

Биология

Ответы на вопросы

1. Законы Менделя. Типы взаимодействия аллелей. Условия выполнения законов Менделя.

- Закон единообразия гибридов первого поколения (первый закон Менделя, доминирование) — при скрещивании организмов, различающихся аллельными признаками, в первом поколении гибридов проявляется лишь один из них — доминантный, а альтернативный ему, рецессивный, остаётся скрытым. Условия выполнения:
 - а. Нормальный ход мейоза. В результате нерасхождения хромосом в одну гамету могут попасть обе гомологичные хромосомы из пары. В этом случае гамета будет нести по паре аллелей всех генов, которые содержатся в данной паре хромосом.
- Закон расщепления признаков — при скрещивании между собой двух гибридов первого поколения (или при их самоопылении) во втором поколении проявляются в определённом соотношении оба признака исходных родительских форм. Условия выполнения:
 - а. гомозиготность исходных форм;
 - б. альтернативное проявление признаков в каждой паре;
 - с. равная вероятность образования у гибрида гамет с разными аллелями;
 - д. одинаковая жизнеспособность разных гамет;
 - е. случайный характер сочетания гамет при оплодотворении;
 - ф. одинаковая жизнеспособность зигот с разными комбинациями генов;
 - г. достаточная для получения достоверных результатов численность особей во втором поколении;
 - h. независимость проявления признаков от внешних условий и от остальных генов генотипа в целом.

- Закон независимого наследования признаков — при скрещивании гомозиготных особей, отличающихся по двум и более парам альтернативных признаков, каждая из таких пар (и пар аллельных генов) ведёт себя независимо от других пар, т.е. и гены, и соответствующие им признаки наследуются в потомстве независимо и свободно комбинируются во всех возможных сочетаниях. Он основан на законе расщепления и выполняется в том случае, если пары аллельных генов расположены в разных гомологичных хромосомах.
- Аллели — различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом и определяющие альтернативные варианты развития одного и того же признака. Типы аллельных взаимодействий:
 - a. Полное доминирование — доминантный аллель полностью исключает проявление действия второго аллеля.
 - b. Неполное доминирование — доминантный аллель в гетерозиготном состоянии не полностью подавляет действие рецессивного аллеля.
 - c. Сверхдоминирование — более сильное проявление признака у гетерозиготной особи (Aa), чем у любой гомозиготной (AA , aa).
 - d. Кодоминирование — у гена есть такие аллели, которые, оказавшись в одном организме, оба полноценно проявляют себя. Ни один из них никак не подавляет другой.
 - e. Аллельное исключение — отсутствие или инактивация одного из пары генов; в этом случае в фенотипе присутствует продукт другого гена.
 - f. Множественный аллелизм — это существование в популяции более двух аллелей данного гена.

2. Митоз и мейоз как источники комбинативной изменчивости

- Митоз — способ деления эукариотических клеток, при котором сначала происходит удвоение, а затем равномерное распределение между дочерними клетками наследственного материала.

- Мейоз — способ деления эукариотических клеток, в результате которого происходит переход клеток из диплоидного состояния в гаплоидное. Мейоз состоит из двух последовательных делений, которым предшествует однократная репликация ДНК.
- Комбинативная изменчивость возникает при рекомбинации (перемешивании) генов отца и матери. Является разновидностью наследственной изменчивости, только не передается по наследству в полной мере. Источники:
 - а. Кроссинговер при мейозе (гомологичные хромосомы тесно сближаются и меняются участками).
 - б. Независимое расхождение хромосом при мейозе (каждая пара гомологичных хромосом расходится независимо от других пар).
 - с. Случайное слияние гамет при оплодотворении.

3. Взаимодействие генов (неаллельных)

- Комплементарность — вид взаимодействия, при котором признак формируется в результате суммарного сочетания продуктов их доминантных аллелей. Имеет место при наследовании ореховидной формы гребня у кур, синей окраски баклажанов, зеленого оперения у волнистых попугайчиков и пр.
- Эпистаз — вид взаимодействия, при котором одна пара генов подавляет (не дает проявиться в фенотипе) другую пару генов.
- Полимерия — это вид взаимодействия двух и более пар неаллельных генов, доминантные аллели которых однозначно влияют на развитие одного и того же признака. Полимерное действие генов может быть кумулятивным и некумулятивным. При кумулятивной полимерии интенсивность значения признака зависит от суммирующего действия генов: чем больше доминантных аллелей, тем больше степень выраженности признака. При некумулятивной полимерии количество доминантных аллелей на степень выраженности признака не влияет, и признак проявляется при наличии хотя бы одного из доминантных аллелей. Полимерные гены обозначаются одной буквой, аллели

одного локуса имеют одинаковый цифровой индекс, например $A_1a_1A_2a_2A_3a_3$.

- Плейотропия — множественное действие генов. Плейотропное действие генов имеет биохимическую природу: один белок-фермент, образующийся под контролем одного гена, определяет не только развитие данного признака, но и воздействует на вторичные реакции биосинтеза других признаков и свойств, вызывая их изменение.

4. Кариотип и способы его изучения

- Кариотип — совокупность признаков (число, размеры, форма и т. д.) полного набора хромосом, присущая клеткам данного биологического вида, организма или линии клеток. Кариотипом иногда также называют и наглядное представление полного хромосомного набора (кариограммы).
- Кариотипы клеток исследуют на стадии метафазы митоза. В этот период клеточного деления хромосомы максимально спирализованы и хорошо видны в микроскоп. Способы изучения:
 - а. Спектрального кариотипирования (флюоресцентная гибридизация FISH) — состоящая в окрашивании хромосом набором флуоресцентных красителей, связывающихся со специфическими областями хромосом. В результате такого окрашивания гомологичные пары хромосом приобретают идентичные спектральные характеристики, что не только существенно облегчает выявление таких пар, но и облегчает обнаружение межхромосомных транслокаций, то есть перемещений участков между хромосомами — транслоцированные участки имеют спектр, отличающийся от спектра остальной хромосомы.

