

**СРЕДНЕЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ
ОБРАЗОВАНИЕ**

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА С ОСНОВАМИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Под редакцией **М.М. АЗОВОЙ**

Рекомендовано
Экспертным советом УМО
в системе ВО и СПО
в качестве **учебника** для студентов,
обучающихся по специальностям
31.02.01 «Лечебное дело»,
34.02.01 «Сестринское дело»,
31.02.02 «Акушерское дело»

BOOK.ru

ЭЛЕКТРОННО-БИБЛИОТЕЧНАЯ СИСТЕМА

КНОРУС • МОСКВА

УДК 575/61(075.32)

ББК 28.04:5я723

ГЗ4

Авторский коллектив:

В.П. Щипков — более 40 лет трудился на кафедре биологии и общей генетики медицинского факультета Российского университета дружбы народов, д-р мед. наук, проф.,

М.М. Азова — заведующая кафедрой биологии и общей генетики медицинского института Российского университета дружбы народов, д-р биол. наук, доц.,

О.Б. Гигани — доцент кафедры биологии и общей генетики медицинского института Российского университета дружбы народов, канд. биол. наук, доц.,

О.О. Гигани — доцент кафедры биологии и общей генетики медицинского института Российского университета дружбы народов, канд. биол. наук, доц.,

Е.М. Желудова — доцент кафедры биологии и общей генетики медицинского института Российского университета дружбы народов, канд. биол. наук, доц.

ГЗ4 **Генетика человека с основами медицинской генетики** : учебник / коллектив авторов ; под ред. М.М. Азовой. — Москва : КНОРУС. — 208 с. — (Среднее профессиональное образование).

ISBN 978-5-406-06111-4

Изложена информация по основным разделам общей и медицинской генетики. Рассмотрены молекулярные основы наследственности и изменчивости организмов, закономерности наследования генов и признаков, основные вопросы медицинской генетики, включая профилактику и диагностику наследственной патологии человека.

Соответствует ФГОС СПО последнего поколения.

Рекомендовано для освоения профессий из списка ТОП-50 наиболее востребованных на рынке труда, новых и перспективных профессий.

Для студентов медицинских колледжей, обучающихся по специальностям «Лечебное дело», «Сестринское дело», «Акушерское дело».

УДК 575/61(075.32)

ББК 28.04:5я723

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА С ОСНОВАМИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Изд. № 9732. Формат 60×90/16.

Гарнитура «Petersburg». Печать офсетная.

Усл. печ. л. 13,0. Уч.-изд. л. 10,5. Тираж 1000 экз.

ООО «Издательство «КноРус».

117218, г. Москва, ул. Кедрова, д. 14, корп. 2.

Тел.: 8-495-741-46-28.

E-mail: office@knorus.ru <http://www.knorus.ru>

Отпечатано в АО «Т8 Издательские Технологии».

109316, г. Москва, Волгоградский проспект, д. 42, корп. 5.

Тел.: 8-495-221-89-80.

ISBN 978-5-406-06111-4

© Коллектив авторов

© ООО «Издательство «КноРус»

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	9
1.1. Строение молекул ДНК и РНК	9
Задания для самостоятельной работы	14
1.2. Репликация ДНК	15
Задания для самостоятельной работы	18
1.3. Запись генетической информации в молекулах нуклеиновых кислот. Генетический код	19
Задания для самостоятельной работы	22
1.4. Современные представления о структурно-функциональной организации генов	23
Задания для самостоятельной работы	25
1.5. Реализация наследственной информации в клетке	25
Задания и вопросы для самостоятельной работы	34
1.6. Регуляция экспрессии генов	34
Задания для самостоятельной работы	39
ГЛАВА 2. СТРУКТУРНАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМ И ЭКСТРАХРОМОСОМНЫХ МОЛЕКУЛ ДНК	40
2.1. Организация генетического материала вирусов	40
2.2. Хромосомная ДНК прокариот	42
2.3. Плазмиды бактерий	43
2.4. Хромосомы эукариот	45
2.4.1. Хромосомный комплекс (кариотип) организма	46
2.4.2. Структурная организация эукариотической хромосомы	47
2.5. Структурно-генетическая организация митохондриальной ДНК	50
2.6. Мобильные генетические элементы	52
Задания для самостоятельной работы	53
ГЛАВА 3. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДОВАНИЯ ГЕНОВ	55
3.1. Митотический цикл. Митоз	55
Задания для самостоятельной работы	60
3.2. Мейотическое деление клеток	60
3.3. Гаметогенез. Оплодотворение	62
Задания для самостоятельной работы	64
ГЛАВА 4. ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ГЕНОВ И КОНТРОЛИРУЕМЫХ ИМИ ПРИЗНАКОВ	66
4.1. Особенности наследования генов у прокариот. Принципы генетического картирования бактерий	67
4.2. Закономерности наследования генов у эукариот	69

4.2.1. Генетическая организация хромосом эукариот. Гены. Формы взаимодействия генов.	69
Задания для самостоятельной работы	73
4.2.2. Наследование аллельных генов аутосом	74
Задания для самостоятельной работы	75
4.2.3. Наследование неаллельных генов негомологичных хромосом.	76
Задания для самостоятельной работы	77
4.2.4. Наследование пола и генов, сцепленных с половыми хромосомами	78
Задания для самостоятельной работы	82
4.2.5. Наследование сцепленных генов.	82
Задания для самостоятельной работы	85
4.3. Принципы генетического анализа эукариотических организмов	85
Задания для самостоятельной работы	87

ГЛАВА 5. ИЗМЕНЧИВОСТЬ КАК ОСНОВА ПАТОЛОГИИ.

ФОРМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ	88
5.1. Изменчивость как свойство живого. Формы изменчивости	88
5.2. Мутации	91
5.3. Хромосомные мутации	95
Задания для самостоятельной работы	100
5.4. Генные мутации	101
Задания для самостоятельной работы	103
5.5. Механизмы репарации повреждений ДНК	104
Задания для самостоятельной работы	106

ГЛАВА 6. МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА КАК НАУКА. ОСОБЕННОСТИ

ЧЕЛОВЕКА КАК ОБЪЕКТА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	107
6.1. Медицинская генетика как наука	107
6.2. Особенности человека как объекта генетических исследований	109
6.3. Характеристика генома человека	111
6.4. Хромосомы человека.	113
Задания для самостоятельной работы	117

ГЛАВА 7. МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

7.1. Клинико-генеалогический метод (метод родословных)	118
Задания для самостоятельной работы	121
7.2. Близнецовый метод	122
Задания для самостоятельной работы	124
7.3. Биохимические методы	125
Задания для самостоятельной работы	128
7.4. Молекулярно-генетические методы	129
Задания для самостоятельной работы	131
7.5. Цитогенетический метод	132
Задания для самостоятельной работы	135
7.6. Популяционно-статистический метод	136
Задания для самостоятельной работы	139

ГЛАВА 8. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ

8.1. Наследственность и патология. Наследственные болезни	141
8.2. Хромосомные болезни	143
Задания для самостоятельной работы	151

8.3. Генные болезни.	153
Задания для самостоятельной работы	172
8.4. Болезни с нетрадиционными типами наследования	173
8.4.1. Митохондриальные болезни	173
8.4.2. Болезни экспансии тринуклеотидных повторов	176
8.4.3. Эпигенетические болезни.	176
Задания для самостоятельной работы	177
8.5. Болезни человека с наследственной предрасположенностью (мультифакториальные заболевания)	178
Задания для самостоятельной работы	180
ГЛАВА 9. ФАРМАКОГЕНЕТИКА	181
9.1. Фармакогенетика как наука	181
9.2. Генетическое детерминирование фармакогенетического ответа	182
9.3. Судьба лекарства в организме человека. Метаболизм лекарственных веществ. Контроль метаболизма лекарственных препаратов.	184
9.4. Генетические нарушения, влияющие на чувствительность организма к действию лекарственных препаратов.	187
9.5. Патологические реакции организма на прием ряда лекарственных препаратов пациентами с наследственной патологией	188
Задания для самостоятельной работы	192
ГЛАВА 10. ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА	194
10.1. Диагностика врожденных пороков развития и наследственных заболеваний	194
Задания для самостоятельной работы	197
10.2. Профилактика наследственной патологии. Медико-генетическое консультирование.	198
Задания для самостоятельной работы	203
10.3. Принципы лечения наследственных болезней человека. Генотерапия	204
Задания для самостоятельной работы	207
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	208

ВВЕДЕНИЕ

Генетика (от греч. *genesis* — происхождение) представляет собой одну из молодых и активно развивающихся наук. Ее предметом являются закономерности наследственности и изменчивости организмов.

Основополагающим моментом возникновения научных представлений в этой области явилось открытие Г. Менделем (G. Mendel, 1866) законов наследования факторов, названных позднее генами, и контролируемых ими признаков. Эти законы были повторно открыты в 1900 г. К. Корренсом, Э. Чермаком и Г. де Фризом, и теперь этот год принято считать официальной датой появления генетики. В работах Т. Моргана и его сотрудников (1910—1915) получила классическое обоснование хромосомная теория наследственности. В 20—30-е годы XX в. большую роль в развитии генетики сыграли работы отечественных ученых Н.И. Вавилова, Н.К. Кольцова, С.С. Четверикова и других. В период с 1925 по 1940 г. были открыты возможности искусственно вызывать (индуцировать) мутационные изменения (мутации) в генах различных организмов.

В 40—50-е годы XX в. начинается эпоха молекулярной генетики, связанная с установлением роли дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) как носителя генетической информации. Дальнейшее изучение молекулярных основ наследственности и изменчивости организмов привело к расшифровке генетического кода ДНК, выяснению механизмов биосинтеза белков в клетке и молекулярных механизмов генных мутаций.

