



Э. Уиллет

ГЕНЕТИКА

ПУТЕВОДИТЕЛЬ

БЕЗ  ТАЙН

Все подробности о проекте «Геном человека»



Как и что делает генетическая инженерия

Проследите эволюционную историю при помощи ДНК

ЭКСМО

УДК 575
ББК 28.04
У 36

Genetics Demystified
E. Willett

Перевод с английского и редакция Г.И. Алешкина

Уиллет Э.
У 36 Генетика без тайн / Э. Уиллет. — М.: Эксмо, 2008. — 224 с. —
(Без тайн).

ISBN 978-0-07-145930-3(англ.)
ISBN 978-5-699-26949-5(рус.)

Эта книга предназначена тем, кто хочет познакомиться с основами генетики, но не собирается заниматься ею профессионально, кому интересно узнать о ДНК и хромосомах, вирусах и бактериях, генетических болезнях и мутациях. Подробно и занимательно описываются многочисленные вопросы от самых простых до самых сложных и современных. Познавательно и интересно рассказывается об эволюции с точки зрения генетики и генетической инженерии — одной из самых интересных дисциплин современности. Тестовые задания помогут читателю проверить полученные знания.

УДК 575
ББК 28.04

Все названия программных продуктов являются зарегистрированными торговыми марками соответствующих фирм.

Никакая часть настоящего издания ни в каких целях не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме и какими бы то ни было средствами, будь то электронные или механические, включая фотокопирование и запись на магнитный носитель, если на это нет письменного разрешения издательства «Эксмо».

ISBN 978-0-07-145930-3
ISBN 978-5-699-26949-5

© 2005 by The McGraw-Hill Companies, Inc.
All rights reserved.
© ООО «Издательство «Эксмо», 2008

Содержание

Предисловие	8
ГЛАВА 1. Менделизм и классическая генетика	9
Наследование происходит, но как?	9
Ученый монах.	10
Опыты Менделя	11
Картина проявляется	12
Распространение законов Менделя	15
Контрольные вопросы	17
ГЛАВА 2. Клетка — основной элемент жизни	19
Клеточная теория	19
Анималькулы и ядра	19
Шлейден и Шванн.	20
Части клетки	20
Подсчет хромосом	23
Клеточный цикл	24
Связь работы Менделя с хромосомами	27
Контрольные вопросы	28
ГЛАВА 3. ДНК — химическая основа наследственности	31
Гонка за расшифровкой ДНК	31
Двойная спираль	34
Репликация ДНК	36
Мутации ДНК и репарация	38
Контрольные вопросы	39
ГЛАВА 4. Хромосомы — структурированная ДНК	42
«Комната мух»	42
Структура хромосомы	44
Сцепление, кроссинговер и хромосомное картирование	46
Контрольные вопросы	49
ГЛАВА 5. Признаки — как выражаются гены.	51
Транскрипция	52
Трансляция	54
Как регулируются гены	56
От микро к макро	58
Контрольные вопросы	59



Содержание

ГЛАВА 6. Геномы — прочтение генетического кода	61
Секвенирование ДНК	61
Проект «Геном человека»	64
Секвенирование других видов	68
Картирование геномов	70
Вариации в геноме.	72
<i>Контрольные вопросы</i>	73
ГЛАВА 7. Мутации — ошибки считывания кода	76
Типы мутаций.	77
Причины мутаций	83
<i>Контрольные вопросы</i>	84
ГЛАВА 8. Рак — генетика, сбившаяся с пути	87
Что такое рак	87
Как онкогены вызывают рак	91
Еще одна мутация, вызывающая рак	92
Канцерогены	94
<i>Контрольные вопросы</i>	96
ГЛАВА 9. Бактерии — идущие другим путем	98
Свойства бактерий.	98
Репликация ДНК и клеточное деление	99
Транскрипция и трансляция у бактерий	103
Генетическая рекомбинация у бактерий	105
Регуляция активности генов у бактерий	108
<i>Контрольные вопросы</i>	110
ГЛАВА 10. Органеллы — внеядерная наследственность	113
Митохондрии	114
Хлоропласты	116
Наследование органелл	117
Судим о прошлом по митохондриям	118
<i>Контрольные вопросы</i>	120
ГЛАВА 11. Вирусы — захват наследственности	123
Что такое вирус	124
Бактериофаги	126
Вирусы эукариот.	130
<i>Контрольные вопросы</i>	134
ГЛАВА 12. Генетическая инженерия — скульптор кода	136
Ферменты рестрикции	136
Первые опыты	138
Амплификация ДНК	139
Модификация белков.	146

Содержание



Генетическая инженерия животных	147
Генетическая инженерия растений	150
Генная терапия	151
Клонирование.	153
Беспокойства и споры	155
<i>Контрольные вопросы</i>	156
ГЛАВА 13. Эволюция — изменения, направляемые наследственностью	159
Что такое эволюция.	159
Популяционная генетика	160
Происхождение видов	164
Филогенетическая систематика	165
Генетика эволюции человека	170
<i>Контрольные вопросы</i>	172
ГЛАВА 14. Люди: как генетика влияет на нас	174
Генетика пола	174
Генетические болезни	177
Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов	179
Генетический скрининг.	183
<i>Контрольные вопросы</i>	184
Заключительный экзамен	187
Ответы на контрольные вопросы и на вопросы заключительного экзамена	201
Предлагаемая дополнительная литература	203
Словарь терминов	204
Предметный указатель	210
Об авторе	220

Посвящается моим дедушкам и бабушкам:
Роя Эдварду Спирсу, Лауре Эдвине Чемберс,
Эвану Чемберсу Уиллету и Бесси Браун,
и спасибо им за гены!

редисловие

Я веду еженедельную колонку новостей науки, пытаюсь хотя бы поверхностно знакомиться со всеми новыми исследованиями, ведущимися по всем миру. Это занятие не только захватывает и интригует меня, но и немного разочаровывает, потому что наука продвигается вперед так быстро и на стольких фронтах, что многие из научных представлений, о которых я с уверенностью писал, ниспровергаются или становятся сомнительными в результате новых исследований. Некоторые — за неделю, а иные еще до того, как просохнет газетная краска в статьях, повествующих о них.

Генетика — это область науки, которая шагает вперед с ужасной скоростью. И если какие-то из описанных мной успехов стали сомнительны, то многие из теорий, представленных в книге, хорошо устоялись. Я надеюсь, что читатель поймет и примет эти факты как стимул к продолжению знакомства с этой восхитительной, постоянно меняющей мир областью научного поиска.

Как научный репортер я наслаждаюсь новыми открытиями и надеюсь, что они доставят вам большое удовольствие, когда вы будете читать эту книгу.

Эдвард Уиллет (Edward Willett)

Глава 1

Менделизм и классическая генетика

Концепция гена вышла, в основном, из работы монаха-августинца по имени Грегор Мендель (Gregor Mendel).

До того как Мендель провел потрясающие опыты на ростках гороха в 1860 году, все знали, что потомство наследует некоторые черты своих родителей. Трудно не заметить это, поскольку все, в конце концов, чьи-то потомки или родители. Но по какой причине это происходит, оставалось тайной.

Наследование происходит, но как?

Отсутствие знаний о механизме наследственности сдерживало развитие других отраслей науки. Например, в своей книге «О происхождении видов», написанной в 1859 году, Чарльз Дарвин утверждал, что виды живых существ со временем медленно изменяются, эволюционируют. Он говорил, что это происходит, поскольку отдельные особи вида иногда рождаются немного отличающимися от своих сородичей (например, особи какого-нибудь вида жвачных животных могут родиться с более длинной шеей). Если это различие помогает выживать (например, длинная шея — дотянуться до большего количества листьев и прокормиться), то такая особенность с большей вероятностью передается потомству. Со временем почти все особи вида приобретают это свойство, или признак (в нашем примере у всех особей шеи станут длиннее, чем у отдаленных предков). Данный процесс был назван *естественным отбором*.

Некоторые ученые не соглашались с теорией Дарвина, поскольку он не мог объяснить, как именно потомство наследует признаки от родителей. Дарвин признавал, что объяснения нет и что этот вопрос является для него загадкой.

Но в то время, когда вокруг теории Дарвина кипели страсти, Мендель закладывал основы новой области науки, которая должна была пролить свет на многие стороны биологии, включая эволюцию.



Ученый монах

Грегор Мендель (рис. 1.1) родился 22 июля 1822 года в деревне Хайнцендорфт, в провинции Моравия Австро-Венгерской империи (сейчас это город Гинчице в Чешской Республике), и ему дали имя Иоганн Мендель. Родители Иоганна были крестьянами, но местные пастор и учитель, заметив его способности, помогли Менделю поступить в школу. Однако после того как его отец был покалечен в результате несчастного случая в 1838 году, платить за обучение стало нечем. Молодому Менделю удалось заработать денег для поступления в гимназию, но его здоровье не выдержало постоянного напряжения в попытках заработать денег на обучение.



Рис. 1.1. Грегор Мендель

Один из профессоров предложил Иогану стать монахом-августинцем. Основным занятием монахов этого ордена было преподавание, поэтому орден был готов платить за образование юноши. Мендель стал монахом августинского монастыря в городе Брюнне (сейчас — Брно в Чешской Республике), аббатства святого Фомы, в 1843 году, в возрасте 21 года. Как было положено в ордене, он взял себе новое имя — Грегор.

Аббатство было примечательным местом. Монахи могли пользоваться научными инструментами, в аббатстве была отличная ботаническая коллекция и обширная библиотека. Аббат К.Ф. Напп (C.F. Napp), президент помологической и энологической ассоциаций, был тесно связан с профессором сельского хозяйства брюннского университета Ф. Диблем (F. Diebl). Напп разделял любовь Менделя к растениям. Благодаря аббату Мендель смог проучиться в венском университете с



1851 по 1853 год. Кроме изучения других предметов, он прошел курс физиологии растений и экспериментальной физики. Обучавшие Менделя профессора подчеркивали важность экспериментального изучения природы, основанного на математических моделях.

Хотя аббатство посылало Менделя в Вену, чтобы он сдал экзамены учителя (что не удалось ему в 1850 году), после возвращения Грегору снова не повезло, и экзамены он не сдал. Так что Мендель мог работать только помощником учителя. Зато у него оставалось больше времени на дело, которое он действительно любил, — садоводство.

Напп позволил Менделю распоряжаться частью большого сада и оранжереи аббатства по своему усмотрению. Мендель использовал их для изучения проблемы наследственности с использованием строгих научных методов, применяемых в физике.

Опыты Менделя

Как и все растениеводы, Мендель знал, что, когда скрещиваются растения с различными признаками, образующиеся в результате гибриды обладают признаками обоих родителей. Но иногда черты одного из родителей, кажется, пропадают, чтобы появиться в следующих поколениях. Мендель задался вопросом, существует ли закономерность в этом феномене, и решил ее обнаружить.

Для своих опытов он выбрал обыкновенный садовый горох, *Pisum sativum*, потому что у этого растения большие цветки, что упрощает работу с ними, и большой набор легко различимых признаков. Кроме того, *Pisum sativum* — растение самоопыляющееся и дающее породистое потомство: потомство каждого растения полностью похоже на родительское, если только оно не было искусственно опылено пылью другого растения.

Мендель решил сосредоточиться на семи признаках гороха, которые, по его мнению, выделялись «четко и определенно»:

1. Форма спелых семян:
 - а) круглая или кругловатая;
 - б) угловатая и морщинистая.
2. Цвет семян:
 - а) бледно-желтый, ярко-желтый, оранжевый;
 - б) зеленый.
3. Цвет оболочки семян:
 - а) белый;
 - б) серый, серо-коричневый, коричнево-серый, с фиолетовыми краплениями или без них.



4. Форма спелых стручков:
 - а) простая дутая;
 - б) сильно сдавленная и более-менее морщинистая.
5. Цвет неспелых стручков:
 - а) от светлого до темно-зеленого;
 - б) ярко-желтый.
6. Расположение цветков:
 - а) аксиальное (вдоль стебля);
 - б) терминальное (на верхушке стебля).
7. Длина стебля:
 - а) высокий (от шести до семи футов — от 1,8 до 2,1 м);
 - б) низкий (от 3/4 до одного фута — от 24 до 32 см).

Более восьми лет Мендель выращивал и изучал почти 30 тыс. растений гороха. Он наблюдал за семью поколениями потомков некоторых из этих растений, скрещивал растения, которые отличались выраженными признаками (утомительная работа, требовавшая переноса пыльцы с одного растения на другое), затем подсчитывал потомство с каждым признаком, за которым вел наблюдение, и давал гибридам и их потомству самоопыляться.

Наконец, Мендель применил математику для установления основных правил, по которым наследовались различные признаки.

Картина проясняется

Когда Мендель проанализировал полученные данные, картина начала проясняться. Скрещивание высоких растений с низкими всегда давало высокое потомство. Однако когда гибридные высокие растения самоопылялись, в следующем поколении появлялось одно низкое растение на каждые четыре. Через поколение и далее низкие растения всегда снова давали потомство только низких растений, одна треть высоких растений — только потомство высоких растений, а остальные две трети — потомство, состоящее из высоких и низких растений в том же соотношении три к одному (рис. 1.2). Мендель получил аналогичные результаты для каждого из изученных им признаков и сделал следующее заключение:

1. Свойства или признаки передаются от родительских растений гороха ряду последующих поколений в виде неизменных единиц, или «факторов», в установленных пропорциях.

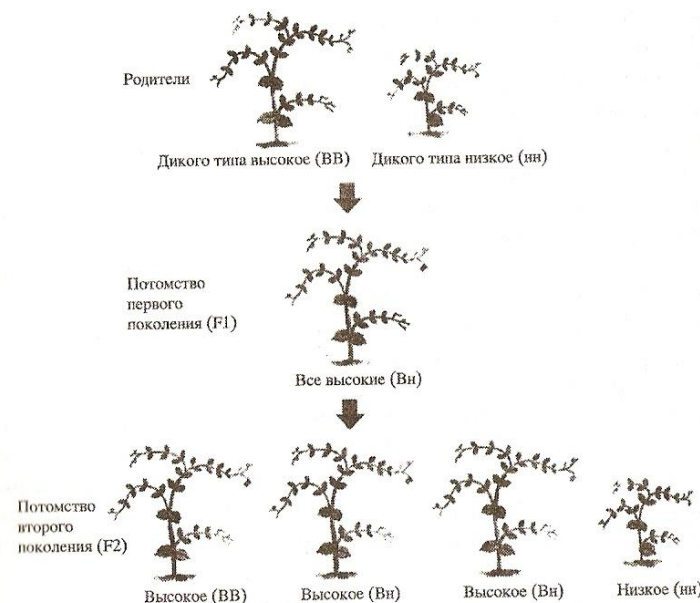


Рис. 1.2. Грегор Мендель скрещивал пары растений гороха с разными признаками и записывал результаты. В этом примере высокие растения, всегда дававшие высокое потомство (BB), скрещивали с низкими растениями, которые всегда давали низкое потомство (nn). В первом поколении (F1) все растения были высокими, но Мендель понял, что они все еще содержали «фактор» низкого растения, который мы теперь называем геном, а «фактор» высокого растения просто маскировал его. Когда эти растения (Bn) подвергались перекрестному скрещиванию, потомство состояло из смеси высоких и низких растений в соотношении 3:1 — три высоких растения (BB, Bn, Bn) и одно низкое (nn)

2. Каждое растение содержит два фактора, обуславливающих специфичность признака. Один фактор содержится в яйцеклетке, другой — в сперме.

3. Поскольку каждое родительское растение должно иметь два гена, родительской паре генов необходимо разделиться во время формирования половых клеток, чтобы каждая половая клетка содержала одну форму гена, или фактора. Этот принцип теперь известен как *принцип сегрегации*.

4. Единственная комбинация факторов из четырех возможных, достоявшаяся каждому потомку от родителей, определяется случайностью.



Статистический анализ показал, что одна форма каждого признака встречается во всех поколениях потомства в три раза чаще, чем другая. Мендель назвал признак, который встречается чаще, *доминантным*, а реже — *рецессивным*. Когда у растения присутствуют оба признака, оно имеет свойства доминантного фактора. Однако, хотя доминантный фактор в этом случае маскирует рецессивный, он никоим образом не изменяет его. Это означает, что признак, обусловленный рецессивным фактором, все же может проявиться в следующем поколении, когда случайность дает появиться растению с двумя копиями рецессивного фактора.

Мендель также открыл, что каждый из изученных им признаков не зависел от других. Это означало, что длина стебля растения, например, не влияла на то, какие семена оно давало: круглые или сморщенные. Теперь этот принцип известен как *принцип независимого комбинирования*. Мендель написал статью, описывающую проделанную им работу, в 1865 году. Она была опубликована в «Журнале брюннского общества естественных наук» (Journal of the Brunn Society of Natural Science) под названием «Опыты по гибридизации растений». Статья оставалась незамеченной до 1900 года, когда три исследователя: Гуго де Фриз (Hugo de Vries), Эрих Чермак фон Зезенег (Erich Tschermak von Seysenegg) и Карл Корренс (Carl Correns) — независимо от Менделя повторно открыли законы Менделя, проведя аналогичную работу.

Впоследствии к открытым Менделем законам стали применять новую терминологию. Его факторы теперь называются *генами*. Каждая возможная форма гена — *аллель*. Организмы, имеющие две копии *аллеля*, — *гомозиготными*, а имеющие копии двух различных аллелей — *гетерозиготными*.

Сетка Панета

Один из методов определения возможных комбинаций аллелей заключается в использовании *сетки Панета*, изобретенной Реджинальдом Панетом (Reginald C. Punnett), который был и математиком, и биологом. В сетке Панета используется формат таблицы для занесения всех возможных аллелей одного родителя по верхней горизонтали, а всех аллелей другого — по вертикали слева. В ячейках получаются все возможные комбинации аллелей у потомства.

Например, ниже приведена сетка Панета для самоопыляющегося гетерозиготного гороха, изображенного на рис. 1.2.



	В	н
В	ВВ (высокое растение)	Вн (высокое растение)
н	Вн (высокое растение)	nn (низкое растение)

Снова мы видим соотношение доминантного признака к рецессивному 3:1.

Скрещивание гомозиготного низкого растения (nn) с гетерозиготным высоким растением (Вн) дает сетку Панета, в которой потомство распределяется поровну на высокие и низкие растения.

	н	н
В	Вн (высокое растение)	Вн (высокое растение)
н	nn (низкое растение)	nn (низкое растение)

С другой стороны, скрещивание гомозиготного высокого растения (ВВ) с гетерозиготным высоким растением (Вн) дает потомство, состоящее только из высоких растений.

	В	В
В	ВВ (высокое растение)	ВВ (высокое растение)
н	Вн (высокое растение)	Вн (высокое растение)

Сетка Панета представляет собой простой, но мощный инструмент для расчета ожидаемого статистического распределения отдельных признаков. Возможно применение сетки Панета и тогда, когда признаки определяются более чем двумя аллелями генов.

Распространение законов Менделя

Открытия Менделя стали отправной точкой в развитии генетики. Термин «генетика» был предложен в 1906 году британским зоологом Уильямом Бетсоном (William Bateson). Он прочитал работу Менделя и привлек к ней внимание научного сообщества. Бетсон определил генетику как «выяснение феномена наследственности и изменчивости». Интересно, что термин «ген» появился только в 1909 году. Датский биолог Вильгельм Иоганссон (Wilhelm Johansson) предло-



жил использовать его взамен туманного термина «фактор», предложенного Менделем. Работа Менделя послужила фундаментом для многих последовавших за ней открытий, на которые проливает свет эта книга. Но прежде чем мы перейдем к ним, следует упомянуть пару важных исключений из простых законов наследования, установленных Менделем.

Менделю повезло в том, что признаки, которые он изучал на растениях гороха, — пример полной доминантности, когда доминантный аллель полностью маскирует признаки, обусловленные рецессивным аллелем. Так бывает не всегда. У некоторых видов ряд признаков контролируется генами, проявляющими неполную доминантность. Примером может служить цвет у цветков примулы. У примул с красными цветками две копии доминантного «красного» аллеля, а у примул с белыми — две копии рецессивного «белого» аллеля. У примул с копией каждого аллеля, однако, цветки не красные, а розовые. «Красный» аллель не обеспечивает достаточно красного пигмента для полного окрашивания цветков.

Известны также признаки, которые кодоминантны, то есть у гетерозиготных индивидуумов выражаются оба признака. Вот почему существуют люди с группой крови А, В и АВ. У людей с группой крови АВ кровь имеет как свойства группы А, так и свойства группы В. Группы крови являют собой пример ряда из множества аллелей. Кроме аллелей А и В в ряду существует еще и аллель 0. Однако каждый индивидуум наследует только аллели А и В. Аллель 0 редок, потому что для наследования группы крови 0 требуется передача индивидууму двух аллелей 0.

Для контроля некоторых признаков требуется еще больше аллелей. Фактически в настоящее время представляется, что множественные аллельные признаки более распространены, чем двухаллельные.

Несмотря на исключения, работа Менделя остается классическим примером фундаментальной экспериментальной работы. Мало кто из ученых может похвастаться, что его работа послужила истоком для целой науки.

Мендель, увы, не дожил до признания. Он умер в 1884 году. Как раз в то время, когда ученые только начинали понимать, что основным элементом жизни, в котором выражается наследственность, является клетка.

В следующей главе мы рассмотрим этот элемент более подробно.



КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Основной механизм эволюции по Дарвину:
 - (а) приобретенная наследственность;
 - (б) естественный отбор;
 - (в) скрещивание пар;
 - (г) увеличение признаков.
2. Какой сорт растений использовал в опытах Мендель?
 - (а) кукурузу;
 - (б) петунию;
 - (в) садовый горох;
 - (г) землянику.
3. Сколько признаков изучал Мендель?
 - (а) четыре;
 - (б) пять;
 - (в) шесть;
 - (г) семь.
4. В каком соотношении растения с доминантными признаками появляются во втором поколении потомства?
 - (а) 5:1;
 - (б) 3:1;
 - (в) 2:1;
 - (г) 1:1.
5. Мендель открыл, что два фактора, контролирующих изучаемые им признаки, разделялись при образовании половых клеток так, что каждое родительское растение передавало только один из факторов потомству. Как называется этот принцип?
 - (а) принцип полового отбора;
 - (б) закон случайных последствий;
 - (в) принцип сегрегации;
 - (г) принцип неопределенности.
6. Мендель открыл, что каждый из изученных им признаков не зависел от остальных. Например, высота растения не влияла на форму семян. Как называется этот принцип?
 - (а) независимого комбинирования;
 - (б) сегрегации;
 - (в) интегрального наследования;
 - (г) генетической консервации.



7. Индивидиум с двумя различными формами одного гена называется:
 - (а) гетеросексуальным;
 - (б) гетеродинным;
 - (в) гетерооптическим;
 - (г) гетерозиготным.
8. Явление, когда доминантный признак не полностью маскирует рецессивный признак, известно как:
 - (а) неполная рецессивность;
 - (б) неполная доминантность;
 - (в) слабое выражение;
 - (г) смешанная передача сигнала.
9. Когда два признака одинаково выражаются у индивидиума, они называются:
 - (а) конкурентными;
 - (б) раздельными;
 - (в) рецидивными;
 - (г) кодоминантными.
10. Аллель — это:
 - (а) сорт садового цветка;
 - (б) августинская молитва;
 - (в) одна форма гена;
 - (г) женский половой орган растения.



Глава 2

Клетка — основной элемент жизни

В XIX веке в биологической науке произошел скачок, предшествовавший опытам Менделя, и, как оказалось, такой же важный, как и они, в раскрытии тайны наследственности: появилось понимание того, что клетка — такой же строительный кирпичик для жизни, каким для материи являются атомы.

Клеточная теория

Толчком к развитию клеточной теории было изобретение микроскопа в начале XVII века. В 1665 году английский физик и микроскопист Роберт Гук (Robert Hooke) опубликовал книгу «Микрография», в которой он описал все, что наблюдал в микроскоп. Среди прочего — срез коры пробкового дерева, которая под микроскопом выглядела как ряд крошечных ячеек, примыкавших друг к другу и напоминавших маленькие комнаты. Гук назвал эти ячейки «клетками». Название происходит от латинского слова *cellules*, что значит «комнатки».

Несмотря на придуманное Гуком название, он не понимал, какова природа клеток. Он думал, что толстые стенки клеток (они на самом деле были толстыми и безжизненными) — это каналы, по которым проходит жидкость.

Анималькулы и ядра

Вероятно, первым человеком, наблюдавшим в микроскоп живые клетки в конце XVII века, был голландский купец Антон ван Левенгук (Anton van Leeuwenhoek), чьим увлечением было делать микроскопы и смотреть в них. Хотя, по современным стандартам, эти микроскопы и кажутся примитивными, но линзы у них были отличные, позволявшие рассматривать одноклеточные организмы. Левенгук называл их «анималькулами».

Микроскопы совершенствовались, легче становилось наблюдать за клетками. Клеточные ядра удалось рассмотреть в начале XVIII века,



а в 1831 году шотландский ботаник Роберт Браун (Robert Brown) первым понял, что темная точка, которую он рассмотрел в центре клеток орхидеи, была неотъемлемой частью всех живых клеток.

Шлейден и Шванн

В 1838 году немецкий ботаник Матиас Якоб Шлейден (Matthias Jacob Schleiden) предположил, что каждая часть растения состоит из клеток и их продуктов. На следующий год зоолог Теодор Шванн (Theodor Schwann) пришел к такому же выводу в отношении животных, заявив, что «есть один универсальный принцип развития элементарных частиц организмов... и этот принцип состоит в формировании клеток».

Шлейден и Шванн теперь считаются отцами клеточной теории, но важная ее часть была сформулирована немецким патофизиологом Рудольфом Вирховым (Rudolph Virchow) в виде латинского афоризма *omnis cellula e cellula*, что значило «каждая клетка из предсуществующей клетки». В 1858 году Вирхов писал: «Любое животное представляет собой сумму жизненных единиц, каждая из которых несет все свойства жизни».

Три догмата клеточной теории

1. Все живые существа состоят из клеток.
2. Клетки происходят только от предсуществующих клеток путем деления (другими словами, жизнь не возникает спонтанно из неживой материи).
3. Клетки состоят из одинаковых компонентов, имеющих сходные свойства и биохимию.

Части клетки

Биологи продолжали исследовать клетки, используя более новые и совершенные микроскопы и, что еще важнее, новые методы окраски и подготовки образцов для микроскопии. Они начали идентифицировать все больше структур в живых клетках. Было открыто важное различие между клетками многоклеточных организмов (растений, животных) и клетками простейших одноклеточных организмов (бактерий).