5. Наследование признаков, сцепленных с полом

- Гены, находящиеся в половых хромосомах, называют сцепленными с полом. В X-хромосоме имеется участок, для которого в Y-хромосоме нет гомолога. Поэтому у особей мужского пола признаки, определяемые генами этого участка, проявляются даже в том случае,

если они рецессивны. Эта особая форма сцепления позволяет объяснить наследование признаков, сцепленных с полом.

- Наследование признаков, проявляющихся только у особей одного пола, но не определяемых генами, находящимися в половых хромосомах, называется наследованием, ограниченным полом.
- При локализации признаков как в аутосоме, так и в X- и Y-хромосоме наблюдается полное сцепление с полом.

6. Группы сцепления. Генетические карты эу- и прокариот (способы картирования)

- Все гены одной хромосомы образуют группу сцепления и наследуются совместно. Количество групп сцепления соответствует гаплоидному набору хромосом.
- Сцепленное наследование — наследование признаков, гены которых локализованы в одной хромосоме. Группы сцепления разрушаются при кроссинговере, когда происходит обмен участками гомологичных хромосом в профазу I мейоза. Сила сцепления между генами зависит от расстояния между ними: чем дальше гены располагаются друг от друга, тем выше частота кроссинговера и наоборот.
 - а. Полное сцепление — разновидность сцепленного наследования, при которой гены анализируемых признаков располагаются так близко друг к другу, что кроссинговер между ними становится невозможным.
 - б. Неполное сцепление — разновидность сцепленного наследования, при которой гены анализируемых признаков располагаются на некотором расстоянии друг от друга, что делает возможным кроссинговер между ними.
- Генетическая карта хромосомы — схема взаимного расположения генов, находящихся в одной группе сцепления. На основе карт проводят генетический анализ. Генетическое расстояние, на котором кроссинговер происходит с вероятностью 1%, — 1 сантиморган.
 - а. Для построения генетической карты хромосомы эукариот используют мейотический и митотический кроссинговер.

- в. У прокариот и вирусов генетические карты хромосом также строят с помощью рекомбинации.

7. Особенности организации генетического материала у эу- и прокариот

- Генетический материал эукариот расположен в хромосомах. У эукариот есть множество уровней упаковки ДНК. Специальная группа белков — гистоны, они отвечают за упаковку и уменьшение объема ДНК. Одной из особенностей — функциональная связь ДНК с белками. Информация передается от клетки к клетке в процессе митоза или мейоза. Для распределения ее между дочерними клетками в интерфазе происходит процесс удвоения количества ДНК, а в начале деления (профазе) — процесс конденсации интерфазных хромосом. Хромосомы приобретают вид компактных плотных тел. В этих структурных преобразованиях хромосом участвуют ядерные белки — гистоны, которые осуществляют суперспирализацию ДНК. Гистоны регулируют матричную активность интерфазных хромосом, т.к. связь гистона с функционирующим участком хромосомы переводит его в гетерохроматическое, т.е. сильно спирализованное и, следовательно, неактивное состояние.
- Еще одна особенность генома эукариот — избыточность ДНК. Причина — наличие повторяющихся последовательностей нуклеотидов, также в составе много нуклеотидных последовательностей, которые не кодируют структуру белков.
- Отличие эукариотических генов от генов прокариот — то, что большинство из них имеют прерывистую структуру и состоят из кодирующих участков — экзонов и некодирующих вставок — интронов.
- Генетический материал прокариот содержится в единственной кольцевой молекуле ДНК — бактериальной хромосоме. Бактериальная хромосома представляет собой кольцевую двуспиральную правозакрученную молекулу ДНК. Вторичная структура хромосомы поддерживается с помощью гистоноподобных (основных) белков и РНК. Точка прикрепления (OriC) бактериальной

хромосомы к мезосоме является точкой начала репликации ДНК. Бактериальная хромосома удваивается перед делением клетки. Репликация ДНК идет в две стороны от точки OriC и завершается в точке TerC.

8. Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот

- Гриффитц в 1927 г. обнаружил, что один наследственно определенный штамм пневмококков может быть направленно преобразован (трансформирован) в другой определенный штамм. Позднее были получены трансформации, вызываемые у бактерий одного штамма экстрактом из бактерий другого штамма. Эта вытяжка содержит часть генетического материала одной линии и передает его другой. Айвери и др. в 1944 г. показали, что активное трансформирующее вещество может быть выделено из этой вытяжки в химически чистом виде. Оно оказалось ДНК.
- Важные доказательства генетического значения ДНК были даны в 1952 г. в работе Хершей и Чейз, которые показали существенные различия в функциях белка и ДНК у бактериофага (T₂), обнаруживающихся при заражении этим фагом бактериальных клеток. Было установлено, что при заражении в клетку бактерии проникает только ДНК, а белковая часть вируса остается вне бактерии. Проникающая ДНК обеспечивает в клетке хозяина синтез себе подобных видоспецифических частиц ДНК, соответствующих данному виду бактериофага.

9. Структура ДНК. Репликация

- ДНК — это линейный органический полимер. Его мономерные звенья — нуклеотиды, которые состоят из:
 - а. азотистого основания;
 - б. пятиуглеродного сахара — дезоксирибоза (ДНК) или рибозой (РНК);
 - с. фосфатной группы.