Современный этап развития генетики характеризуется в первую очередь накоплением обширной информации об особенностях геномной организации различных организмов, включая человека, о молекулярной структуре генов и механизмах регуляции их активности. На основе достижений теоретической генетики стало возможным создание прикладных технологий генетической инженерии. Задача последней состоит в искусственном (экспериментальном) конструировании гибридных (рекомбинантных) молекул ДНК, содержащих отдельные гены (либо определенные комплексы генов), интересующие исследователя.

В связи с интенсивным развитием исследований в последние десятилетия наблюдается быстрый процесс дифференциации отдельных направлений генетики, приводящий к появлению специализированных областей знания, которые обычно рассматриваются в качестве самостоятельных генетических наук (генетика вирусов, генетика бактерий, генетика человека, молекулярная генетика, цитогенетика, популяционная генетика, иммуногенетика, фармакогенетика, генетика развития и др.). Вместе с тем все специализированные генетические дисциплины связаны необходимостью совместного использования фундаментальной научной информации, которая накапливается и систематизируется в рамках общей генетики.

Генетика является теоретической основой селекции новых продуктивных форм микроорганизмов, синтезирующих антибиотики, витамины и другие биологически активные соединения, используемые в медицинской промышленности и биотехнологии, а также селекции сельскохозяйственных растений и животных.

В последнее время чрезвычайно активно развивается генетика человека, изучающая основные закономерности его наследственности и изменчивости, включая особенности геномной организации, структурно-функциональную организацию отдельных генов, механизмы их наследования и др. Самым значительным событием в генетике конца XX и начала XXI в. можно считать завершение программы «Геном человека», в рамках которой совместными усилиями ученых из разных стран были секвенированы молекулы ДНК человека.

Область генетических знаний, имеющих отношение к медицине, получила название медицинской генетики. Ее задачи заключаются в изучении генетических основ наследственной патологии человека, особенностей наследования и проявления генов патологических признаков в отдельных семьях, их распространенности в различных популяциях человека, а также в разработке вопросов классификации, диагностики, лечения, профилактики наследственных болезней и др.

Следует, однако, заметить, что разделение генетики человека и медицинской генетики имеет довольно условный характер, поскольку во многих случаях практически нельзя провести четкую границу между этими областями знания. Иными словами, невозможно рассматривать медицинские аспекты генетики в отрыве от сведений о нормальной генетической организации человека.

В свою очередь, в рамках интенсивно развивающихся генетики человека и медицинской генетики идет формирование новых специализированных научных направлений и разделов: биохимической генетики человека, цитогенетики человека, иммуногенетики человека,

популяционной генетики человека, клинической генетики, нейрогенетики, генетики сердечно-сосудистых заболеваний и др.

Особенности современного этапа генетического изучения человека определяются широким использованием молекулярно-генетических, биохимических, цитогенетических и других новейших методов исследования. Это привело к значительному прогрессу в знаниях о наследственности и изменчивости человека, в том числе о молекулярных механизмах генетических процессов, лежащих в основе нормальных и патологических состояний организма. Научные достижения в этой области открывают принципиально новые возможности для решения ряда практических задач, связанных прежде всего с ранней диагностикой, профилактикой и лечением наследственных заболеваний.

Глава 1

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Согласно современным научным представлениям все процессы, обеспечивающие жизнедеятельность организма, находятся под контролем генетической программы, записанной в молекулах нуклеиновых кислот в виде последовательности нуклеотидов и определяющей в первую очередь особенности строения всех белков, синтезируемых в клетке. У всех клеточных форм жизни и многих вирусов носителем наследственной информации является дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Молекулы рибонуклеиновых кислот (РНК) обеспечивают ее реализацию. Вместе с тем у РНК-содержащих вирусов РНК выступает в качестве генетического материала.

Первые прямые доказательства роли ДНК как носителя генетической информации получил О. Эвери с сотрудниками (O. Avery et al., 1944) в экспериментах по трансформации бактерий. Эти авторы показали, что проникновение молекул очищенной ДНК, выделенной из вирулентных пневмококков, вызывающих заболевание и гибель зараженных мышей, в клетки авирулентного штамма этих бактерий, может сопровождаться превращением (трансформацией) последних в вирулентную форму. Наиболее убедительные современные доказательства генетической роли ДНК связаны с разработкой методов геной инженерии, позволяющих искусственно конструировать гибридные (рекомбинантные) молекулы ДНК, обеспечивающие синтез белков, интересующих исследователя.

Благодаря современным молекулярно-биологическим методам были получены сведения об особенностях строения и функционирования генетического материала многих организмов, находящихся на разных уровнях организации живой материи.

1.1. СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛ ДНК И РНК

Молекула нуклеиновой кислоты представляет собой биополимер (полинуклеотид), состоящий из последовательно соединенных друг с другом мономеров (нуклеотидов). Каждый нуклеотид состоит из трех

компонентов: остатка фосфорной кислоты (фосфата), углевода (пентозы) и азотистого основания. Схема строения нуклеотида приводится на рис. 1.1.

