

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ПОГОДЖЕНО:

Заступник голови ВАК України

_____ 20 р.
“ ” _____

“ЗАТВЕРДЖЕНО”

Атестаційною комісією

МОН України

від

**ПРОГРАМА
зі спеціальності**

091 Біологія
(галузь знань 09 Біологія)

Київ – 2016

РОЗДІЛ 1 МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ

I. ВСТУПНА ЧАСТИНА

1. Молекулярна біологія, її характеристика як науки.
 - а). Завдання молекулярної біології у пізнанні основних закономірностей життєдіяльності.
 - б). Білки і нуклеїнові кислоти: загальне поняття про функції білків і нуклеїнових кислот. Структурна характеристика білків і нуклеїнових кислот як біополімерів. Рівні структурної організації біополімерів та їх біологічне значення. Надмолекулярні структури. Проблема впізнавання і проблема каталізу у функціонуванні біологічних макромолекул.

II. СТРУКТУРА І ВЛАСТИВОСТІ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

1. Первинна структура нуклеїнових кислот.
 - а). Нуклеотиди – мономери нуклеїнових кислот. Пуринові та піримідинові азотисті основи; кето-енольна таутомерія. Цукрові компоненти нуклеотидів та їх конформація. Нуклеотид: глікозидний зв'язок; фосфатний залишок, його положення. Різні типи нуклеотидів.
 - б). Міжнуклеотидні зв'язки, полярність лінійного ланцюга.
 - в). Хімічна деградація нуклеїнових кислот, специфічне розщеплення за певними нуклеотидами.
 - г). Ензиматична деградація нуклеїнових кислот. Екзонуклеази та ендонуклеази. ДНКазы та РНКазы, нуклеотид-специфічні нуклеази.
 - д). Екстракція нуклеїнових кислот і розділення ДНК та РНК. Принципи кількісного визначення нуклеїнових кислот. Ультрафіолетове поглинання нуклеїнових кислот і його застосування.
 - е). Кількісні співвідношення азотистих основ у нуклеїнових кислотах. Правила Чаргаффа. Видова специфічність складу ДНК і РНК. Фізичний метод визначення складу ДНК. Рівноважне центрифугування у градієнті густини.
 - ж). Нуклеотидні послідовності нуклеїнових кислот. Методи секвенування нуклеїнових кислот: метод Максама-Гілберта та метод Сенгера. Флуоресцентні методи секвенування ДНК, автоматичні секвенатори. Секвенування геномів. Бази даних нуклеотидних послідовностей, біоінформатика.
 - з). Значення вивчення первинної структури ДНК для розв'язання проблем еволюції та систематики організмів. Геносистематика.
2. Фізико-хімічні властивості функціональних груп нуклеїнових кислот та нековалентні взаємодії між ними.
 - а). Фосфатні групи і поліелектролітна природа нуклеїнових кислот. Вплив іонної сили на конформаційні зміни поліелектроліту та агрегацію.

- б). Азотисті основи і водневі зв'язки між ними. Гідрофобні взаємодії азотистих основ у полінуклеотидах (стекінг).
3. Макромолекулярна структура ДНК.
- а). Подвійна спіраль ДНК Уотсона-Кріка. Принцип комплементарності та його біологічне значення. Реалізація водневих зв'язків і гідрофобних взаємодій. Гіпохромізм ДНК. Параметри подвійної спіралі ДНК в В- та А-формах. С-,D-,Е- і Т-форми ДНК. Лівоспіралізована Z-форма ДНК. Умови переходів між різними формами ДНК.
- б). Денатурація двоспіральної ДНК. Вплив іонної сили, гідрофобних розчинників, органічних денатурантів, рН, температури. Плавлення подвійної спіралі ДНК; зв'язок температури плавлення з нуклеотидним складом. Гіперхромний ефект. Денатурація ДНК як перехід спіраль – клубок. Природа кооперативності. Ентальпія і ентропія переходу. Вільна енергія стабілізації нативної структури.
- д). Ренатурація ДНК.
- е). Молекулярна гібридизація ДНК. Встановлення гомології нуклеотидних послідовностей ланцюгів ДНК методом молекулярної гібридизації. Гібридизація РНК – ДНК.
4. Топологія кільцевої ДНК, суперспіралізація ДНК.
5. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та інші методи ампліфікації ДНК.
- а). Схема ПЛР, критичні компоненти реакції, конструювання праймерів.
- б). Термостабільні ДНК-полімерази.
- в). Методи ПЛР: стандартна, асиметрична, множинна ПЛР, ПЛР з “гарячим стартом”. Метод ПЛР, об'єднаний із зворотною транскрипцією. ПЛР *in situ*.
- г). Кількісний метод ПЛР (ПЛР в реальному часі).
- д). Одночасна ампліфікація послідовностей цілого генома.
- е). Альтернативні способи ампліфікації нуклеїнових кислот *in vitro*.
6. Макромолекулярна структура РНК.
- а). Одноланцюгові РНК, спіралізація в РНК (вторинна структура). Комплементарні взаємодії; неканонічні типи спарювання основ.
- а). Конформаційні властивості РНК; гіпохромізм РНК, характеристична в'язкість; оборотність теплової денатурації. Третинна структура РНК.

ІІІ. СТРУКТУРА І ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ.

1. Первинна структура білків.
- а). Амінокислотні залишки – мономери білкових ланцюгів. Типи амінокислот та їх будова. Формування поліпептидного ланцюга, пептидний зв'язок.
- б). Методи виділення та характеристики білків і пептидів.
- в). Стратегія визначення амінокислотної послідовності. Протеолітичне та хімічне розщеплення, розділення та ідентифікація пептидів. Автоматичне секвенування пептидів та білків, реконструкція амінокислотних

послідовностей білків. Визначення нуклеотидних послідовностей генів, які кодуєть білки, та виведення амінокислотних послідовностей з кДНК.

г). Мас-спектрометрія як метод ідентифікації білків.

д). Значення вивчення первинної структури білків для вирішення проблеми еволюції та систематики організмів.

2. Просторова структура білків.

а). Основні типи конформації дипептидної одиниці. Карти Рамачандрана.

б). Вторинна структура білків. Спіральні та бета-структурні ділянки у глобулярних білках. Зігнутість бета-структурних шарів у глобулярних білках (правопропелерність). Зв'язок вторинної структури із амінокислотою послідовністю. Основні положення стереохімічної теорії вторинної структури глобулярних білків. Статистичні закономірності у розподілі амінокислотних залишків у спіральних, бета-структурних і нерегуляторних ділянках глобулярних білків. Експериментальні методи вивчення вторинної структури білків. Оптичні методи: метод циркулярного дихроїзму, інфрачервона спектроскопія.

в). Третинна структура білків. Природа сил, які стабілізують тримірну структуру білка. Рентгеноструктурний аналіз глобулярних білків. Основні структурні характеристики глобулярних білків із відомою просторовою структурою. Компактність форми, наявність щільноупакованих гідрофобних ядер і полярної оболонки. Доменна структура.

г). Четвертинна структура білків. Типи взаємодій між субодиницями в олігомерних білках. Симетричні олігомерні структури із ідентичних субодиниць. Функціональні переваги субодиничого білка перед мономером. Макромолекулярні комплекси білків.

д). Фібрилярні білкові структури.

2. Денатурація білків: порушення нативної конформації білків зміною температури, рН, органічними денатурантами.

3. Самоорганізація білкових структур. Самоорганізація вторинної структури білків, парадокс Левінталя. Термодинаміка та кінетика згортання поліпептидного ланцюга, проміжні стани. "Розплавлена глобула" як інтермедіат фолдингу білків.

4. Молекулярні шаперони, їх роль у фолдингу білків. Типи шаперонів та їх характеристика. Шаперони бактерій та еукаріотів. Стресові білки як шаперони. Шапероніни та АТР-залежний фолдинг білків. Структура і механізм функціонування шапероніна GroEL.

5. Природно-неструктуровані білки - нативні білки з частково розгорнутою конформацією. Перегляд парадигми взаємовідношення структура-функція в білках. Експериментальні методи вивчення неструктурованих білків. Неструктуровані домени в процесах транскрипції, молекулярного впізнавання, мембранного транспорту, передачі сигналу.

6. Функції білків: ферменти, трансферні білки, запасні білки, скорочувальні білки, захисні білки крові, токсини, гормони, структурні білки.