Клетки многоклеточных и некоторых одноклеточных организмов, например грибов и простейших, содержат хорошо видимое



ядро, заключенное в мембрану, и ряд мелких структур, названных *органеллами*, также заключенных в мембраны. Клетки подобной структуры называются *эукариотическими клетками*. У бактерий есть только одна мембрана (внешняя клеточная стенка), а вот выраженного ядра и органелл нет. Клетки такого типа называются *прокариотическими*.

Ссылка

Большая часть этой книги посвящена генетике эукариотических клеток, но в главе 9, «Бактерии — другой путь жизни», мы подробно рассматриваем генетику прокариотических клеток.

К концу XIX века были идентифицированы все основные органеллы. В табл. 2.1 перечислены все органеллы и описаны их функции (заметьте, что не все клетки обладают всеми типами органелл). На рис. 2.1 проиллюстрированы расположение и форма органелл в типичной клетке.

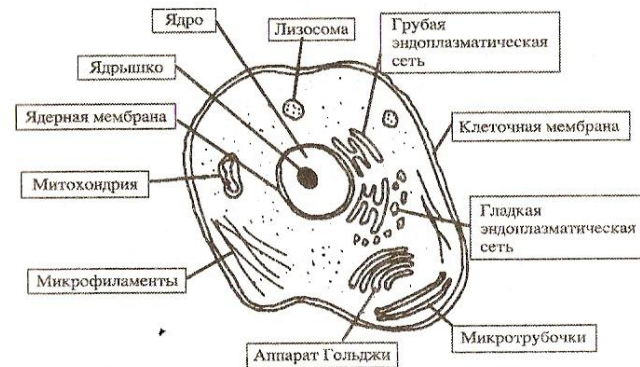


Рис. 2.1. Рисунок показывает основные части животной клетки

Таблица 2.1. Клеточные органеллы

Название органелл	Описание
Клеточная стенка	Найденная, в основном, у растений клеточная стенка...
Цитоплазматическая мембрана	Внешняя мембрана, общая для всех клеток (расположена под клеточной стенкой в клетках, у которых есть такая стенка), отделяет клетку от других клеток и окружающей среды. Помогает контролировать прохождение веществ в клетку и из нее.



Продолжение табл. 2.1

Название органелл	Описание
Цитоплазма	Когда-то называлась «протоплазмой». Цитоплазма — собирательное название всего, что находится под цитоплазматической мембраной, включая органеллы. Все, что взвешено в <i>цитозоле</i> , полужидком веществе, состоящем из воды и свободно плавающих в ней молекул.
Эндоплазматическая сеть	Сеть из трубок, связанных с мембраной, окружающей ядро, и простирающихся через цитоплазму до цитоплазматической мембраны. Хранит и транспортирует вещества через всю клетку. Есть два вида эндоплазматической сети. <i>Грубая эндоплазматическая сеть</i> набита <i>рибосомами</i> (см. ниже), которые производят белки для клеточной мембраны или секретируют из клетки. В <i>гладкой эндоплазматической сети</i> рибосом нет.
Рибосомы	Белковые фабрики, которые выпускают потоки белков, сделанных под диктовку генетического материала клетки. В каждой клетке тысячи рибосом. Фактически, они составляют четверть массы клетки. Есть два вида рибосом. <i>Стационарные рибосомы</i> уложены в грубой эндоплазматической сети. <i>Мобильные рибосомы</i> выбрасывают белок прямо в цитоплазму.
Аппарат Гольджи	Если рибосомы — это фабрики белков, то аппарат Гольджи — фабрика по их упаковке. Состоящая из многих слоев мембран, образующих мешок, эта органелла содержит <i>ферменты</i> , которые модифицируют, хранят и транспортируют белки из эндоплазматической сети к клеточной мембране и другим частям клетки.
Лизосомы	Станции по очистке клетки. Содержат ферменты, помогающие клеткам переваривать белки, жиры и углеводы. Непереваренный материал несут к клеточной мембране, чтобы выбросить его.
Вакуоли	Заклученные мембраной мешки с множеством функций. Некоторые хранят вещества в клетке, другие способствуют перевариванию, третьи помогают удалять продукты метаболизма. В клетках растений есть большая центральная вакуоль, хранящая воду и играющая важную роль в размножении клеток, росте и развитии. У некоторых одноклеточных организмов вакуоли могут сокращаться и выталкивать воду, позволяя им двигаться за счет реактивной силы струи.
Пластиды	Структуры из двойной мембраны. Есть только в клетках растений. Содержат пигменты, например <i>каротиноиды</i> (придающие окраску моркови) и <i>хлорофилл</i> (вещество, окрашивающее листья в зеленый цвет). Пластиды, содержащие хлорофилл, называются <i>хлоропластами</i> , в них идет фотосинтез — процесс, в котором растения используют солнечный свет для синтеза молекул сахара — источника питания клетки.



Название органелл	Описание
Митохондрии	Вторые по величине органеллы в клетке. У них собственная генетическая структура (подробно см. в главе 10), две мембраны и внутренние складки, <i>кристы</i> , содержащие ферменты для производства <i>аденозинтрифосфата</i> (АТФ) — основного источника энергии клетки. Митохондрии также контролируют уровень воды и других веществ в клетке, обеспечивают обмен и распад белков, жиров и углеводов, производя в результате мочевину.
Цитоскелет	Сеть нитей, обеспечивающих поддержку структурам клетки. Помогает сохранять форму клетки, а также помогает движению органелл внутри клетки и транспорту веществ в клетку или из нее. Состоит из трех видов нитей: <i>микрофиламент</i> , тонких плотных стержней, позволяющих некоторым клеткам менять свою форму; волокнистых <i>промежуточных филамент</i> и <i>микротрубочек</i> , самых толстых и полых изнутри. (Жгутики и реснички, которые дают возможность двигаться многим одноклеточным организмам и сперматозоидам, состоят из микротрубочек.)
Центриоль	Цилиндрические органеллы, участвующие в делении клетки. У клеток животных пара centrioles лежит около ядра под правильным углом по отношению друг к другу. Центриоль состоит из девяти трубок, каждая из которых, в свою очередь, — из трех микротрубочек.
Ядро	Отделение, где хранится генетический материал. Включает <i>хромосомы</i> , состоящие из ДНК со всей генетической информацией клетки, и <i>ядрышко</i> — специфическую структуру, исчезающую при делении клетки. Содержит РНК, необходимую для продукции белков в соответствии с программой, закодированной...

Подсчет хромосом

Усовершенствованные микроскопы и улучшенная техника окрашивания клеток позволили ученым в деталях увидеть, что происходит во время клеточного деления. В частности, в начале XIX века стали замечать внутри ядра как растительных, так и животных клеток маленькие структуры, которые называли *хромосомами* (от греческих *хрома* — «цвет» и *сома* — «тело», поскольку эти маленькие тельца ядро окрашивались при обработке некоторыми красителями).

Чтобы увидеть хромосомы, нужно было окрашивать только мертвые клетки. Однако, тщательно располагая по порядку клетки, взятые на различных стадиях процесса клеточного деления, ученые



ГЕНЕТИКА без тайн

смогли создать своего рода «демонстрацию слайдов», показывающую самовоспроизведение клеток.

Ко второй половине XIX века исследователи знали, что все клетки каждого представителя любого вида эукариот (кроме яйцеклеток и спермиев) имели одно и то же количество хромосом. Оно было специфично для каждого вида: у человека 46 хромосом, у кукурузы — 20, у носорога — 84 и т.д.

Эти хромосомы можно было группировать в пары на основании их сходства при микроскопии: у человека 23 пары, у кукурузы — 10, у носорога — 42 и т.д.

«Демонстрация слайдов» клеточного деления, собранная во время этого процесса из окрашенных микропрепаратов клеток, показала, что каждая хромосома удваивается во время клеточного деления, так что удваивается и общее количество хромосом. Таким образом, каждая дочерняя клетка во время деления получает те же хромосомы и в том же количестве, что имеются у родительской клетки.

Ссылка

Мы подробно рассмотрим строение хромосомы в главе 4, «Хромосомы — живая ДНК».

Клеточный цикл

Последовательность событий от начала деления одной клетки до начала следующего деления называется *клеточным циклом*. Время цикла варьируется у различных клеток, но у типичной животной клетки оно может составлять от 18 до 24 часов (рис. 2.2). Клеточный цикл происходит, как показано на рис. 2.3.

1. *Интерфаза*. Занимает 90% времени клеточного цикла и состоит из трех промежуточных фаз:

- G1 (интервал 1). Клетка готовится синтезировать ДНК. На это уходит от 6 до 12 ч;
- S (синтез). ДНК молекулы каждой хромосомы реплицируются, превращаясь в две идентичные молекулы, называемые *хроматидами*. Тонкие нити *хроматина* (легко окрашиваемого комплекса белков и ДНК, от которого произошло название *хромосома*) становятся видимыми в препарате клеток под микроскопом. На это уходит от 6 до 8 ч;
- G1 (интервал 2). Происходит рост и увеличение клетки. Фаза длится обычно от 3 до 4 ч.

ГЛАВА 2 Клетка — основной элемент жизни

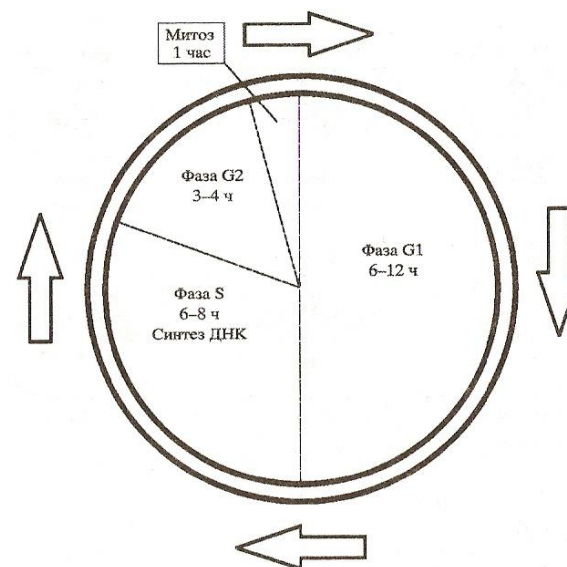


Рис. 2.2. Диаграмма демонстрирует, сколько длится каждая фаза клеточного цикла у типичной животной клетки

2. *Митоз*. Во время митоза клетка делится на две идентичные клетки. Это занимает всего час клеточного цикла, но в это время проходят четыре промежуточные фазы:

- *профаза*. Хромосомы сокращаются, подобно резиновой ленте, становятся короче и скручиваются. ДНК в хроматине накручивается на белки, образуя шарики, называемые *нуклеосомами*, похожие на жемчужины ожерелья. Это «жемчужное ожерелье» скручивается по спирали, приобретая форму цилиндра. Цилиндр начинает складываться и складывается до тех пор, пока то, что было нитью хроматина, не укорачивается в несколько тысяч раз. В конце процесса хромосомы становятся короткими и толстыми и состоят из пары хроматид, связанных по *центромерам* парой *центриолой*. В это время клетка образует *веретено* — серию нитей, сделанных из микротрубок, которые тянутся от полюсов клетки из областей, называемых *центросомами*. Некоторые нити протягиваются от полюса к полюсу, а некоторые связываются с хромосомами в области плотного гранулярного тела, называемого *кинетохором* (расположено в том же районе, что и центромера);

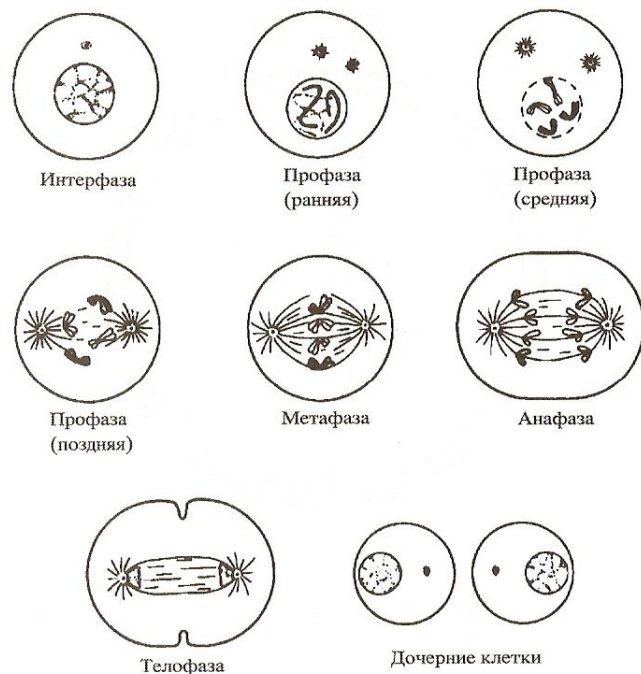


Рис. 2.3. Стадии митоза у животной клетки.
Материнские хромосомы — светлые, а отцовские — темные

- **метафаза.** Нити веретена укорачиваются или удлиняются, что требуется для передвижения хромосомы в плоскость, расположенную по экватору клетки и называемую *метафазной плоскостью*;
- **анафаза.** Хроматиды разделяются по центромерам и растаскиваются нитями веретена к противоположным полюсам клетки;
- **телофаза.** Два набора разделенных хроматид (два полных набора хромосом) собираются у двух полюсов клетки и начинают разворачиваться в нитевидную форму, в которой они находятся в интерфазе. Веретено распадается, ядерная мембрана изменяется, а цитоплазма делится (*цитокинез*). У животных цитокинез обычно включает образование борозды чуть ниже середины клетки, которая увеличивается и делит клетку на две. У растений цитокинез приводит к образованию в центре



клетки пластины, которая растет в сторону клеточной стенки и превращается в ее часть, разделяющую две дочерние клетки или клетки потомства с точно таким же количеством хромосом того же типа, что и родительская клетка.

Связь работы Менделя с хромосомами

Когда работа Менделя была вновь открыта на пороге XX века, проводились интенсивные исследования морфологии хромосом. В 1902 году американский генетик Уолтер Саттон (Walter Sutton) (тогда ему было всего 25 лет) стал одним из первых исследователей, кто предположил, что «факторы», предложенные Менделем, должны быть частью хромосом.

В этом Саттона убедил способ образования половых клеток: сперматозоидов и яйцеклеток. Как я только что описал, обычные клетки во время размножения воспроизводят полные копии хромосом для своих вновь образующихся дочерних клеток. Половые клетки (гаметы) воспроизводятся во время иного процесса, *мейоза*, отличающегося от *митоза*.

В мейозе выделяют два деления — *мейоз I* и *мейоз II*. Во время мейоза I хромосомы, удвоившиеся в интерфазе, утолщаются и сжимаются, как во время митоза. Но вместо того чтобы выстроиться на экваториальной плоскости клетки, они бок о бок лежат парами, называемыми *бивалентами*. Каждая из них содержит по четыре копии хромосом клетки. Биваленты разделяются на пары хроматид, дающих два набора хромосом.

Во время мейоза II два полученных набора хромосом снова делятся, и только один мигрирует в дочернюю клетку. Конечный результат заключается в том, что начальное количество из $4n$ хромосом распределяется по четырем различным клеткам, каждая из которых содержит n хромосом. Эти *гаплоидные клетки* становятся гаметами, то есть половыми клетками (яйцеклетками и спермиями) — рис. 2.4.

Таким образом, когда спермии оплодотворяют яйцеклетку, образующаяся *зигота* получает половину хромосом от одного родителя и половину — от другого.

Этот процесс совпадает с теорией факторов, предложенной Менделем. Такое совпадение убедило ученых, что в основе наследственности лежат хромосомы. Было ясно, однако, что одна хромосома должна нести более одного фактора. Даже у видов с большим количеством хромосом, чем у человека, их было недостаточно, чтобы

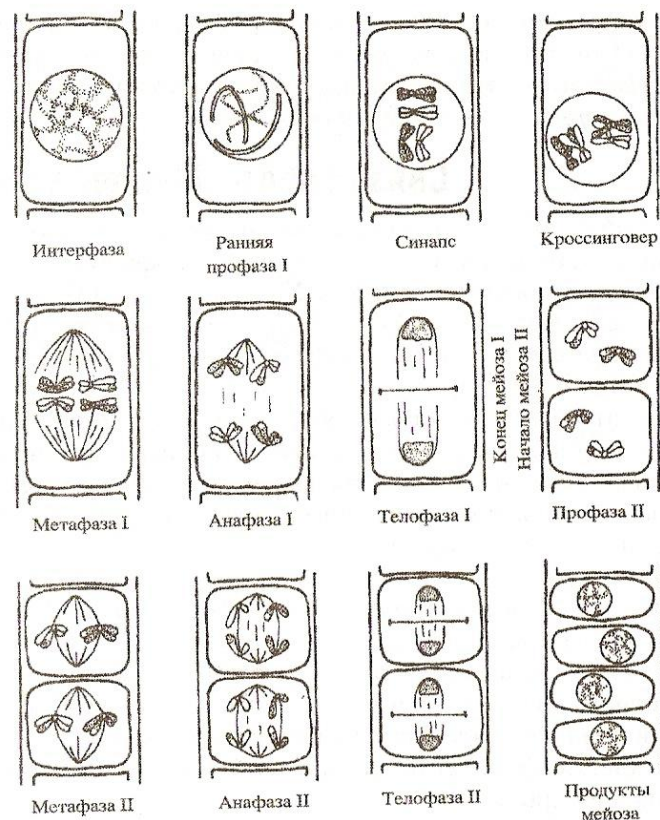


Рис. 2.4. Стадии мейоза у растительной клетки.

Материнские хромосомы — светлые, отцовские хромосомы — темные

обеспечить все индивидуальные признаки, которые делают каждый индивидуум уникальным.

Универсальный носитель генетической информации должен быть гораздо меньше и сложнее. Таким он и оказался, в чем вы убедитесь в следующей главе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Кто написал «Микрографию», представив свои наблюдения в области микроскопии?
 - (а) капитан Кук;
 - (б) капитан Хук;



- (в) Роберт Гук;
 - (г) Роберт Шук.
2. Шлейден и Шванн считаются отцами:
 - (а) хот-догов и велосипедов;
 - (б) клеточной теории;
 - (в) генетических методик;
 - (г) евгеники.
 3. Четко видимая точка, которую Роберт Браун наблюдал в центре клеток орхидеи, называется:
 - (а) корой;
 - (б) сердцем;
 - (в) херидиколусом;
 - (г) ядром.
 4. Клетки, содержащие хорошо очерченное ядро и другие структуры, заключенные в мембраны, называются:
 - (а) эвкалиптовые клетки;
 - (б) эвфемистические клетки;
 - (в) эукариотические клетки;
 - (г) юстасные клетки.
 5. Клетки, имеющие одну внешнюю мембрану, не имеющие выраженного ядра и других внутренних структур, называются:
 - (а) антиядерными клетками;
 - (б) профицитными клетками;
 - (в) нелинейными клетками;
 - (г) прокариотическими клетками.
 6. Маленькие структуры внутри клетки называются:
 - (а) органеллами;
 - (б) пианеллами;
 - (в) нервонеллами;
 - (г) протонеллами.
 7. Митоз относится к:
 - (а) окрашиванию клеток, чтобы они стали видны при микроскопии;
 - (б) выращиванию клеток на чашках Петри;
 - (в) удвоению и делению клеточной хромосомы;
 - (г) запаху изо рта.



8. Веретено — это:
- (а) лабораторный инструмент для изучения клеточного роста;
 - (б) фиброзная структура, которая позиционирует и делит хромосомы во время клеточного деления;
 - (в) точка соединения пары хромосом;
 - (г) острый нож для забора клеток у животных.
9. Процесс клеточного деления, приводящего к образованию гамет, называется:
- (а) циррозом;
 - (б) пертуссисом;
 - (в) миализом;
 - (г) мейозом.
10. Клетка, содержащая только половину полного набора хромосом, называется:
- (а) гаплоидом;
 - (б) парноидом;
 - (в) аллоидом;
 - (г) целлюлоидом.

Глава 3

ДНК — химическая основа наследственности

В 1869 году, всего через четыре года после опубликования работы Менделя, швейцарский химик Иоганн Фридрих Мишер (Johann Friedrich Miescher) сделал открытие. Когда чистые ядра клеток из гноя с бинтов, выброшенных в хирургическом отделении госпиталя, обрабатывались слабыми щелочными растворами с последующей нейтрализацией кислотами, получался странный преципитат.

Считалось, что клетки животных состоят в основном из белков, а вот новая полученная субстанция, как заявил Мишер (и подтвердил свое заявление в химических опытах), «не может относиться ни к одной из белковых субстанций, известных в настоящее время».

Поскольку субстанция содержалась в клеточных ядрах, Мишер назвал субстанцию «нуклеин». Скоро нуклеин был открыт в других видах клеток. Химический анализ показал, что, в дополнение к водороду, углероду, азоту и кислороду, элементам, обычным для органических молекул, нуклеин содержал фосфор.

Работа Мишера об открытии нуклеина появилась в печати в 1871 году. Он выдвинул гипотезу, что нуклеин является хранилищем фосфора, ждущего своего использования клеткой с неизвестной целью.

На самом деле Мишер был первым человеком, увидевшим дезоксирибонуклеиновую кислоту, или ДНК. Ее молекула благодаря своим свойствам играет главную роль в наследственности.

Гонка за расшифровкой ДНК

Значение открытия Мишера оставалось непонятым более полувека. Когда началось изучение биохимических основ генетики в начале XX века, ученые начали понимать, что ген должен быть каким-то сложным химическим веществом. Они знали, что гены располагаются в хромосомах (подробнее см. в следующей главе). Они также



знали, что только в хромосомах содержится два сложных химических вещества — белки и нуклеиновые кислоты (так переименовали нуклеин после Мишера), ДНК и родственная ей рибонуклеиновая кислота, РНК.

Большинство генетиков считали, что нуклеиновые кислоты — недостаточно сложные химические вещества, чтобы нести генетический код. Здравый смысл подсказывал, что гены должны быть каким-то типом белков. Все эти рассуждения были перевернуты с ног на голову опытами, проведенными в конце 1930-х — начале 1940-х годов Освальдом Эвери (Oswald Avery), иммунологом Рокфеллеровского университета в Нью-Йорке.

Исследователь из британского Министерства здравоохранения Фред Гриффит (Fred Griffith) ранее показал, что неvirulentная форма бактерий *Streptococcus pneumoniae*, названная *шероховатой*, могла трансформироваться в virulentную форму, названную *гладкой*. Гриффит вводил мышам инъекцию живых шероховатых и мертвых гладких бактерий. В течение двух дней многие мыши погибли. Из их крови Гриффит выделил живые гладкие бактерии. Что-то трансформировало живую шероховатую и неvirulentную форму бактерий в гладкую и virulentную.

Более десятилетия Эвери упорно проводил трудоемкие опыты в попытках отыскать природу «трансформирующего принципа». Его выводы превзошли все ожидания: трансформирующим принципом у *Streptococcus pneumoniae* и, как потом оказалось, у всех других форм жизни была ДНК.

Результаты Эвери не сразу были восприняты всеми, но проведенные в течение следующих нескольких лет эксперименты подтвердили ключевую роль ДНК в генетике. В частности, в исследованиях Альфреда Херши (Alfred Hershey) и Марты Чейз (Martha Chase) было показано, что генетическую информацию вирусов, впрыскиваемую в клетку и приводящую к ее заражению, несет ДНК вируса, а не его белковая оболочка (можете себе представить, какое высокотехнологическое оборудование они использовали, чтобы разделить ДНК и белковую оболочку вируса? Кухонный блендер).

Открытие Эвери поднимало другой вопрос: если ДНК несет генетическую информацию, как она это делает? Ученые предполагали, что разгадка кроется в молекулярной структуре ДНК. И стартовала гонка за ее расшифровкой.

Три группы начали изучать структуру ДНК до опубликования результатов Херши и Чейз. Одну группу в Калифорнийском технологическом институте, в США, возглавлял Лайнус Полинг (Linus



Pauling). Две группы работали в Англии. Одна из них — в Королевском колледже, в Лондоне, ею руководил Морис Уилкинс (Maurice Wilkins). Его коллегой была Розалинд Франклин (Rosalind Franklin), занимавшаяся рентгеновской кристаллографией ДНК. Другая английская группа работала в Кембридже и включала американца Джеймса Дьюи Уотсона (James Dewey Watson) и англичанина Френсиса Гарри Комптона Крика (Francis Harry Compton Crick).

Размышляя, дискутируя и строя модели, Крик и Уотсон безуспешно пытались расшифровать структуру ДНК. Но 30 января 1953 года Уотсон посетил Мориса Уилкинса в Королевском колледже. Они встречались раньше и стали друзьями. Уилкинс показал Уотсону «фотографию 51», рентгеновское фото кристалла ДНК, сделанное Розалинд Франклин (без ее разрешения). Когда Уотсон посмотрел фотографию, к нему пришла вспышка озарения. Он рассказал Крику о своих мыслях, и в течение месяца они сформулировали представление о структуре ДНК. Их короткая работа по этому вопросу появилась в британском научном журнале «Природа» 25 апреля 1953 года. Пять недель спустя они опубликовали вторую статью, в которой объясняли, как структура ДНК могла быть ключом к ее саморепликации — основе воспроизведения всех форм жизни на Земле.

Розалинд Франклин, 1920–1958

Розалинд Франклин решила стать ученым, когда ей исполнилось 15 лет, и поехала поступать в Кембриджский университет. (Ее отец сначала отказался платить за образование Розалинд, потому что вообще не одобрял университетское образование для женщин, вместо него заплатила тетя.)

Окончив университет в 1941 году, Франклин начала изучать древесный и каменный уголь и возможность их эффективного использования. Ее работа положила начало целой области науки: исследованиям высокопрочных карбоновых волокон. В возрасте 26 лет, едва получив степень доктора философии, она начала работать с рентгеновской дифракцией: использовать рентгеновское излучение в исследовании молекулярных структур кристаллов. Розалинд распространила эту методику с изучения простых кристаллов на изучение сложной неживой материи, представленной большими биологическими молекулами.

Ее работу оценили и пригласили в 1950 году присоединиться к исследованиям группы ученых в Королевском колледже Лондона, изучавшей живые клетки. Франклин было предложено работать с ДНК. К сожалению, она не поладила с Морисом Уилкинсом, вторым человеком в лаборатории и руководителем исследований ДНК.



Тщательно настроив оборудование для получения очень тонкого пучка рентгеновских лучей и улучшив процесс выделения образцов ДНК, Франклин оказалась в состоянии сделать удивительно четкие рентгеновские дифракционные фотографии молекулярной структуры ДНК. Именно такое фото без ее разрешения Уилкинс показал Уотсону. Это помогло Уотсону и Крику успешно расшифровать структуру ДНК, обогнав коллектив ученых Королевского колледжа.

Вскоре после этого Франклин ушла из Королевского колледжа (с условием, что не будет работать с ДНК). Она вернулась к изучению угля и обратила внимание на вирусы. Ее исследовательская группа в Бирбекском колледже в Лондоне заложила основы структурной вирусологии.

Франклин умерла от рака яичников в возрасте 37 лет в 1958 году. Многие убеждены, что она должна была разделить Нобелевскую премию 1962 года с Уотсоном, Криком и Уилкинсом. Однако Нобелевские премии не присуждаются ученым посмертно.

Двойная спираль

Даже до того как Уотсон с Криком разгадали структуру ДНК, ученые понимали, что молекулы ДНК обладают «скелетом», «позвонками» которого являются единицы, состоящие из молекулы сахара (дезоксирибозы) и молекулы фосфата (вещества, содержащего фосфор). К таким позвонкам прикреплены молекулы, называемые *азотистыми основаниями*. Они состоят из атомов кислорода и азота, соединенных в кольца. Насчитывают четыре такие молекулы: *аденин* (сокращенно — А), *гуанин* (Г), *цитозин* (Ц), *тимин* (Т). Цитозин и тимин, кольцевые молекулы которых состоят из шести членов, называются *пиримидинами*, а аденин и гуанин, имеющие сшитые пяти- и шестичленные кольца, — *пуринами* (рис. 3.1).

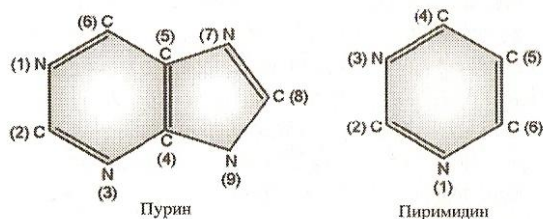


Рис. 3.1. Азотистые основания в ДНК классифицируются как пиримидины и пурины, в зависимости от структуры



В конце 1940 годов рожденный в Австрии химик Эрвин Чаргафф (Erwin Chargaff) показал, что в любой молекуле ДНК количество цитозина равно количеству гуанина, а тимина — аденину.

Рентгеновская кристаллография намекала на то, что ДНК могла иметь винтовую или спиральную структуру, какой обладают многие белки. Прорыв Уотсона и Крика заключался в понимании того, что ДНК состоит из двух остовов, основания которых обращены внутрь друг к другу и сцеплены, как ступеньки стремянки (рис. 3.2). Будучи связанными слабыми химическими *водородными связями*, аденин и тимин, цитозин и гуанин всегда образуют пары, что объясняет открытие Чаргаффа.

Поскольку пару всегда образуют одни и те же основания, одна спираль молекулы ДНК — это зеркальное отражение другой. Уотсон и Крик поняли, что, если разделить ДНК по связям оснований и поместить в среду со свободно плавающими элементами остова и

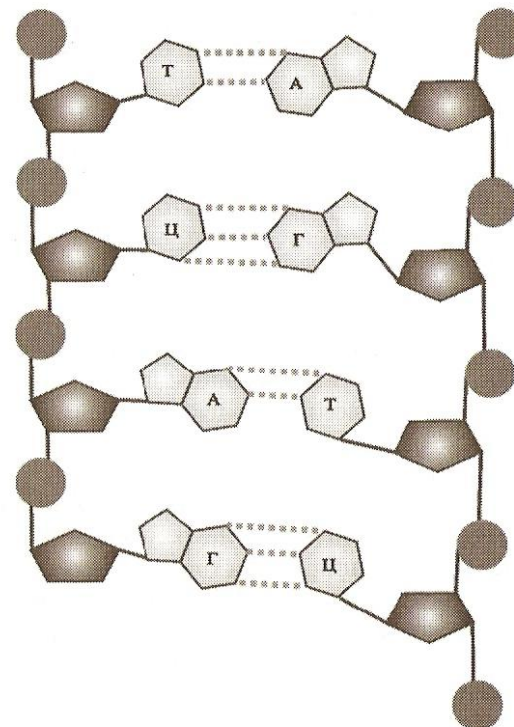


Рис. 3.2. Структура ДНК. Двойная спираль имеет постоянную ширину благодаря спариванию «узких» пиримидинов с «широкими» пуринами



основаниями (как в ядре клетки), каждая из сторон станет рекомбинировать со свободно плавающими элементами и создаст точную копию исходной молекулы.

Итак, у вас будут две идентичные молекулы, точные копии оригинала, родительской молекулы. Сам факт, что «широкие» пурины всегда спариваются с «узкими» пиримидинами, гарантирует, что оба остова остаются на равном расстоянии друг от друга.

Слабые водородные связи между основаниями не могут удерживать молекулу, ее удержание обеспечивается гораздо более крепкими связями между кольцами дезоксирибозы и фосфатными группами остовов. Каждая дезоксирибоза связана с двумя группами фосфатов. Такая связь имеет свой атом углерода на кольце дезоксирибозы, один из которых помечен 3' (читается «три-штрих»), а другой помечен как 5' (читается «пять-штрих»). Это дает каждой из нитей остова ДНК направленность. Чтение вверх левосторонней нити или вниз правосторонней нити считается чтением в направлении 3' к 5', а чтение вниз левосторонней нити или вверх правосторонней нити — в направлении 5' к 3' (направленность играет важную роль в репликации ДНК).

Каждая пара оснований закручена примерно на 36° вокруг оси спирали по отношению к следующей паре оснований, поэтому в каждом витке спирали содержатся 10 пар оснований.

Уотсон, Крик и Уилкинс разделили Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 1962 году за открытие структуры ДНК.

Репликация ДНК

Для репликации ДНК сначала должна разделиться. Тот факт, что основания соединены относительно слабыми водородными связями, очень важен. Это позволяет молекуле разделиться посередине, сохраняя внешние остовы.

Даже в этом случае репликация ДНК, очевидно, вызовет большие разрушения в молекуле ДНК. Если бы две нити остова исходной молекулы разделялись полностью, то они развалились бы на фрагменты и генетическая информация могла бы потеряться. К счастью, две нити остова исходной молекулы ДНК никогда полностью не разделяются. Вместо этого только маленькая часть ДНК теряет структуру дуплекса в каждый отдельно взятый момент времени.

Точка, в которой происходит разъединение нитей, называется *репликационной вилкой*. Она движется по родительской ДНК, которая раскручивается, а затем снова скручивается, но уже в две дочерние нити (рис. 3.3).

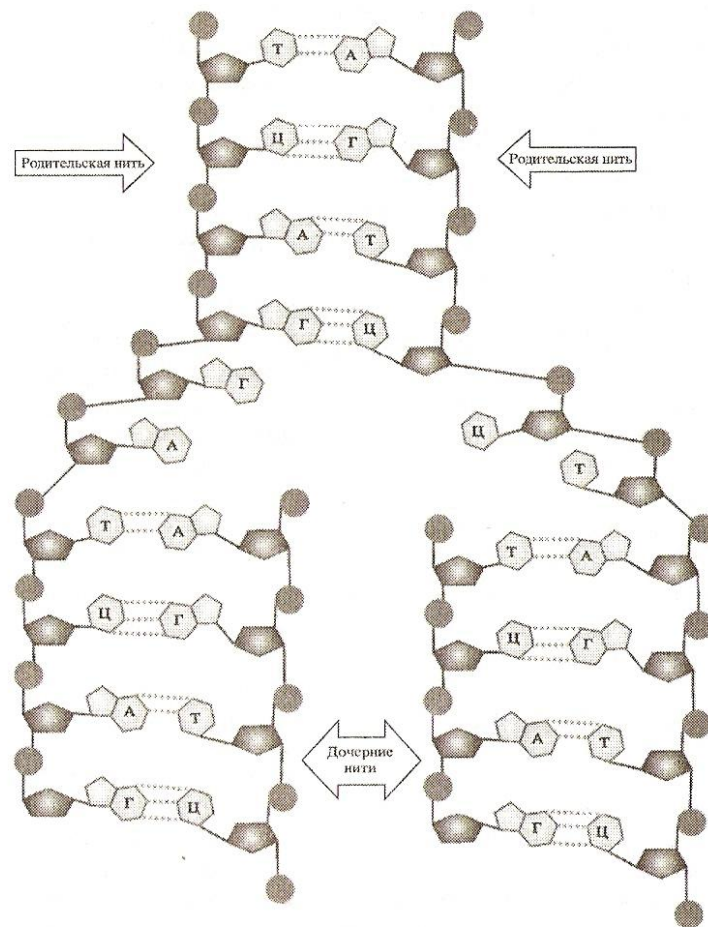


Рис. 3.3. Специфическое спаривание одного основания с другим позволяет ДНК реплицироваться с большой точностью

Сложный процесс требует работы, по крайней мере, трех *ферментов*. Ферментами называют белки, которые облегчают протекание химических реакций, но сами в этих реакциях не изменяются. (Суффикс «-аза» обычно обозначает, что белок относится к ферментам.)

Ферменты, называемые геликазами, сначала открывают двойную спираль, создавая однострунные матрицы. Связывающие белки стабилизируют эти участки для формирования репликационной вилки.



Ферменты, называемые ДНК-полимеразами, строят две копии исходной молекулы ДНК, присоединяя нуклеотиды к открывшимся основаниям. Нуклеотид — это кусок скелета ДНК, сахар-фосфатная пара с прикрепленным к ней основанием. Интересно, что полимеразы могут не только добавлять свободные нуклеотиды к существующим цепям, но и удалять их. Во время репликации ошибочно спаренные основания с большой вероятностью будут удалены полимеразой и замещены правильными основаниями. Это помогает предотвратить введение ошибок (мутаций) в дочерние нити ДНК (подробнее о саморепарирующих механизмах ДНК см. ниже в этой главе).

Все известные ДНК-полимеразы могут присоединять нуклеотиды только к 3'-концам разведенных остовов ДНК, поэтому только одна нить со свободным 3'-концом может постоянно реплицироваться. Она называется *ведущей нитью*. Вторая нить, *отстающая*, реплицируется короткими кусками, называемыми *фрагментами Оказаки* (длина каждого из них — несколько сот нуклеотидов), в направлении, противоположном движению репликационной вилки. Пробелы, созданные недостающими нуклеотидами, и разрезы между фрагментами быстро заполняются еще одним ферментом — ДНК-лигазой.

В очень длинной двойной спирали ДНК репликация может стартовать с нескольких точек сразу. Эти точки называются «точками начала репликации», или *ori сайтами*.

Мутации ДНК и репарация

ДНК способна реплицироваться очень точно, но ошибки при репликации все же случаются. Любое изменение последовательности оснований в ДНК при передаче ее от одного поколения другому называется *мутацией*. Мутации могут происходить где угодно в последовательности ДНК, но не все мутации приводят к видимым изменениям в организме. Такие изменения происходят только при мутациях в последовательности ДНК генов.

Изменения в ДНК необязательно носят постоянный характер. У клеток есть механизмы репарации (восстановления) ДНК:

1. **Фотореактивация.** В некоторых клетках, например, таких, как бактерия *E. coli*, имеется фермент, активируемый светом и исправляющий повреждения ДНК.
2. **Экзцизия.** Четырехступенчатый процесс восстановления ДНК.
 - одна нить ДНК разрезается ферментом, называемым УФ-эндонуклеазой;



- фермент ДНК-полимераза удаляет нуклеотиды около разреза, включая поврежденные участки;
 - ДНК-полимераза заменяет удаленные нуклеотиды правильными, используя неразрезанную комплементарную нить как матрицу;
 - фермент полинуклеотид-лигаза склеивает образовавшиеся разрывы в ДНК.
3. **Репарация ошибочно спаренных оснований.** Основания, спаренные с несоответствующими им по комплементарности, удаляются вырезанием.
 4. **SOS-репарация.** Брешы в ДНК иногда могут быть запечатаны без учета комплементарности оснований. Это происходит при обширных повреждениях в ДНК и позволяет клетке восстановить повреждения и выжить, но увеличивает риск образования мутаций.

Ссылка

Мутации и их воздействие на организмы подробно разбираются в главе 7.

В клеточном ядре молекулы ДНК собраны в большие тела, называемые хромосомами. Поскольку хромосомы можно легко увидеть в обычный микроскоп, они были подробно изучены задолго до понимания структуры и функции ДНК.

В следующей главе мы рассмотрим структуру хромосом и их роль в генетике.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Из какой субстанции Иоганн Фридрих Мишер впервые выделил ДНК?
 - (а) воды из пруда;
 - (б) мочи;
 - (в) гноя;
 - (г) яичного желтка.
2. Каково общее название РНК и ДНК?
 - (а) центральные вакуоли;
 - (б) нуклеиновые кислоты;
 - (в) делящиеся молекулы;
 - (г) наследственные вещества.



3. Чья работа утвердила ДНК как «трансформирующий принцип» в генетике?
 - (а) Эвери Брукса;
 - (б) Текса Эвери;
 - (в) Освальда Эвери;
 - (г) Эвери Джонсона.
4. Какую фотографическую технику использовала Розалин Франклин в изучении ДНК?
 - (а) поляризационные фильтры;
 - (б) микрофотографию;
 - (в) рентгеновскую дифракцию;
 - (г) цейтраферную съемку.
5. Остовы двойной спирали ДНК сделаны из:
 - (а) сахаров и фосфатов;
 - (б) белков и кальция;
 - (в) кислот и щелочей;
 - (г) солей и металлов.
6. Какое из веществ не относится к азотистым основаниям ДНК?
 - (а) аденин;
 - (б) писцин;
 - (в) гуанин;
 - (г) тимин.
7. Кусок остова ДНК с присоединенным к нему основанием называется:
 - (а) нуклеотидом;
 - (б) нуклеосомой;
 - (в) хроматидой;
 - (г) хромосомой.
8. Точка, в которой молекула ДНК разделяется на две, называется:
 - (а) репродуктивным разрывом;
 - (б) копирующим центром;
 - (в) репликационной вилкой;
 - (г) фокусом деления.



9. Белки, служащие катализаторами и усиливающие биохимические реакции без изменения в них самих, называются:
 - (а) рибосомами;
 - (б) хромосомами;
 - (в) цитозинами;
 - (г) ферментами.
10. Любое изменение последовательности ДНК при передаче ее от одного поколения другому называется:
 - (а) экструзией;
 - (б) мутацией;
 - (в) конфузией;
 - (г) контузией.



Глава 4

Хромосомы — структурированная ДНК

Задолго до того как ДНК додумались связать с наследственностью, не говоря уж о расшифровке ее структуры, наследственность связывали с определенной частью клетки.

Немецкий ученый Вальтер Флемминг (Walter Flemming) в 1875 году открыл, что в ядре клеток содержится легко прокрашиваемая субстанция. Он назвал ее *хроматин*, от греческого слова, обозначающего свет. Флемминг заметил, что перед делением клетки хроматин образует волокнистые тела, которые ученый назвал *хромосомами*.

Когда теорию Менделя стали принимать, начали искать в клетках его загадочные «факторы». В 1902 году американский генетик Уолтер Саттон одним из первых предположил, что факторы каким-то образом связаны с хромосомами. Он отметил, что при делении клеток хромосомы группируются в пары, которые сначала удваиваются, а затем расходятся, так что каждая дочерняя клетка получает набор хромосом, идентичный набору родительской клетки.

Он также отметил, что, когда формируются спермии и яйцеклетки, хромосомные пары расщепляются, но не удваиваются. Это означало, что каждая половая клетка получает только половину набора хромосом, а при оплодотворении сперматозоидом яйцеклетки образующийся организм получит одну половину хромосом от одного родителя, а вторую половину — от второго родителя. А ведь именно так должны были работать факторы Менделя.

«Комната мух»

Еще один американский ученый, Томас Гант Морган (Thomas Hunt Morgan), занялся проверкой теории Саттона. Морган сомневался в правоте Саттона. В конце концов, указывал он, все клетки организма имеют одинаковые хромосомы, но отличаются друг от

друга: мышечные клетки не похожи на клетки крови, а клетки крови не похожи на клетки мозга.

В 1904 году Морган начал работать в Колумбийском университете в Нью-Йорке. Со своими студентами он использовал различных животных для изучения генетики. Они обнаружили, что плодовая мушка, *Drosophila melanogaster*, оказалась наиболее полезной. Например, мушек можно было легко заманить в лабораторию, положив банан на подоконник. А держали их в молочной бутылке. И еще мушки были маленькими — не больше половины сантиметра в длину. Так что в лаборатории можно было экспериментировать с сотнями тысяч мух. А самое главное, они очень быстро размножались и были очень плодовиты. Новое поколение появлялось каждые 12 дней (самка обычно откладывала около 1000 яиц). Скоро все стали называть лабораторию Морганов «Комнатой мух».

Однажды в 1910 году Морган заметил самца мушки, у которого глаза были белого цвета, а не красного, как у остальных мух. Он назвал признак «белым», довольно невыразительно, и стал скрещивать самца с самками, у которых глаза были красного цвета. У потомства глаза были красными. Но при скрещивании мух из этого потомства друг с другом Морган увидел, что признак белых глаз снова появился, но только у самцов. Каким-то образом признак встречался только у особей одного пола.

Морган знал, что у плодовых мушек четыре пары хромосом, включая пару половых. В 1905 году Эдмунд Уилсон (Edmund Wilson) и Нетти Стивенс (Nettie Stevens) открыли, что у самцов многих животных, включая человека и плодовых мушек, одна хромосома в паре меньше второй и имеет другую форму. Они назвали ее Y-хромосомой. Самки наследовали две хромосомы нормального вида, которые были названы X-хромосомами, а самцы наследовали X-хромосому от матери и Y-хромосому от отца.

Морган пришел к заключению, что «белый» и другие «ограниченные полом» признаки, например красно-зеленая слепота (дальтонизм) у людей, которая поражает только мужчин, должны располагаться на X-хромосоме (рис. 4.1).

Это была первая мутация, связанная с определенной хромосомой, и первое солидное свидетельство, что факторы Менделя в самом деле были найдены на хромосоме. В течение нескольких следующих лет Морган с сотрудниками идентифицировали более 40 мутаций у плодовых мушек. Они затрагивали не только цвет глаз, но и различную форму тела. Некоторые мутации казались сцепленными друг с другом, а сцепления объединялись в четыре группы.

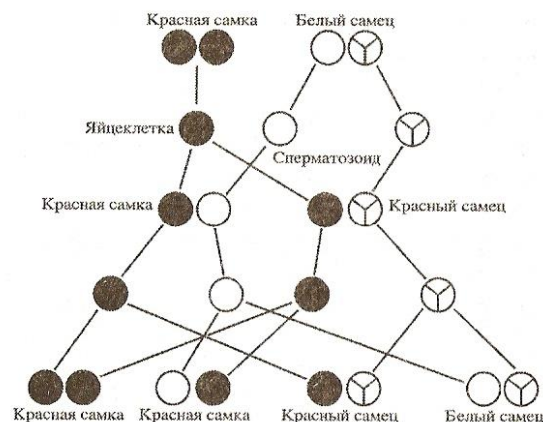


Рис. 4.1. На схеме показан результат скрещивания красноглазой самки плодовой мушки с белоглазым самцом. Черные кружки отмечают хромосомы, несущие признак красных глаз, а белые кружки — хромосомы, несущие признак белых глаз. Белые кружки, помеченные Y, — это Y-хромосомы, несущие признак белых глаз. Признак красных глаз доминирует, поэтому у самок всегда красные глаза. Они получают, по крайней мере, одну X-хромосому от матери. Однако на второй X-хромосоме они могут нести признак белых глаз. Самцы, наследующие данную хромосому вместе с Y-хромосомой, несущей признак белых глаз, будут иметь белые глаза

Многие связанные с хромосомами открытия вышли из лаборатории Моргана в Колумбии. Сам Морган получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 1933 году за открытия, связанные с функциями хромосом в наследственности.

Структура хромосомы

В настоящее время благодаря пониманию молекулярных основ генетики мы, конечно, лучше понимаем хромосомы, чем могли надеяться Морган и его сотрудники.

Каждая хромосома состоит из ДНК и белка, связанных вместе. ДНК плотно скручена на белковом стержне. Насколько плотно? ДНК типичной человеческой клетки должна уместиться в ядре диаметром 0,005 мм. Но если ее полностью развернуть, то длина составит почти два метра. В точку на конце предложения может уместиться 200 человеческих клеток, или 400 м ДНК. В человеческом теле около 100 триллионов клеток, так что ДНК одного вашего тела, вытянутая в нить, дотянется до Солнца (а это около 140 млн км) и обратно поч-

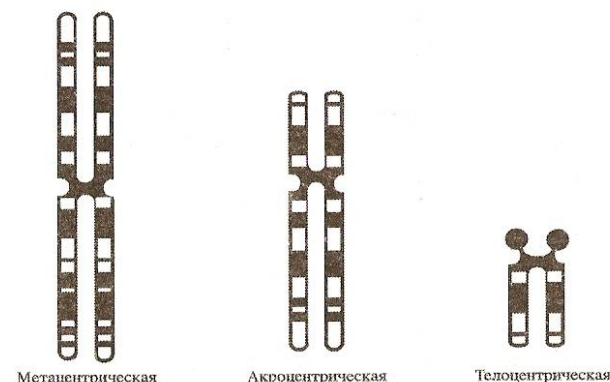


Рис. 4.2. Хромосомы могут иметь различную форму, в зависимости от расположения центромеры

ти 20 раз. Но несмотря на такую плотность упаковки, генетический материал в клетке сжимается еще в 5—10 раз, когда клетка начинает делиться (что описано в главе 2). В это время хромосомы легко увидеть в микроскоп, если их окрасить.

Как отмечено в главе 2, у разных видов количество хромосомных пар различно. Количество хромосом в любой клетке называется *кариотип*. У человека 23 пары хромосом. Первые 22 пары называются *аутосомами*. Они нумеруются в соответствии с длиной, начиная с самой длинной, от 1 до 22. Пара 23 — это половые хромосомы, X- и Y-хромосомы, упомянутые ранее.

Центромера, жизненно важная для связи хромосомных пар до клеточного деления, делит хромосомы на два плеча различной длины. Ее расположение варьируется у различных хромосом. Если центромера располагается около центра, то плечи хромосомы примерно равной длины. Такая хромосома называется *метацентрической*. Если центромера слегка смещена от центра, то одно плечо длиннее другого, а хромосома называется *субметацентрической*. Если центромера сильно смещена от центра, то различие между плечами велико, а хромосома называется *акроцентрической*. В этом случае короткое плечо — это *p*-плечо, а длинное — *q*-плечо. Наконец, если центромера находится у самого конца хромосомы, то хромосома называется *телоцентрической*.

Также на концах хромосом расположены так называемые *теломеры*. Они запечатывают концы хромосом, как металлические или пластиковые пистончики запечатывают концы обувных шнурков.



Теломеры, открытые нобелевским лауреатом Германом Мюллером (Hermann Muller) в 1930-е годы, состоят из тысяч повторяющихся кусочков ДНК, соединенных вместе. Они помогают клетке отличать концы хромосом от разрывов, требующих репарации (восстановления). С каждым делением клетки теломеры становятся все короче, и кажется, что они играют роль в запрограммированной смерти клетки. Одной из отличительных черт раковых клеток является способность активировать фермент *теломеразу*, который не дает теломерам укорачиваться, что делает клетки практически бессмертными.

Сцепление, кроссинговер и хромосомное картирование

Как мы уже упоминали, Морган и его студенты открыли, что некоторые признаки сцеплены. Следовательно, гены сцепленных признаков расположены на одной и той же хромосоме.

Для определения сцепления генов группа Моргана скрещивала новых мутантов с нормальными мушками. Мушек из потомства, полученного от этих скрещиваний, скрещивали друг с другом снова и снова, пока исследователи не получали достаточное число мушек с устойчивым сохранением мутации.

Затем самцов с новой мутацией скрещивали с самками, несущими другие мутации, расположенные на определенной хромосоме. Поскольку расположение уже было известно, такие мутации служили маркерами. Белые глаза, например, были результатом мутации на X-хромосоме. Если в последующих поколениях новая мутация постоянно появлялась у мух с мутацией белых глаз, то исследователи знали, что X-хромосома несла ген и для новой мутации.

Менделю повезло

Как вы помните, одним из менделевских принципов наследования был принцип независимого комбинирования. Соответственно, каждый из признаков, которые он изучал у растений гороха, не зависел от других признаков и никак не влиял на них.

Морган установил, что Менделю повезло. Семь признаков, которые он выбрал для изучения у гороха, несли разные хромосомы, а их у гороха как раз семь пар. Если бы какие-то признаки были сцепленными, полученные Менделем результаты не были бы такими ясными, а он мог бы никогда не выдвинуть свою основополагающую теорию наследственности.



Концепция сцепления ведет к другому важному открытию. Морган был озадачен признаком, названным *миниатюрное крыло* и связанным с признаком белых глаз (гены для обоих признаков располагались на X-хромосоме), так что оба признака передавались вместе, но не всегда.

Морган придумал объяснение. Датский биолог Ф.А. Янсен (F.A. Janssen) открыл, что перед делением, во время образования половых клеток, пары хромосом скручивались одна с другой. Морган подозревал, что при разъединении хромосом они разрывались на куски, которые снова объединялись в целые хромосомы. В этом процессе разрыва и соединения часть одной хромосомы могла попасть в другую. Все гены на разломанном куске переходили с одной хромосомы на другую. Морган назвал процесс *кроссинговером*. Теперь он известен как *рекомбинация*.

Это могло объяснить, почему миниатюрное крыло не всегда наследовалось вместе с белыми глазами. Хотя признаки были сцеплены (их гены располагались на одной хромосоме), если они располагались далеко друг от друга, любой кроссинговер при образовании половых клеток мог разделить их, так что только один признак попал в дочернюю клетку. Сцепленные гены, которые редко разделялись при кроссинговере, должны были располагаться гораздо ближе друг к другу (рис. 4.3).