- Основания в ДНК: пуриновые (аденин, гуанин), пиримидиновые (цитозин, тимин, урацил (РНК)).
- Две цепи ДНК образуют двойную спираль. В разных цепях ДНК азотистые основания соединены между собой с помощью водородных связей. Аденин соединяется с тимином, а цитозин – с гуанином (правило комплементарности).
- Репликация — процесс удвоения молекулы путем матричного синтеза. Двойная спираль ДНК расплетается, образуется репликационная вилка, каждая из цепей становится матрицей, на которой синтезируется новая комплементарная цепь. В репликационной вилке ДНК копирует крупный белковый комплекс (реплисома), ключевым ферментом которого является ДНК-полимераза. В результате образуются две новые двуспиральные молекулы ДНК, идентичные родительской молекуле.

10. Репарация. Механизмы репарации

- Репарация — функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённых при нормальном биосинтезе ДНК в клетке или в результате воздействия физических или химических реагентов. Осуществляется специальными ферментными системами клетки. Ряд наследственных болезней связан с нарушениями систем репарации.
- Основные типы повреждения ДНК:
 - а. Повреждение одиночных нуклеотидов;
 - б. Повреждение пары нуклеотидов;
 - в. Двухцепочечные и одноцепочечные разрывы цепи ДНК;
 - г. Образование поперечных сшивок между основаниями одной цепи или разных цепей ДНК.
- Виды репарации:
 - а. Прямая репарация — наиболее простой путь устранения повреждений в ДНК, в котором обычно задействованы специфические ферменты, способные быстро устранять

соответствующее повреждение, восстанавливая исходную структуру нуклеотидов.

- b. Эксцизионная репарация включает удаление повреждённых азотистых оснований из ДНК и последующее восстановление нормальной структуры молекулы по комплементарной цепи. Ферментативная система удаляет короткую одностороннюю последовательность двунитевой ДНК, содержащей ошибочно спаренные или поврежденные основания, и замещает их путём синтеза последовательности, комплементарной оставшейся нити. Эксцизионная репарация является наиболее распространённым способом репарации модифицированных оснований ДНК.
- c. Пострепликативная репарация — тип репарации, имеющей место в тех случаях, когда процесс эксцизионной репарации недостаточен для полного исправления повреждения: после репликации с образованием ДНК, содержащей повреждённые участки, образуются одноцепочечные бреши, заполняемые в процессе гомологичной рекомбинации при помощи белка RecA. Это единственный тип репарации, не имеющий этапа узнавания повреждения.

11. Процессы, ведущие к рекомбинации генетического материала

- Рекомбинация — перераспределение генетического материала путём разрыва и соединения разных молекул, приводящее к появлению новых комбинаций генов или других нуклеотидных последовательностей.
- Гомологичная рекомбинация:
 - a. Кроссинговер — процесс обмена участками гомологичных хромосом во время конъюгации в профазе первого деления мейоза;
 - b. Репарации двухцепочных разрывов хромосом.
- Сайт-специфическая рекомбинация — тип генетической рекомбинации, в которой при обмене цепей ДНК происходит реакция

между специфическими сайтами. Перестановка сегментов ДНК происходит путем распознавания и связывания коротких последовательностей ДНК (сайтов), в которых специальные ферменты расщепляют, переставляют и снова соединяют цепи ДНК.

- Транспозиция — обширная группа рекомбинационных процессов, происходящих при перемещении транспозонов.

12. Генетический код и его свойства

- Генетический код — единая система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот в виде последовательности нуклеотидов. Генетический код основан на использовании алфавита, состоящего всего из четырех букв А, Т, С, G, соответствующих нуклеотидам ДНК.
- Свойства:
 - а. Генетический код триплетен. Триплет (кодон) — последовательность трех нуклеотидов, кодирующая одну аминокислоту;
 - б. Вырожденность генетического кода обусловлена тем, что одна аминокислота может кодироваться несколькими триплетами (аминокислот 20, а триплетов 64);
 - с. Однозначность — каждому данному кодону соответствует одна и только одна определенная аминокислота;
 - д. Генетический код универсален, вся информация в ядерных генах для всех организмов, обладающих разным уровнем организации, кодируется одинаково;
 - е. Код не перекрывается, т.е. в последовательности оснований AGCTCTAAG первые три основания, AGC, кодируют аминокислоту 1, TCT— аминокислоту 2 и так далее.

13. Транскрипция

- Транскрипция — это процесс синтеза молекулы РНК на участке ДНК, используемом в качестве матрицы. Смысл транскрипции заключается в переносе генетической информации с ДНК на РНК.

- При транскрипции молекула РНК синтезируется в направлении от 5' к 3' концу (что естественно для синтеза всех нуклеиновых кислот), при этом по цепи ДНК синтез идет в обратном направлении: 3'→5'.
- У эукариот каждый ген транскрибируется отдельно.
- В транскрипции выделяют 3 стадии:
 - а. Инициация транскрипции позволяет начаться синтезу молекулы РНК. Инициация включает присоединение к промотору комплекса ферментов. Главным из них является РНК-полимераза;
 - б. На стадии элонгации происходит последовательное присоединение по принципу комплиментарности свободных нуклеотидов к освобожденному участку ДНК. РНК-полимераза соединяет нуклеотиды в полирибонуклеотидную цепочку;
 - с. Терминация процесса транскрипции происходит в участке-терминаторе, который распознается РНК-полимеразой благодаря специальным белковым факторам терминации. К 3'-концу синтезированной молекулы РНК присоединяется множество адениновых нуклеотидов (поли-А) для предотвращения ее ферментативного распада.

14. Трансляция

- Трансляция — процесс синтеза белка из аминокислот на матрице информационной (матричной) РНК, осуществляемый рибосомой.
- В трансляции выделяют 3 стадии:
 - а. Инициация — узнавание рибосомой стартового кодона и начало синтеза;
 - б. Элонгация — собственно синтез белка;
 - с. Терминация — узнавание терминирующего кодона (стоп-кодона) и отделение продукта.