7. Функціонування ферментів. Активні центри ферментів та їх будова. Субстратна специфічність ферментів та механізм дії. Мікросередовище активного центру ферментів. Фізико-хімічні механізми ферментативного каталізу, вільна енергія сорбції субстрату як джерело прискорення ферментативної реакції. Фермент-субстратні комплекси. Індуковані зміни конформації субстрату і ферменту (модель Кошланда).
Регуляція ферментативної активності. Інгібування. Аlostерична регуляція активності ферментів. Аlostеричні білки та їх біологічна роль. Значення четвертинної структури білків. Регуляція за принципом зворотного зв'язку. Особливості кінетики реакцій за участю аlostеричних ферментів.
7. Комплекси ферментів та їх функціональна роль. Механізми "каналювання" субстратів.
8. Пріони. Перебудова вторинної структури при конверсії нормального пріону в патогенну форму. Мутації та поліморфізм пріонів. Структурні аналогії пріонів та серпінів. Пріони та молекулярні хвороби. Амілоїди та хвороба Альцгеймера
9. Протеоміка. Визначення, напрями досліджень, методичні підходи. Синтез і процесинг протеому.

IV. СТРУКТУРА ВІРУСІВ

1. Вірусні нуклеопротеїди. ДНК-вмісні та РНК-вмісні віруси. Типи вірусних нуклеїнових кислот (однотяжні та двотяжні ДНК і РНК, лінійні та кільцеві молекули. Функції вірусної нуклеїнової кислоти та вірусних білків.
Структура вірусів Принципи збирання вірусів.

V. СТРУКТУРА ХРОМОСОМ.

1. Два рівні організації упакування ДНК у живій природі: "вільне" (віруси, бактерії), та нуклеопротеїдне (вищі організми) форми. Фагова "хромосома". Компактна форма ДНК у віріоні та активна розгорнута форма фагової "хромосоми". Бактеріальна "хромосома".
2. Хромосоми вищих організмів.
 - а). Хромосома як клітинний дезоксирибонуклеопротеїд (ДНП).
 - б). Гістони як специфічні білкові компоненти ДНП, типи гістонів. Будова, особливості амінокислотного складу і конформація гістонів.
 - в). Структура хроматину. Нуклеосоми та їх будова. Лінкерна ДНК та її доступність до нуклеаз. Посттрансляційні модифікації гістонів: метилування, фосфорилування, ацетилювання. Наднуклеосомна укладка хроматину: фібрила 30 нм. Петельний рівень організації хроматину, взаємодія хроматинової фібрили з ядерним матриксом.
 - в). Активна інтерфазна і неактивна конденсована хромосома. їх структурна відмінність. Будова мітотичної хромосоми. Інтерфазна хромосома як поєднання функціонуючого і нефункціонуючого стану нуклеопротеїду. Сателітні ДНК і організатор ядерця як компоненти гетерохроматину.

УП. ГЕНЕТИЧНА ФУНКЦІЯ ХРОМОСОМ

1. Локалізація генів у хромосомах, принцип лінійного розташування генів у хромосомі. Кореляція між впливами на ДНК і мутаціями у вищих організмів.
2. Картування геномів. Фіксоване розташування генів вздовж молекули ДНК. Використання явища кросинговеру із подальшим визначенням частоти рекомбінантів для встановлення відносної локалізації генів вздовж хромосоми (ДНК). “Фізичне” картування генів: гетеродуплексний делеційний і рестрикційний аналіз.
3. Поняття про мутацію як про точкову зміну в певній ділянці ДНК. Фенотипове вираження мутації: зміна, ослаблення або випадання функції. Мутації різних генів. Транзиції та трансверсії.
4. Визначення меж гена. Цис-транс-тест і поняття “цистрон”; еквівалентність цистрона і гена. Явище міжгенної комплементарності як основа тесту. Міжгелетна (внутрішня) комплементарність. Механізм домінування.
5. Білок заданої структури як реалізація специфічності гена. Заміна амінокислоти як структурний прояв мутації гена. Колінеарність гена і поліпептидного ланцюга. Гени, що перекривають один одного. Мозаїчні гени. Некодуєчі вставки (“інтрони”) в кодуєчих послідовностях у генах еукаріотів. Процесинг і сплайсинг про-РНК.

УШ. РЕДУПЛІКАЦІЯ, РЕКОМБІНАЦІЯ І МОДИФІКАЦІЯ ДНК.

1. Редуплікація ДНК. Механізми редуплікації .
 - а). Біосинтез ДНК. Роль матриці, дНТФ, утворення комплементарного продукту. Точність редуплікації ДНК. Розплетення подвійної спіралі ДНК-матриці, “розплітаючі” білки. Фрагменти Оказакі.
 - б). ДНК-полімерази E.coli. ДНК-полімераза I Корнберга , її ферментативні активності (полімеризуюча, 3”-5”, 5”-3”-екзонуклеотичні), їх роль у синтезі ДНК та корекції .
 - г). ДНК-лігази. Роль в утворенні ДНК.
 - д). ДНК полімерази II і III. Гени E.coli, що кодують ДНК-полімерази. Механізм утворення другої нитки на однострункових ДНК бактеріофагів M13 і ФХ174. Синтез однострункової ДНК на реплікативній формі вірусних ДНК. РНК-полімерази, які утворюють РНК-праймери для ініціації синтезу ДНК. Ініціаторний комплекс: ДНК-полімераза III, білкові кофактори, ДНК-залежна АТФаза, “розплітаючий” білок, АТФ. Елонгація ДНК.
 - є). Білки, що каталізують розрив - поєднання ниток ДНК: топоізомераза I (“ДНК-релаксаза”) і II (“ДНК-гіраза”). Роль у редуплікації ДНК. Надспіралізація ДНК під час збирання нуклеосом.
 - ж). Регуляція редуплікації хромосом бактерій. Поняття про реплікон.
 - і). Схема реплікону. Білок гена A фага ФХ174 як ініціатор реплікації ДНК. Нуклеотидна послідовність місця початку реплікації.

- й). Редуплікація хромосом вищих організмів. Множинність репліконів у хромосомах. Ампліфікація і магніфікація генів рРНК.
- к). “Хромосоми” мітохондрій і пластид.
2. Синтез ДНК на матриці РНК (“зворотна” транскрипція). Роль праймерів. тРНК як праймери для зворотної транскрипції.
3. Молекулярні механізми мутацій.
- а). Мутації, що виникають у процесі редуплікації ДНК. Виникнення спонтанних мутацій внаслідок таутомеризації або іонізації пуринового чи піримідинового кільця в момент реплікації. Мутації, індуковані включенням бром-урацилу в ДНК.
- б). Точкові мутації, спричинені прямою хімічною зміною нуклеотидів у ДНК. Генетичні та структурні наслідки точкових мутацій.
- в). Мутації із зсувом рамки зчитування (делеції та вставки нуклеотидів).
- г). Полярні мутації внаслідок інсерцій IS - елементів і фагів типу Mu.
4. Генетичний код.
- а). Поняття про кодове відношення, про кодони, про перекривання кодонів, про виродженість.
- б). Експериментальний доказ перекривання кодонів за допомогою точкових мутацій.
- в). Експериментальний доказ триплетності коду за допомогою мутацій, індукованих акридиновими барвниками (дослід Кріка-Бреннера).
5. Модифікація і рестрикція ДНК.
6. Репарація пошкоджень ДНК.
7. Генетична рекомбінація.
- а). Типи генетичної рекомбінації у бактерій і фагів.
- б). Механізм інтеграції епісом, помірною фага і ділянки хромосоми до генома реципієнтної бактерії. Сайт-специфічна і неспецифічна рекомбінації. Транспозони: мігруючі елементи, оточені IS - елементами. Роль повторюваних послідовностей ДНК у рекомбінації.
- в). Молекулярні механізми трансдукції, трансформації, рекомбінації фагів і епісом.
- г). Ампліфікація і магніфікація генів рибосомних РНК. Мультиплікація генів при селекції на стійкість до інгібіторів ферментів (дигідрофолат-редуктаза). Подібність із процесом мультиплікації факторів резистентності у бактерій. Мігруючі генетичні елементи еукаріотів і генетична нестабільність: Ту-елементи дріжджів, МДГ дрозодів. Спільність будови мігруючих елементів. Ретровіруси як мігруючі елементи хребетних тварин.
- д). Подібність процесів редуплікації, репарації та рекомбінації ДНК. Ензимологія генетичних процесів: система ферментів і білкових факторів, що працюють на ДНК.