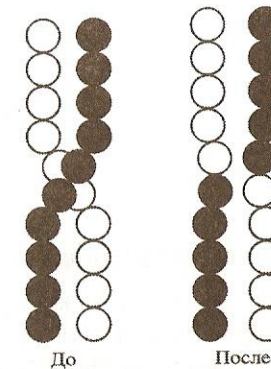


Рис. 4.3. Когда яйцеклетка и сперматозоид формируются, хромосомы в парах расходятся, так что каждая половая клетка имеет в два раза меньше хромосом, чем клетка тела. Перед расхождением хромосомы в каждой паре переплетаются. Иногда они разрушаются, а часть одной хромосомы встраивается в другую. В результате получается хромосома, содержащая гены от обеих хромосом пары. Этот процесс называется *кроссинговером*, или *рекомбинацией*



ГЕНЕТИКА без тайн

В 1911 году Морган объяснил свою идею кроссинговера студенту Альфреду Стуртеванту (Alfred Sturtevant). Стуртевант, который еще не окончил университет, понимал, что если Морган прав, то можно установить, хотя и грубо, взаимное расположение генов на X-хромосоме, если узнать, как часто различные признаки появляются в потомстве в результате скрещивания у мушек, несущих пары ограниченных полом признаков. Он писал позже: «Я ушел домой и провел большую часть ночи (забросив домашнее задание) за построением первой хромосомной карты» (рис. 4.4).

Желтое тело	Белый глаз	Ярко-красный глаз	Миниатюрное крыло	Рудиментарное крыло
----------------	---------------	----------------------	----------------------	------------------------

Рис. 4.4. Примерно так выглядела первая генетическая карта, показывающая расположение пяти признаков на хромосоме плодовой мушки

Стуртевант и другие сотрудники лаборатории Моргана построили карты и других трех хромосом. Они первыми выдвинули идею о том, что некоторые признаки являлись следствием комбинированного действия различных генов, а некоторые гены могли изменять действие других генов. Их ранние хромосомные карты были предшественниками всех генетических карт, сконструированных с тех пор, вплоть до проекта генома человека.

Ссылка

Картирование генома подробно обсуждается в главе 6, а информация о проекте генома человека приводится в главе 12.

Кроссинговер подтвержден

Морган и его команда были убеждены, что кроссинговер существует, но не могли наблюдать его непосредственно. Хромосомы слишком малы, чтобы можно было обеспечить прямое наблюдение за деталями процесса.

Все изменилось в 1930-е годы, когда ученые обнаружили, что клетки в слюнных железах личинок плодовых мушек содержат гигантские хромосомы. Они оказались в 2000 раз больше нормальных, а кроме того, были полосатыми — состояли из светлых и темных тяжей, которые можно было легко опознать и сосчитать. Впервые ученые могли напрямую наблюдать кроссинговер и другие перестройки хромосом.

ГЛАВА 4 Хромосомы — структурированная ДНК



Установление природы генетического материала и понимание его организации в живых клетках решают только часть генетической загадки.

Одно дело — понимать, что ДНК несет генетическую информацию. Но совсем другое дело — узнать, как эта информация используется для построения живого существа. Как такая маленькая, хотя и сложная, молекула ДНК может осуществлять контроль физических свойств гораздо больших по масштабу тел? Об этом мы поговорим в следующей главе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Вещество, из которого состоят хромосомы, было названо хроматином, потому что:
 - (а) оно содержит хром;
 - (б) оно содержит тин;
 - (в) это имя того, кто их открыл;
 - (г) его легко окрасить.
2. Сколько хромосом имеют половые клетки по сравнению с клетками тела?
 - (а) такое же количество;
 - (б) наполовину меньше;
 - (в) в два раза больше;
 - (г) на четверть меньше.
3. Каких насекомых Томас Морган и его студенты использовали при изучении генетики в Колумбийском университете?
 - (а) домашних мух;
 - (б) лошадиных мух;
 - (в) плодовых мушек;
 - (г) бабочек.
4. Как метятся половые хромосомы?
 - (а) мужская и женская;
 - (б) Марс и Венера;
 - (в) гамма и эпсилон;
 - (г) X и Y.
5. Что такое «ограниченный полом» признак?
 - (а) влияющий на органы размножения;
 - (б) свойственный одному полу;
 - (в) делающий организм стерильным;
 - (г) свойственный бесполом организмам.



6. Сколько пар хромосом у человека?
 - (а) 23;
 - (б) 32;
 - (в) 12;
 - (г) 7.
7. Что делит хромосому на два плеча различной длины?
 - (а) теломера;
 - (б) желудочек;
 - (в) дорзальная шпилька;
 - (г) центромера.
8. Если два гена сцеплены, то они:
 - (а) расположены на одной хромосоме;
 - (б) образуют связь между двумя хромосомами;
 - (в) прямо воздействуют друг на друга;
 - (г) не дают хромосомной паре правильно разделиться.
9. То, что Морган назвал «кроссинговером», также называется:
 - (а) канализированием;
 - (б) смычкой;
 - (в) рекализацией;
 - (г) рекомбинацией.
10. Первая карта гена выявила:
 - (а) где расположены специфические гены на хромосоме;
 - (б) где расположены хромосомы в клеточном ядре;
 - (в) откуда берутся половые клетки;
 - (г) как добраться до «Комнаты мух» в Калифорнийском университете.

Глава 5

Признаки — как выражаются гены

Френсис Крик был одним из тех, кто хотел понять, как информация, закодированная в ДНК, выражается в физической структуре организма. Один намек дала серповидно-клеточная анемия — генетическое нарушение, приводящее к ненормальному строению красных кровяных клеток (эритроцитов) и короткой продолжительности их жизни. Эта болезнь поражает 0,2% детей афроамериканцев в США. В начале 1940-х годов ученые обнаружили, что наследование серповидно-клеточной анемии подчиняется законам Менделя для одного гена. В 1950-е годы определили, что мутация, вызывающая это заболевание, изменяет всего одну аминокислоту в одной из полипептидных цепей гемоглобина, белка красных кровяных клеток, несущего кислород тканям тела.

Основываясь на этих фактах и других исследованиях, Крик предположил, что порядок оснований в молекуле ДНК может читаться как код для последовательностей молекул аминокислот в молекулах белка. Если набор из трех оснований представляет одну аминокислоту, должны существовать 64 возможные комбинации. Поскольку каждое живое существо построено из одних и тех же 20 аминокислот, система кодирования должна быть достаточно сложной.

Но какова комбинация оснований для каждой аминокислоты? Когда Крик предложил структуру из трех букв, которая стала известна как *генетический код*, это казалось неразрешимой загадкой. Но спустя несколько лет код был полностью расшифрован.

Опыты с бактерией *E. coli* привели к разгадке. В конце 1950-х годов ученые обнаружили, что могут синтезировать полипептиды, вводя отдельные аминокислоты в раствор, содержащий разрушенные клетки *E. coli*. В 1961 году молодой ученый из Национального института здоровья Майкл Ниренберг (Michael Nirenberg) продемонстрировал, что добавление к такому раствору РНК-молекул только с одним видом оснований, урацилом, приводило к синтезу полипептида, содержавшего лишь одну аминокислоту, фенилаланин. Казалось,



это указывает на то, что трехбуквенная комбинация УУУ — это кодон (кодирующая единица) для аминокислоты фенилаланина, который указывает путь для открытия кодонов других аминокислот.

Через пару лет другие РНК-молекулы (сначала — со случайной последовательностью оснований, а затем — с определенной) были применены в аналогичных опытах по установлению взаимоотношения между специфическими кодонами и аминокислотами (рис. 5.1).

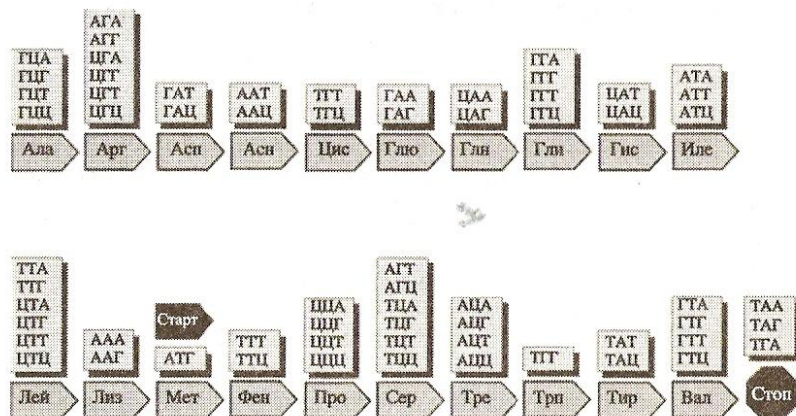


Рис. 5.1. Генетический код оказался на удивление простым. Большинство аминокислот могут кодироваться несколькими комбинациями из трех букв, или кодонами; три кодона служат стоп-кодонами, обозначая место окончания синтеза полипептидной цепи

Как вы, наверное, заметили, код был расшифрован добавлением РНК, а не ДНК к раствору *E. coli*. Причиной было то, что РНК необходима на пути, по которому клетки используют информацию, содержащуюся в ДНК, для производства аминокислот и белков.

Транскрипция

Трансформация неосязаемой генетической информации в осязаемые белки, из которых состоите вы, я, кошка и все живое, начинается с транскрипции — копирования последовательности нуклеотидов ДНК в последовательность цепи РНК, называемой *матричной*, или *информационной РНК* (мРНК).

Вспомним, что РНК очень похожа на ДНК, за исключением того, что в ее остоле сахар рибоза занимает место сахара дезоксирибозы, а урацил занимает место тимина.



Два способа писать кодоны

Поскольку РНК содержит урацил вместо тимина, содержащегося в ДНК, есть два способа писать различные кодоны генетического кода.

Если вы имеете дело с кодонами ДНК, то увидите трехбуквенные комбинации, включающие букву Т. Она обозначает тимин (например, ТГГ, ТАТ, ТАЦ и т.д.).

Если вы имеете дело с кодонами, транскрибированными в мРНК, то буква У, обозначающая урацил, заменяет букву Т. Поэтому те же самые кодоны превращаются в УГГ, УАУ, УАЦ и т.д.

Процесс транскрипции выполняется ферментами, названными *РНК-полимеразами*. Они начинают свою работу с раскручивания ДНК в области начала гена, которая определяется специальной последовательностью нуклеотидов, *промотором*. Только одна из нитей ДНК несет значащие кодоны. Она обозначается как *кодирующая нить*, или *смысловая нить*. Комплементарная нить обозначается как *некодирующая нить*, или *антисмысловая нить*. Это в какой-то мере противоречит интуитивному пониманию, поскольку именно по данной нити синтезируется мРНК для воссоздания кодонов, расположенных в смысловой нити (рис. 5.2).

Транскрипция продвигается в 3'—5' направлении. Начало кода для специфической полипептидной цепи всегда легко определить

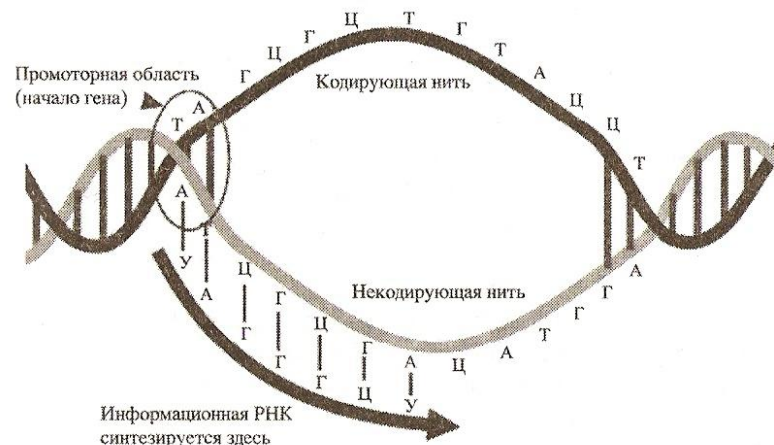


Рис. 5.2. При транскрипции кодоны одной нити ДНК организма копируются в нить мРНК



по *стартовому кодону* АУГ. Поскольку он одновременно является кодоном для аминокислоты метионин, то все белки начинаются с метионина. Конец последовательности полипептида отмечен *стоп-кодонами* УАА, УАГ или УГА. Поскольку ни один из них не кодирует аминокислоты, конец полипептида представлен аминокислотой, кодируемой последним кодоном, расположенным перед стоп-кодонами (транскрипция на самом деле начинается до стартового кодона и кончается после стоп-кодонов, так что мРНК содержит несколько нуклеотидов с обоих концов некодирующих аминокислот).

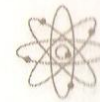
Трансляция

ДНК обычно не может выйти из ядра клетки. Выходит из ядра в цитоплазму мРНК, несущая код для аминокислот. В цитоплазме она встречается с маленькими структурами, называемыми *рибосомами*. Рибосомы состоят более чем из 50 белков и четырех различных видов РНК, *рибосомных РНК* (рРНК). С рибосомой связываются свободно плавающие молекулы еще одного вида РНК, *транспортные РНК* (тРНК). Они выполняют функцию целого флота буксиров, переносящих аминокислоты. Каждая индивидуальная РНК имеет последовательность из трех нуклеотидов, называемую *антикодоном*, которая комплементарна одному из кодонов мРНК. Каждая тРНК несет молекулу аминокислоты, соответствующую своему антикодону. (тРНК, несущая молекулу аминокислоты, считается *активированной*, или *заряженной*.) Прикрепление аминокислот к тРНК осуществляется ферментами — *аминоацил-синтетазами*.

Первая задача при трансляции нити мРНК в правильную последовательность аминокислот — определение, с какой точки начнется трансляция. Одна и та же последовательность может быть прочитана тремя различными путями, в зависимости от того, какое нуклеотидное основание в первом кодоне (первое, второе или третье) будет выбрано первым основанием нити. Другими словами, нить, начинающаяся как ЦУАУГГЦАА... может быть прочитана как ЦУА УГГ ЦАА... УАУ ГГЦ АА... или АУГ ГЦА А...

И тут вступает в действие стартовый кодон АУГ. Рибосома и тРНК, названная *инициатором* и несущая аминокислоту метионин, связываются со стартовым кодоном мРНК. Затем с мРНК связывается другая тРНК, несущая аминокислоту, соответствующую второму кодону мРНК.

Рибосома соединяет все молекулы таким образом, чтобы могли проходить все соответствующие реакции, связывает молекулу ме-



тионина со второй молекулой аминокислоты, используя фермент *пептидил-трансферазу*. В то же самое время нарушается связь между молекулами аминокислот и их «буксирами» тРНК, тРНК освобождается и опять связывается с молекулами аминокислот. Рибосома передвигается к следующему кодону, и процесс повторяется до тех пор, пока не будут транслированы все кодоны и рибосома не дойдет до одного из стоп-кодонов: УАА, УАГ или УГА. Тогда рибосома освобождает мРНК и уходит (рис. 5.3).

Несколько рибосом могут транслировать фрагмент мРНК одновременно. Как только первая рибосома сдвигается со стартового кодона, к нему присоединяется вторая и начинает трансляцию. Это позволяет за короткое время получить большое количество полипептидных цепей с одной молекулы мРНК. В некоторых случаях полипептидные цепи начинают образовывать активную часть белка еще до своего полного построения. Однако некоторые полипептидные цепи не становятся активными до их модификации. Одни полипептиды должны *фосфорилироваться* (модификация заключается в присоединении к ним фосфатных групп), а другие — *гликозилироваться* (нуждаются в присоединении углеводных групп). Ряд полипептидных цепей активируется за счет частичного разрезания ферментами, называемыми *пептидазами*, которые разделяют белок на меньшие фрагменты.

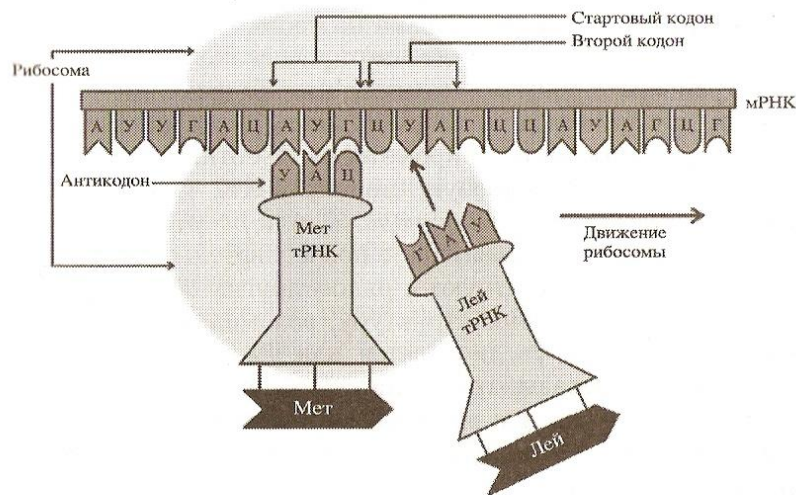


Рис. 5.3. В процессе трансляции рибосомы и транспортные РНК собирают из аминокислот полипептидную цепь в соответствии с копией мРНК, сделанной с клеточной ДНК



Важным примером служит инсулин. Он синтезируется клеткой в виде одной белковой цепи, названной *проинсулином*, и неактивен до тех пор, пока фермент пептидаза не сделает разрезы в белковой цепи молекулы, удалив 31 аминокислоту, а оставшиеся две полипептидные цепи не соединятся в одну.

Как регулируются гены

Вспомните, что каждая клетка несет генетический код всего организма. Поэтому очевидно, что только некоторые гены в каждой клетке могут быть активны в определенные моменты времени. Например, гены, которые кодируют белки, необходимые для построения ряда структур после деления клетки, или гены, которые кодируют белки, всегда необходимые для функционирования всего организма.

Регуляция выражения генов может происходить (и происходит) на различных этапах процессов транскрипции и трансляции, описанных выше.

Ссылка

В этой главе мы хотим привлечь ваше внимание к регуляции активности генов у эукариот. Об особенностях этого процесса у прокариот будет рассказано в главе 9.

Как мы отмечали ранее, специфические последовательности ДНК, называемые промоторами, указывают на места, где должна начинаться транскрипция. Промоторы обычно примыкают к генам, которые начинают транскрибироваться именно с них. Однако промоторы стимулируются другими участками ДНК, называемыми *энхансерами*. Эти участки могут отстоять от промоторов на сотни или даже тысячи пар оснований, причем в любую сторону ДНК. Связывающиеся с ДНК белки, называемые *активаторами*, или *репрессорами* (в зависимости от функции), связываются с последовательностями энхансеров в ДНК или взаимодействуют с рядом других белков, полностью объединяющихся в белковую структуру, взаимодействующую с промотором. В результате увеличивается или уменьшается количество молекул РНК-полимеразы, транскрибирующей геном.

Промоторы и энхансеры вместе именуются *цис-активными* элементами, потому что расположены на той же нити ДНК, что и контролируемые ими гены.

Существуют также *трансактивные* факторы, координирующие регуляцию генов, находясь на разных молекулах ДНК или на разных хромосомах с регулируемыми генами. *Факторы транскрип-*



ции — белки, кодируемые различными генами, — связываются со специфическими последовательностями оснований в промоторах и могут усиливать или подавлять транскрипцию.

Активация или подавление (супрессия) генов происходит в ответ на определенный сигнал или совокупность сигналов, которые могут быть *экзогенными* (внешними, приходящими из окружающей среды) или *эндогенными* (приходящими от других клеток).

Примером экзогенного сигнала может служить отсутствие света. После роста в течение нескольких дней в темноте растения начинают терять зеленую окраску листьев. Причина этого заключается в потере ферментов, катализирующих хлорофилл. Возвращение света приводит к синтезу ферментов и образованию хлорофилла. Белок, называемый фитохромом и связывающийся с адсорбирующим свет пигментом, в темноте неактивен. Свет активирует белок, а он, в свою очередь, действует как фактор транскрипции многих белков, жизненно важных для фотосинтеза.

Примером эндогенного сигнала служат *гормоны*. Эти вещества производятся одним типом клеток, но влияют на многие другие типы. Хотя гормоны транспортируются по всему организму, только клетки с рецепторами для гормонов подвергаются их воздействию. Взаимодействие гормонов с рецепторами — это сигнал для клетки, которая начинает транскрибировать определенные гены.

Регуляция генов также происходит во время процессинга (обработки) ДНК механизмом, названным *альтернативным сплайсингом*. В эукариотах каждый ген состоит из участков, несущих генетический код (*экзонов*), перемежаемых районами, не несущими его (*интронами*). Часть процесса транскрипции заключается в том, чтобы убрать интроны и соединить вместе экзоны (в прокариотах — в основном, бактериях — гены состоят из одной непрерывной нити ДНК). Варианты мРНК, зависящие от того, какой фрагмент будет удален, а какой соединится с другими фрагментами, приводят к изменению получающегося белка.

Регуляция выражения генов может происходить и на уровне трансляции тремя путями:

1. *Изменение стабильности мРНК.* Чем дольше мРНК остается стабильной, тем больше вероятность быстрого и эффективного выражения белка, закодированного в ней.
2. *Контроль начала (старта) и скорости трансляции.* Трансляция может не начаться, ей может что-то мешать или помогать (например, присутствие какого-нибудь определенного питательного вещества или метаболита — продукта обмена веществ).



3. *Модификация белка после трансляции.* Как упоминалось выше, некоторые белки должны модифицироваться тем или иным путем, чтобы приобрести активность.

Точные детали выражения и регуляции генов у эукариот продолжают исследоваться в настоящее время.

От микро к макро

Конечным результатом всех процессов транскрипции и трансляции, конечно же, является организм, обладающий определенными признаками. Признаки обуславливаются клетками и клеточными продуктами, создаваемыми клеточными белками в соответствии с инструкциями, содержащимися в ДНК клеточных ядер.

Полная генетическая информация, которую несет в себе организм, называется его *генотипом*, а физическое выражение этой информации представляет собой *фенотип*.

В эукариотах относительно малое количество признаков контролируется одним геном (или парой генов). Обычно несколько генов работают вместе, чтобы обеспечить выражение определенного признака. Такие признаки называют *полигенными*.

Рост — пример такого признака. Ваш рост определяется размерами различных частей тела: головы, шеи, торса, ног. Поскольку величина каждой части тела контролируется многими генами, то и рост определяется множеством генов. Кожа, волосы, цвет глаз — это также полигенные признаки.

Некоторые гены влияют на то, каким образом другие гены выражаются в фенотипе. Модификация генов может изменить эффект совсем иных генов. Например, влияние определенного доминантного гена катаракты на зрение человека зависит от конкретного аллеля модифицирующего гена.

Регулятор *гомеотических* генов инициирует или блокирует выражение других генов. Например, эти гены играют важную роль в росте, начале и регуляции развития частей тела сразу после зачатия и до полного взросления.

Некоторые гены не влияют на фенотип до тех пор, пока на организм не начинают действовать факторы внешней среды. Полагают, что ген, вызывающий множественный склероз, может быть активирован вполне безобидным вирусом Эпштейна — Барра.



Множественные признаки, определяемые одним геном, противоположны по природе признакам, определяемым множеством генов. Это явление называется *плейотропией*. Один из примеров плейотропии — серповидно-клеточная анемия, упомянутая выше. Болезнь возникает из-за изменения в одном гене, а в результате появляются боль, задержка в развитии, поражения сердца, почек, легких и глаз. Другой пример плейотропного признака — альбинизм, при котором страдает зрение, а также отсутствует пигментация кожи, волос и глаз.

Читая генетический код человека и других организмов, исследователи надеются связать все больше генов со специфическими признаками, особенно у человека, поскольку от признаков, выражающихся при различных генетических болезнях и нарушениях, страдают миллионы людей.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Кто первым предположил, что ДНК можно считывать как код для расположения аминокислот в полипептидной цепи?
(а) Джеймс Уотсон;
(б) Френсис Крик;
(в) Александр Флеминг;
(г) Джим Н.Е. Крикет.
2. Из скольких аминокислот состоит все живое на земле?
(а) 5;
(б) 10;
(в) 20;
(г) 200.
3. Как называется «слово» генетического кода из трех букв?
(а) кодон;
(б) аминокон;
(в) протон;
(г) некрономикон.
4. Процесс передачи генетической информации от ДНК к РНК — это:
(а) трансфикция;
(б) транспортиция;
(в) транслитерация;
(г) транскрипция.



5. Процесс построения аминокислотных цепочек в соответствии с генетической информацией, скопированной в мРНК, — это:
 - (а) трансмиссия;
 - (б) трансубстанциация;
 - (в) трансляция;
 - (г) трансмутация.
6. Какие крошечные структуры в цитоплазме клетки контролируют процесс построения аминокислотных цепочек?
 - (а) рибосомы;
 - (б) рибофлаворы;
 - (в) рибоскопы;
 - (г) рибозоиды.
7. Цис-активные элементы — это участки в нити ДНК, которые активируют или подавляют гены, расположенные:
 - (а) в других хромосомах;
 - (б) в других клетках;
 - (в) на той же нити ДНК;
 - (г) в митохондриях.
8. Генетическую информацию организм несет в своем генотипе, а результатом ее выражения является:
 - (а) фенотип;
 - (б) линотип;
 - (в) тинтип;
 - (г) тайптип.
9. Физические признаки, определяемые более чем одним геном, называются:
 - (а) полиамурными;
 - (б) полифенными;
 - (в) полиэфирными;
 - (г) полигенными.
10. Иное название регуляторных генов, начинающих или блокирующих действие других генов:
 - (а) гомологичные;
 - (б) гомеотические;
 - (в) гомогенизированные;
 - (г) гармоничные.

Глава 6

Геномы — прочтение генетического кода

Узнать, как читается генетический код, — это одно. Прочитать существующий генетический код — совсем другое. Ключ к решению этой задачи был предложен в 1977 году Фредом Зангером (Fred Sanger) из Медицинского исследовательского совета Великобритании.

Зангер получил Нобелевскую премию по химии в 1958 году за открытие последовательности из 51 аминокислоты, составляющей две цепочки инсулина. Вслед за этим он разработал метод для определения последовательности нуклеотидных оснований в ДНК (секвенирования ДНК), который до сих пор остается основой большинства современных автоматизированных технологий секвенирования ДНК. Благодаря этому открытию Зангер стал одним из четырёх ученых, удостоенных Нобелевской премии дважды.