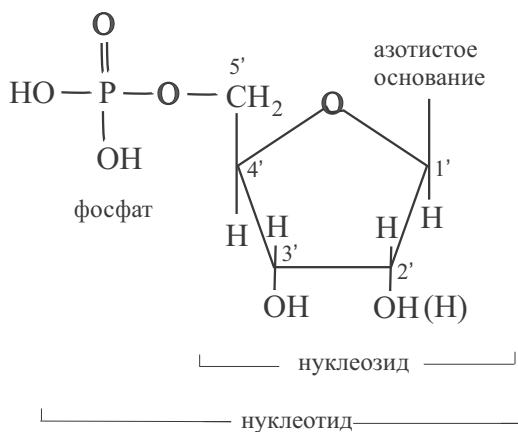


Рис. 1.1. Строение нуклеотида

Следует отметить, что нуклеотиды молекул ДНК (дезоксирибонуклеотиды) содержат углевод дезоксирибозу и одно из четырех азотистых оснований: аденин (сокращенно обозначается символом «А»), гуанин (Г), тимин (Т) и цитозин (Ц), первые два из которых относятся к пуриновым, а два последних — к пиримидиновым азотистым основаниям. В состав нуклеотидов РНК (рибонуклеотидов) входит другая пентоза (рибоза) и также одно из четырех азотистых оснований — аденин, гуанин, урацил (У) и цитозин. Поскольку в составе молекулы пентозы имеются пять атомов углерода, то каждый из них нумеруют индексом от 1' до 5' (см. рис. 1.1). Азотистые основания присоединяются к 1'-углеродному атому пентозы N-гликозидной связью, в результате чего образуется *нуклеозид*. При фосфорилировании нуклеозида формируется *нуклеотид*. Количество фосфатных групп может отличаться, в связи с чем нуклеотиды могут быть представлены нуклеозидмонофосфатами, нуклеозиддифосфатами и нуклеозидтрифосфатами.

Формирование линейной полинуклеотидной цепочки (первичной структуры молекулы нуклеиновой кислоты) происходит при соединении пентозы одного нуклеотида с фосфатом другого нуклеотида путем образования ковалентной 3'-, 5'- фосфодиэфирной связи

(рис. 1.2). При этом нуклеотид, несущий свободную фосфатную группу, называется 5'-концом цепочки, а нуклеотид на противоположном конце, содержащий свободную гидроксильную группу, — 3'-концом.

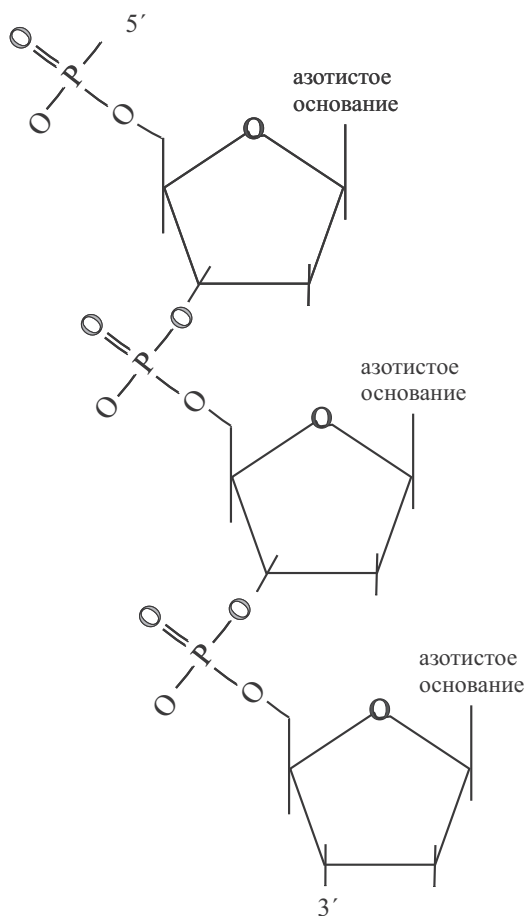


Рис. 1.2. Первичная структура ДНК

Вторичная структура ДНК была установлена Дж. Уотсоном и Ф. Криком (J. Watson, F. Crick, 1953). Предпосылкой для создания их модели молекулы ДНК послужили результаты биохимических ис-

следований Э. Чаргаффа (E.Chargaff, 1950), а также данные рентгеноструктурного анализа, проведенного Р. Франклин (R. Franklin). При изучении препаратов ДНК, полученных из клеток организмов разных видов, Чаргафф установил правило эквивалентности, согласно которому почти в любом образце ДНК содержание аденина практически равно содержанию тимина, а содержание гуанина равно содержанию цитозина, т.е. $A = T$ и $G = C$. Вместе с тем соотношение пар $A - T$ и $G - C$ (показатель $A + T / G + C$) имело значительные колебания при сравнении образцов ДНК из организмов разных видов.