ІХ. ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ.

1. Генні конструкції.

- а). Створення специфічних трансдукуючих фагів, що несуть задані гени.

- б). Хімічний синтез гена за Корана. Використання лігази.
- в). Синтез кДНК РНК-залежними ДНК-полімеразами.
- г). Включення фрагментів ДНК до складу плазмід і фагів *in vitro*. Використання рестриктаз і ДНК-лігаз. Трансформація (трансфекція) бактерій гібридними плазмідами і фагами. Селекція трансформантів.
- 2. Вектори та їх властивості. Косміди та фазміди. Штучні хромосоми. Інтегруючі та бінарні (човникові) вектори.
- 3. Транскрипція і трансляція чужорідних генів у клітинах бактерій.
- 4. Конструювання експресуючих векторів та їх функціонування.
- 5. Експресія рекомбінантних білків. Експресуючі системи мікроорганізмів. Клітини дріжджів як експресуючі системи. Бакуловірусні системи експресії. Системи експресії, що базуються на культурах клітин тварин. Безклітинні системи експресії. Очистка рекомбінантних білків з використанням афінних амінокислотних послідовностей.
- 6. Введення до клітин рослин і тварин генів, трансгенні організми.
- 7. Генна терапія.

X. ТРАНСКРИПЦІЯ І БІОСИНТЕЗ РНК

- 1. Матричні РНК. Гібридизація мРНК із ДНК. Короткоживучі та стабільні мРНК. Поняття про оперони і поліцистронні мРНК. Матричний синтез РНК.
 - а). РНК-полімеразна реакція. Комплементарність продукту матриці.
 - б). Етапи синтезу РНК. Приєднання РНК-полімерази до ДНК. Поняття про промотори. “Розгортання” промоторів. Послідовність нуклеотидів у промоторах. Ініціація, елонгація і термінація синтезу РНК. Антибіотики - інгібітори транскрипції.
 - в). Структура РНК-полімераз. Роль її субодиниць у транскрипції.
- 2. Регуляція транскрипції у бактерій.
 - а). “Класична” схема оперона за Жакобом і Моно. Індукція і репресія синтезу ферментів.
 - б). Регуляція синтезу рибосомних РНК і білків. Одиниці транскрипції – попередники рРНК. “Суворий” і “помірний” контролю синтезу рРНК. Роль гуанозинтеру і пентафосфатів. Механізм їх утворення у рибосомах.
 - в). Фактор термінації транскрипції (S-фактор). Атенюатори в оперонах бактерій. Нуклеотидна послідовність термінаторів, -залежна і -незалежна термінація. Антитермінатори.
 - г). Взаємодія і роль різних механізмів регуляції транскрипції у прокариотів.
- 3. Регуляція транскрипції у еукаріотів.
 - а). Стабільність мРНК.
 - б). Дані про регуляторні ділянки генів. Позитивна та негативна регуляція у клітинах еукаріотів.
 - в). Можлива роль гістонів і негістонових білків хроматину. Модифікація гістонів. Матрична активність хроматину.
 - г). Унікальні та повторювані структурні гени білків. Псевдогени.

- д). Загальна структура генома; унікальні та повторювані послідовності у ДНК. Кінетика ренатурації ДНК. Сателітні ДНК.
 - е). Гени рибосомальних ДНК у еукаріотів. Попередники рРНК та їх дозрівання. Організатори ядерець. Мутації у генах рРНК.
 - ж). РНК-полімерази еукаріотів.
 - з). Попередники мРНК, їх структура . Інформосоми. Типи інформосом, їх внутрішньоклітинна локалізація, склад і особливості будови. РНК-зв'язуючий білок інформосом. Функціональна роль інформосом .
4. Ферментативний синтез РНК на матриці РНК під час вірусної інфекції (РНК-вмістними вірусами).
- а). Проблема редуплікації вірусної РНК. РНК-залежна РНК-полімераза. Бактеріальні РНК-вмістні віруси. Хімія РНК-синтезної реакції.
 - б). Специфічність ферменту стосовно матриці. Характер продукту РНК-синтезної реакції. Реплікативна форма РНК, її стійкість до РНКаз. Виділення, властивості, комплементарність ланцюгів. Комплементарний синтез “-“ і “+” ланцюгів. “Реплікативний інтермедіат”.
5. Експресія геномів. Транскриптома і протеом. Мікроарей-технології. Синтез і процесинг протеому. Структурна геноміка. Інтерактоміка та мережі взаємодії білків.

XI. ПРОЦЕСИНГ РНК

1. Процесинг мРНК. Формування та хімічна структура кепу. Поліаденилування мРНК, його механізм та зв'язок із термінацією транскрипції. Загальна синхронізація транскрипції та процесингу. Послідовність хімічних реакцій сплайсингу. Організація сплайсосоми. Механізм каталізу реакцій сплайсингу. Білки-регулятори сплайсингу, загальний механізм їхньої дії. Альтернативний сплайсинг.
2. Механізми сплайсинга рРНК. Самосплайсинг рРНК Tetrahymena. РНК як каталізатор: розширення поняття біохімічного каталізу. Рибозими, їх типи.
3. Процесинг тРНК.

XII. БІОСИНТЕЗ БІЛКА

1. Транспортні РНК і аміноацил-тРНК-синтетази.
 - а). Відкриття тРНК. Адапторна гіпотеза Кріка і її докази. Ізоакцепторні тРНК.
 - б). Структура тРНК.
Первинна структура: довжина ланцюгів, 3'-кінець, “мінорні” нуклеотиди, консервативні ділянки; вторинна структура: “листок конюшини”, двоспіральні та односпіральні ділянки, канонічне і неканонічне спарювання основ; третинна структура.

- в). Аміноацил-тРНК-синтетази: специфічність, різноманітність, субдинична структура. Особливості еукаріотних синтетаз.
- г). Аміноацильовання тРНК; помилки і механізми корекції.
3. Рибосоми.
- а) Прокаріотний та еукаріотний типи рибосом. Субклітинна локалізація рибосом.
- б) рРНК та рибосомні білки.
- б) Просторова структура рибосом. Функції субчастинок рибосом. Функції зв'язування: зв'язування і утримання матричного полінуклеотиду (мРНК-зв'язуюча ділянка); утримання пептидил тРНК або деацильованої тРНК (тРНК-зв'язуюча Р-ділянка); зв'язування аміноацил-тРНК (тРНК-зв'язуюча А-ділянка); зв'язування деацильованої тРНК (тРНК-зв'язуюча Е-ділянка), зв'язування білкових факторів трансляції та ГТФ (фактор-зв'язуюча ділянка).
- Каталітичні функції: ГТФаза; пептидил-трансфераза.
- Функції переміщення лігандів (транслокація).
4. Надходження аміноацил-тРНК до рибосоми.
- а). Кодон-антикодонова взаємодія: адапторна гіпотеза та її доказ; концепція антикодона; гіпотеза несупорядності при кодон-антикодоновому спарюванні; поправки до правил несупорядності; стереохімія кодон-антикодонового спарювання.
- б). Участь фактора елонгації (EF-Tu або eEF1A) у транспортуванні аміноацил-тРНК до рибосоми та кодон-антикодоновому впізнаванні; роль EF-Tu опосередкованого гідролізу ГТФ.
- в). Помилкове кодування: фактори, що сприяють помилковому кодуванню; рівень помилок *in vivo* за нормальних умов; кінетичні механізми помилкового кодування і його корекції.
5. Транспептидація і транслокація. Трисайтова модель функціонування рибосоми.
- а). Участь фактора елонгації (EF-G або eEF2) у транслокації.
- б). Роль EF-G-опосередкованого гідролізу ГТФ.
- в). Послідовність подій у EF-G-каталізованій транслокації.
- г). Інгібітори.
- д). Молекулярний механізм транслокації.
6. Ініціація трансляції та її регуляція у прокаріотів.
- а). Значення ініціації трансляції.
- б). Ініціюючі кодони, ініціаторна тРНК і білкові фактори ініціації.
- в). Асоціація рибосоми із матричним полінуклеотидом.
- г). Послідовність подій у процесі ініціації.
- д). Регуляція ініціації (регуляція синтезу білка на рівні трансляції).
7. Ініціація трансляції та її регуляція у еукаріотів.
- а). Особливості первинної та просторової структури еукаріотичної мРНК. Роль просторової організації мРНК в ініціації трансляції.
- б). Еукаріотичні фактори ініціації трансляції. Ініціаторна тРНК.