Секвенирование ДНК

Метод Зангера — *терминация цепи*, или *дидезокси-метод*, используемый для секвенирования (определения последовательности оснований) ДНК, начинается с синтеза однонитевой цепи ДНК, подлежащей секвенированию, измененной добавлением радиоактивного маркера, который всегда расположен на ее конце. Затем готовятся четыре различные смеси, каждая из которых содержит не только все нуклеотиды, необходимые для репликации ДНК, но и небольшое количество нуклеотидов, которые связываются с нитью ДНК, после чего другие нуклеотиды перестают с ней связываться. В каждую смесь включают только один вид модифицированных нуклеотидов (*дидезоксинуклеотидов*). Каждый из дидезоксинуклеотидов вызывает остановку (терминацию) синтеза любой цепи ДНК, включающей его, у специфического основания.

В каждой из четырех смесей в результате образуются нити различной длины (длина определяется местом, где — и если — в нить включается дидезоксинуклеотид), каждая нить заканчивается од-



ним и тем же основанием, и все они помечены радиоактивной меткой.

В геле с помещенными в него электродами отрицательно заряженная ДНК движется к положительно заряженному электроду, или аноду. При этой методике, *электрофорезе*, короткие фрагменты ДНК движутся быстрее, а длинные — медленнее. Поскольку ДНК несет радиоактивную метку, она может засвечивать фотографическую пленку. Как только ДНК распределится на фрагменты, от самых коротких до самых длинных, результаты могут быть сфотографированы как серия полос, каждая из которых отмечает место в последовательности оснований ДНК (*ДНК-секвенс*), где расположено определенное основание.

Метод Максама—Гилберта

Почти в то же время, когда Зангер предложил свой метод секвенирования ДНК, Уолтер Гилберт (Walter Gilbert) из Гарвардского университета и студент-выпускник Алан Максам (Allan Maxam) разработали альтернативный метод, за который Гилберт в 1980 году разделил Нобелевскую премию с Зангером.

Тогда как метод Зангера основан на работе ферментов, в методе Максама — Гилберта были использованы химические вещества, которые действовали на одни основания больше, чем на другие, что приводило к разрывам в местах ДНК, где встречались эти основания.

Метод Зангера, однако, оказался более легким и популярным, чем метод Максама — Гилберта, и почти вытеснил его.

Поставив рядом гели после электрофореза и сравнивая расположение полос, полученных в каждой из четырех смесей, можно прочитать полное основание нити ДНК (рис. 6.1). В июле 1984 года, через семь лет после опубликования своего нового метода секвенирования ДНК, Зангер и его коллеги по британскому совету медицинских исследователей закончили определение полной последовательности ДНК вируса Эпштейна — Барра. Это вирус из группы герпеса, он вызывает инфекционный мононуклеоз. Была секвенирована последовательность длиной в 5375 нуклеотидов. Это был не только полный геном вируса (или любой иной), составленный впервые, но и самая длинная последовательность ДНК на то время. Эта последовательность также продемонстрировала возможность перекрытия генов на нити ДНК и, соответственно, совместного использования различными генами одних и тех же фрагментов кода.

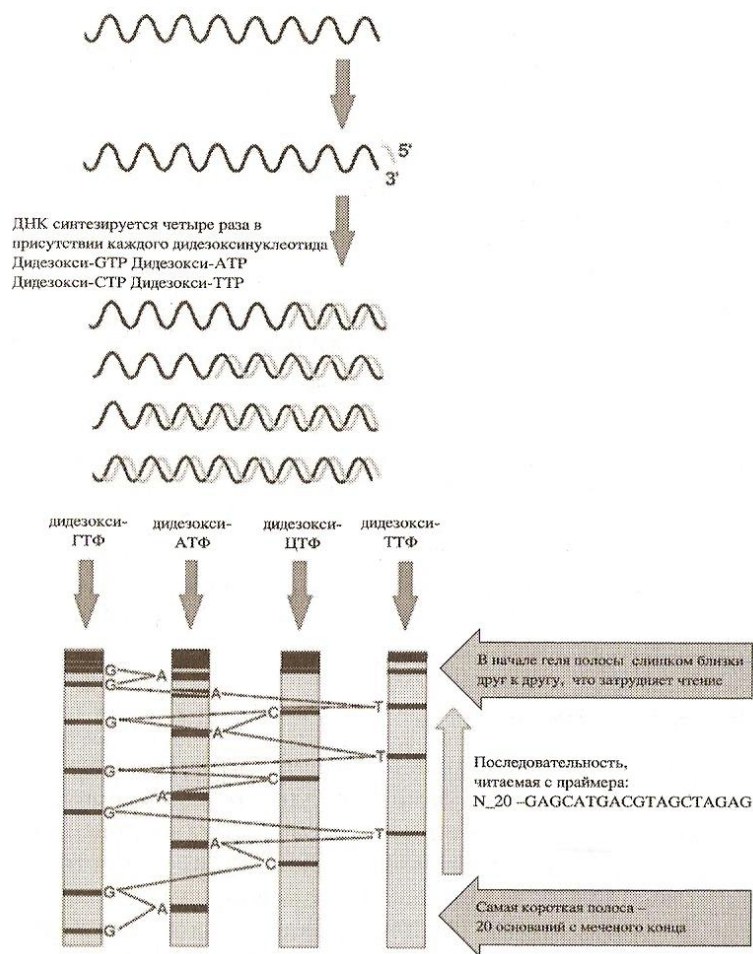


Рис. 6.1. ДНК может быть секвенирована за счет сравнения результатов четырех реакций, каждая из которых создает фрагменты, кончающиеся одним из четырех оснований

Работа также продемонстрировала, какой устрашающей могла оказаться задача расшифровки полного генетического кода любого из больших организмов. Если вирусная ДНК была длиной 5375 оснований, то какой же длиной могла оказаться человеческая ДНК?

Ответ: более 3 млрд оснований. В табл. 6.1 сравниваются величины геномов нескольких различных организмов: от вируса до человека.



Таблица 6.1. Размеры генома у различных организмов

Геном	Группа	Размер (в тысячах пар оснований)	Количество генов
Эукариотическое ядро			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Дрожжи	13 500	6000
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Нематоды	100 000	13 500
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Растения	120 000	25 000
<i>Homo sapiens</i>	Человек	3 000 000	100 000 <i>≈ 30.000</i>
Прокариоты			
<i>Escherichia coli</i>	Бактерия	4700	4000
<i>Haemophilus influenzae</i>	Бактерия	1830	1703
Вирусы			
T4	Вирус бактерий	172	300
HCMV (группа герпеса)	Вирус человека	229	200

Проект «Геном человека»

В своей книге «Cracking the Genome: Inside the Race to Unlock Human DNA» Кевин Дэвис замечает, что последовательность оснований среднего гена, записанная буквами в обыкновенной книге, каждая страница которой состоит из 3000 букв, соответствует пяти страницам текста. Последовательность оснований хромосомы занимает уже 200 томов книги, по 300 страниц каждый. Для записи расшифровки полного генома человека потребуется 4000 томов такой книги.

Однако генетики начали обсуждать именно эту устрашающую задачу. Фактически, ровно через год после опубликования полного генома вируса Эпштейна — Барра произошла встреча в Калифорнийском университете, на которой обсуждался вопрос о возможности прочтения полной нуклеотидной последовательности человеческого генома.

В течение 1986 года благодаря усилиям ряда выдающихся ученых и удивительного прогресса в технологиях выполнение этой идеи сдвинулось с места. В 1987 году комитет экспертов порекомендовал Министерству энергетики США выделить 1 млрд долларов на кар-



тирование и секвенирование генома человека в течение нескольких последующих лет. В том же году на рынок был выпущен первый автоматический прибор для секвенирования ДНК.

Первый автоматический секвенатор ДНК

Оба метода секвенирования ДНК, Зангера и Максама — Гилберта, требовали больших затрат времени и труда, кроме того, они были очень дорогими. Казалось очевидным, что процесс следует автоматизировать, что и было сделано для генетиков Лероем Худом (Leroy Hood) в 1986 году, как раз во время начала дискуссии по секвенированию генома человека.

Работая с группой сотрудников, Худ, биолог Калифорнийского института технологии, улучшил метод Зангера. Зангер использовал радиоактивные метки, что приводило к ряду трудностей: метка была нестабильна, вредна для здоровья исследователей и требовала отдельных гелей для каждого из четырех оснований ДНК.

Худ разработал новый метод, в котором использовались флюоресцирующие красители различного цвета для каждого основания ДНК. С цветной кодировкой больше не приходилось проводить реакцию на четырех отдельных гелях.

Использование красителей позволило Худу автоматизировать процесс учета результатов. В первоначальном методе Зангера последовательности оснований учитывались по эффекту «авторадиограммы» — радиоактивной метки различных фрагментов ДНК на фотопленке. Полученные данные исследователю приходилось вручную заносить в компьютер.

В автоматическом приборе Худа лазерный луч вызывал свечение красителей различным цветом. Оно обнаруживалось и анализировалось непосредственно компьютером.

Прибор Худа был представлен на рынке компанией *Applied Biosystems Inc.* в 1986 году и с тех пор был значительно улучшен. К 1999 году полностью автоматизированный прибор мог секвенировать до 150 млн пар оснований в год. Новые модели оказались еще быстрее.

В 1988 году Министерство энергетики США и Национальный институт здоровья США объединили усилия в проекте «Геном человека», директором которого был назначен Джеймс Уотсон. После бурных дискуссий, пререканий и планирования было официально объявлено, что проект начнется в октябре 1990 года.

Уотсон ушел из проекта через два года из-за споров о патентовании отдельных генов Национальным институтом здоровья. Его заменил в 1993 году Френсис Коллинс, открывший ген фиброза мочевого пузыря.



Вскоре после назначения Коллинса директором биолог Дж. Крейг Вентер (J. Craig Venter) ушел из Национального института здоровья, чтобы организовать Институт исследования геномов (The Institute of Genomic Research), некоммерческую компанию в Роквилле, штат Мэриленд. Сестринская коммерческая компания *Human Genome Science* была организована одновременно для коммерческого использования полученных ТИГР продуктов и результатов. Вентер шокировал ученый мир образованием новой компании, названной *Celera*, и заявлением, что она секвенирует геном человека за три года и потратит на это всего 300 млн долларов. Проще говоря, он верил, что обладает лучшим способом секвенирования человеческого генома.

Вентер был кровно заинтересован в ускорении процесса исследований в области генетики. Сразу после начала выполнения проекта «Геном человека» он продемонстрировал эффективный метод для поиска генов и определения их функций. Метод был назван «Метки для выражающихся последовательностей» (МВП) и был основан на открытии *комплементарных ДНК* (кДНК). Они представляют собой продукт «обратной транскрипции» молекул мРНК, получаемых при транскрипции генов, кДНК несут ту же информацию, что и мРНК, но преимущество этих молекул заключается в гораздо большей стабильности и долговечности.

МВП — это клонированные фрагменты молекул кДНК, которые были частично секвенированы на протяжении нескольких сот оснований с каждого конца молекулы.

В 1991 году Вентер опубликовал результаты пилотного проекта по использованию МВП. Он доказал, что МВП могут использоваться для определения новых генов и помочь в картировании хромосомных генов. Он также продемонстрировал точность новой автоматизированной технологии секвенирования ДНК.

В 1995 году Вентер с соавторами опубликовали первый полностью секвенированный геном самореплицирующегося свободно живущего организма (другими словами, не вируса), бактерии *Haemophilus influenzae Rd*. Ее геном в 10 раз длиннее генома любого из секвенированных геномов вирусов. Вентер использовал совершенно новый подход к секвенированию генома бактерии. Метод, названный *произвольным секвенированием полного генома* (но более известный как *произвольное секвенирование методом дробовика*), позволял собрать полный геном из частично секвенированных фрагментов ДНК при помощи компьютерной модели.



Копии ДНК бактерий были разрезаны на куски произвольной длины от 200 до 1600 пар оснований. Эти фрагменты были секвенированы частично, по несколько сот оснований с каждого конца молекулы. (Были также секвенированы и более длинные фрагменты по 15 000—20 000 пар оснований.) Полученные последовательности были заряжены в компьютер, который их сравнивал, распределял по группам и по сходству. Первыми идентифицировались неповторяющиеся последовательности, а затем — повторяющиеся последовательности фрагментов. Длинные фрагменты помогали установить порядок часто повторяющихся, почти идентичных последовательностей. Для заполнения пробелов между последовательностями использовались различные технологии.

Секвенирование генома *Haemophilus influenzae Rd* заняло один год. Была определена последовательность 1 830 137 пар оснований и 1749 генов, расположенных на 24 304 фрагментах. Достигнутый успех доказал, что новая технология, произвольное секвенирование методом дробовика, может быть применима для быстрого и точного секвенирования целых геномов.

Все это значило, что заявление Вентера о быстром секвенировании генома человека и опережении проекта «Геном человека», финансируемого из общественных фондов, имеет под собой основание. Это привело к интенсификации проекта «Геном человека». В октябре 1998 года НИХ и ДОО установили новую цель — завершить черновой план человеческого генома в 2001 году (к тому самому времени, к которому его обещал получить Вентер), а полностью завершить проект — в 2003 году, а не в 2005, как было запланировано. Несколько месяцев спустя завершение чернового плана проекта было перенесено на весну 2000 года.

И, наконец, на церемонии в Белом доме в июне 2000 года проект «Геном человека» и компания «Селера» совместно объявили о получении черновых вариантов полной последовательности оснований генома человека. Проект «Геном человека» опубликовал рабочий вариант генома человека (выполненный на 90%) в журнале *Nature* в феврале 2001 года, а *Celera* представила результаты своего проекта в журнале *Science* в том же месяце. Анализ чернового варианта генома человека выявил около 30 тыс. генов у человека; но последующий анализ привел к сокращению количества до менее чем 25 тыс.

Настоящее число генов, каково бы оно ни было, гораздо меньше, чем приведено в первоначальных оценках. Тогда предполагаемое ко-



личество генов достигало 140 тыс. Считалось, что один ген кодирует один белок. Но 25 тыс. генов не хватает, чтобы обеспечить все различные белки в теле человека. Представляется возможным, что один ген может направлять синтез многих различных белков. Один ген, в среднем, может кодировать 5–6 белков (механизм для такого процесса вполне может служить альтернативный сплайсинг, описанный в предыдущей главе).

✓ Окончательный вариант полной последовательности генома человека был опубликован проектом «Геном человека» в 2003 году. Однако до сих пор некоторые элементы генома не поддаются секвенированию современными технологиями, а наши знания о геноме человека остаются неполными.

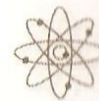
Секвенирование других видов

Конечно, технология секвенирования генома человека является пригодной для определения последовательностей геномов других животных и растений, что и продемонстрировал Вентер. Среди них:

1. *Дрожжи*. В апреле 1966 года около 600 ученых со всего мира завершили секвенирование генома пекарских дрожжей, *Saccharomyces cerevisiae*. Это было сделано не только для улучшения качества хлеба: дрожжи несут много генов, представляющих собой варианты человеческих, и десятилетиями используются для лабораторных исследований.

2. *Methanococcus jannaschii*. Геном этого микроба представляет особый интерес, потому что он относится к археям — организмам, эволюционировавшим по пути, отличному от пути прокариотов и эукариотов. Он живет на морском дне около гидротермальных выбросов, где температура воды близка к температуре кипения, а давление просто огромно. Ученые в Мэриленде секвенировали геном в 1996 году и обнаружили множество генов, не встречающихся у других организмов. С тех пор были секвенированы геномы некоторых других «экстремофилов». Среди прочего, у этих бактерий были открыты природные белки, крайне устойчивые к высокой температуре. Это открытие может найти коммерческое применение.

✓ 3. *Caenorhabditis elegans*. Это прозрачный микроскопический червь, который долгие годы используется в генетических исследованиях. Он живет в почве, достигает в длину 1 мм, а клеток у него ровно 959. Биологи любят его за прозрачность, что позволяет легко наблюдать за биологическим развитием червя. У него также много общих с человеком генов.



4. *Drosophila melanogaster*. Геном дрозофилы, любимцы генетиков со времен «Комнаты мух» в Колумбийском университете, был секвенирован в 1999 году компанией *Celera Genomics* и «Геномным проектом дрозофилы в Беркли» (Berkeley Drosophila Genome Project). BDGP секвенировал около пятой части генома, когда *Celera Genomics* предложила завершить работу быстро, без государственного финансирования, только чтобы доказать свои возможности и точность метода «дробовика». Секвенирование началось в мае 1999 года, а закончилось в сентябре того же года. Геном был собран в течение следующих четырех месяцев. У плодовой мушки был найден 13 601 ген. Самым примечательным было то, что из 269 генов человека, мутации в которых приводят к болезням, 177 генов имели родственные гены в геноме дрозофилы, что доказывало важность развития сравнительной геномики.

5. *Мышь*. Мыши часто используются во всех видах лабораторных опытов. В 2001 году фирма *Celera Genomics* объявила о завершении сборки последовательностей генома мыши; в 2002 году международный консорциум «Секвенирование генома мыши» также завершил сборку мышиного генома. Сравнение мышиного генома с человеческим показало, что около 200 геномных блоков у человека и мыши содержат одинаковые гены (хотя и расположенные на различных хромосомах). Оба вида имеют примерно одинаковое количество генов, а также одинаковые районы «не генов», или «мусорной ДНК». Однако геном мыши на 14% меньше генома человека.

6. *Крыса*. Ученые чувствовали, что, кроме генома мыши, стоит получить и геном крысы. В 2004 году высококачественная сборка генома крысы (на 90%) была проведена консорциумом «Проект секвенирования генома крысы». Стало известно, что многие из генов, мутации в которых вызывают болезни у людей, имеются и у крыс. Снова было обнаружено приблизительно столько же генов, сколько и в геноме человека (от 25 до 30 тыс.), хотя геном крысы меньше генома человека и больше генома мыши.

7. *Шимпанзе*. В 2003 году была опубликована сборка последовательностей генома этих ближайших родственников человека. У человека и шимпанзе оказалось 98% общей ДНК. Некоторые болезни неодинаково поражают человека и шимпанзе. К таким болезням относятся малярия, СПИД, болезнь Альцгеймера. Сравнение геномов может дать ключ к указанному различию.

Среди других организмов, геномы которых были секвенированы, — мухи, москиты, собаки, тополь, рыбы-собаки, два вида риса.



Секвенированы многие виды бактерий: от печально известных, вызывающих страшные болезни (например, *Yersinia pestis*, которая вызывает чуму), до потенциально полезных (например, *Pseudomonas putida*, почвенная бактерия, которая может быть использована для разложения веществ, загрязняющих природу). Ученые продолжают работать над секвенированием новых организмов.

Картирование геномов

Карта — это графическая схема, позволяющая вычислить, где вы располагаетесь и как добраться туда, куда вы хотите попасть. Карта генома, соответственно, — это графическая схема, которая помогает исследователям ориентироваться в геноме, искать в нем места, которые могут быть важны и интересны.

Карта генома может содержать различную информацию: расположение специфических генов или регуляторных сайтов, но она также содержит большие пробелы, потому что постоянно пересматривается в соответствии с новыми данными о геноме, которые получают ученые.

В простейшем виде карта генома представляет собой прямую линию, как и молекулы ДНК, которые составляют геном. По всей длине расположены различные ориентиры, помеченные буквами и цифрами, которые позволяют исследователям идентифицировать отдельные признаки.

Карта — не одно и то же, что и последовательность оснований генома. Расположение некоторых генов на карте можно вычислить без определения последовательности оснований. Фактически, карта помогает секвенировать геном, давая ключи к взаимному расположению специфических фрагментов ДНК в мозаике генома.

Кроме того, карта обеспечивает ценную информацию, которую не может предоставить секвенирование генома. Секвенс генома — это всего лишь последовательность из одних и тех же четырех букв в бесконечной отупляющей вариации. Даже ученый не сможет, взглянув на последовательность оснований ДНК, мгновенно вычислить ее функцию. Вставив последовательность оснований на правильное место карты, вы получаете ключ к разгадке функции этой последовательности, если только она существует (рис. 6.2).

Вот один из способов использования учеными генетической карты. Предположите, что они хотят выяснить расположение определенного гена, вызывающего заболевание. Сначала обследуют несколько семей, страдающих этим заболеванием, чтобы узнать, с какими ге-

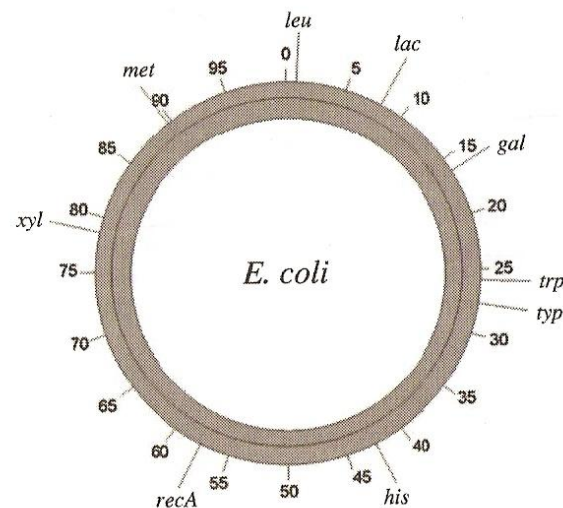
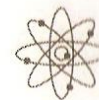


Рис. 6.2. Типичная карта генома

нетическими признаками связана болезнь. Гены любых признаков, имеющих тенденцию наследоваться вместе с предрасположенностью к болезни, с большой вероятностью могут быть локализованы на одной хромосоме рядом с генами, вызывающими болезнь. Они могут служить маркерами для искомого гена болезни.

Определив несколько маркеров с известным расположением на хромосоме, ученые могут с большой точностью, до нескольких миллионов пар оснований, установить расположение гена, вызывающего болезнь. Затем они могут сфокусировать усилия на части генома, несущей указанный ген, и искать ген, который имеет различную последовательность оснований у здоровых и больных людей, или ген, функции которого могут быть связаны с болезнью.

Именно так были идентифицированы гены, связанные с фиброзом мочевого пузыря и болезнью Хантингтона. Однако этот путь долг и трудоемок, поэтому целью генетиков остается разработка более детальных карт геномов. Использование таких карт позволит исследователям с точностью находить в геноме последовательности, которые им нужны.

Существует два типа генетических карт: карты генетического сцепления и физические карты.

Карты генетического сцепления показывают порядок расположения генов на хромосоме и относительные расстояния между ними.



ГЕНЕТИКА без тайн

Это карты, аналогичные карте А.Х. Стуртеванта, которая описана в главе 4.

Карта Стуртеванта была построена на генетических признаках, физически видимых у плодовых мушек, с которыми он работал. Сегодня гораздо более сложные карты сцепления генов строятся на определении наследования специфических последовательностей ДНК.

2) Физические карты показывают количество оснований ДНК между двумя генетическими метками. Они основаны на сайтах (точках), помеченных определенными последовательностями оснований (СТС). СТС — это последовательность в ДНК, которая находится в единственной точке генома. Ее протяженность составляет несколько сот оснований. Она может быть частью гена, но это не обязательно.

Поскольку СТС встречается только в одном месте генома, то как только она попадает в фрагмент ДНК при секвенировании, вы можете определить расположение фрагмента в геноме.

Новые геномные карты совмещают черты обоих типов карт. Карты, которые включают последовательности и расположение всех генов организма, построены для более 150 организмов. Однако большинство из них — вирусы с очень маленькими геномами, что указывает на сложности, с которыми сталкиваются «картографы» геномных карт.

Вариации в геноме

Как мы отметили ранее, последовательность вашей ДНК более чем на 99,9% совпадает с последовательностью ДНК вашего соседа или любого другого человека. Иными словами, ваш геном отличается от моего одним основанием на каждые 1200—1500 оснований ДНК. Но это большой простор для вариаций (отклонений) в геноме из почти 3 млрд пар оснований.

Отклонения в геноме случаются благодаря мутациям, неправильным основаниям, встроенным в дочерние нити молекулы ДНК в процессе ее репликации. Мутации в половых клетках передаются следующему поколению. Каждый индивидуум получает, таким образом, около 100 мутаций, образовавшихся описанным выше путем.

Некоторые части генома имеют свойство варьировать у различных индивидуумов чаще остальных. Также большинство вариаций приходится на «мусорную ДНК», то есть располагается вне генов, и поэтому не оказывает физического эффекта.

Формально генетические вариации, или отклонения, определяются как мутации, или полиморфизм. Если вероятность появления из-

ГЛАВА 6 Геномы — прочтение генетического кода

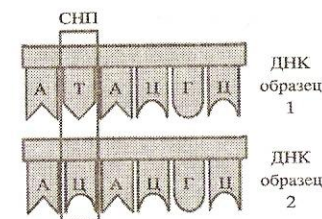


Рис. 6.3. Полиморфизм одного нуклеотида и маленькие различия в геноме, проявляющиеся в большей части популяции

мененной последовательности ДНК в геноме составляет менее одного процента, то вариация называется мутацией. Появление вариации в популяции с частотой более одного процента называется полиморфизмом.

Около 90% вариаций в человеческом геноме составляют полиморфизмы размером в один нуклеотид, или СНП («snip»). Изменяется всего одно основание в последовательности ДНК, например Т заменяется Ц (рис. 6.3). Поскольку большинство генетических вариаций в геноме имеют в основе указанные незначительные изменения, ученые начинают верить, что большинство физических различий, делающих индивидуумов уникальными, происходит от этих маленьких вариаций. СНП также могут помочь объяснить индивидуальную чувствительность людей к различным болезням.

В следующей главе мы подробнее рассмотрим мутации и другие формы генетической изменчивости и их значение.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Фред Зангер изобрел метод:
 - (а) репликации ДНК;
 - (б) растворения ДНК;
 - (в) секвенирования ДНК;
 - (г) идентификации ДНК.
2. Прохождение электрического тока через гель для разделения фрагментов ДНК по длине называется:
 - (а) электрофорез;
 - (б) электролиз;
 - (в) электрогальваника;
 - (г) электромагнетизм.