Согласно модели Уотсона — Крика молекула ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепочек (нитей), соединенных друг с другом с помощью водородных связей между азотистыми основаниями по комплементарному принципу (аденин одной цепочки соединен двумя водородными связями с тиминном противоположной цепочки, а гуанин и цитозин разных цепочек соединены друг с другом тремя водородными связями). При этом две полинуклеотидные цепочки одной молекулы являются антипараллельными, т.е. напротив 3'-конца одной цепочки находится 5'-конец другой цепочки, и наоборот. Эти две антипараллельные, комплементарные полинуклеотидные цепи, соединенные водородными связями, закручены в спираль относительно друг друга и воображаемой оси. Описанная вторичная структура ДНК была названа *двойной спиралью*. Азотистые основания (гидрофобная часть молекулы) располагаются внутри спирали, сахарофосфатные остовы — по периферии (именно они определяют антипараллельную направленность цепей). На поверхности спирали формируются два желобка: большой и малый. В формировании двойной спирали, кроме водородных связей, принимают участие и так называемые стэкинг-взаимодействия между азотистыми основаниями соседних пар нуклеотидов.

Следует, однако, иметь в виду современные данные о том, что генетический материал некоторых вирусов представлен одноцепочечными (однонитевыми) молекулами ДНК.

Описанная Уотсоном и Криком структура, которая в дальнейшем получила название В-формы, является наиболее распространенной. К настоящему времени накопились сведения о том, что, помимо В-формы, можно обнаружить участки ДНК, имеющие иную конфигурацию (табл. 1.1): как правозакрученную (формы А, С), так и левозакрученную (Z-форма).

Свойства различных форм двойных спиралей ДНК

Свойство	Формы спиралей			
	A	B	C	Z
Направление скрученности	направо	направо	направо	налево
Расстояние между соседними парами оснований (нм)	0,23	0,34	0,3	0,38
Число пар оснований в одном витке спирали	10,7	10,0	9,3	12
Диаметр спирали (нм)	2,3	2,0	1,9	1,8

При повышении температуры, изменении рН, а также под влиянием других факторов может происходить денатурация ДНК (плавление, диссоциация) – разделение цепей ДНК в результате разрушения водородных связей. Величины температуры и рН, которые приводят к денатурации, зависят от нуклеотидного состава ДНК, т.е. от содержания пар А – Т и Г – Ц (числа водородных связей между нуклеотидами). Денатурация – процесс обратимый. Ренатурация ДНК (отжиг, реассоциация) – восстановление ДНК. Правильная и полная ренатурация возможна только при медленном изменении условий (понижении температуры, уменьшении рН и т.д.). При резком изменении условий полного восстановления структуры молекулы не происходит.

Вторичная структура РНК зависит от типа РНК, и, в отличие от ДНК, подавляющее большинство молекул РНК являются однонитевыми:

- матричные (информационные) РНК (мРНК, иРНК) несут информацию о последовательности аминокислот в полипептидной цепочке;
- рибосомальные РНК (рРНК) входят в состав рибосом;
- транспортные РНК (тРНК) участвуют в переносе аминокислоты к месту синтеза белка и распознают кодоны на мРНК;
- малые ядерные РНК (мяРНК) участвуют в сплайсинге;
- микроРНК, малые интерферирующие РНК (siРНК) регулируют активность генов;
- праймеры участвуют в репликации;
- вирусные РНК – носители наследственной информации РНК-содержащих вирусов.

Несмотря на наличие, как правило, всего одной цепочки (за исключением микроРНК и некоторых вирусных РНК), молекулы РНК могут формировать более сложные (вторичные) конфигурации за счет комплементарного соединения отдельных участков такой цепочки на основе взаимодействия комплементарных азотистых оснований (А — У и Г — Ц). В качестве примера можно рассмотреть тРНК, вторичная структура которой «клеверный лист», третичная структура — L-форма (рис. 1.3).

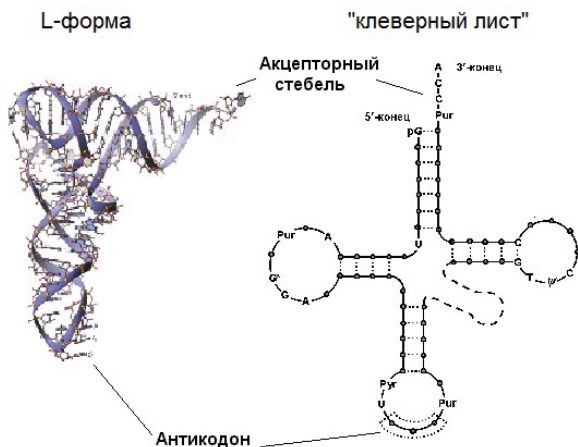


Рис. 1.3. Вторичная и третичная структура тРНК

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Проанализируйте данные, приведенные в таблице. Рассчитайте показатели A / T , G / C и $A + T / G + C$, заполнив далее соответствующие колонки таблицы. Оцените значение полученных вами результатов в плане обоснования принципа комплементарности при построении модели молекулы ДНК и видовой специфичности ДНК.