- в). Модель сканування мРНК. Утворення комплексу рибосомної 40S субчастини із ініціаторною тРНК та знаходження ініціаторного кодону.
 - г). Утворення ініціаторного рибосомного 80S комплексу.
 - д). Регуляція ініціації. Вибіркова дискримінація мРНК. Тотальна репресія ініціації.
11. Термінація трансляції.
 - а). Кодони термінації. Рибосомна ділянка зв'язування факторів термінації..
 - б). Функції білкових факторів термінації у прокариотів і еукаріотів
 - в). Послідовність подій у процесі термінації. Роль гідролізу ГТФ.
 12. Синтез мембранних білків. Арешт трансляції, взаємодія рибосоми і пептиду, що росте, із мембраною. Ко-трансляційний трансмембранний транспорт.
 13. Процесинг білків. Роль протеолізу у процесингу білків.
 14. Посттрансляційні модифікації білка: фосфорилування, N- та O-глікозилювання, деформілювання, метилування, тіол-дисульфідний обмін (утворення дисульфідних зв'язків) .
 15. Компартменталізація білкового синтезу у вищих еукаріотів. Мультибілкові комплекси. Спрямований транспорт мРНК та її локалізована трансляція.

XIII. БІЛКОВА ІНЖЕНЕРІЯ

- 1 Білкова інженерія. Напрямки білкової інженерії. Проектування нових білків та ферментів на рівні просторової структури , енергетичні вимоги до нових білкових конструкцій. Дизайн поверхні білкової глобули.
2. Сайт-спрямований мутагенез як метод введення амінокислотних замінів в білках. Типи мутагенезу *in vitro* : сайт-спрямований мутагенез з використанням олігонуклеотидних гетеродуплексів, мутагенез з використанням ПЛР, метод "мегапраймера", метод "QuikChange".
3. Штучні білки, дизайн штучних білків *de novo*. Альбеферон – штучний білок з бласттрансформуючою активністю.
4. Штучна спрямована еволюція білків. Комбінаторні клонотеки нуклеотидних послідовностей. Фаговий дисплей. Скринінг та відбір білків із заданими властивостями.
5. Гібридні білки. Зелений флюоресцюючий білок (GFP) та його аналоги як білки-репортери.
5. Прикладні застосування білкової інженерії в біотехнології. Підвищення стабільності білків, екстремозими. Оптимізація білків для функціонування в неводних середовищах. Білкова інженерія терапевтичних білків. Перспективи білкової інженерії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Альбертс Б. Молекулярная биология клетки. В 3-х т. 2-е изд. – М.: Мир. – 1994.
2. Диксон Р., Уэбб Э. Ферменты. – тт. 1, 2, 3. – М.: Мир. – 1982.
3. Льюин Б. Гены. – М.:Мир, 1987.
4. Патрушев Л.И. Экспрессия генов, М.: Наука. – 2000
5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. В 2-х т, М.: Мир. – 1998.
6. Степанов В.М. Молекулярная биология. Структуры и функции белков. – М.:”Высшая школа”. – 1996.
7. Спирин А.С. Структура рибосом и биосинтез белка. – Пуцино, 1984.
8. Стайер Л. Биохимия. – М., 1985.
9. Гершензон С.М. Основы современной генетики. – Киев: Наукова думка, 1983.
- 10.Стент Г. Молекулярная генетика. – М., 1974.
- 11.Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. – М., 1978.
- 12.Хесин Р.Б. Непостоянство генома. – М., 1985.
13. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия . 2-е изд. – М., 2004.

РОЗДІЛ 2. ГЕНЕТИКА

ВСТУП

1. Генетика як наука

Предмет генетики. Поняття про спадковість і мінливість, структурна і функціональна спадкоємність між поколіннями. Передача і реалізація ознак і властивостей. Генотип і фенотип. Генотипічна і фенотипічна мінливість. Алельність гена та множинний алелізм.

Методи генетики. Г. Мендель, як засновник генетичного аналізу. Основні етапи розвитку генетики. Розвиток генетики в Україні.

Основні завдання генетики.

Значення генетики для вирішення завдань селекції, медицини, біотехнології, охорони природи.

Частина 1. МАТЕРІАЛЬНІ ОСНОВИ СПАДКОВОСТІ.

2. Клітина як носій генетичної інформації

Роль ядра і цитоплазми в спадковості. Нуклеїнові кислоти як носії і гаранті реалізації генетичної інформації. Первинна структура нуклеїнових кислот. Макромолекулярна організація ДНК. Макромолекулярна структура РНК. Хромосоми. Роль хромосом в спадковості. Морфологія хромосом. Каріотип. Гігантські хромосоми. Штучні хромосоми еукаріотів. Молекулярна і надмолекулярна організація хромосом еукаріотів. Гістони. Негістонні білки хроматину.

Поділ клітини і відтворення її органів. Мітотичний цикл і фази мітозу. Генетичний контроль мітотичного циклу. Мейоз як основа розщеплення і рекомбінації генів. Фази і стадії мейозу. Профаза першого мейотичного поділу. Редукційний і екваційний поділ. Редукція числа хромосом. Гаплоїдність і диплоїдність. Гапло- і диплофаза. Відмінність механізмів перебігу мітозу та мейозу. Формування статевих клітин. Спорогенез. Гаметогенез.

3. Організація і функція геномів

Загальні риси організації та функції геномів. Геноми вірусів. Структура і функція геномів бактерій. Гени та оперони. Плазмідні та епісоми. Геноми еукаріотів. Особливості будови генів еукаріотів. Типи нуклеотидних послідовностей еукаріотичних геномів.

Частина 2. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ОСНОВНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ

4. Реплікація ДНК як передумова передачі генетичної інформації нащадкам

Загальна характеристика реплікативних процесів. Білки реплікації і їх генна детермінація. Механізми реплікації ДНК у кишкової палички. Особливості реплікації ДНК еукаріотів.

5. Генетичні процеси, що забезпечують відносну стабільність геному.

Системи модифікації і рестрикції ДНК у бактерій. Системи виправлення помилок реплікації. Механізми репарації ДНК. Пряма реактивація ушкоджених молекул ДНК. Екзцизійна репарація ДНК. Постреплікативна (рекомбінаційна) репарація. Системи індукованої репарації. SOS-репарація.

б. Механізми реалізації генетичної інформації

Транскрипція. Промотори і термінатори транскрипції. Транскриптон. ДНК-залежні РНК-полімерази. Цикл ДНК-залежної транскрипції. Процесинг первинних транскриптів. Процесинг попередників РНК у бактерій. Процесинг проРНК в еукаріотичних клітинах. Механізми сплайсингу та методи їх дослідження. Альтернативний сплайсинг і трансплайсинг. Основні шляхи регуляції транскрипції. Регуляція функції промоторів. Системна регуляція ініціації транскрипції у прокариотів за допомогою σ -фактора. Регуляція транскрипції на рівні термінаторів. Особливості реплікації/транскрипції геномів РНК-вірусів. Зворотна транскрипція і життєвий цикл ретровірусів. Трансляція. Молекулярна організація рибосом. Інформаційна РНК як матриця для синтезу білка. Механізми трансляції.

Частина 3. ЗАКОНОМІРНОСТІ УСПАДКУВАННЯ

7. Незалежне (менделівське) успадкування

Гібридологічний аналіз та типи схрещувань. Закономірності незалежного (менделівського) успадкування. Відхилення від менделівських формул розщеплення за незалежного успадкування генів. Причини відхилень від формул менделівського розщеплення. Взаємодія генів як одна із причин відхилень в розщепленні за фенотипом. Неалелльні взаємодії генів: комплементарність, супресія, епістаз, полімерія, плейотропія, модифікація. Генний баланс. Алелльні взаємодії генів, множинний алелізм. Основні закономірності дії і взаємостосунків алелей на прикладі гена С у кролів, генів самостерильності у рослин, груп крові у людини. Летальні і напівлетальні алелі. Вираження алелів в різних умовах середовища.