15. Критерии аллелизма

- Аллели — различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом. В

диплоидном организме может быть два одинаковых аллеля одного гена, в этом случае организм называется гомозиготным, или два разных, что приводит к гетерозиготному организму.

- Критерии аллелизма:
 - а. Функциональный критерий основывается на том, что при скрещивании двух мутантов, несущих изменения разных генов, возникает гибрид первого поколения — дигетерозигота, имеющая дикий фенотип в силу доминирования нормальных аллелей каждого из генов;
 - б. Рекомбинационный критерий заключается в том, что только мутации в разных генах способны рекомбинировать между собой в результате кроссинговера.

16. Формирование современных представлений о гене. Сложная структура гена

- Термин “ген” — 1909 г., В. Иогансен.
- На основе синтеза генетических и цитологических представлений удалось доказать существование материальной структуры наследственности — хромосом, в которых локализованы гены.
- В конце двадцатых годов советские генетики А. С. Серебровский и Н. П. Дубинин экспериментально показали, что ген не является единицей мутации, что он имеет сложную структуру. к 1950 году ген представлялся как участок хромосомы, контролирующий развитие определенного признака, имеющий определенную линейную протяженность и способный мутировать в разных участках и быть разделенным кроссинговером. Ген комплексен, так как его отдельные участки могут различаться по функциям, и в их совместной деятельности существует определенная субординация.
- Обязательными элементами гена эукариот являются:
 - а. Регуляторные участки, расположенные в начале и конце гена, а также иногда вне гена (на некотором удалении от него). Они определяют, когда, при каких обстоятельствах и в каких типах тканей будет работать этот ген.

- b. Участок ДНК, кодирующий первичный транскрипт, включающий последовательность нуклеотидов, обнаруживаемую в молекулах РНК; интроны (для мРНК), промежуточные последовательности — спейсеры (для рРНК). Интроны и спейсеры удаляются в ходе процессинга первичных транскриптов; нетранслируемые последовательности нуклеотидов.
- c. Минимальные последовательности, необходимые для начала транскрипции (промотор) и конца транскрипции (терминатор).
- d. Последовательности, регулирующие частоту инициации транскрипции; ответственные за индуцибельность и репрессию транскрипции, а также клеточную, тканевую и временную специфичность транскрипции.
- e. Последовательности ДНК, которые влияют на пространственную конфигурацию гена в хроматине, последовательности, которые регулируют его топологию.

17. Методы работы с ДНК

- Некоторые виды бактерий при добавлении в среду чужеродной ДНК разрушали ее, в то время, как их собственная ДНК оставалась невредимой. Для этого используют ферменты — рестрикционные нуклеазы. Эти ферменты способны разрезать строго определенную — целевую — последовательность нуклеотидов ДНК. Рестриктазы не воздействуют на собственную ДНК клетки, поскольку нуклеотиды в целевых последовательностях модифицированы так, что рестриктаза не может с ними работать.
- Сшивание двух цепей делают с помощью ферментов, называемых ДНК-лигазами, которые сшивают сахаро-фосфатный остов двух цепей ДНК. Поскольку по химическому строению ДНК не отличается у разных организмов, можно сшивать ДНК из любых источников, и клетка не сможет отличить полученную молекулу от своей собственной ДНК.
- Часто приходится иметь дело со смесью молекул ДНК разной длины. Поскольку любая молекула ДНК в водном растворе отрицательно

заряжена, появляется возможность разделить смесь фрагментов ДНК различных размеров по их длине с помощью электрофореза. ДНК помещают в гель, который помещают в постоянное электрическое поле. Из-за этого молекулы ДНК будут двигаться к положительному электроду, причем их скорости будут зависеть от длины молекулы: чем она длиннее, тем сильнее ей мешает двигаться гель и, соответственно, тем ниже скорость. После электрофореза смеси фрагментов разных длин в геле образуют полосы, соответствующие фрагментам одной и той же длины. С помощью маркеров (смесей фрагментов ДНК известных длин) можно установить длину молекул в образце. Визуализировать результаты фореа можно двумя способами. Первый, наиболее часто используемый в последнее время — добавление в гель веществ, флуоресцирующих в присутствии ДНК. Другой метод заключается в использовании радиоактивных изотопов, которые необходимо предварительно включить в состав анализируемой ДНК. В этом случае на гель сверху кладут фотопластинку, которая засвечивается над полосами ДНК за счет радиоактивного излучения.

- Полимеразная цепная реакция — молекулярно-биологический метод, позволяющий добиться колоссального (до 10^{12} раз) увеличения числа копий определенного фрагмента ДНК *in vitro*. Метод основан на многократном избирательном копировании определенного участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях. Копируется только того участка ДНК, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. Чтобы синтезировать ДНК, комплементарную матрице, необходимо, чтобы один из праймеров образовал с ней водородные связи (как говорят, «отжегся» на ней). Поскольку матрица образует их со второй цепью, то сначала необходимо расплавить ДНК, — то есть разрушить водородные связи. Делают это с помощью простого нагревания (до $\approx 95^\circ\text{C}$) — стадия, называемая денатурацией. Из-за высокой температуры праймеры не могут отжечься на матрице, тогда температуру понижают ($50\text{--}65^\circ\text{C}$), праймеры отжигаются, после чего температуру немного поднимают (до оптимума работы полимеразы,

обычно, около 72 °C). И тогда полимераза начинает синтезировать комплементарные матрице цепи ДНК — это называют элонгацией . После одного такого цикла количество копий необходимых фрагментов удвоилось.