3. Сколько пар оснований содержится в геноме человека?
 - (а) три тысячи;
 - (б) три миллиона;
 - (в) три миллиарда;
 - (г) три триллиона.
4. Что использовалось в первом автоматическом приборе для секвенирования ДНК в качестве метки ДНК фрагментов?
 - (а) левовращающие сахара;
 - (б) РНК;
 - (в) тяжелые металлы;
 - (г) флюоресцирующие красители.
5. Какой первый организм был секвенирован с использованием метода «дробовика», предложенного Д. Крейгом Вентером?
 - (а) бактерия *Haemophilus influenzae*;
 - (б) бактерия *E.coli*;
 - (в) малярийный комар;
 - (г) мышь.
6. Какое из этих чисел ближе к современной оценке количества генов в геноме человека?
 - (а) 2500;
 - (б) 25 000;
 - (в) 250 000;
 - (г) 2 500 000.
7. Геномы каких двух грызунов были недавно секвенированы?
 - (а) мыши и крысы;
 - (б) бобра и гофера;
 - (в) белки и бурундука;
 - (г) хомяка и суслика.
8. Два типа карт генома:
 - (а) кольцевая и линейная;
 - (б) хромосомная и полного генома;
 - (в) генетического сцепления и физическая;
 - (г) Рэнд-Манолли и Фодора.
9. Геном одного индивидуума отличается от генома другого в соотношении:
 - (а) около 1 основания на каждые 1200;
 - (б) около 1 основания на каждые 12 000;



- (в) около 1 основания на каждые 120 000;
 - (г) около 1 основания на каждые 1 200 000.
10. Полиморфизм — это генетическая вариация, проявляющаяся в:
 - (а) десяти или более процентах популяции;
 - (б) пяти или более процентах популяции;
 - (в) одном или более процентах популяции;
 - (г) менее чем одним проценте популяции.



Глава 7

Мутации — ошибки считывания кода

Один из исследователей группы, возглавлявшейся Томасом Гантом Морганом в Колумбийском университете, был совсем молодым человеком лет 20 по имени Герман Д. Мюллер (Hermann J. Muller). В основе всей работы группы Моргана с плодовыми мушками лежали мутации. Прежде всего находили мушек с необычными признаками, которых затем скрещивали в нескольких поколениях, что позволяло картировать специфические гены на определенных хромосомах.

В отличие от большинства генетиков Мюллер интересовался физическим и химическим строением генов и природой их функционирования. В 1926 году (он к тому времени работал в Техасском университете) Мюллер начал серию опытов, чтобы установить, могут ли высокие уровни радиоактивности индуцировать мутации у плодовых мушек.

Мюллер облучал самцов плодовых мушек радиацией, а потом скрещивал с необлученными самками. Его эксперименты оказались успешными. Всего за несколько недель удалось получить более 100 мутаций у потомства облученных мушек — ровно половину мутаций, открытых за 15 предыдущих лет работы с мушками *Drosophila*. Мутации варьировали от минорных, приводящих к незначительным изменениям признаков, до летальных.

Мюллер предположил, что частицы радиации, проходящие через хромосомы самцов плодовых мушек, случайно повреждали молекулярную структуру отдельных генов. В некоторых случаях они разрушали гены, в других — изменяли их химические функции.

С тех пор исследователи обнаружили множество искусственных *мутагенов*, как называли любые воздействия или вещества, вызывающие мутации. Ученые также нашли множество путей, позволяющих изменить генетический код.

Вполне вероятно, что у плодовых мушек, которых облучал Мюллер, появлялось гораздо больше мутаций, чем он смог обнаружить. По определению, мутация — это любое изменение в ДНК. Это значит, что мутации могут происходить в геноме где угодно. А поскольку большую часть генома занимает «мусорная» ДНК, ничего не кодирующая, большинство мутаций остаются незамеченными.

Мутации изменяют физические свойства организма (признаки), только если они изменяют последовательность ДНК внутри гена (рис. 7.1).

Хотя Мюллер индуцировал мутации у плодовых мушек, подвергая их высоким дозам облучения, мутации случаются в организме все время. Иногда это просто ошибки нормальных процессов, происходящих в клетке, а иногда — результат воздействия окружающей среды. Такие спонтанные мутации встречаются с частотами, характерными для определенного организма, иногда называемыми *спонтанным фоном*.

Наиболее часто случаются *точковые мутации*, которые изменяют всего одну пару оснований в нормальной последовательности ДНК. Их можно получить двумя путями:



Рис. 7.1. Эти три аминокислотные последовательности показывают, как маленькие изменения могут приводить к большому эффекту. Начало одной из аминокислотных цепей в нормальном белке приведено в верхнем ряду. Ниже аминокислотная цепь ненормального варианта белка гемоглобина: валин замещен на глутаминовую кислоту в шестом положении. Эта единственная замена, приводящая к мутации кодона ГАА в кодон ГУА, является причиной серповидно-клеточной анемии, выражающейся в ряде симптомов: от слабой анемии (если у индивидуума остается нормальная копия мутировавшего гена) до смерти (если у индивидуума две мутировавшие копии гена)



1. ДНК химически модифицируется, так что одно из оснований меняется на другое.
2. Репликация ДНК работает с ошибками, вставляя ошибочное основание в цепь при синтезе ДНК.

Какова бы ни была причина их появления, точковые мутации можно разделить на два типа:

1. **Транзиции.** Наиболее часто встречающийся тип мутаций. При транзиции один пиримидин замещается другим пиримидином или один пурин замещается другим пурином: например, пара Г-Ц становится парой А-Т, или наоборот.
2. **Трансверзии.** Более редкий тип мутаций. Пурин замещается пиримидином или наоборот: например, пара А-Т становится парой Т-А или Ц-Г.

Азотистая кислота — это мутаген, который вызывает транзиции. Она конвертирует цитозин в урацил. Цитозин обычно дает пару с гуанином, но урацил — с аденином. В результате пара Ц-Г становится парой Т-А, когда А спаривается с Т в следующей репликации. Азотистая кислота оказывает такой же эффект на аденин, превращая пару А-Т в пару Ц-Г.

Другой причиной транзиций является *ошибочное спаривание* оснований. Это происходит, когда по какой-то причине неправильное основание встраивается в нить ДНК, затем оно образует пару с неправильным партнером (некомплементарным основанием) вместо того, с которым должно эту пару образовать. В результате во время следующего цикла репликации пара полностью меняется.

Эффект точковых мутаций зависит от того, в каком месте последовательности оснований они образуются. Поскольку изменение одной пары оснований меняет только один кодон и, следовательно, одну аминокислоту, получающийся в результате белок может быть поврежден, но может, несмотря на повреждение, сохранить часть нормальной активности.

Гораздо сильнее, чем точковые мутации, повреждают ДНК *мутации сдвига рамки*. Вспомните, что генетическая последовательность оснований (секвенс) считывается как последовательность непрерывных триплетов (трех оснований). Это значит, что существует три пути прочтения (рамки считывания) последовательности оснований, зависящих от точки начала прочтения. Если мутация убирает или встраивает лишнее основание, она вызывает сдвиг рамки, и



вся последовательность оснований прочитывается неправильно. Это значит, что изменится вся последовательность аминокислот, а получающийся белок, с большой долей вероятности, будет полностью неработающим.

Мутации сдвига рамки вызываются *акридинами*, химическими веществами, которые связываются с ДНК и настолько изменяют ее структуру, что основания могут быть добавлены или убраны из ДНК во время ее репликации. Эффект таких мутаций зависит от места последовательности оснований, в котором произойдет вставка (*инсерция*) или выпадение (*делеция*) оснований, а также от их взаимного расположения в образующейся последовательности (рис. 7.2).

Еще одним типом мутаций является встраивание (инсерция) длинных фрагментов дополнительного генетического материала в геном. Встраиваются *транспозирующие* (*мобильные генетические*) *элементы*, или *транспозоны*, — последовательности, которые могут перемещаться из одного места ДНК в другое. Впервые транспозоны были открыты генетиком Барбарой МакКлинток (Barbara McClintock) в 1950-е годы. Это короткие элементы ДНК, которые из одной точки генома могут перепрыгнуть в другую (поэтому их часто называют «прыгающими генами»). Иногда они прихватыва-

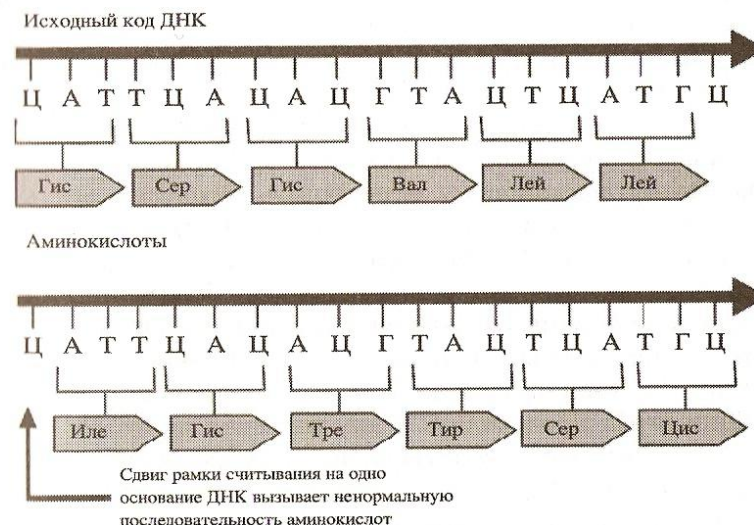


Рис. 7.2. Один из способов, которым мутация сдвига рамки может влиять на считывание последовательности оснований ДНК



ют с собой расположенные рядом последовательности ДНК. Обычно транспозоны состоят из одного или нескольких генов, один из которых представляет собой ген фермента *транспозазы*. Этот фермент требуется транспозонам для перемещения из одного места ДНК в другое внутри клетки.

Существуют также *ретротранспозоны*, или *ретропозоны*, которые сами передвигаться не могут. Вместо этого они используют свою мРНК. Она сначала копируется в ДНК, а последняя вставляется в другую точку генома. Ретротранспозоны родственны ретровирусам.

Если транспозон встраивается в ген, кодирующая последовательность оснований нарушается, и ген в большинстве случаев выключается. Транспозоны также могут нести сигналы для окончания транскрипции или трансляции, которые эффективно блокируют выражение других генов, расположенных вслед за ними. Такой эффект называется *полярной мутацией*.

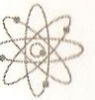
Ретротранспозоны типичны для геномов млекопитающих. Фактически, около 40% генома состоит из таких последовательностей. Это одна из причин, по которой геном содержит так много «мусорной» ДНК. Ретротранспозоны могут быть SINE (короткими промежуточными элементами) длиной в несколько сот пар оснований или LINE (длинными промежуточными элементами) длиной от 3000 до 8000 пар оснований. Например, человеческий геном содержит около 300 тыс. последовательностей одного типа SINE, у которых, кажется, нет другой функции, кроме саморепликации. Данные элементы также называются «эгоистической» ДНК.

В отличие от точковых мутаций мутации, вызываемые транспозонами, не могут индуцироваться мутагенами.

Точковые мутации могут ревертировать, возвращаться к исходной последовательности как за счет восстановления оригинальной последовательности ДНК, так и за счет мутаций в других местах гена, которые компенсируют действие первичной мутации.

Вставка дополнительного элемента ДНК, очевидно, может ревертировать за счет вырезания вставленного материала — *точечного исключения*. Делеция части гена, однако, ревертировать не может.

Мутации могут происходить в других генах, приводя к формированию обходного пути, исправляющего повреждение, вызванное начальной мутацией. В результате образуется двойной мутант, имеющий нормальный или почти нормальный фенотип. Этот феномен называется *супрессией*, бывающей двух типов: *внегенной* и *внутригенной*.



Внегенная супрессорная мутация подавляет действие мутации, расположенной в другом гене, иногда за счет изменения физиологических условий, при которых белок, кодируемый супрессируемым мутантом, может функционировать вновь. Бывает, что такая мутация меняет аминокислотную последовательность мутантного белка.

Внутригенная супрессорная мутация подавляет эффект мутации в гене, где она расположена, иногда восстанавливая рамку считывания, нарушенную мутацией сдвига рамки. В некоторых случаях мутация изменяет аминокислоты в сайте, который компенсирует изменение аминокислоты, вызванное первичной мутацией. Феномен также называется *реверсией во втором сайте*.

Не все последовательности оснований в гене подвержены мутациям в одинаковой мере. Мутации имеют тенденцию группироваться вокруг горячих точек в последовательности гена — местах, где вероятность образования мутаций в 10 или 100 раз выше, чем ожидаемая при случайном распределении. Расположение этих горячих точек различно для разных типов мутаций и мутагенов, индуцирующих их.

В бактерии *E.coli*, например, горячие точки встречаются там, где расположены модифицированные основания, называемые 5-метилцитозинами. Это основание иногда *подвергается таутомерному сдвигу* — перестройке атома водорода. В результате Г спаривается с Т вместо Ц, а после репликации образуется пара дикого типа Г-Ц и мутантная пара А-Т (в генетике *диким типом* называются последовательности ДНК, которые обычно встречаются в природе).

Многие мутации не дают видимого эффекта. Они называются *молчащими мутациями*. Иногда мутация молчит, потому что изменения не влияют на продукцию аминокислот, а иногда — поскольку, несмотря на замену аминокислоты в белке, новая аминокислота не влияет на его функцию. Это называется *нейтральной заменой*.

Мутация, выключающая или изменяющая функцию гена, называется *прямой мутацией*. Мутация, которая реактивирует или восстанавливает функцию гена за счет реверсии начальной мутации или за счет открытия обходного пути (как при реверсии во втором сайте, описанной выше), называется *обратной мутацией*.

Как видите, есть много различных способов классифицировать мутации, и одна и та же мутация может относиться к различным типам. Данные табл. 7.1 могут внести ясность в характеристику мутаций.



Таблица 7.1. Классификация мутаций.

По величине	
Точковая мутация	Изменение маленького фрагмента ДНК, одной пары оснований.
Перестроечная мутация	Любое изменение, большее, чем несколько пар оснований, до уровня целой хромосомы.
По действию на кодон	
Молчащая	Изменение, не меняющее кодируемую аминокислоту.
Нонсенс	Изменение, меняющее кодон аминокислоты на стоп-кодон, вызывающий преждевременную остановку трансляции.
Миссенс	Изменение кодона, приводящее к изменению кодируемой им аминокислоты и функции белка.
Нейтральная	Изменение кодона, приводящее к изменению кодируемой им аминокислоты, но не приводящее к изменению функции белка
Сдвига рамки	Сдвиг рамки считывания, вызванный добавлением или делецией одной или нескольких пар оснований, который приводит к цепочке нонсенс-и миссенс-кодонов в нуклеотидной цепи, следующей за мутацией.
По действию на функцию гена	
С потерей функции	Мутация, вызывающая прекращение функции гена, если она наследуется, то обычно бывает рецессивной.
С приобретением функции	Мутация, приводящая к изменению функции гена или изменяющая его функцию на иную, если она наследуется, то обычно бывает доминантной.
По изменениям ДНК	
Структурные мутации	Изменения в нуклеотидной последовательности гена: включают замену одного нуклеотида другим, делецию части ДНК или встраивание фрагмента ДНК.
Хромосомные перестройки	Большие структурные изменения за счет перемещения фрагмента ДНК в геноме: включают перемещение ДНК в другую хромосому, ротацию или инверсию последовательности ДНК в той же хромосоме.
По источнику	
Спонтанные	Мутации, возникающие во время нормальной жизни клеток.
Индукцированные	Мутации, индуцируемые мутагенами или агентами окружающей среды.
Мутаторы	Мутации, индуцируемые мутациями в других частях генома.



По действию на фенотип	
Сублетальные	Мутации, уменьшающие выживаемость клеток менее чем на 10%.
Полудетальные	Мутации, вызывающие гибель более 90, но менее 100% клеток.
Летальные	Индивидуумы с этой мутацией не доживают до взрослого возраста.
По направлению	
Прямые	Мутации, изменяющие фенотип дикого типа.
Обратные	Мутации, возвращающие измененное основание к исходному типу.
Супрессорные	Возвращение от мутанта к дикому типу за счет мутации в том же гене, но в другом месте, приводящей к возвращению функции дикого типа (внутригенные), или за счет мутации в другом гене, которая восстанавливает функцию дикого типа, потерянную в результате исходной мутации (внегенные).
По типу клеток	
Соматические	Происходят в клетках тела (за исключением половых) обычно изменяют фенотип индивидуального организма.
Гаметные	Происходят в половых клетках приводят к изменениям, которые передаются последующим поколениям.

Причины мутаций

Есть много причин мутаций. Некоторые возникают спонтанно, в результате ошибок при репликации и репарации ДНК. Другие, однако, индуцируются, возникают в результате действия мутагенов или факторов окружающей среды. Вещество или воздействие называются мутагенными, если они вызывают мутации с частотами, превышающими частоты спонтанного фона.

Существует три основных типа мутагенов, или мутагенных агентов.

1. *Понизирующая радиация.* Альфа, бета, гамма и рентгеновские лучи могут нарушать нормальную последовательность оснований ДНК, в основном, выбивая из нее пары оснований.

2. *Неионизирующая радиация.* Ультрафиолетовый свет приводит к сшивке двух расположенных рядом тиминов в нити ДНК, что блокирует репликацию ДНК, и требуется ее репарация (восстановление). Если репарация не может успешно завершиться, возникают точечные мутации.



3. *Химические мутагены.* Многие химические вещества взаимодействуют с ДНК таким образом, что изменяются пары оснований. Выделяют три основных типа химических мутагенов:

а) *аналоги оснований.* По своей структуре напоминают основания ДНК, так что могут встраиваться в растущую нить ДНК. Как только данные химические вещества оказываются там, они нарушают рост цепи, спариваясь не с теми основаниями, с которыми должны были спариться заменяемые ими основания. Примером может служить бромурацил. По структуре он напоминает тимин, поэтому должен включаться в нить ДНК в положении Т. Но бромурацил лучше образует пару с Г, чем с А, что в результате приводит к образованию нити с парой Г-Ц вместо пары А-Т;

б) *модификаторы оснований.* Могут изменять существующие основания в ДНК. Измененные основания образуют пары не с теми основаниями, с которыми образовали до изменения, что приводит к мутациям;

в) *интеркалирующие агенты.* Встраиваются прямо в спираль ДНК, нарушая репликацию и транскрипцию. В результате образуются инсерции и делеции в последовательности оснований ДНК.

Большинство мутаций происходит не в половых клетках, а в соматических и называется *соматическими клеточными мутациями*. Если они и изменяют фенотип, то только у одного организма.

Иногда мутации случаются в половых клетках. Эти мутации гамет приводят к изменениям, наследуемым потомством.

В главе 14 мы поговорим о мутациях в гаметах при рассмотрении генетических изменений видов, которые называем эволюцией. А в следующей главе рассмотрим один из наиболее страшных результатов соматических клеточных мутаций — рак.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Пытаясь индуцировать мутации, Герман Д. Мюллер обработал плодовых мушек:
 - (а) хлором;
 - (б) парами кислот;
 - (в) табачным дымом;
 - (г) радиацией.
2. Любой агент, вызывающий индукцию мутаций, называется:
 - (а) мутационным мультипликатором;
 - (б) мутатором;



- (в) мутагеном;
 - (г) сплайсером генов.
1. Как называется мутация, изменяющая одну пару оснований?
 - (а) точковая мутация;
 - (б) парная мутация;
 - (в) делеция пары;
 - (г) нуклеотидная нулификация.
 2. Мутация, которая удаляет пару оснований и приводит к нарушению рамки считывания генетической последовательности, называется:
 - (а) разрушением основания;
 - (б) мутацией сдвига рамки;
 - (в) мутацией скользящего основания;
 - (г) ударной мутацией.
 3. Фрагменты ДНК, которые могут перемещаться с места на место в геноме, называются:
 - (а) бродячими последовательностями;
 - (б) геномными цыганами;
 - (в) транспозонами;
 - (г) кварками.
 4. ДНК, не имеющие иной функции, кроме собственной репликации, называются:
 - (а) «жадными» ДНК;
 - (б) «эгоистическими» ДНК;
 - (в) «скандальными» ДНК;
 - (г) «самолюбивыми» ДНК.
 5. Супрессорные мутации — это:
 - (а) мутации, которые отменяют или обходят изменения, вызванные первичной мутацией;
 - (б) мутации, которые предотвращают появление других мутаций;
 - (в) мутации, которые подавляют аппетит;
 - (г) мутации, приводящие к серьезной психической депрессии.
 6. Гены «дикого» типа:
 - (а) вынуждают вести себя дико;
 - (б) обнаруживаются только у диких животных;
 - (в) часто встречаются в природе;
 - (г) мутантные версии нормальных генов.



9. Ионизирующее излучение, ультрафиолетовое излучение и некоторые химические вещества — это:
- (а) причины мутаций;
 - (б) то, что вы найдете в каждой генетической лаборатории;
 - (в) используются в кулинарии;
 - (г) забава для детей и взрослых.
10. Мутации гамет случаются:
- (а) в клетках тела, кроме половых;
 - (б) в половых клетках;
 - (в) в клетках кожи;
 - (г) в клетках глаза.

Глава 8

Рак — генетика, сбившаяся с пути

В 1909 году фермер привез цыпленка в Рокфеллеровский институт медицинских исследований в Нью-Йорке. Фермера не смущало различие между медициной человека и ветеринарией. Он приехал встретиться с Френсисом Пейтоном Раусом (Francis Peyton Rous), 30-летним патологом.

Фермер показал опухоль у цыпленка и рассказал Раусу, что у других цыплят в его хозяйстве были такие же опухоли. В отличие от «нормального» рака этот вид опухоли казался заразным.

Это заинтриговало Рауса. Он разрушил клетки из нескольких опухолей цыплят и пропустил полученную смесь через фильтры, слишком мелкие для прохождения мельчайших бактерий. Когда Раус ввел фильтрат здоровым курам, у них развились точно такие же опухоли, от которых страдали доноры. Кроме того, введение фильтрата в яйца с эмбрионами привело к появлению опухолей у родившихся цыплят.

В то время еще никто не видел вирус. «Вирус» был всего лишь термином для теоретически возможного организма, меньшего по размерам, чем бактерии, но вызывающего болезни. Несмотря на это, Раус заключил, что вирусы могли вызывать рак. Тогда идея была радикальной, но и в 1966 году работа Рауса принесла ему Нобелевскую премию в возрасте 87 лет.

Со временем генетическая наука подхватила пионерскую работу Рауса, которая помогла на много лет вперед направить исследования по выяснению генетической природы рака.

Что такое рак

Рак — это генетическая болезнь, при которой клетки начинают бесконтрольно размножаться. Они могут образовать локализованную опухоль — массу одинаковых клеток, а могут распространиться по всему телу, вызывая рост опухолей различной локализации. При размножении большого количества раковых клеток нормальные клетки



вытесняются или повреждаются. Это приводит к боли, повреждению тканей и органов и, в конце концов, к смерти.

Теперь мы знаем, что рак является результатом множественных мутаций, в результате которых в нормальных клетках происходят три основных изменения (рис. 8.1):

1. **Иммортализация.** Большинство клеток может поделиться определенное количество раз, в клеточной культуре — около 50 раз. Затем деление прекращается, и клетки умирают. Раковые клетки продолжают делиться бесконечно.
2. **Трансформация.** У раковых клеток не наблюдаются нормальные ограничения роста и деления.
3. **Метастазирование.** Это одно из самых разрушительных свойств раковых клеток. Они приобретают способность двигаться с места образования и вторгаться в другие ткани.

Не все опухоли — раковые. Бородавки — тоже опухоли, но они не относятся к раковым. Опухоли случаются у растений и животных, но рак поражает только животных. Толстые стенки растительных клеток предотвращают возможность образования метастазов. Первой ступенью на пути к раку является опухоль (*неоплазма*) — бесконтрольно растущая популяция клеток. Однако опухоль считается доброкачественной до тех пор, пока не приобретает способности образовывать метастазы. В этом случае опухоль считается злокачественной и угрожает жизни.

Процесс превращения нормальной клетки в раковую называется *онкогенезом*, а наука, посвященная изучению рака, — онкологией. Из названия ясно, что все, что связано с раком, имеет в названии приставку *онко-* (в основе всех этих определений лежит греческое слово *онкос*, означающее массу или большой объем, то есть опухоль).

Вирус саркомы Рауса (так стали называть вирус, который открыл у больных цыплят Раус) в начале 1970-х годов напрямую привел к пониманию генетической природы рака.

В 1970 году Дэвид Балтимор (David Baltimore) из биомедицинского исследовательского института Уайтхеда в Кембридже открыл, что вирусы, вызывающие рак (а к этому времени были обнаружены и другие вирусы, кроме саркомы Рауса), в качестве генетического материала несут РНК, а не ДНК. Они также продуцируют фермент, *обратную транскриптазу*. Когда эти вирусы вводили свою РНК в клетку, обратная транскриптаза переворачивала обычный порядок в клетке с ног на голову. Вместо того чтобы транскрибировать клеточ-

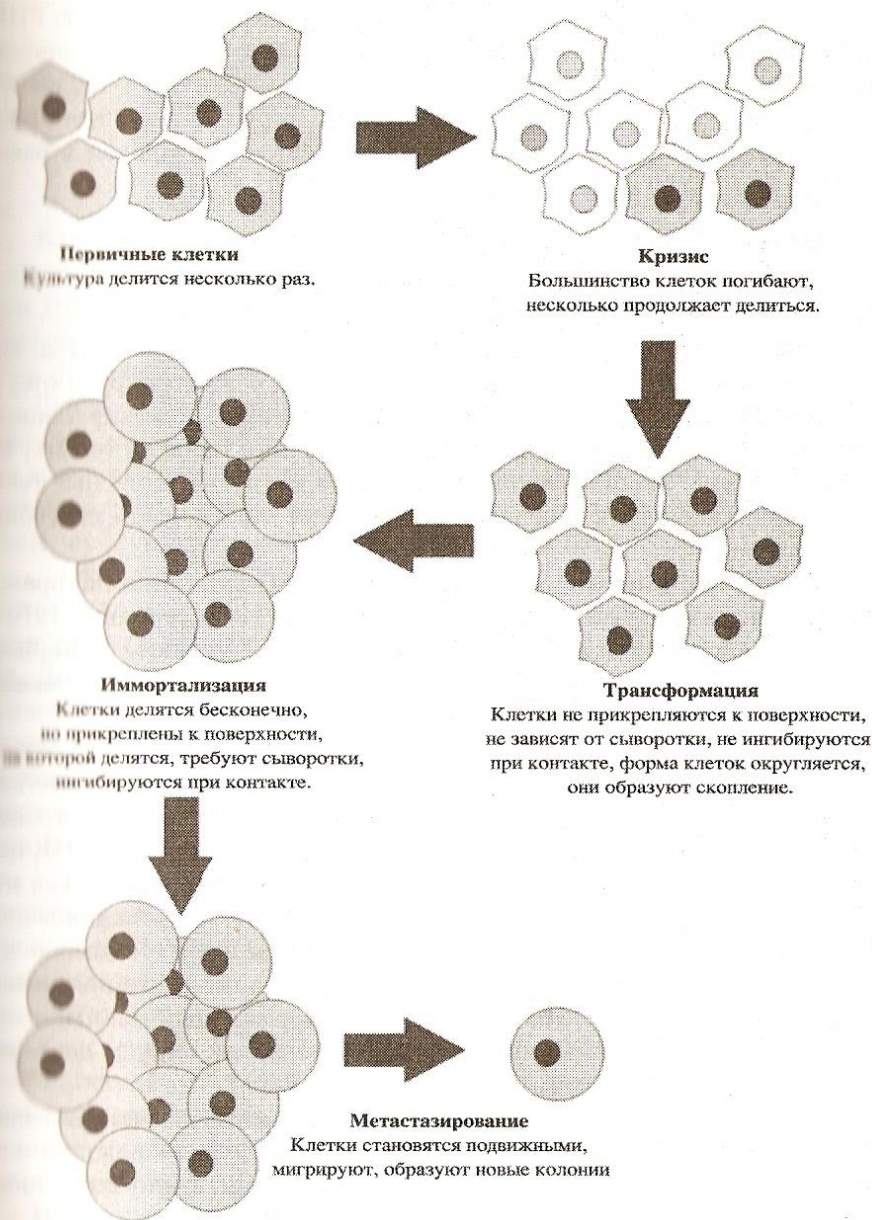


Рис. 8.1. Процесс превращения нормальных клеток в «бессмертные» трансформированные метастазирующие клетки может быть проведен в лаборатории, как показано на схеме



ную ДНК в РНК, клетка начинала транскрибировать вирусную РНК в ДНК, которая затем встраивалась в гены клетки. Целью вируса, как и всех остальных вирусов, было завладеть клеточным аппаратом и превратить его в фабрику, производящую вирус. В ходе этого процесса каким-то образом некоторые клетки вирус превращал в раковые.