8. Зчеплене успадкування і кросинговер

Закономірності успадкування за повного і неповного зчеплення генів. Цитологічні докази кросинговеру. Генетичні докази кросинговеру. Величина кросинговеру як принцип побудови генетичних карт. Інтерференція і коінциденція. Розрахунок частоти кросинговеру по розщепленню в F₂. Мітотичний кросинговер і картування генів. Деякі загальні дані про генетичну рекомбінацію. Регуляція кросинговеру. Порівняння генетичних і цитологічних карт.

9. Стать і зчеплене зі статтю успадкування

Генетика статі. Типи хромосомного визначення статі. Докази хромосомного визначення статі. Гени, що визначають та змінюють стать. Теорії визначення статі. Гетерохромосоми і дозова компенсація. Особливості визначення статі у ссавців. Кількісне співвідношення особин різної статі і його регуляція. Методи штучного регулювання статі. Успадкування ознак, зчеплених зі статтю. Особливості успадкування за повного і неповного зчеплення зі статтю. Особливості успадкування за нерозходження статевих хромосом.

10. Нехромосомне успадкування

Цитоплазматична спадковість. Мітохондрії і хлоропласти як носії генетичної інформації. Методи визначення структури та функції хондріому. Методи дослідження структури та функції пластоми. Ознаки, що контролюються генами цитоплазми і хромосом. Інфекційні агенти і екстрахромосомні елементи. Предетермінація цитоплазми або материнський ефект.

Частина 4. ГЕНЕТИЧНІ ЗАСАДИ МІНЛИВОСТІ

11. Типи мінливості. Модифікації і мутації

Класифікація мінливості. Модифікаційна мінливість або модифікації. Мутаційна мінливість. Мутації і модифікації, їх відмінності. Класифікація мутацій. Загальна характеристика деяких типів: спонтанні та індуковані мутації; рецесивні та домінантні мутації; прямі, зворотні та супресорні мутації; ядерні та цитоплазматичні мутації; генеративні та соматичні мутації; морфологічні, фізіологічні та біохімічні мутації; умовно-летальні мутації. Методи визначення мутацій. Дослідження мутацій у мікроорганізмів. Дослідження мутацій у еукаріотів. Генні (точкові) мутації. Хромосомні мутації. Загальна характеристика та класифікація. Перебудови хромосом, що впливають на кількість генів у хромосомах. Делеції. Дуплікації. Перебудови хромосом, що змінюють локалізацію генів. Інверсії. Транслокації. Транспозиції: загальна характеристика. Мігруючі генетичні елементи прокаріотів. Мігруючі генетичні

елементи еукаріотів. Перебудови, що змінюють кількість хромосом. Злиття та поділи хромосом. Анеуплоїдія. Поліплоїдія: автополіплоїдія, алополіплоїдія.

Поліплоїдія і еволюція. Гаплоїдія.

Механізми спонтанного та індукованого мутагенезу. Передмутаційні зміни генетичного матеріалу. Фізіологічна теорія мутагенезу. Мутагенні фактори і ДНК. Екологія і мутагенез.

12. Генетична рекомбінація як механізм комбінаційної мінливості

Молекулярні механізми загальної генетичної рекомбінації і конверсії генів. Гіпотези «розрив-возз'єднання» та «копі-чойз». Молекулярні механізми конверсії генів. Особливості загальної рекомбінації у вірусів. Спеціалізовані системи гомологічної рекомбінації. Спеціалізована рекомбінація і гени імуноглобулінів у ссавців. Сайт-специфічна рекомбінація. Генетична рекомбінація у бактерій. Плазміді, епісоми і рекомбінація у бактерій. Трансформація як процес, що веде до рекомбінації. Генетична рекомбінація в явищах трансдукції. Принципи побудови генетичних карт у бактерій. Принципи генетичного картування бактеріофагів.

Частина 5. ОКРЕМІ ПРОБЛЕМИ ГЕНЕТИКИ

13. Проблеми дослідження гена

Хромосомна теорія спадковості і класичні уявлення про ген. Непрямі методи дослідження гена. Критерії алелізму. Концепція ступінчастого алелізму і псевдоалелізму. Цис-транс-тест і побудова генетичних карт.

Комплементарний аналіз у еукаріотів. Рекомбінаційний тест і тонка структура генів еукаріотів. Деякі обмеження цис-транс-тесту. Міжалельна комплементарія.

Ген з позицій молекулярної генетики. Прямі методи дослідження гена. Методи виділення з геному індивідуальних послідовностей. Клонування геномної ДНК і створення бібліотек (банків) генів. Принципи побудови рестрикційних карт. Полімеразна ланцюгова реакція як метод ампліфікації специфічних послідовностей ДНК. Методи визначення нуклеотидної послідовності ДНК. Виявлення мозаїчних генів з допомогою електронної мікроскопії. Ген як одиниця функції.

14. Генетичні аспекти онтогенезу

Онтогенетика. Об'єкти і методи. Деякі загальні закономірності та стадії індивідуального розвитку. Генетична детермінація і диференціація клітин. Тотипотентність. Диференційна активність генів і її регуляція в процесі розвитку. Летальна диференціація клітин за розвитку еукаріотів. Взаємодія генів в процесі розвитку. Генетичні моделі на прикладі дрозофіли та інших об'єктів.

15. Генетика популяцій

Популяція як одиниця еволюційного процесу. Методи вивчення структури популяцій. Генетична гетерогенність природних популяцій, її визначення та оцінка. Деякі показники генетичної мінливості популяцій. Частота генів та генотипів в популяції. Закон Харді-Вайнберга. Практичне використання формули Харді-Вайнберга. Фактори генетичної динаміки популяцій і мікроеволюція. Відсутність або обмеження панміксії. Обмеження чисельності популяцій (дрейф генів). Міграції особин або потік генів. Мутаційний процес (тиск мутацій). Добір, його форми. Генетична структура популяцій, адаптація і еволюція.

16. Генетичні основи селекції

Селекція як наука. Сорти, породи і штами як засоби виробництва. Моделі сортів і порід. Генетика кількісних ознак в селекції. Основні етапи селекційного процесу. Створення вихідного матеріалу для селекції. Комбінаційна мінливість як джерело вихідного матеріалу. Генетична інженерія в створенні вихідного матеріалу для селекції. Типи схрещувань в селекції. Типи добору. Гетерозис в селекції. Селекція сільськогосподарських рослин і тварин в Україні. Селекція мікроорганізмів.

17. Генетика людини та медична генетика

Історія генетики людини: боротьба двох концепцій. Основні напрямки наукових досліджень. Методи генетики людини. Типи успадкування. Хромосоми людини та методи їх дослідження. Геном і картування генів людини. Гібридизація клітин в культурі і картування генів. Картування генів за допомогою хромосомних перебудов. Картування генів за допомогою ДНК-зондів. Гібридизація мічених зондів метафазних хромосом *in situ*. Деякі особливості генетичної карти людини. Кластери генів поверхневих антигенів клітин. Головний комплекс гістоносумісності. Система комплемента. Спадковість і патологія. Сучасні узагальнення на рівні популяцій. Класифікація спадкових хвороб і їх успадкування. Генні хвороби. Хромосомні хвороби. Хвороби із спадковою схильністю. Генетичний поліморфізм і патологія. Асоціація захворювань з групами крові. Система HLA і захворювання. Поліморфізм α -антитрипсину і патологія. Спадкове обумовлені реакції людини на дію зовнішніх факторів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Тоцький В.М. Генетика. - В 2 т. Одеса: Астропринт, 1998
2. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. - М.: Высшая школа, 1989.
3. Льюин Б. Гены. - М.: Мир. 1987.
4. Дубинин Н.П. Общая генетика. - М.: Наука, 1986
5. Стент Г., Кэлинар Р. Молекулярная генетика. М.: - Мир, 1986.
6. Гершензон С.М. Основы современной генетики. - К.: Наукова думка, 1983.
7. Гершензон С.М. Мутации. -Киев: Наук. Думка, 1991.
8. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика: В 3 т. - М.: Мир, 1987-1988.
9. Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология: В 3 т. М.: Мир, 1982.
10. Кайдалов Л.З. Генетика популяций. - М.: Высшая школа, 1996.
11. Фогель Ф., Мокульски А. Генетика человека. - В 3 т. - М.: Мир, 1990.