18. Регуляция генной активности у прокариот

- Французские ученые Ф. Жакоб и Ж. Моно предложили модель оперона как системы регуляции экспрессии генов бактерий. Выделим области оперона:
 - а. Промотор — структура для «старта» процесса транскрипции, к которой присоединяется фермент РНК-полимераза;
 - б. Оператор — участок присоединения белка-репрессора;
 - в. Терминатор — участок окончания синтеза генов оперона;
 - г. Ген-регулятор, кодирующий белок-репрессор. Ген-регулятор не входит в состав оперона. Он может быть с ним сцеплен, а может находиться на некотором расстоянии.
- Белок-репрессор соединяется с оператором и блокирует транскрипцию, так как препятствует перемещению РНК-полимеразы. Весь оперон оказывается «выключен». При наличии в среде индуктора он взаимодействует с белком-репрессором, в результате чего репрессор не может присоединиться к оператору. Свободный оператор «открывает путь» РНК-полимеразе, и все гены оперона транскрибируются. При удалении индуктора репрессор вновь занимает место на операторе, и транскрипция прекращается.
- Такой механизм получил название негативной регуляции. При негативной регуляции гены транскрибируются, если они не выключены регуляторным белком (белком-репрессором).
- Затем у бактерий был описан механизм позитивной регуляции. При этом способе структурные гены транскрибируются только в присутствии белка-активатора.
- Один и тот же регуляторный белок может быть репрессором для гена А и активатором для гена В. С другой стороны, для активации

некоторых оперонов необходимо два регуляторных белка, которые предварительно соединяются друг с другом.

19. Молекулярные механизмы возникновения мутаций

- Мутация — стойкое (то есть такое, которое может быть унаследовано потомками данной клетки или организма) изменение генома. Мутации делятся на спонтанные и индуцированные.
- Спонтанные мутации возникают самопроизвольно на протяжении всей жизни организма в нормальных для него условиях окружающей среды с частотой около 10^{-9} — 10^{-12} на нуклеотид за клеточную генерацию организма.
- Индуцированными мутациями называют наследуемые изменения генома, возникающие в результате тех или иных мутагенных воздействий в искусственных (экспериментальных) условиях или при неблагоприятных воздействиях окружающей среды.
- Основные процессы, приводящие к возникновению мутаций — репликация ДНК, нарушения репарации ДНК, транскрипции и генетическая рекомбинация:
 - а. Многие спонтанные химические изменения нуклеотидов приводят к мутациям, которые возникают при репликации.
 - б. При рекомбинации наиболее часто приводит к мутациям неравный кроссинговер. Обычно он происходит в тех случаях, когда в хромосоме имеется несколько дублированных копий исходного гена, сохранивших похожую последовательность нуклеотидов. В результате неравного кроссинговера в одной из рекомбинантных хромосом происходит дупликация, а в другой — делеция.
 - с. Спонтанные повреждения ДНК встречаются довольно часто. Для устранения последствий подобных повреждений имеется репарационные механизмы. Мутации возникают лишь тогда, когда репарационный механизм по каким-то причинам не работает или не справляется с устранением повреждений. Мутации, возникающие в генах, кодирующих белки,

ответственные за репарацию, могут приводить к многократному повышению (мутаторный эффект) или понижению (антимутаторный эффект) частоты мутирования других генов.

- Мутации классифицируют на:
 - а. Геномные — полиплоидизация (образование организмов или клеток, геном которых представлен более чем двумя ($3n$, $4n$, $6n$ и т. д.) наборами хромосом) и анеуплоидия (гетероплоидия) — изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору;
 - б. Хромосомные — происходят крупные перестройки структуры отдельных хромосом. В этом случае наблюдаются потеря (делеция) или удвоение части (дупликация) генетического материала одной или нескольких хромосом, изменение ориентации сегментов хромосом в отдельных хромосомах (инверсия), а также перенос части генетического материала с одной хромосомы на другую (транслокация);
 - с. Генные — менее значительны, чем при хромосомных мутациях, однако генные мутации встречаются более часто. В результате генных мутаций происходят замены, делеции и вставки одного или нескольких нуклеотидов, транслокации, дупликации и инверсии различных частей гена.

20. Регуляция генной активности у эукариот

- Система регуляции экспрессии генов у эукариот связана с особенностями функционирования эукариотического генома. Благодаря ядерной мембране, разделяются зоны транскрипции и трансляции, что позволяет осуществлять сложную и многообразную регуляцию экспрессии генов.
- Регуляция на уровне транскрипции:
 - а. Конденсация-деконденсация хроматина. При активации генетического материала он деконденсируется. С другой стороны, далеко не весь эухроматин транскрибируется. Поэтому имеются и другие пути контроля транскрипции;

- б. Метилирование ДНК внутри регуляторных областей. Метилированию подвергается цитозин в составе ЦГ-динуклеотида, что обычно приводит к инактивации гена. Деметилирование ДНК восстанавливает активность. Этот важный процесс регулируют ферменты метилтрансферазы.
- Регуляция на уровне процессинга:
 - а. Механизм альтернативного сплайсинга, позволяющий изменять порядок сшивки экзонов. На основе одной и той же нуклеотидной последовательности одного гена формируются белки, состоящие из разных сочетаний одних и тех же аминокислотных блоков.
 - б. Тканеспецифическое редактирование РНК. Оно проявляется заменой отдельных нуклеотидов в молекуле РНК при помощи специального ферментного комплекса. Если в случае замены вместо смыслового кодона образуется стоп-кодон, то в новой полипептидной цепи будут отсутствовать все аминокислоты, идущие после него. Получается белок с совершенно новыми свойствами.
- Регуляция на уровне трансляции:
 - а. Избирательная трансляция м-РНК осуществляется отбором определенных м-РНК путем блокировки доступа к рибосомам.
- Регуляция на посттрансляционном уровне также возможна. Широко распространен механизм регуляции активности ферментов, основанный на присоединении молекул-эффекторов, в роли которых часто выступают конечные продукты биосинтеза.