Таблица

Содержание азотистых оснований нуклеотидов ДНК (в %) и их соотношения у организмов разных видов

Организм	А	Г	Т	Ц	A / T	G / C	$A + T / G + C$
Кишечная палочка (бактерия)	24,7	26,0	23,6	25,7			
Дрожжи	31,3	18,7	32,9	17,1			
Пшеница	27,3	22,7	27,1	22,8			

Организм	А	Г	Т	Ц	А/Т	Г/Ц	А+Т/ Г+Ц
Курица	28,8	20,5	29,2	21,5			
Крыса	28,6	21,4	28,4	21,5			
Человек	30,9	19,9	29,4	19,8			

2. В препаратах ДНК, выделенной из клеток туберкулезных бактерий, содержание аденина составило 15,1% от общего количества оснований. Определите примерное количество гуанина, тимина и цитозина в этой ДНК.

3. При анализе нуклеотидного состава ДНК бактериофага М13 было обнаружено следующее количественное соотношение азотистых оснований: А – 23%, Г – 21%, Т – 36%, Ц – 20%. Как можно объяснить причину того, что в этом случае не соблюдается принцип эквивалентности, установленный Э. Чаргаффом?

4. Одна из цепей фрагмента ДНК имеет следующую последовательность нуклеотидов: 5' ...Т ГЦ Ц Т А Г А А А Ц Г Т Т А Ц Г Т А А Ц А Т ...3'

Составьте вторую цепочку данной молекулы ДНК, указывая водородные связи между нуклеотидами.

1.2. РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

Расшифровка структуры молекулы ДНК помогла объяснить и механизм ее репликации (удвоения) в клетке, состоящий в том, что каждая из двух полинуклеотидных нитей молекулы ДНК служит в качестве матрицы для синтеза новой (комплементарной) нити. В результате на основе одной двухцепочечной молекулы образуются две одинаковые двухцепочечные молекулы, в каждой из которых одна цепочка является старой, а другая – новой (вновь синтезированной). Такой принцип репликации ДНК был назван *полуконсервативным*. В соответствии с принципом антипараллельности нуклеотидная последовательность матричной (родительской) нити считывается в направлении $3' \rightarrow 5'$, тогда как синтез новой (дочерней) нити идет в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Механизм репликации ДНК является достаточно сложным и несколько различается у организмов, содержащих относительно небольшие по размерам молекулы ДНК в замкнутой (кольцевой) форме (бактерии и многие вирусы), и эукариот, клетки которых имеют молекулы огромных размеров, находящиеся в линейной (незамкнутой) форме.

Небольшая кольцевая молекула ДНК представляет собой одну структурную единицу репликации (репликон). Она имеет единственную точку начала репликации, называемую *Ori*-сайтом (от англ. *origin* — начало) и представляющую собой богатый А — Т парами участок ДНК, состоящий из 250—300 пар нуклеотидов. В *Ori*-сайте начинается процесс расхождения (расплетания) двух нитей родительской молекулы и матричного синтеза комплементарных копий (реплик) дочерней ДНК. Этот процесс продолжается непрерывно по длине копируемой структуры и заканчивается в этом же репликоне образованием двух молекул «полуконсервативного» типа. В больших линейных молекулах ДНК эукариот имеется много точек начала репликации и соответствующих им репликонов (от нескольких сотен до десятков тысяч), т.е. такая ДНК является полирепликонной.

При рассмотрении современных представлений о механизме репликации ДНК на примере прокариотической клетки можно условно выделить три последовательных этапа этого процесса, в каждом из которых принимают участие те или иные белки (ферменты).

Первый этап — подготовка ДНК-матрицы — связан с быстрым раскручиванием двух полинуклеотидных нитей спирализованной молекулы ДНК на определенном ее участке путем разрушения водородных связей между парами комплементарных оснований. При этом образуются два одноцепочечных фрагмента родительской молекулы, каждый из которых может выступать в роли матрицы для синтеза комплементарной (дочерней) нити. Этот этап инициируется в соответствующей точке начала репликации и обеспечивается ферментом, называемым *ДНК-геликазой*. В результате формируется Y-образная структура, названная вилкой репликации, в которой две родительские цепочки ДНК уже отделены друг от друга. Образовавшаяся вилка репликации быстро продвигается вдоль двойной спирали родительской молекулы ДНК благодаря активности «расплетающего» фермента ДНК-геликазы и при участии группы дестабилизирующих белков (*SSB-белки*). Эти белки обладают способностью связываться только с одноцепочечными (уже раскрученными и разделенными) участками молекулы, препятствуя возникновению на них вторичных складчатых образований («шпилек») и восстановлению вторичной структуры ДНК. Быстрое расплетание ДНК с помощью геликазы должно приводить к образованию новых витков (узлов) на участках родительской молекулы перед движущейся вилкой репликации, создающих повышенное топологическое напряжение на этих участках. Такое напряжение устраняется еще одним белком (*ДНК-топоизомеразой*), который, перемещаясь вдоль двухспиральной родительской ДНК пе-

ред вилкой репликации, вызывает временные разрывы в одной из цепочек молекулы, разрушая фосфодиэфирные связи и присоединяясь к разорванному концу. Возникший разрыв обеспечивает последующее вращение нити двойной спирали, что, в свою очередь, приводит к расплетанию образующихся супервитков (узлов). Поскольку разрезание полинуклеотидной цепочки топоизомеразой носит обратимый характер, концы быстро воссоединяются сразу после разрушения комплекса этого белка с разорванным концом.