Укладачі:

Кунах Віктор Анатолійович – доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Тоцький Владен Миколайович - доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри генетики і молекулярної біології Одеського державного університету ім. І.І.Мечнікова.

РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНА ГЕНЕТИКА

ВСТУП

1. Молекулярна генетика як наука

Основна мета та проблеми молекулярної генетики. Зв'язок з іншими науками. Методи молекулярної генетики. Основні етапи розвитку цієї науки, її досягнення та перспективи. Значення молекулярної генетики для інших наук, для народного господарства та медицини. Розвиток молекулярної генетики в Україні та її місце в світовій науці.

Частина 1. Молекулярні основи спадковості

2. Генетичні і негенетичні нуклеїнові кислоти

Первинна структура нуклеїнових кислот. Ензиматична деградація нуклеїнових кислот. Ендонуклеази та екзонуклеази. ДНКази та РНКази. Ендонуклеази рестрикції. Нуклеотидна послідовність нуклеїнових кислот, методи її дослідження. Два принципових підходи до визначення послідовності нуклеотидів: метод Макслама-Гілберта, метод Сенгера. Використання рестриктаз у з'ясуванні первинної структури ДНК. Генетичний код. Основні властивості генетичного коду. Особливості первинної структури негенетичних РНК: ІРНК, рРНК, тРНК. Гетерогенність ДНК та РНК у клітині. Основні типи негенетичних РНК у клітині. Видова специфічність складу ДНК ІРНК.

3. Макромолекулярна організація ДНК і РНК

Вторинна структура ДНК. Подвійна спіраль Уотсона і Кріка. Принцип комплементарності та його біологічне значення. Основні конформації ДНК та умови переходів між різними конформаціями. Z-форма ДНК, її особливості. Третинна структура ДНК. Лінійні, кільцеві, одноланцюгові та дволанцюгові молекули, їх поширення у природі. Суперспіралізація молекул. Роль топоізомераз I і II. Макромолекулярна структура РНК. Денатурація і ренатурація нуклеїнових кислот. Швидкість ренатурації ДНК як показник гетерогенності молекул.

4. Молекулярна організація хромосом

Два способи упакування генетичних нуклеїнових кислот у природі: «вільне» (віруси, бактерії) та нуклеопротейдне (вищі організми). Проблема компактизації генетичних нуклеїнових кислот. Хромосоми вірусів, бактерій та еукаріотів. Молекулярна організація хромосом вищих організмів. Хроматин. Гетерохроматин і еухроматин, особливості первинної та макромолекулярної структури ДНК за цих умов. Конститутивний та факультативний Гетерохроматин. Гістони, протаміни та негістонні білки хроматину. Модифікації цих білків, їх біологічне значення. Надмолекулярна організація ДНК хромосом еукаріотів. Нуклеосома. Рівні компактизації ДНК. Молекулярна організація політенних хромосом та

хромосом типу лампової щітки. Проблема створення штучних хромосом еукаріотів.

Частина 2. Організація і функція геномів

5. Локалізація генів у хромосомах

Значущі та незначущі послідовності в генетичних нуклеїнових кислотах. Регульовальні ділянки - промотори, оператори, атенуатори, енхансе-ри, термінатори та ін. Мігруючі (транспозибельні) генетичні елементи. Надлишковість геномів. Оператори та кластери генів. Спейсери.

6. Ген оми вірусів

РНК-геноми вірусів: приклади одниткових (-) РНК-геномів, (+) РНК-геномів та двониткових геномів вірусів. Особливості будови та функції геномів ретровірусів. Провіруси.

ДНК-утримуючі віруси. Організація геномів фагів Х, Т-парних, Т-непарних, ФХ 174 та інших. Економічність вірусних геномів. Явище перекривання генів та перекривання рамок зчитування. Гени та оперони вірусів. Молекулярні механізми літичного циклу та лізогенії на прикладі фа-га А. Явище антитермінації. Надранні, затримано ранні та пізні гени вірусів. Регуляція їх функції.

7. Молекулярна організація і функція геномів бактерій

Хромосома бактерії. Локалізація генів. Гени та оперони. Анаболітні та катаболітні оперони. Структура та функція на прикладі лактозного, триптофанового, гістидинового, арабінозного та інших оперонів. Негативна та позитивна регуляція функцій оперонів. Атенуація. Плазмідни та епісоми. Типи плазмід: F, R, Сої та ін. Гени плазмід та їх роль у кон'югації бактерій, становленні стійкості до хімічних сполук тощо.

Частина 1. Молекулярні механізми найважливіших генетичних процесів та шляхи їх регуляції

9. Реплікація ДНК як передумова передачі генетичної інформації нащадкам

Напівконсервативний і консервативний механізм реплікації. Типи реплікації: сигма-тип, тета-тип, Д-петля, ігрек-тип та їх наявність у природі. Білки та ферменти реплікації, їх геномна детермінація. Механізм реплікації ДНК у кишкової палички та інших бактерій, у вірусів і еукаріотів. Ініціація, елонгація та термінація реплікації. Реплікони. Однореplikонні та поліреplikонні ДНК. Ампліфікація.

10. Генетичні процеси, що забезпечують відносну стабільність геному

Системи модифікації і рестрикції ДНК у бактерій. Типи рестриктаз, особливості будови та дії. Практичне використання рестриктаз в молекулярній генетиці та генетичній інженерії. Системи виправлення помилок реплікації та репарація ушкоджених молекул ДНК. Коректорська функція ДНК-полімераз. Механізми прямої реактивації і темпової репарації ДНК. Ексцизійна репарація, її генетична детермінація та ферментативні механізми. Рекомбінаційна (пострештікаційна) репарація. Системи індукованої репарації. SOS-репарація і

її механізми. Регуляція функцій репараційних систем. Роль полі(АДР)-рибози в репарації ДНК.

11. Транскрипція як перша стадія реалізації генетичної інформації

ДНК-залежні та РНК-залежні РНК-полімерази, їх розповсюдження у природі. Будова промоторів і термінаторів. Будова промоторів і термінаторів. р-залежні та р-незалежні термінатори. Цикл ДНК-залежної транскрипції. Ініціація, елонгація, термінація процесу. Процесинг первинних транскриптів у бактерій і в еукаріотичних клітинах. Кепування та поліаденілування. Метилування транскриптів. Сплайсинг. Механізми сплайсингу та методи їх дослідження. Альтернативний сплайсинг і трансплайсинг.

Основні шляхи регуляції транскрипції. Регуляція функції промоторів. Системна регуляція ініціації транскрипції у прокариотів з допомогою σ -фактора. Інші механізми регуляції транскрипції на рівні промоторів та термінаторів. Особливості регуляції у еукаріотів.

Особливості реплікації (транскрипції геномів РНК-вірусів) одноланцюгових і дволанцюгових). Зворотна транскрипція і життєвий цикл ретровірусів. Механізм утворення двониткової ретровірусної ДНК. Зворотна транскрипція в житті деяких ДНК-вірусів (гепатиту В, вірусу мозаїки цвітної капусти). Біологічне значення зворотної транскрипції та її використання в генетичній інженерії.

12. Трансляція

Молекулярна організація рибосом. Активні центри рибосоми. Інформаційна РНК як матриця для синтезу білка. Інформосоми. Ініціюючі та термінуючі кодони. Послідовність Шайна-Дальгарно в бактеріальній ІРНК.

Механізми трансляції. Складові білок-синтезуючої системи. Активація амінокислот. Роль тРНК. Кодон-антикодонне впізнавання та гіпотеза неоднозначної відповідальності. Ініціація, елонгація і термінація трансляції. Білкові фактори трансляції. Особливості трансляції в еукаріотичних клітинах. Фенокопії мутацій як результат помилок трансляції.

Частина 2. Молекулярні механізми успадкування і взаємодії алельних і неалельних генів

13. Молекулярно-генетичні уявлення про ген

Хромосомна теорія спадковості. Трансформація морганівського уявлення про ген як одиницю функції, мутації і рекомбінації в світлі сучасних досягнень молекулярної генетики.

Непрямі методи дослідження гена. Морганівські критерії алелізму і їх відносність. Концепція ступінчастого алелізму та псевдоалелізму. Цис-транс-тест і тонка будова гена на прикладі мутантів гІ фага Т4. Досліди С.Бензера. Рекомбінаційний тест і тонка структура генів еукаріотів. Деякі'

обмеження цис-транс-теста: домінантність мутацій, полярність мутацій, міжallelна комплементарність.