21. Клеточный цикл и его генетический контроль

- Клеточный цикл — период существования клетки от момента её образования путём деления материнской клетки до собственного деления или гибели.
- Клеточный цикл эукариот состоит из двух периодов:

- а. Период клеточного роста (интерфаза), во время которого идет синтез ДНК и белков и осуществляется подготовка к делению клетки. Состоит из нескольких стадий:
 - G₁-фазы (от англ. gap — промежуток), или фазы начального роста, во время которой идет синтез мРНК, белков, других клеточных компонентов;
 - S-фазы (от англ. synthesis — синтез), во время которой идет репликация ДНК клеточного ядра, также происходит удвоение центриолей (если есть);
 - G₂-фазы, во время которой идет подготовка к митозу;
 - Дифференцировавшиеся клетки, которые более не делятся, находятся в фазе покоя G₀ (имея столько же ДНК, как в G₁).
- б. Период клеточного деления. Включает две стадии:
 - Кариокинез (деление клеточного ядра). Митоз, в свою очередь, делится на пять стадий;
 - Цитокинез (деление цитоплазмы).
- Критически важными в цикле являются моменты вхождения клетки в фазу синтеза ДНК (граница фаз G₁/S) и в митоз (граница фаз G₂/M), где действуют своеобразные контрольно-пропускные пункты "checkpoints", которые проверяют целостность ДНК (готовность к ее репликации) в первом случае и завершенность репликации - во втором.

22. Уровни регуляции действия гена

- На уровне репликации. Кольцевые молекулы ДНК, кодирующие рРНК в ооцитах *Xenopus laevis*. Политенные хромосомы двукрылых.
- На уровне хроматина. Гетерохроматин и эухроматин. Модификация гистонов: метилирование, ацетилирование.
- На уровне транскрипции. Взаимодействие транскрипционных факторов по правилу ЗК: Концентрация, Конкуренция, Кооперация.
- Промоторы – 3 вида, на каждый из которых садится специфическая полимераз. РНК-полимераза I реплицирует рибосомные гены, РНК-полимераза II – структурные гены белков, РНК-полимераза III – гены,

кодирующие небольшие РНК. Промоторы РНК-полимеразы I и РНК-полимеразы II находятся перед участком инициации транскрипции, промотор РНК-полимеразы III – в рамках структурного гена

- Модуляторы – последовательности ДНК, усиливающие уровень транскрипции.
- Усилители (энхансеры) — последовательности, усиливающие уровень транскрипции и действующие независимо от своего положения относительно кодирующей части гена и состояния начальной точки синтеза РНК.
- Терминаторы — специфические последовательности, прекращающие трансляцию, и транскрипцию.
- Альтернативный сплайсинг — процесс, в ходе которого экзоны, вырезаемые из пре-мРНК, объединяются в различных комбинациях, что порождает различные формы зрелой мРНК. Из мРНК удаляются участки, не кодирующие белок (интроны) и соединяются друг с другом кодирующие аминокислотную последовательность участки — экзоны.
- На уровне трансляции. Фосфорилирование факторов трансляции.

23. Онтогенетическая изменчивость. Перестройки генетического материала в онтогенезе

- Онтогенетическая изменчивость отражает появление новых признаков в ходе индивидуального развития организма. Причина — функционирование различных наборов генов в ходе онтогенеза. Гены начинают «работать» и «выключаться» в определенном порядке согласно той программе развития, которая заложена для данного вида. Результатом этого процесса являются проявление/исчезновение определенных признаков, в том числе морфологических.
- Перестройки генетического материала в онтогенезе широко распространены и у одноклеточных организмов, и в соматических клетках многоклеточных. Они могут осуществляться на различных этапах жизненных циклов организмов. Многие из них возникают случайно, тогда как другие закономерно происходят на строго детерминированных стадиях дифференцировки определенных типов

клеток. В основе реорганизации геномов лежит генетическая рекомбинация. Рекомбинация является важным источником наследственной изменчивости. Такая рекомбинация проявляется в виде случайных событий. Рекомбинация выступает здесь как один из способов регуляции экспрессии генов. Ее участие существенно дополняет другие, более традиционные способы генетической регуляции.

24. Закон Харди-Вайнберга. Факторы динамики генетической структуры популяций

- Закон Харди — Вайнберга — положение популяционной генетики, гласящее, что в популяции бесконечно большого размера, в которой не действует естественный отбор, не идет мутационный процесс, отсутствует обмен особями с другими популяциями, не происходит дрейф генов, все скрещивания случайны — частоты генотипов по какому-либо гену (в случае если в популяции есть два аллеля этого гена) будут поддерживаться постоянными из поколения в поколение и соответствовать уравнению: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$. Здесь p^2 — доля гомозигот по одному из аллелей; p — частота этого аллеля; q^2 — доля гомозигот по альтернативному аллелю; q — частота соответствующего аллеля; $2pq$ — доля гетерозигот.
- Равновесие генотипов в популяции, основанное на сохранении относительных частот генов, изменяется под влиянием ряда постоянно действующих факторов, к которым относятся:
 - a. Мутационная изменчивость;
 - b. Действие отбора;
 - c. Миграция;
 - d. Изменение численности популяции;
 - e. Избирательность спаривания и оплодотворения и др.