На *втором этапе* происходит собственно матричный синтез новых (дочерних) полинуклеотидных цепей на основе известного принципа комплементарного соответствия нуклеотидов старой (матричной) и новой цепей. Этот процесс осуществляется путем соединения (полимеризации) нуклеотидов новой цепи с помощью ферментов *ДНК-полимераз* нескольких типов. Следует отметить, что ни одна из известных сегодня ДНК-полимераз не способна начать синтез нового полинуклеотида путем простого соединения двух свободных нуклеотидов. Инициация этого процесса требует наличия свободного 3'-конца какой-либо полинуклеотидной цепочки ДНК (либо РНК), которая соединена с другой (комплементарной) цепочкой ДНК. Иными словами, ДНК-полимераза способна лишь добавлять новые нуклеотиды к свободному 3'-концу имеющегося полинуклеотида и, следовательно, способна наращивать эту структуру только в направлении $5' \rightarrow 3'$. Свободный 3'-конец, необходимый для начала синтеза, обеспечивается короткой нитью РНК (около 10–15 нуклеотидов), получившей название РНК-праймера (РНК-затравки), которая синтезируется с помощью фермента *РНК-праймазы*, относящейся к РНК-полимеразам.

Тот факт, что синтез осуществляется только в направлении $5' \rightarrow 3'$, обуславливает асимметричность репликативной вилки. На одной из матричных нитей вилки ($3' \rightarrow 5'$) идет относительно быстрый и непрерывный синтез дочерней нити (ведущей, или лидирующей цепочки) в направлении $5' \rightarrow 3'$, тогда как на другой матрице ($5' \rightarrow 3'$) идет более медленный и прерывистый синтез отстающей цепочки короткими фрагментами (1000–2000 нуклеотидов), получившими название *фрагментов Оказаки*, и также в направлении $5' \rightarrow 3'$. РНК-праймеры могут синтезироваться сразу на нескольких участках матричной нити ДНК, создавая условия для одновременного синтеза нескольких фрагментов Оказаки при участии ДНК-полимеразы III, являющейся основным ферментом репликации. Когда синтезированный фрагмент Оказаки достигает 5'-конца очередного РНК-праймера, начинает проявляться 5'-экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы I, которая

последовательно выщепляет нуклеотиды РНК в направлении $5' \rightarrow 3'$, замещая удаляемый РНК-праймер соответствующим фрагментом ДНК.

Последний (третий) этап рассматриваемого процесса связан с действием фермента *ДНК-лигазы*, который соединяет $3'$ -конец одного из фрагментов Оказаки с $5'$ -концом соседнего фрагмента с образованием фосфодиэфирной связи, восстанавливая таким образом первичную структуру отстающей цепочки, синтезируемой в функционирующем репликоне.

Рассматривая синтез ДНК в эукариотической клетке, следует отметить принципиальное сходство этого процесса с таковым у прокариот. Отличия касаются ферментов, катализирующих отдельные реакции, имеющие место в ходе репликации, и полирепликонной организации молекулы ДНК различных эукариот, включая человека. Последнее обеспечивает возможность последовательного копирования генетического материала этих организмов без одновременного раскручивания (деспирализации) всей огромной по размерам и сложно упакованной молекулы, что значительно сокращает время ее репликации. Иными словами, в тот или иной момент времени в одной группе репликонов молекулы процесс копирования может быть уже завершен объединением и спирализацией соответствующих участков, тогда как в другой группе он только начинается расплетанием двухнитевых структур. Также особенностью эукариот является возникающая проблема недорепликации линейных молекул ДНК, решение которой обеспечивается наличием теломерных участков у хромосом и фермента *теломеразы*, наращивающего теломеры.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Определите направление синтеза и нуклеотидную последовательность каждой из двух дочерних нитей, которые возникнут при репликации приведенного ниже двухцепочечного фрагмента ДНК:



2. Известно, что при репликации ДНК в клетках бактерий скорость полимеризации составляет примерно 500 нуклеотидов в одну секунду. Рассчитайте время, необходимое для полного копирования однорепликонной молекулы ДНК бактериального вируса (бактериофага) среднего размера, содержащей 3×10^4 пар нуклеотидов.