Ссылка

Более подробно генетика вирусов рассмотрена в главе 11.

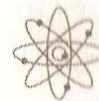
Но вскоре ученые выделили вариант вируса саркомы Рауса, который *не* вызывал рак. Они обнаружили, что у этого вируса отсутствует большой по размерам ген, расположенный в конце генома, который имелся у вызывавшего рак вируса. Они назвали ген *src*, по имени саркомы. Вскоре были обнаружены и другие вирусные гены у многих вызывавших рак вирусов, которые также были способны вызывать рак.

Думали, что эти *онкогены* являются вирусными генами, приносимыми в клетку при заражении ее вирусами. Но в середине 1970-х годов исследования Гарольда Вармуса (Harold Varmus) и Майкла Бишоп (Michael Bishop) из Калифорнийского университета показали, что все было как раз наоборот.

Используя обратную транскриптазу, эта группа сделала копии гена *src* вируса саркомы Рауса, пометила их радиоактивной меткой и смешала с ДНК здоровых цыплят. К удивлению исследователей, обнаружилось, что ген *src* уже присутствовал в нормальной ДНК цыплят и был активен, хотя клетки цыплят и не были раковыми. Ген *src* или очень похожий на него, имел совсем не вирусное происхождение. Казалось более вероятным, что он был захвачен вирусом самопроизвольно в определенный момент длительного взаимодействия последнего с клетками цыплят. Каким-то образом нормальный ген цыпленка становился способным вызывать рак после того, как вирусы повторно впрыскивали его в клетки.

Исследователи обнаружили ген *src* у рыб, птиц, млекопитающих и человека. Стало очевидно, этот ген имеет какую-то важную клеточную функцию. То, что иногда он вызывал рак, было всего лишь нежелательным побочным эффектом.

Данная работа, во многом продолжившая ранние исследования Рауса, окончательно подтвердила предположение, что рак — и в самом деле генетическая болезнь.



С тех пор были открыты многие онкогены, являвшиеся измененными формами нормальных клеточных генов. В настоящее время не вызывающие рака варианты онкогенов называют *протоонкогенами*.

Как онкогены вызывают рак

Как и любые другие гены, протоонкоген несет инструкцию для синтеза белка. Около 1980 года ученые установили, что протоонкоген *src* производит белок *киназа*, который навешивает фосфатные группы на некоторые аминокислоты в белках; процесс этот называется *фосфорилированием*.

Фосфорилирование является нормальной функцией клетки. Фактически, оно требуется для активности некоторых белков, особенно во время клеточного роста. В норме киназы вступают в дело, только когда получают сигналы от других компонентов клетки. А вот онкогены, продуцирующие киназы, делают это беспрерывно.

Другие протоонкогены также выполняют важные функции, изменение которых приводит к возникновению рака. Некоторые из них производят факторы роста, заставляющие клетку расти и размножаться. Другие продуцируют рецепторы, белки, с которыми связываются вещества, усиливающие рост клетки. Эти белки, в свою очередь, посылают сигналы активировать продукцию дополнительных веществ, требуемых для роста клетки. Онкогенные варианты всех указанных протоонкогенов продолжают усиливать рост клетки, в то время как они должны были бы его прекращать.

Как показано на очень упрощенной схеме (рис. 8.2), клеточный рост инициируется сложным процессом, включающим множество различных клеточных сигналов. Протоонкогены вовлекаются в него на каждом этапе.

Для превращения протоонкогена в онкоген обширная мутация не обязательна. В 1981 году Роберт Вайнберг (Robert Weinberg) из института Уайтхеда выделил первый онкоген из опухоли мочевого пузыря человека: *ras*. Вайнберг с соавторами показали, что онкоген отличается от своего протоонкогена всего одной парой нуклеотидов.

Некоторые онкогены начинают вызывать рак, когда перемещаются с одной хромосомы на другую или меняют положение на своей хромосоме. Вероятно, они подстраиваются к гену, который их активирует.

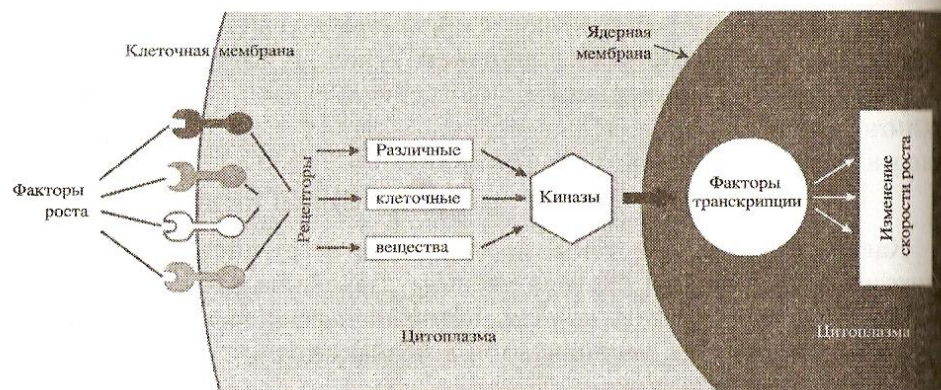


Рис. 8.2. Клеточный рост начинается с сигнала от факторов роста, химических веществ, передаваемых от одной клетки к другой.

Факторы роста прикрепляются к рецепторам на клеточной мембране, помогающим им войти в цитоплазму клетки. Они активируют киназу, которая, в свою очередь, активирует вещества, проходящие через ядерную мембрану и активирующие факторы транскрипции. Эти факторы включают гены, заставляющие клетку делиться. Изменения в любом из белков этого сложного каскада могут вызвать неконтролируемый рост

Еще одна мутация, вызывающая рак

Превращение протоонкогена в онкоген — это пример мутации с приобретением функции: нормальный ген начинает функционировать так, как не должен, и провоцирует безудержный рост клеток.

Но мутации с потерей функции также могут вызвать рак, что было установлено в начале 1980-х годов. Кроме генов, чья нормальная функция заключается в усилении роста клеток, существуют гены с нормальной функцией остановки роста клеток. Если *гены — супрессоры опухолей* выключаются, то бесконтрольный рост клеток начинается так же эффективно, как при функционировании онкогенов, усиливающих клеточный рост.

Первый супрессор опухоли был обнаружен в редком типе опухоли, *ретинобластоме*. Она поражает сетчатку глаза у детей. Для спасения жизни ребенка при этой болезни приходится удалять один или оба глаза. Самое удивительное, что иногда эта болезнь передается по наследству, а иногда возникает спонтанно.

В 1971 году Альфред Г. Кнудсон (Alfred G. Knudson) предположил, что дети, у которых развивалась наследственная ретинобластома, должно быть, наследовали две дефектные копии гена. Одна

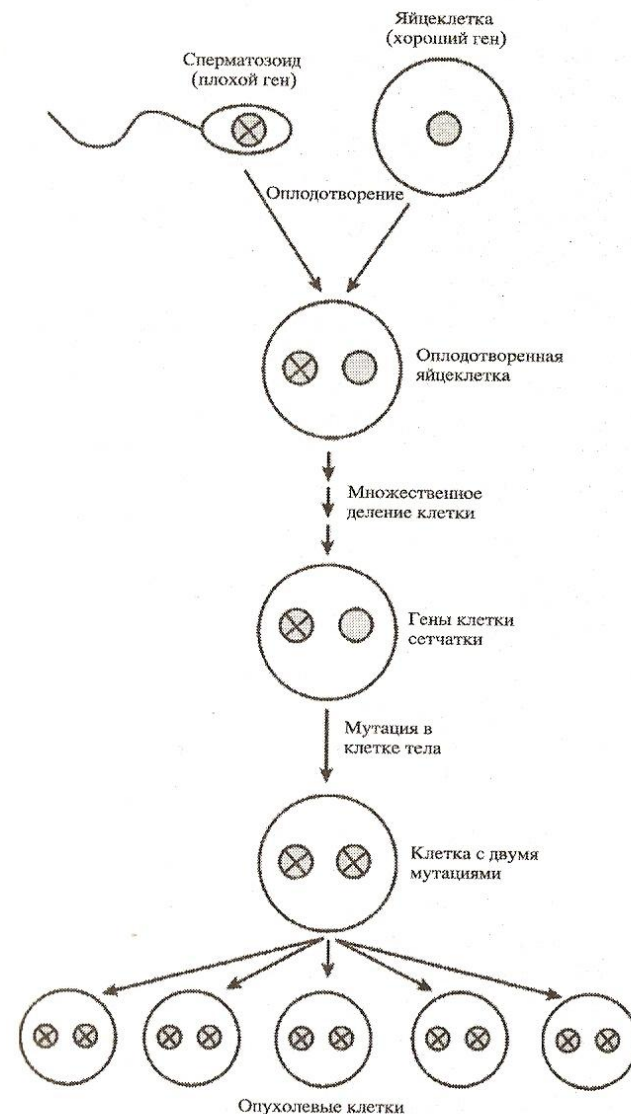


Рис. 8.3. Генетическое повреждение, приводящее к ретинобластоме, иногда наследуется, а иногда нет. В этом примере ребенок наследует один поврежденный ген от отца. В случае (очень вероятно), когда мутация во время развития глаза повреждает здоровый ген, унаследованный от матери, мутировавшая клетка не сможет контролировать рост. Она будет размножаться и образует опухоль. Опухоль также может быть результатом мутаций в двух здоровых генах, происшедших до рождения ребенка



ко рак также мог развиваться, если одна мутировавшая копия была наследована, а вторая изменилась из-за случайной мутации. Такая мутация могла произойти до рождения, когда клетки глаза размножаются очень быстро. В редких случаях, когда ребенок родился с двумя нормальными копиями генов, мутации могли произойти в обеих, повредив их и вызвав болезнь. Другими словами, генетическая причина болезни всегда одна — повреждение двух генов, а вот процесс повреждения может быть различным (рис. 8.3).

Йорг Юнис (Jorge Yunis) из медицинской школы Миннесотского университета обнаружил, что часть хромосомы 13 отсутствовала во всех клетках у детей с наследственной ретинобластомой. А вот у детей с ненаследственной формой опухоли она отсутствовала только в клетках опухоли. Многие группы исследователей начали поиск и выделение специфического гена, отвечающего за возникновение опухоли. В конце концов работа была выполнена Теодоро Драйа (Theodore Dryja), доктором из массачусетского госпиталя болезней глаза и уха. Хотя Драйа и не имел степени по молекулярной биологии, он начал клонировать фрагменты хромосомы 13 и сравнивать их с ДНК из клеток нормального глаза и клеток ретинобластомы. В 1986 году он определил последовательность ДНК хромосомы, которой не было в ретинобластоме. Драйа передал образцы ДНК в прекрасно оборудованную лабораторию Роберта Вайнберга, где Стефан Х. Френд (Stephen H. Friend) быстро определил ген, маркированный *Rb*, по названию ретинобластомы.

Ген *Rb* с тех пор был найден и в других тканях и связан с другими формами рака. Но это не единственный супрессор опухоли. Были обнаружены и другие супрессоры.

Один из самых важных и общих для многих типов рака (включая рак толстой кишки, мочевого пузыря и молочной железы) — это *p53*. Он связан с половиной всех раковых опухолей в США. Требуется повредить обе копии гена *Rb*, чтобы сделать неактивной супрессию роста клетки, но тот же эффект достигается повреждением всего одной копии гена *p53*. Конечно, это необязательно приводит к мгновенному развитию рака. Обычно развитие рака требует более одного изменения в генах.

Канцерогены

Очень мало видов рака строго передаются по наследству. Индивидуум может наследовать ген, который повышает риск возникновения рака. Но рак не разовьется, пока клетки не получат



дополнительной мутации или нескольких мутаций. Окружающая среда играет большую роль в возникновении рака, чем наследственность.

Канцерогены — это мутагены, которые превращают нормальные клетки в раковые (все канцерогены представляют собой мутагены, но не все мутагены бывают канцерогенами). Примерами канцерогенов могут служить различные химические вещества, ионизирующая радиация и (как подробно упоминается в главе 11) вирусы. Требуется, по крайней мере, две ступени, чтобы вредоносное действие канцерогенов увенчалось успехом.

1. *Инициация*. Начальная мутация, возникающая после первого контакта клетки с канцерогеном. Она подготавливает клетку к раковому перерождению, но еще не вызывает рака.
2. *Промоция* (подкрепление). Включает повторное действие канцерогена или различных канцерогенов (или даже веществ, которые не считаются канцерогенами), называемых *промотерами*. Промотеры вызывают необходимое количество мутаций, которые превращают клетку в раковую. Это процесс постепенный, он может неделями длиться у лабораторных крыс и годами — у людей.

Итак, вслед за первой мутацией должны последовать повторные мутации и другие изменения, прежде чем разовьется рак. Рак прямой кишки, например, развивается только после активации одного онкогена и повреждения трех генов супрессоров роста клеток, включая p53. Вот почему этот рак развивается годами и чаще случается у пожилых людей.

Для активации некоторых канцерогенов требуется их химическое изменение в организме. Эта метаболическая активация обычно осуществляется ферментами в различных тканях, особенно в печени.

Причиной того, что отдельные вещества могут вызывать рак у одних видов организмов, а у других не вызывают, является отсутствие у некоторых видов ферментов, превращающих неактивные преканцерогены в активные канцерогены.

Процесс развития рака невероятно сложен и все еще плохо изучен. Но новые открытия происходят почти каждый день, в результате чего появляются перспективы более эффективных методов лечения рака. Многие из них основываются на накапливающихся знаниях в области генетики этой ужасной болезни, что вселяет надежду на светлые перспективы в борьбе с ней.

**Дымящийся пистолет курения**

Хотя связь между курением и раком легких известна многие годы, точный механизм того, как именно курение вызывает рак, остается непонятным.

Однако в 1996 году ученые из Техаса и Калифорнии обнаружили, по крайней мере, часть «дымящегося пистолета» курения, способствующего раку. Они показали, что одно из химических веществ табака повреждает супрессирующий опухоли ген *p53* в клетках легкого. Это повреждение обнаружено во многих опухолях легкого.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Что, по определению Френсиса Пейтона Рауса, вызывало опухоли у исследованных им цыплят?
 - (а) вирус;
 - (б) бактерия;
 - (в) тесный курятник;
 - (г) привычка фермера курить.
2. Бессмертие раковых клеток означает, что:
 - (а) их нельзя убить;
 - (б) они становятся независимыми организмами;
 - (в) они могут делиться бесконечно;
 - (г) они могут заражать другие организмы.
3. Метастазы — это:
 - (а) метод замораживания раковых клеток для их изучения;
 - (б) способность раковых клеток самостоятельно двигаться и проникать в другие ткани;
 - (в) ген, который делает раковые клетки бессмертными;
 - (г) последовательность «мусорной» ДНК, специфичной для раковых клеток.
4. Популяция бесконтрольно растущих клеток называется:
 - (а) неопсисом;
 - (б) неологизмом;
 - (в) некрологией;
 - (г) неоплазмой.
5. Гены, которые вызывают рак, называются:
 - (а) наркогенами;
 - (б) «дикими» генами;



- (в) онкогенами;
 - (г) онкосомами.
6. Пераковые варианты генов, упомянутые в пятом вопросе, называются:
 - (а) пренаркогенами;
 - (б) «домашними» генами;
 - (в) протоонкогенами;
 - (г) понкосомами.
 7. Первый ген, супрессор опухоли, выделен из:
 - (а) ретинобластомы;
 - (б) рака толстой кишки;
 - (в) рака мочевого пузыря;
 - (г) лимфомы Ходжкина.
 8. Ген, супрессор опухоли, встречающийся почти в половине опухолей в США, называется:
 - (а) *u2*;
 - (б) *p51*;
 - (в) *брас*;
 - (г) *p53*.
 9. Мутаген, который превращает клетку в раковую, называется:
 - (а) туморогеном;
 - (б) канцерогеном;
 - (в) онкогеном;
 - (г) промогеном.
 10. Некоторые мутагены в организме могут активироваться ферментами в организме. Этот процесс называется:
 - (а) ферментной активацией;
 - (б) внутриорганизменной активацией;
 - (в) метаболической активацией;
 - (г) сероактивацией.



Глава 9

Бактерии — идущие другим путем

Давайте уделим часть времени прокариотам, и не в последнюю очередь, потому что когда мы начнем обсуждать генную инженерию, то увидим, что бактерии находятся в центре генетической революции, изменившей мир. Ну и, конечно, потому, что их больше, чем нас.

Свойства бактерий

Эукариоты, которые мы разбирали до сих пор, могут быть как одноклеточными, так и многоклеточными. Однако во множестве клеток, которые у них есть, генетический материал изолирован от остальной клетки толстой клеточной мембраной.

Прокариоты почти всегда одноклеточные. Внутри этих клеток генетический материал не располагается в виде ядра (нет у них других, связанных с мембраной органелл, в отличие от эукариотических клеток).

Все бактерии — прокариоты и делятся на две группы:

1. *Эубактерии*. «Настоящие бактерии», к ним относятся такие знакомые нам бактерии, как кишечная палочка — *E. coli*.

2. *Археи*. Считаются эволюционными предшественниками *эубактерий*, включают такие экзотические организмы, как *метаногены* (бактерии, продуцирующие метан).

Бактерии часто классифицируются по форме: *бациллы* (похожие на палочку), *кокки* (сферические), *спириллы* (спирали), *спирохеты* (геликоидальные) и *ветвистые*. Однако из-за малых размеров бактерий часто изучают не индивидуальные клетки бактерий, а их колонии или популяции.

Еще бактерии классифицируются как *грамположительные* или *грамотрицательные*. Цитоплазматическая мембрана большинства бактерий окружена клеточной стенкой, которая содержит химическое вещество, называемое *пептидогликаном*. У грамположительных

бактерий стенка содержит толстый слой пептидогликана. У грамотрицательных слой пептидогликана тоньше, но это компенсируется дополнительной внешней мембраной (пенициллин убивает бактерии, нарушая синтез пептидогликана).

Как вы можете догадаться по отсутствию настоящего ядра, процесс клеточного деления у бактерий отличается от деления у эукариот.

Бактериальная хромосома представляет собой одну кольцевидную двунитевую молекулу ДНК. Она только на время связывается с белками, образуя химическое подобие эукариотического хроматина. В отличие от наших хромосом она не конденсируется во время клеточного деления. У нее нет центромеры.

После репликации ДНК две ее копии расходятся во время роста клетки. Между копиями синтезируется новая клеточная стенка, и — *вуаля!* — две новые бактерии. Этот способ размножения называется *бинарным делением*. Размножаются бактерии гораздо быстрее эукариот. В идеальных условиях — каждые 20 мин., в то время как у клеток эукариот деление может занять целый день или два.

Давайте рассмотрим процесс репликации у бактерий более подробно.

Репликация ДНК и клеточное деление

Как вы помните, эукариотическая хромосома имеет точки *ori* (начала), с которых начинается репликация. Бактериальные хромосомы в отличие от эукариотических имеют только одну точку начала репликации. Репликация ДНК происходит одновременно и сразу в двух направлениях кольца хромосомы, создавая две репликационные вилки.

Раскручивание спирали ДНК в обоих направлениях должно вызывать скручивание хромосомы в направлении спирали и сделать хромосому такой плотной, что репликация должна бы закончиться, если бы не действие фермента *ДНК-гиразы*. Это представитель группы ферментов, называемых *топоизомеразами*, которые могут изменять форму молекул ДНК. ДНК-гираза предотвращает *положительное суперскручивание*, скручивая ДНК в противоположном направлении.

Полагают, что ДНК-гираза делает это, разрезая ДНК и держась у разрезанных концов молекулы, что не позволяет молекуле раскручиваться, затем пропускает нетронутую нить через отверстие и запечатывает разрыв (рис. 9.1).

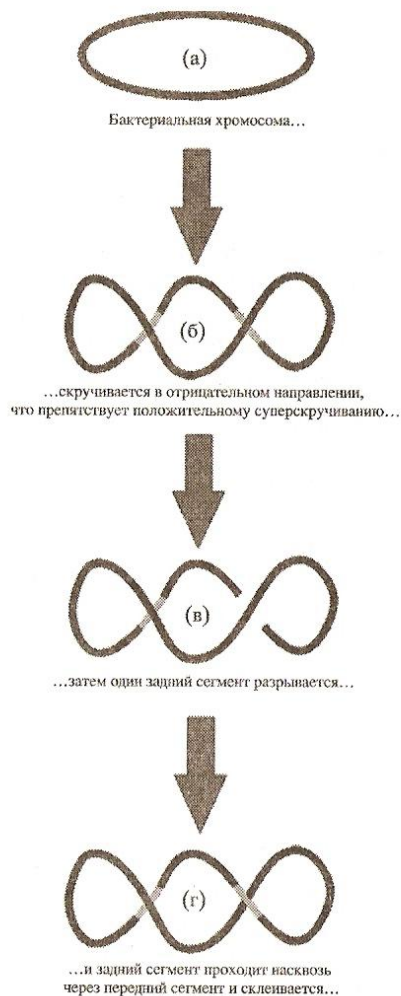


Рис. 9.1. Бактериальный фермент ДНК-гираза может изменить скручивание хромосомы бактерий, пропуская одну нить через другую. Сверху кольцевая бактериальная хромосома (а) сначала скручивается (б), затем делается разрез, через который проходит неразрезанная часть нити (в), а разрыв склеивается с другой стороны (г)

В ДНК есть участки, которые на время расплетаются, образуя одонитевые *пузыри*, помогающие молекуле избавиться от напряжения, вызванного ее скручиванием, а потом снова соединяются. Этот периодический процесс напоминает дыхание. Пузыри получают



энергию от усиленной молекулярной вибрации, вызываемой теплом: при увеличении температуры увеличивается и количество пузырей.

Однако в самих репликационных вилках ДНК расплетаются не за счет тепла, а ферментом, называемым *геликазой*. Как только отдельные нити расплетутся, белки, связывающиеся с одонитевыми ДНК (*ССБ-белки*), не дают расплетенным нитям соединяться друг с другом вновь.

Фермент *праймаза* использует участок на каждой нити расплетенной ДНК как матрицу для синтеза коротких нитей РНК, называемых *праймерами*, которые, в свою очередь, требуются для начала дупликации ДНК ферментом *ДНК-полимеразой*.

Из всех бактерий наиболее изученной, несомненно, до сих пор остается *E. coli*. Ученые идентифицировали три ДНК полимеразы у *E. coli*, названные (без воображения, но очень просто) *Pol I*, *Pol II*, *Pol III*. *Pol III* — это полимеразы, которая синтезирует по матрице вторую нить ДНК, то есть дублирует ДНК. Полимераза *Pol I* заполняет пробелы, оставленные в ДНК полимеразой *Pol III*. Фермент ДНК лигаза запечатывает любые разрывы в ДНК. А вот функция полимеразы *Pol II* остается неизвестной.

Примерно в середине процесса репликации хромосома похожа на греческую букву *тета* (Θ), поэтому процесс называется *тета-репликацией* (рис. 9.2).

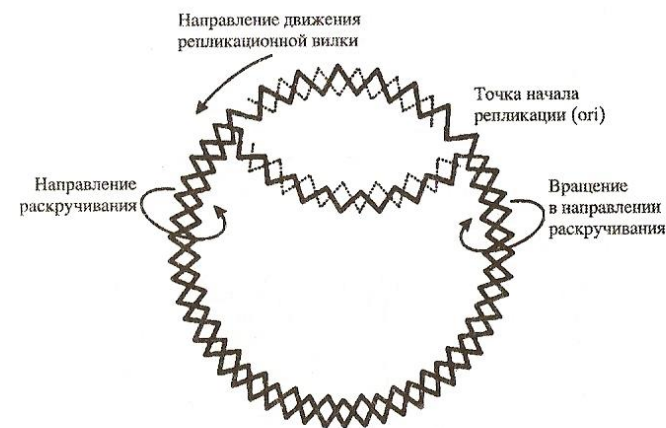


Рис. 9.2. В середине репликации бактериальная хромосома выглядит похожей на греческую букву *тета*. Пунктирные линии показывают вновь синтезированную ДНК. ДНК-гираза, как показано на рис. 9.1, не дает нереплицированным частям скрутиться, несмотря на их напряжение, вызванное раскручиванием реплицирующейся части хромосомы



Однако существует еще один способ репликации ДНК, который хромосомы реплицируются полностью или частично. В процессе репликации ДНК похожа на греческую букву *сигма* (σ), и поэтому она называется (вы уже догадались!) *сигма-репликацией*.

Сигма-репликация нужна бактерии, когда она передает фрагмент ДНК другой бактерии в процессе конъюгации (подробности будут приведены ниже). Она также имеет место, если поступает команда от заражающего бактерию вируса (фага или бактериофага), который берет на себя контроль клеточных механизмов, чтобы продуцировать копии фага, и нуждается в линейных фрагментах ДНК.