25. Основные тенденции в эволюции гена

- Автономизация генов эукариот по сравнению с генами прокариот: исчезновение оперонов, сопровождаемое потерей способности к реинициации в ходе трансляции рибосомами и РНК. Это создает благоприятные условия для раздельной, а значит, и более тонкой регуляции функции отдельных генов. Автономизация генов открывает новые пути эволюции генома за счет хромосомных перестроек и транспозиций генов у эукариот.
- Олигомеризация генов находит свое отражение в распространении генов – кластеров. Возможно, это связано с потребностью в концентрации определенных ферментативных активностей, с ускорением и координацией определенных этапов метаболизма.
- Появление мозаичной структуры гена у эукариот. Интрон – экзонная структура гена распространена у эукариот. За редкими исключениями такая структура отсутствует у бактерий. Правда, в генах тРНК архебактерий интроны найдены.
- Еще одна тенденция в эволюции гена связана со специализацией и паразитизмом вирусов, т. е. максимальным использованием небольших молекул ДНК и РНК, повышающих их информационную емкость. Этим можно объяснить появление перекрывающихся генов.

26. Модификационная изменчивость. Эпигенетика

- Модификационная изменчивость — способность организмов с одинаковым генотипом развиваться по-разному в разных условиях окружающей среды. При этом изменяется фенотип, но не изменяется генотип.
- Характеристика модификационной изменчивости:
 - а. Изменяется фенотип, но не генотип — изменения фенотипа обусловлены физиологическими реакциями клеток.
 - б. Определенность (предсказуемость): конкретному действующему фактору среды соответствует определенная реакция фенотипа, свойственная данному генотипу (в большинстве случаев — всем представителям популяции).

- с. Изменения могут быть обратимыми (более или менее) или необратимыми на уровне отдельного организма, в зависимости от механизма, посредством которого осуществляется данная форма изменчивости в конкретном случае. Пример обратимого изменения — приобретение и утрата загара; сезонная перемена шубы у зайца. Пример необратимого изменения — образование рубца на месте глубокой раны.
 - d. Отсутствие устойчивого наследования возникающих изменений.
 - e. Математически выстраиваемая зависимость между силой действующего фактора среды и степенью изменения признака. Эта зависимость может иметь разный вид, и в каждом конкретном случае она определяется эволюционной историей вида.
- Эпигенетика исследует изменения активности генов, при которых структура ДНК остается прежней.
 - Эпигенетические процессы реализуются на нескольких уровнях. Метилирование действует на уровне отдельных нуклеотидов. Следующий уровень — это модификация гистонов, белков, участвующих в упаковке нитей ДНК. От этой упаковки также зависят процессы транскрипции и репликации ДНК. Отдельная научная ветвь — РНК-эпигенетика — изучает эпигенетические процессы, связанные с РНК, в том числе метилирование информационной РНК.

27. Клонирование генов. Генная инженерия

- Развитие молекулярной генетики с 70-х гг. в значительной степени основано на разработке и совершенствовании методов анализа и манипулирования ДНК. Так называемая «генная (генетическая) инженерия» имеет практические приложения во многих областях. Поскольку полностью исключить биологический риск невозможно, при использовании методов генной инженерии необходим осторожный подход. Опишем методы генной инженерии:
 - а. Эндонуклеазы рестрикции. Большинство методик в генной инженерии включают выделение определенных фрагментов

ДНК (DNA) и последующее их соединение с другими фрагментами для получения новых комбинаций генов. Для этих целей используются ферменты, которые специфически разрезают и вновь сшивают молекулы ДНК. Наиболее важной группой ферментов являются эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы), катализирующие специфическое расщепление двунитевой ДНК. Известно большое число рестриктаз. Для их обозначения используются сокращенные названия микроорганизмов - продуцентов. В качестве примера рассмотрим EcoRI — эндонуклеазу, выделенную из *Escherichia coli*. Подобно многим другим рестриктазам, этот фермент расщепляет ДНК по палиндромной последовательности, т. е. короткому сегменту ДНК, в котором обе цепи при считывании в направлении 5'→3' имеют одинаковую последовательность. Для EcoRI это последовательность 5'-GAATTC-3'. Гомодимер EcoRI расщепляет фосфодиэфирные связи обеих цепей между G и A. Это приводит к образованию комплементарных «липких» концов (AATT), которые удерживаются вместе за счет спаривания оснований. Их, однако, можно легко отделить друг от друга путем небольшого нагревания. При охлаждении липкие концы гибридизуются вновь в правильной ориентации. Места расщепления можно соединить с помощью ДНК-лигазы.

- в. Клонирование ДНК. Обычно содержание в клетке какого-либо сегмента ДНК очень незначительно. Поэтому для проведения экспериментов с фрагментами ДНК их необходимо многократно копировать (клонировать). В классической методике клонирования ДНК используется способность клеток бактерий поглощать и реплицировать короткие кольцевые молекулы ДНК, известные как плазмиды. Сначала клонируемый фрагмент ДНК вырезается из исходной ДНК с помощью рестриктазы (см. выше). Для демонстрации метода рассмотрим расщепление с помощью EcoRI. Обычно используются два разных фермента. В качестве переносчика («вектора») служит плазида с единственным участком, узнаваемым EcoRI. Кольцевая

плазмида линейризуется с помощью EcoRI и затем смешивается с изучаемым фрагментом ДНК. Поскольку фрагмент и вектор имеют одинаковые липкие концы, некоторые из молекул будут гибриризоваться таким образом, что клониремый фрагмент окажется интегрированным в структуру вектора. Затем концы линейной молекулы ковалентно сшиваются с помощью ДНК-лигазы с образованием новой («рекомбинантной») плазмиды. При обработке большого количества клеток некоторые из них поглощают рекомбинантную плазмиду (так называемая трансформация). Трансформированные клетки реплицируют плазмиду вместе с собственным геномом. Обычно используют плазмиды, придающие трансформированной клетке устойчивость (резистентность) к определенному антибиотику. При инкубации популяции клеток в присутствии антибиотика будут реплицироваться только те клоны, которые содержат плазмиду. Из полученного клона выделяют плазмиду и после расщепления рестриктазой EcoRI получают множество копий клонированного фрагмента ДНК.

