вш,1997. с. 99-113, 174-180.

5. Заяц Р.Г., Рачковская И.В. Основы общей и медицинской генетики. Мн.: ВШ, 1998. - с.53-65.