3. В порядке самоконтроля полученных вами знаний о механизме репликации ДНК прокариот внесите необходимую информацию в соответствующие незаполненные колонки таблицы.

Белки (ферменты), функционирующие в вилке репликации

Названия белков	Выполняемые функции	В каком этапе репликации принимают участие
Геликаза		
ДНК-полимераза I		
SSB-белки		
ДНК-полимераза III		
Лигаза		
РНК-праймаза		
Топоизомераза		

1.3. ЗАПИСЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ В МОЛЕКУЛАХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

Одно из основных положений современной молекулярной генетики связано с признанием роли нуклеиновых кислот как носителей генетической информации, определяющей первичную структуру всех белков (полипептидов), синтезируемых в клетке. Система записи последовательности аминокислот полипептидной цепи в виде последовательности нуклеотидов ДНК или мРНК получила название *генетический код*.

В соответствии с современными представлениями генетическая информация всех живых организмов (за исключением РНК-содержащих вирусов) хранится в структуре их молекул ДНК, будучи закодированной в виде специфического чередования четырех нуклеотидов, которые могут быть дифференцированы по содержанию соответствующего азотистого основания (А, Г, Т, Ц). Информация с участка нити ДНК переписывается на основе принципа комплементарности в линейную последовательность четырех нуклеотидов РНК (А, Г, У, Ц) в процессе матричного синтеза молекулы РНК и используется затем при синтезе соответствующего полипептида. Результатом указанных событий, которые более подробно будут рассмотрены далее, является линейное соответствие аминокислотной последовательности синтезируемого полипептида нуклеотидной последовательности участка нити ДНК, кодирующего этот полипептид. Иными словами, соблюдается принцип коллинеарности полинуклеотида и кодируемого им полипептида.

Современные представления о принципах и структуре генетического кода сформировались в начале 60-х гг. XX в., когда была раз-

работана система искусственного (бесклеточного) синтеза белковых молекул *in vitro* с использованием в качестве матриц синтетических полирибонуклеотидов, имеющих заданное строение, а также рибосом и других необходимых компонентов, выделенных из бактериальных клеток. Эти эксперименты подтвердили более ранние предположения о том, что единица кодирования (кодон) представляет собой тройку нуклеотидов (триплет), которая определяет место соответствующей аминокислоты в полипептидной цепочке, т.е. генетический код является *триплетным*. С помощью указанных методов удалось расшифровать структуру всех 64 триплетов матричной молекулы РНК (число теоретически возможных сочетаний по три из четырех разных нуклеотидов ДНК либо РНК составляет $4^3 = 64$). Так, в первых биохимических экспериментах по изучению матричной активности синтезированных фрагментов РНК, состоящих только из нуклеотидов с урацилом (полиуридиловой кислоты), был обнаружен синтез полипептидных фрагментов, содержащих лишь одну аминокислоту (фенилаланин). Эти данные позволили сделать вывод, что триплет УУУ молекулы РНК (и соответствующий комплементарный триплет ААА в молекуле ДНК) является кодоном для фенилаланина. Аналогичным образом было расшифровано содержание и других кодонов РНК. Сведения о генетическом коде матричной РНК (мРНК) приведены в табл. 1.2.

Таблица 1.2

Генетический код мРНК

Первый нуклеотид триплета	Второй нуклеотид триплета				Третий нуклеотид триплета
	А	Г	У	Ц	
А	Лиз	Арг	Иле	Тре	А
	Лиз	Арг	Мет	Тре	Г
	Асн	Сер	Иле	Тре	У
	Асн	Сер	Иле	Тре	Ц
Г	Глу	Гли	Вал	Ала	А
	Глу	Гли	Вал	Ала	Г
	Асп	Гли	Вал	Ала	У
	Асп	Гли	Вал	Ала	Ц
У	Стоп	Стоп	Лей	Сер	А
	Стоп	Три	Лей	Сер	Г
	Тир	Цис	Фен	Сер	У
	Тир	Цис	Фен	Сер	Ц

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Айала Ф., Кайгер Дж.* Современная генетика. В 3 т. М. : Мир, 1986—1987.
2. Биология. В 2 кн. / В.Н. Ярыгин [и др.]. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.
3. Биология: руководство к лабораторным занятиям ; под ред. О.Б. Гигани. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012.
4. *Бочков Н.П., Пузырев В.П., Смирнихина С.А.* Клиническая генетика. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015.
5. Генетика ; под ред. В.И. Иванова. М. : Академкнига, 2006.
6. *Гинтер Е.К.* Медицинская генетика. М. : Медицина, 2003.
7. *Жимухев И.Ф.* Общая и молекулярная генетика. Новосибирск : Изд-во Новосибирского университета, 2002.
8. *Льюин Б.* Гены. М. : Бином, 2011.
9. *Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л.* Молекулярная биология. М. : Медицинское информационное агентство, 2003.
10. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы. М. : Мир, 1998.
11. *Фогель Ф., Мотульски А.* Генетика человека. В 3 т. М. : Мир, 1989, 1990.