28. Транскрипты, не кодирующие белки

- Геном эукариотических организмов активно транскрибируется, однако только ничтожная часть транскриптов приходится на матричные РНК (мРНК), которые кодируют белки. Большинство транскриптов так и остаются РНК, хотя и могут подвергаться различным модификациям. Эти транскрипты называют некодирующими РНК (нкРНК). Наиболее изучены такие нкРНК, как рибосомные (рРНК) и транспортные (тРНК), однако известно множество других типов некодирующих РНК, которые, как правило, участвуют в процессах, регулирующих экспрессию генов, например, микроРНК или днкРНК длиной больше 200 нуклеотидов. Некоторые нкРНК представляют собой не линейные молекулы, а ковалентно замкнутые в кольцо (кольцевые РНК).
 - а. Длинные некодирующие РНК. Данная группа очень разнородна: некоторые ее представители являются

антисмысловыми РНК (то есть транскриптами, считанными с белок-кодирующих генов, но в обратном направлении); другие соответствуют вырезанным из мРНК интронам; наконец, третьи считываются с длинных межгенных промежутков. Они могут регулировать транскрипцию белок-кодирующих генов, связываться с различными белками, влияя на их функционирование, а также контролировать процессы созревания других РНК, их экспорт из ядра и синтез белка.

- в. Кольцевые РНК в большинстве своем содержат экзоны, однако типичная трансляция в их случае невозможна. Для посадки рибосомы на обычную мРНК необходим 5'-концевой кэп — видоизмененный гуаниновый нуклеотид. У кольцевых РНК нет концов, поэтому у них не может быть и кэпа. Однако некоторые клеточные и многие вирусные РНК транслируются без помощи кэпа. Для посадки рибосомы на них необходим особый элемент вторичной структуры, известный как IRES (англ. internal ribosome entry site).
- Наряду со специфическими эффектами, связанными с трансляцией конкретных некодирующих РНК, трансляция нкРНК в целом также может иметь значение для физиологии клетки и развития болезней. Методы, которыми мы сейчас располагаем, не позволяют идентифицировать редкие или быстро разрушаемые пептиды, которые, тем не менее, могут быть физиологически значимы. Многие некодирующие РНК транслируются только в клетках определенного типа или при особых условиях. Наконец, сама трансляция может иметь эффекты, не связанные с образованием новых белков. В некоторых случаях трансляция запускает разрушение транслируемого транскрипта.

29. Центральная догма молекулярной биологии

- Центральная догма молекулярной биологии — обобщающее наблюдаемое в природе правило реализации генетической информации: информация передаётся от нуклеиновых кислот к белку, но не в обратном направлении. Правило было сформулировано

Френсисом Криком в 1958 году и приведено в соответствие с накопившимися к тому времени данными в 1970 году. Переход генетической информации от ДНК к РНК и от РНК к белку является универсальным для всех без исключения клеточных организмов, лежит в основе биосинтеза макромолекул. Репликации генома соответствует информационный переход ДНК → ДНК. В природе встречаются также переходы РНК → РНК и РНК → ДНК (например у некоторых вирусов), а также изменение конформации белков, передаваемое от молекулы к молекуле.

30. Эколого-генетические модели

- Экологическая генетика — это область знания, исследующая взаимовлияние генетических процессов и экологических отношений. Наука опирается на мощную методологию генетического анализа и использует весь методический арсенал экологии.
- Генетические подходы в экологической генетике базируются на двуединстве методологии генетического анализа, оперирующего понятиями наследственности и изменчивости. Прежде всего наследственность - это свойство сходства родственных организмов, их способность передавать определенные признаки из поколения в поколение. Генетический анализ вскрывает гены, контролирующие все разнообразие признаков, изучает их наследование и локализацию в геноме. Следует особо остановиться на важном для генетики понятии элементарных признаков, то есть таких признаков, различия по которым наследуются в соответствии с менделевской моногибридной схемой как аллели одного гена. Очевидно, что в природе дело обстоит, как правило, значительно сложнее и мы сталкиваемся обычно с полигибридными схемами наследования. Тем не менее установление элементарных признаков, разложение более сложных признаков на составляющие их элементарные и являются важнейшей задачей генетического анализа.
- Экологические отношения делят на синэкологические (отношения между организмами) и аутэкологические (отношения организмов с окружающей средой).

- Применение методов генетического анализа связано с выявлением элементарных признаков. Это же справедливо и для генетического анализа экологических отношений, которые обычно сложны. Поэтому необходима разработка специальных эколого-генетических моделей. Большую помощь в этих случаях оказывает знание пищевых цепей, особенно если в них организмы одной экосистемы выступают как продуценты и потребители каких-либо метаболитов. Пример такой модели — взаимоотношение членистоногих - клещей, насекомых и высших растений. В этой системе насекомые-вредители сельского хозяйства и сельскохозяйственные растения связаны как потребители и продуценты стерина. Стерины, которые членистоногие не могут синтезировать самостоятельно, тем не менее являются для них незаменимыми метаболитами. Насекомые получают их с пищей из растений. Выявление генов, отвечающих за элементарные экологические отношения, позволяет использовать генетический контроль для регулирования этих отношений и тем самым выбирать оптимальную стратегию сдерживания вредителей сельского хозяйства вместо того, чтобы вести с ними тотальную войну на уничтожение.