Ген з позицій молекулярної генетики. Прямі методи дослідження гена: виділення з геному індивідуальних послідовностей, їх ідентифікація з допомогою мічених зондів, клонування геномної ДНК, створення бібліотек (банків) генів, ампліфікація специфічних ділянок ДНК за допомогою полі-меразної ланцюгової реакції, селекція певного клону геномної ДНК із бібліотеки методом гібридизації колоній, принципи побудови рестрикційних карт, методи визначення нуклеотидної послідовності ДНК, виявлення мозаїчних генів за допомогою електронної мікроскопії, тощо.

Ген як одиниця функції в сучасній молекулярній генетиці. Поняття «доза гена» і «положення гена, «експресивність» і «пенетрантність» з позицій молекулярної генетики».

14. Генотип і фенотип з точки зору молекулярної генетики

Молекулярно-генетичні механізми прояву елементарних та полігенних ознак. Центральна догма в молекулярній біології. Молекулярно-генетичне розуміння відомих типів успадкування: незалежного, зчепленого, зчепленого зі статтю, позахромосомного. Молекулярні механізми пре-термінації цитоплазми.

Гени і алелі генів, їх молекулярна природа. Можливі механізми взаємодії алельних і неалельних генів на рівні їх продуктів - РНК і білків. Типи взаємодії алельних генів: повне домінування, неповне домінування, кодо-мінування, міжallelна комплементарність. Типи взаємодії неалельних генів: модифікація генної дії, комплементарність генів, полімерність, плейотропність та ін. Міжгенна інтенсифікація, супресія, епістаз. Можливі біохімічні механізми цих взаємодій.

Частина 5. Молекулярні основи мінливості

15. Типи мінливості та їх молекулярні засади

Модифікації. Типи модифікацій. Норма реакції. Молекулярні механізми модифікацій.

Типи мутацій та їх молекулярна природа. Перебудови хромосом, що впливають на кількість генів у хромосомах (делеції, дуплікації, інверсії). Перебудови хромосом, що змінюють локалізацію генів (інверсії транслокації, транспозиції). Мігруючі генетичні елементи еукаріотів. Незаконна рекомбінація, її молекулярні механізми.

Перебудови, що змінюють кількість хромосом. Злиття та поділи хромосом. Анеуплоїдія. Поліплоїдія. Гаплоїдія.

Механізми спонтанного та індукованого мутагенезу. Мутагенні фактори і ДНК. Роль мутацій в еволюційному процесі. Екологія і мутагенез.

16. Генетична рекомбінація як механізм комбінаційної мінливості

Молекулярні механізми загальної генетичної рекомбінації і конверсії генів. Гіпотеза Холідея. Особливості загальної рекомбінації у вірусів. Спеціалізовані системи гомологічної рекомбінації. Спеціалізована соматична рекомбінація і гени імуноглобулінів у ссавців. Сайт-специфічна рекомбінація. Особливості

механізмів вбудовування ДНК фагів А, та інших в хромосому кишкової палички.

Генетична рекомбінація у бактерій. Молекулярні механізми передачі генетичного матеріалу і рекомбінації за кон'югації бактерій і сексдукції. Роль плазмід. Трансформація як процес, що веде до рекомбінації. Генетична рекомбінація в явищах трансдукції. *• Принципи генетичного картування еукаріотів, бактерій і вірусів.

Частина 6. Окремі проблеми молекулярної генетики

17. Молекулярна генетика і теорія еволюції

Роль домінантних і рецесивних мутацій в процесах мікро- і макроеволюції. Добір проти рецесивних гомозигот та проти гетерозигот. Оцінка темпу мутаційного процесу. Молекулярні механізми гетерозису. Закон Харді-Вайнберга і його практичне застосування. Теорія нейтральності молекулярної еволюції. Молекулярний годинник еволюції еволюція структурних і регуляторних генів. Еволюція розміру геному. Поняття про величину «С». Еволюції через дуплікації і мультиплікації генів, хромосомні та геномні перебудови. Сімейства генів, псевдогени, ретродуплікації. Споріднені білки, гомологічні білки, ізоформи ферментів та інші продукти генів як показники онтогенетичної та філогенетичної адаптації і еволюції. Коадаптовані гени і блоки коадаптованих генів як результат адаптації і еволюції. Значення досліджень первинної структури генетичних нуклеїнових кислот для розв'язання проблем еволюції та систематики організмів.

18. Генетика соматичних клітин, онтогенетика та імуногенетика

Клонування і селекція в культурі клітин. Молекулярні основи тотипотентності, диференціювання клітин і органогенезу. Диференційна реплікація, транскрипція, транслокація та диференційний процесинг в процесі розвитку. Мінливість клітинних популяцій. Генетичні засади соматичної мінливості. Регенерація рослин *in vitro* та її практичне використання в молекулярній генетиці і селекції. Гібридизація соматичних клітин у культурі і картування генів. НАТ - селекція та інші селективні методи. Картування генів за допомогою мічених зондів. Рестрикційний аналіз, полімеразна ланцюгова реакція, гібридизація нуклеїнових кислот, блотинг по Саузерну, з'ясування первинної структури значущих і незначущих послідовностей ДНК та інші методи, їх значення для онтогенетики та філогенетики. Значення методів ідентифікації молекул ДНК для біологічної медицини.

Мікроклітини та ізольовані хромосоми. Гібридизація мічених зондів і метафазних хромосом *in situ*. Використання культур соматичних клітин, мічених зондів та інших методів для побудови генетичної карти людини (виявлення найважливіших кластерів генів, генів спадкових хвороб, маркерів хвороб із спадковою схильністю, варіабельних і повторюваних ділянок ДНК тощо). Молекулярна природа спадкових хвороб, методи їх вияву та прогнозу в молекулярній генетиці.

Гіпотези виникнення злоякісних пухлин. Молекулярні основи радіаційного і хімічного канцерогенезу. Онковіруси. Клітинні протоонкогени та їх активація. Кооперативна дія онкогенів.

Молекулярні механізми взаємодії генів у процесі розвитку. Взаємодія генів на міжклітинному рівні та методи її дослідження. Алофенні тварини як модель для таких досліджень. Гомейозисні гени та гомеобокси в регуляції процесів розвитку та диференціювання. Позиційна інформація та позиційне значення клітин. Механізми індукції генної активності гормонами та іншими епігенетичними факторами.

Головний комплекс гістосумісності у ссавців та людини. Система комплемента та пропердинових факторів у людини. Молекулярно-генетичні механізми формування різноманітності імуноглобулінів. Аутоімунітет та можливі механізми виникнення аутоімунних реакцій.

19. Генетична інженерія

Мета та сфера досліджень генетичної інженерії. Значення генетичної інженерії для науки та народного господарства. Сучасні досягнення генетичної інженерії. Основні методи генетичної інженерії.

Трансгенез та методи його здійснення. Методи отримання природних генів та їх штучного синтезу. Використання рестриктного аналізу, мічених зондів та інших методів для ідентифікації досліджуваних генів. Ферментативні методи синтезу генів та їх множення.

Клонування генів та інших фрагментів ДНК. Банки генів, клонотеки і їх використання. Вектори: вимоги до векторів, типи векторів, методи їх отримання і використання. Сучасні досягнення та проблеми векторної-трансформації у бактерій, рослин та тварин. Плазмідна трансформація і трансдукція в генній інженерії. Трансгенні рослини як вихідний матеріал для селекції. Генотерапія, її успіхи та перспективи.

Рекомендована література

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика: В 3т. - М.: Мир, 1987-1988.
2. Альберте Б., Брей Д., Льюис Дж., Роберте К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. - В 5т. - М.: Мир, 1986-1987.
3. Бердышев Г.Д., Дуброва Ю.Е., Карпенчук К.Г. Строение, функции и эволюция генов. - К.: Наук, думка, 1980.
4. Гершензон С.М. Основы современной генетики. -К.: Наук, думка, 1983.
5. Геном растений/ Под ред. академика АН УССР К.М.Сытника. - К.: Наук, думка, 1988.
6. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений. - К.: Наук, думка, 1982.
7. Дубинин Н.П. Общая генетика. - М.: Наука, 1986.
8. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство. - Кишинев: Штиинца, 1990.
9. Инге-Вечтомов С.И. Генетика с основами селекции. - М.: Высш. шк.,1989.
10. Кучеренкс Н.Е., Цудзевич Б.А., Блюм Я.Б., Бабенюк Ю.Д. Биохимическая модель регуляции активности хроматина. - К., Наук, думка, 1983.
11. Кучук М.В. Генетическая инженерия высших растений. - К.: Наук, думка, 1997.
12. Льюин Б. Гены. - М.: Мир, 1987.
13. Методы генетики соматических клеток: В 2т./ Под ред. Дж. Шея. - М.: Мир, 1985.

14. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. Учеб. для биол. спец. вузов / Под ред. А.С.Спирина - М.: Высшая школа, 1990.
15. Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений. - М. : Наука, 1988.
16. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. - Минск, 1986.
17. Сиволап Ю.М. Геном растений и его улучшение. - К.: Урожай, 1994.
18. Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика. - М.: Мир, 1981
19. Тоцький В.М. Генетика. Підручник. - В 2т. Одеса, Астропринт, 1998.
20. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. - М: Наука, 1985.

Укладачі: Кунах Віктор Анатолійович
Тоцький Владен Миколайович

РОЗДІЛ 4. БІОТЕХНОЛОГІЯ

I. Загальні положення

Загальні уявлення про зміст, визначення терміну “біотехнологія”, їх зміна з часом та існуючі розбіжності. Коло об’єктів та методів біотехнології. Місце біотехнології в цивілізації.

II. Наукові засади біотехнології

1. Основні уявлення про живі істоти.

Про- та еукаріоти. Клітинна організація. Організація клітини, її структура і функції. Різноманітність.

2. Основні уявлення з молекулярної біології.

2.1 Білки.

2.1.1 Загальні уявлення. Склад. Структурна організація. Класифікація білків. Методи їх дослідження.

2.1.2. Ферменти. Їх будова, особливості як біокаталізаторів, біологічна роль. Активні центри, механізми біокаталізу. Коферменти та вітаміни, роль металів та кофакторів в функціонуванні ферментів. Локалізація ферментів в клітині. Мультиферментні комплекси. Ізоферменти. Номенклатура та принципи класифікації ферментів. Термодинамічні розрахунки біологічних реакцій: теплота, вільна енергія, вплив температури, рН та розчинників. Основні уявлення про кінетику ферментативних процесів, рівняння Міхаеліса-Ментена, методи визначення його параметрів. Принципи регуляції ферментативних процесів в клітинах та регуляції метаболізму. Аллостерія. Активатори, інгібітори. Методи виділення ферментів та їх очистки. Імобілізація ферментів: носії та методи імобілізації. Застосування імобілізованих ферментів.

2.1.3. Структурні білки. Загальні відомості.

2.1.4. Біосинтез білка та його регуляція. Етапи біосинтезу білка та їх регуляція. Рибосоми, структура та функції, мРНК, особливості структурної організації у про- та еукаріот. тРНК. Посттрансляційна модифікація білка. Секреція білка. Безклітинні системи: конструювання, функціонування та перспективи використання в біотехнології.

2.2. Нуклеїнові кислоти.

2.2.1. ДНК.

Хімічний склад, структура, специфічність та біологічна роль. Генетичний код. ДНК та структура хромосом. Реплікація та транскрипція. Транскрипційна одиниця. Оперон та його елементи. Регуляція транскрипції. Структура генів еукаріот та регуляція їх експресії.

2.2.2. РНК.

Хімічний склад. Загальні уявлення щодо структури. Основні типи і функції РНК в клітинах. Біосинтез РНК. Посттранскрипційні етапи перетворення РНК. Принципи механізмів діяльності РНК в клітині.

3. Основні уявлення з генетики.

3.1. Загальна генетика. Визначення. Мітоз. Мейоз. Спадковість та мінливість. Добір. Матеріальний носій спадковості. Генетика популяцій та генетичні основи еволюції. Селекція, генетичні основи селекції. Зцеплення та кросинговер.

3.2. Молекулярна генетика. Генетичний код. Природа мутацій. Механізми мутагенезу. Репарація. Ланцюг процесів від гена до прояву. Рекомбінація. Позахромосомні генетичні детермінанти. Плазмиди. Загальні уявлення про віруси. Методи аналізу рекомбінантних та природних ДНК.

4. Елементи біофізичної хімії.

4.1. Мембранний потенціал Редокс потенціали в біологічних системах. Поняття рН, буферні суміші та їх використання. Адсорбція та поверхневі явища в біологічних системах. Основні принципи хроматографії, гель фільтрація, їх застосування. Мембранні методи розділення, концентрації та очистки компонентів.

5. Елементи імунології.

Органи імунної системи, імунокомпетентні клітини. Гуморальний та клітинний імунітет. Антигени та антитіла. Структура, синтез антитіл, їх антигенні властивості. Основний комплекс гістосумістності. Теорії різноманітності антитіл. Афінітність та авідність антитіл. Імунізація, ад'юванти. Одержання полі- та моноклональних антитіл. Класичні імунологічні методи аналізу: преципітація, гемаглютиніція, імуноелектрофорез, реакція зв'язування комплементу. Радіоімуний, імуноферментний, імунофлуорисцентний, імунохемілюмінісцентний аналізи.

III. Методологія та галузі біотехнології

1. Генні технології. Генетична інженерія (техніка рекомбінатних ДНК). Трансформація. Трансдукція. Інтеграція. Експресія екзогенного генетичного матеріалу. Молекулярний інструментарій генної інженерії. Основні складові рекомбінатних молекул. Основні типи рекомбінатних молекул. Основні методи створення та аналізу рекомбінантних молекул. Основні принципи побудови векторів та їх систем для бактерій, грибів, рослин, тварин. Експресія рекомбінатної ДНК в різних організмах та методи її визначення.

2. Загальні уявлення щодо білкової інженерії, біоінформатика.

3. Клітинні технології.

Культура тканин рослини її застосування і значення для біотехнології. Гібридизація та особливості трансформації рослинної клітини. Культура тканин як продуцент біологічно активних речовин. Особливості трансформації рослинної клітини. Клонування рослин за допомогою культур тканин.

Гібридами – загальні поняття. Методи отримання гібридом. Застосування. Рекомбінантні антитіла та їх отримання. Культури клітин тварин та людини і виробництво цінних речовин. Стовбурові клітини та їх практичне застосування.

4. Біотехнологічні виробництва з застосуванням мікроорганізмів. Загальні положення. Продуценти та технології їх створення. Основні продукти. Апаратурне оформлення виробництв.

5. Біотехнологія рослин. Трансгенні рослини. Мікроклональне розмноження. Технології їх отримання. Особливості застосування. Основні тенденції в біотехнології рослин.

6. Біотехнологія тварин. Трансгенні тварини – загальні поняття. Технології їх отримання. Основні тенденції в біотехнології тварин.

7. Біотехнологія людини. Трансплантація органів і клітин. Застосування дорослих стовбурових клітин. Генна терапія.

8. Біоаналітичні технології. Біосенсори як новий клас аналітичних систем. Принцип побудови та функціонування. Галузі застосування біосенсорів. Шляхи створення біокомп'ютерів.

9. Біотехнологія та довкілля. Охорона довкілля. Збереження генофонду. Місце біотехнології в проблемі біобезпеки.

10. Біоетичні аспекти сучасних біотехнологій (штучні репродуктивні технології, клонування, застосування ембріональних стовбурових клітин тощо).

Література

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. – М.: Мир, 2002, 589 с.
2. Кунах В.А., Мельничук М.Д., Новак Т.В. Біотехнологія рослин. – К.: Поліграфконсалтинг, 2003, 520 с.
3. Овчинников Ю.А. Биорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987.- 815с.
4. Lewin Benjamin Genes VII. Oxford University Press. - 2000. – 990 p.
5. Антологія біоетики. Під ред. Ю.І.Кундієва, Львів, 2003.
6. Матеріали II Національного конгресу з білетики, 29.09-2.10.2004, Київ, 2004, 303 с.
7. Корпан Я.І., Єльська Г.В. Біосенсорні технології - реалії та перспективи розвитку.- Вісник НАН України.- 2000.# 3, С. 36-40.
8. С.В.Дзядевич. Биосенсоры на основе ион-селективных полевых транзисторов: теория, технология, практика.-Биополимеры и клетка.- 2004.- 20.-№ 1-2.- С. 7-16.