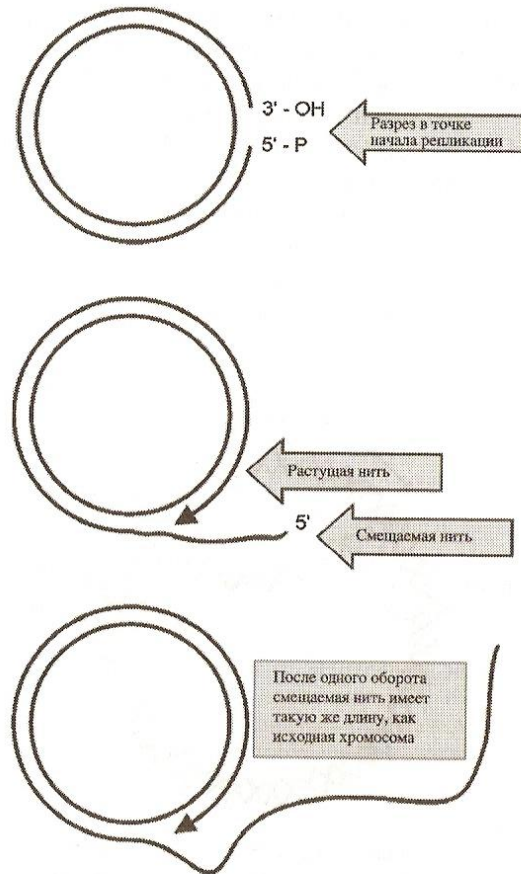
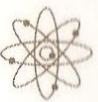


Рис. 9.3. Когда бактерии нужно создать фрагмент линейной ДНК, она использует сигма-репликацию, иногда называемую репликацией по типу катящегося кольца



При сигма-репликации разрезается одна из нитей двойной спирали ДНК, а геликаза и ССБ-белки стабилизируют репликационную вилку в этом месте. Во время репликации ведущей нити матрица отстающей нити смещается и реплицируется в виде коротких *фрагментов Оказаки* (как описано в главе 3). Репликация происходит так же, как репликация линейной ДНК у эукариот. В результате образуется кольцо с линейным хвостом (рис. 9.3).

Если копируется весь геном, кольцо может крутиться несколько раз, давая линейные копии кольца с лишними концами (одонитевые комплементарные нити), склеиваемыми ДНК-лигазой, в результате чего образуются новые кольцевые хромосомы.

При репликации хромосомы она прикрепляется каждой репликационной вилкой к выпячиванию мембраны внутрь клетки, *инвагинации*. Как только репликация завершается, бактерия растет в длину за счет участка мембраны между двумя репликационными вилками, так что дублировавшиеся хромосомы расходятся друг с другом. В конце концов новая клеточная мембрана синтезируется между двумя половинами растущей исходной клетки, и деление завершается.

Одна из причин, по которой бактерия так быстро делится в идеальных условиях, заключается в том, что у бактерии может быть от двух до четырех хромосом на различных стадиях репликации (рис. 9.4).

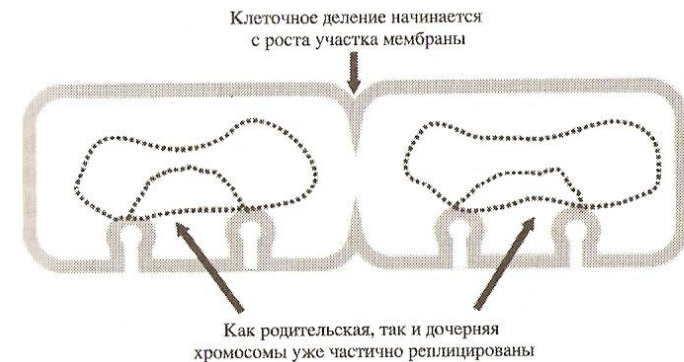


Рис. 9.4. Бактерия может реплицироваться быстро, потому что еще до завершения деления клетки хромосома дочерней клетки уже начинает реплицироваться, чтобы создать следующее поколение

Транскрипция и трансляция у бактерий

Все молекулы РНК, образующиеся в результате транскрипции у бактерий (информационная РНК, рибосомная РНК и транспортная



РНК), синтезируются одним ферментом, *РНК-полимеразой*. Перед каждым геном располагается промотерная область гена, с которой начинается транскрипция.

Бактериальные РНК-полимеразы состоят из пяти различных полипептидных цепей, одна из которых называется *сигма-субъединицей* и участвует в инициации транскрипции. Она узнает и связывается с участком однонитевой ДНК в области промотора за 10 оснований до первого копируемого основания (район называется *бокс Прибнова* или *бокс-10*) и за 35 оснований до первого копируемого основания, названного просто — 35 (первое копируемое основание называется +1, а любое основание до него получает отрицательный номер).

Связывание сигмы с промотором помогает правильно связаться с ним остальным субъединицам фермента (называемым *кор-ферментом*), так что транскрипция может начаться с правильной точки. Как только она начинается, сигма освобождается от кор-фермента и снова может участвовать в инициации транскрипции.

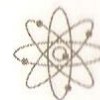
Транскрипция останавливается, когда РНК-полимераза доходит до ДНК-последовательности, называемой *терминатором*. Тогда РНК-молекула отсоединяется от ДНК.

Один транскрипт у бактерии может соответствовать последовательностям нескольких генов, в этом случае он называется *полицистронным*, или *полигенным*. (Это редкость для эукариот, потому что у них в отличие от прокариот гены разделены длинными интронами — фрагментами некодирующих последовательностей ДНК.) Получающаяся в результате молекула РНК будет иметь лидерную последовательность с 5'-конца, концевую последовательность — с 3'-конца и пробельную последовательность (у которой нет иной функции, кроме разделения генов), разделяющую гены. Часто гены, транскрибируемые подобным образом, имеют связанные функции и транскрибируются под контролем одного промотора. В этом случае говорят, что гены составляют *оперон*.

В отличие от эукариот у прокариот нет мембраны, отделяющей ДНК от остальной клетки. Это значит, что рибосомы могут начинать трансляцию, как только завершится транскрипция.

Трансляция у бактерий имеет три основные ступени.

1. *Инициация*. В фазе инициации рРНК связывается со специфической последовательностью мРНК, которая запирает ее в правильном для начала трансляции положении. Как и у эукариот, кодон инициации АУГ расположен у стартового 5'-конца молекулы мРНК и кодирует метионин. *Формильная группа* (химическая формула



(НО) присоединяется к молекуле метионина, как только аминокислота связывается с тРНК. Фермент *деформилаза* удаляет формильную группу с некоторых полипептидных цепей сразу после начала синтеза. Другой фермент, *аминопептидаза*, может также удалять метионин с конца цепи полипептида, так что не все бактериальные белки имеют формил-метионин или метионин у стартового конца.

2. *Элонгация*. Рибосома начинает сборку полипептидной цепи, аминокислоту за аминокислотой, подобно тому, как делает это у эукариот. Несколько рибосом могут одновременно транскрибировать одну мРНК. Такой набор рибосом называется *полирибосомой*.

3. *Терминация*. Окончательная фаза. Ее провоцирует встреча рибосомы со стоп-кодоном в мРНК. Рибосома освобождает мРНК и движется в поисках новой матрицы мРНК для трансляции.

Некоторые бактерии продуцируют белки, которые должны проходить через клеточную мембрану (например, токсины, продуцируемые многими бактериями, вызывающие пищевые отравления). Такие белки содержат дополнительно 15—30 аминокислот с одного конца молекулы. Они, как якорь, закрепляются в мембране, держа белок, пока он синтезируется и проходит через мембрану. Как только синтез белка завершается, фермент, называемый *сигнальной пептидазой*, отрезает сигнальную последовательность от остального белка, освобождая белок, вышедший из клетки.

Генетическая рекомбинация у бактерий

Обмен ДНК между отдельными бактериальными клетками называется *горизонтальным переносом генов*. Для него существует три основных механизма: *трансформация*, *конъюгация* и *транспирация*.

Былка

Генетическая рекомбинация более подробно разбирается в главе 13.

ТРАНСФОРМАЦИЯ

Трансформация — это перенос чистой ДНК (произведенной другой клеткой) в бактериальную клетку. Чистая ДНК освобождается в окружающую среду, когда бактерия подвергается *клеточному лизису*, то есть разрывается.

Только некоторые бактериальные клетки могут принять чистую ДНК. Говорят, что эти клетки обладают *компетентностью*. Не все виды бактерий *компетентны*, и даже компетентные клетки обычно



компетентны только в течение ограниченного периода своего жизненного цикла. В это время они продуцируют белки, называемые *факторами компетентности*, которые модифицируют клеточную стенку таким образом, что она может связывать фрагменты чужой ДНК, и помогают клетке абсорбировать и поглощать эту ДНК.

Фрагменты чужеродной ДНК, которые могут проникать в бактериальную клетку посредством трансформации, конъюгации или трансдукции, называются *экзогенотами*. Генетический обмен, при котором часть генетического материала передается от одной бактерии другой, называется *меромиксис*. А клетка, содержащая неинтегрированную чистую ДНК, была названа *мерозиготой*.

Во время прохождения двунитевого фрагмента ДНК через клеточную стенку бактерии одна из нитей ДНК деградирует. Это делает экзогеноту нестабильной до такой степени, что она скорее развалится, чем встроится в эндогеноту — генетический материал самой клетки.

Думают, что экзогенота покрыта белком, который помогает найти компетентный участок в эндогеноте и встроиться в нее (заместив часть генетического материала эндогеноты, конечно).

Если экзогенота содержит ген, который отличается от соответствующего гена в нити замещаемой эндогеноты, то найдутся несколько пар оснований, которые окажутся неправильно спаренными. Клетка вырезает неправильно спаренные основания из эндогеноты и использует экзогеноту как матрицу для их замещения. Таким образом, новая генетическая информация включается в геном бактерии (чтобы этот процесс прошел успешно, требуется, чтобы донор и реципиент принадлежали к одному виду бактерий или близкородственным видам).

Если экзогенота содержит два или более двух тесно сцепленных генов, оба могут быть трансформированы в клетку-реципиент. В этом случае говорят, что произошла *котрансформация* генов.

КОНЬЮГАЦИЯ

Конъюгация — это процесс, который у бактерий больше всего напоминает половой. Две клетки противоположного пола образуют цитоплазматический мостик, через который часть генетического материала переходит от одной клетки к другой. Генетический материал обычно имеет форму *эписомы* или *плазмиды*.

Эписома представляет собой генетический элемент, который может быть в виде маленькой кольцевой молекулы ДНК, существующей независимо и отдельно от хромосомы, автономно реплицирует



ся, но может встраиваться в хромосому и существовать как специфическая последовательность ДНК хромосомы. Плазида — также маленькая кольцевая, автономно реплицирующаяся ДНК, обычно размером от 1/100 до 1/1000 величины целой хромосомы. В отличие от эписом плазмиды никогда не встраиваются в хромосому (отметьте, что слово *плазида* сейчас часто используется в качестве термина, определяющего как эписомы, так и то, что ранее называли плазмидами).

Конъюгация лучше всего изучена у бактерий *E. coli* (естественно). В некоторых штаммах (клонах) *E. coli* часть клеток несет *F-плазмиду*, которая позволяет клеткам продуцировать белок *пилин*. Этот белок используется для построения конъюгационных трубочек, *пилей*, между бактериями F+ (мужскими, несущими плазмиду) и F- (женскими, не несущими плазмиду). Сразу же после построения трубочки одна нить ДНК плазмиды разрывается, копируется посредством сигма-репликации и поступает по трубочке в женские клетки (рис. 9.5). В результате женские клетки получают копию F-плазмиды и становятся бактериями F+ (мужскими).

Большая часть времени F-плазида остается вне хромосомы. Но в одной из 105 клеток, однако, ей удастся встроиться в хромосому клетки-реципиента (интегрировать). Такие клетки называются *Hfr* (высокой частоты рекомбинации). Наличие F-фактора в хромосоме

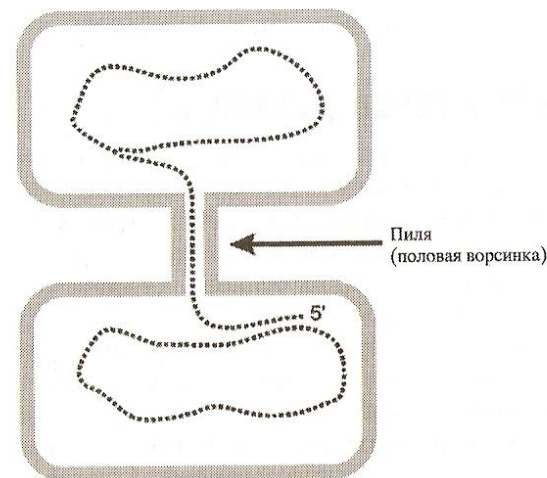


Рис. 9.5. При конъюгации у *E. coli* одна нить ДНК передается от F+, или мужской клетки, в F-, или женскую клетку, где она реплицируется и изменяет «пол» клетки



помогает передаче бóльшей ее части в другую клетку. Поскольку конъюгация обычно прерывается до полной передачи хромосомы в другую клетку, клетка-реципиент не получает F-фактора и остается женской клеткой F⁻, не становясь *Hfr*.

При нормальных условиях бактерии прекрасно выживают и без плазмид. Но когда их помещают в условия неблагоприятной окружающей среды, стресса, присутствие плазмиды в клетке становится важным фактором. Некоторые плазмиды несут генетическую информацию, которая дает клетке определенные преимущества. Плазмиды могут нести гены устойчивости (резистентности) к антибиотикам или другим токсическим для бактериальной клетки веществам. Плазмиды, сообщающие клетке свойства любой резистентности, называются R-плазмидами, или R-факторами.

ТРАНСДУКЦИЯ

Трансдукцией называют процесс переноса генетической информации от одной бактериальной клетки другой бактериальным вирусом, или *фагом* (бактериофагом). За исключением способа переноса (вектора) генетического материала, механизмы трансдукции не очень отличаются от механизмов передачи генетической информации, описанных выше.

Ссылка

Биология и генетика вирусов рассматриваются в главе 11.

Регуляция активности генов у бактерий

У прокариот, как и эукариот, не все гены работают одновременно. Даже во время активности гены требуется контролировать, чтобы продуцировалось только необходимое количество белка.

Если белок продуцируется клеткой постоянно, его синтез называется *конститутивным*. Гены таких белков регулируются сродством своих промоторов к РНК-полимеразе. Чем больше сродство, тем с большим постоянством ген, кодирующий белок, будет его производить.

Другие гены находятся под контролем регуляторных белков. Эти белки сами по себе не являются ферментами, они связываются с промоторами и регулируют транскрипцию генов. Как и у эукариот, есть белки *репрессоры* и *активаторы*. Репрессоры связываются с участком ДНК в *опероне*, называемом *оператором*. Это предотвращает транскрипцию всех генов в опероне. Поскольку отсутствие репрессора требуется для активности оперона, процесс называется *негативной регуляцией*.



Белки, которые должны синтезироваться для активации оперона, как и следует ожидать, называются *активаторами*. Они связываются с точками промотора в опероне или последовательностями, расположенными далеко от оперона, называемыми *энхансерными сайтами*. Поскольку присутствие активатора требуется для активации оперона, процесс называется *положительной регуляцией*.

Различные виды веществ могут активировать указанные виды регуляции, от маленьких молекул (сахара и аминокислоты) до больших молекул (гормоны). Вещества, включающие транскрипцию генов, называются *индукторами*, а выключающие ее — *корепрессорами*.

Гены, активируемые индукторами, называются *индуцируемыми генами*. Обычно они вовлечены в продукцию белков, участвующих в реакциях утилизации других веществ. Гены, выключаемые с участием корепрессоров, называются *репрессируемыми генами*. Они участвуют в процессах продукции различных веществ, например аминокислот.

Итак, возможны следующие варианты: отрицательная индуцирующая регуляция, отрицательная репрессирующая регуляция; положительная индуцирующая регуляция (положительная репрессирующая регуляция неизвестна).

Пример регуляции гена у *E. coli*

Классический пример регуляции у бактерий получен (опять же) у *E. coli*.

E. coli содержит фермент, называемый β (бета)-галактозидазой, который разбивает лактозу, молочный сахар, на два простых сахара: галактозу и глюкозу (наиболее предпочтительное питательное вещество для *E. coli*).

E. coli синтезируют β-галактозидазу, только когда в среде присутствует лактоза. Несколько последовательностей ДНК перед 5'-концом последовательности, кодирующей β-галактозидазу, регулируют транскрипцию этого фермента (рис. 9.6).

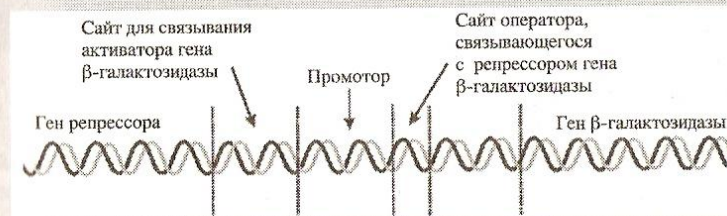


Рис. 9.6. Эти участки ДНК регулируют транскрипцию гена β-галактозидазы в *E. coli*



РНК-полимераза связывается с одной из этих последовательностей — промотором. Последовательность, называемая оператором, лежит между промотором и стартовым кодоном последовательности ДНК, кодирующей β-галактозидазу. Оператор взаимодействует с последовательностью репрессора (форма, длина и устройство репрессора делают практически невозможным его связывание с другими последовательностями, кроме оператора). Репрессор, связавшись с оператором, предотвращает начало транскрипции РНК-полимеразой.

Однако если *E. coli* поместить в среду с лактозой, сахар свяжется с белком-репрессором, что изменит форму белка. Это, в свою очередь, предотвратит связывание репрессора с ДНК, что позволит РНК-полимеразе транскрибировать ген β-галактозидазы, а лактоза будет утилизироваться как источник энергии клетками *E. coli*. Это пример отрицательного контроля.

Тот же механизм служит примером положительного контроля. Синтез β-галактозидазы также требует присутствия специфического белка-активатора. Данный белок функционирует, только соединившись с маленькой молекулой, которая появляется в клетке, когда в ней нет глюкозы, то есть когда клетка голодает. Как только маленькая молекула появляется, она образует комплекс с активатором, который затем связывается с короткой последовательностью ДНК около области промотора-оператора и активирует транскрипцию гена β-галактозидазы РНК-полимеразой. Таким образом, полное выражение гена β-галактозидазы требует как присутствия лактозы, так и отсутствия глюкозы в питательной среде.

Хотя механизм активации/репрессии наиболее часто встречается у бактерий, он не единственный. В некоторых случаях белок, продуцируемый геном, регулирует саму транскрипцию посредством саморегуляции. В случае слишком большой концентрации белка в клетке он ингибирует собственную продукцию, что приводит к падению уровня этого белка.

У прокариот существуют регуляторные механизмы на каждом уровне синтеза белка, как у эукариот (подробно обсужденного в главе 5).

Одно из основных различий между прокариотами и эукариотами, а также его важность для понимания генетики обсуждается в следующей главе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

- Основное различие между прокариотами и эукариотами заключается в том, что:
 - эукариоты имеют ядро, а прокариоты — нет;
 - у эукариот есть фотосинтез, а у прокариот — нет;
 - прокариоты живут дольше;
 - прокариоты встречаются реже эукариот.



- Бактериальная хромосома представляет собой:
 - одну линейную нить ДНК;
 - две переплетенные двойные спирали;
 - одну кольцевую молекулу ДНК;
 - фрагменты ДНК, разбросанные по всей бактерии.
- Функция ДНК-гиразы заключается в:
 - плотном скручивании бактериальной ДНК;
 - предотвращении скручивания ДНК до такой степени, что она не может реплицироваться;
 - вращении ДНК на месте для борьбы с вирусами;
 - привлечении других бактерий для конъюгации.
- При идеальных условиях бактерии реплицируются:
 - раз в день;
 - дважды в день;
 - каждые два часа;
 - каждые двадцать минут.
- Полицистронная ДНК кодирует:
 - сахар;
 - более одного гена;
 - клеточную стенку грамположительных видов;
 - токсины бактерий.
- Бактерии, способные поглощать чистую ДНК, называются:
 - «голодными»;
 - «храбрыми»;
 - «компетентными»;
 - «скромными».
- Когда две бактерии соединяются, чтобы одна передала другой копию генетического материала, процесс называется:
 - конфронтацей;
 - конъюгацией;
 - конфабуляцией;
 - передачей.
- Маленькая молекула ДНК, находящаяся вне хромосомы и автономно реплицирующаяся, называется:
 - плазмидой;
 - плазмоном;
 - экстрасомой;
 - паразитической хромосомой.



9. Белки, необходимые для активации генов, называются:
- (а) активистами;
 - (б) контролерами;
 - (в) провокаторами;
 - (г) активаторами.
10. Вещества, прекращающие транскрипцию гена, называются:
- (а) коконспираторами;
 - (б) корепрессорами;
 - (в) конкистадорами;
 - (г) контролерами.

Глава 10

Органеллы — внеядерная наследственность

В день нового, 1987 года появилась публикация в журнале Nature, ставшая редким событием в анналах науки: с нее началось развитие новой отрасли науки.

В статье «Mitochondrial DNA and human evolution» («Митохондриальная ДНК и эволюция человека») Алан Уилсон (Allan Wilson), Ребекка Кэнн (Rebecca Cann) и Марк Стоункинг (Mark Stoneking) сообщали, что почти все живущие сейчас люди, независимо от места проживания, генетически связаны с одной женщиной, жившей около 200 тыс. лет назад, вероятно, в Африке.

Эта работа послужила началом эволюционных генетических исследований. Самым примечательным в работе Уилсона, Кэнн и Стоункинга было то, что пришли они к своему замечательному выводу, исследуя не хромосомную ДНК из 23 пар хромосом, расположенных в ядре, а ДНК, находящуюся вне клеточного ядра, в маленьких органеллах, называемых *митохондриями*.

Ссылка

Эволюционная генетика подробно рассматривается в главе 14.

Как вы помните по главе 2, органеллы — это маленькие, заключенные в мембрану структуры, которые выполняют ряд жизненно важных функций в клетке. Две из органелл (не считая ядра, которое тоже можно рассматривать как органеллу, наполненную ДНК) содержат свой собственный генетический материал — митохондрии и хлоропласты.

В данной главе мы рассмотрим эти содержащие ДНК частицы клетки и их важность как для самой клетки, так и для развития эволюционной генетики.



Митохондрии

Митохондрии — это вторые по величине (после ядра) органеллы клетки. Они содержат ферменты, необходимые для продукции аденозин-трифосфата (АТФ). Эта молекула является основным источником энергии для биохимических реакций в клетке (рис. 10.1). По существу, митохондрии представляют целую фабрику, поставляющую клетке энергию.

У митохондрий много сходства с прокариотами, которые мы рассматривали в предыдущей главе. Как и у прокариот, у митохондрий кольцевой двунитевой геном, содержащий ДНК (однако у многих простейших, включая хорошо известную туфельку *Paramecium*, митохондрии имеют линейную ДНК). Как у прокариот, ДНК митохондрий не заключена в ядерную мембрану. Синтез белка у митохондрий также напоминает синтез у прокариот. Кроме того, митохондрии растут и делятся бинарным делением.

Такое сходство с бактериями имеет простое объяснение: митохондрии были бактериями миллиарды лет назад. Фактически, господствующая теория происхождения всех органелл (не только тех, что обладают ДНК) гласит, что они появились в результате симбиоза

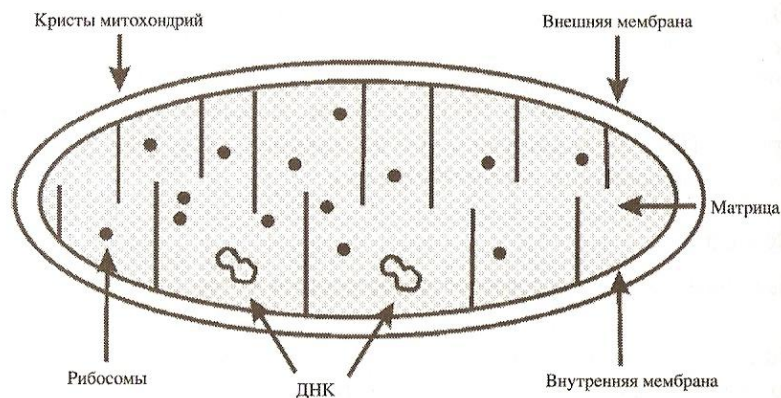


Рис. 10.1. Схема иллюстрирует структуру митохондрии.

У нее две мембраны, разделенные пространством. Под внутренней мембраной располагается плотная, почти гранулярная *матрица*, содержащая митохондриальную ДНК и рибосомы. Кристы — это перегородки (в некоторых видах — трубки), протянувшиеся от внутренней мембраны в глубь матрицы. Они обеспечивают митохондрии компартментализацию, деление на отсеки, необходимые для протекания биохимических процессов



ранних бактериальных клеток. Эта теория называется теорией *эндо-симбионтов*.

В соответствии с теорией, митохондрии появились в результате того, что примитивные клетки, содержавшие ядро, не могли сами использовать кислород, чтобы генерировать энергию (их называли *уркариотами*), и захватывали бактерии (названные *прогенотами*), которые могли это делать. Прогеноты не только выжили, но и смогли реплицироваться в цитоплазме уркариот, так что копии их передавались клетками уркариот из поколения в поколение. Эти случайные отношения превратились в истинный симбиоз, при котором ни бактерии, ни уркариоты не могли больше выживать самостоятельно.

В процессе развития таких отношений прогеноты передали множество своих генов ядру уркариот. Вот почему современные митохондрии больше не являются самостоятельными организмами. Хотя их геном кодирует компоненты собственной системы синтеза белка (рРНК, тРНК и т.д.), многие ферменты и белки, в которых нуждаются митохондрии для выполнения своих функций в клетке, кодируются хромосомами, синтезируются в ядре и только потом транспортируются из ядра в органеллы.

Рибосомы митохондрий обычно меньше и иначе устроены, чем рибосомы самой клетки. Это делает их чувствительными ко многим антибиотикам и другим веществам, к которым устойчивы цитоплазматические рибосомы клетки.

Величина генома митохондрий значительно варьирует у клеток от вида к виду. У грибов, например, дрожжей, она составляет до 86 тыс. пар оснований ДНК (большинство из которых составляют некодирующие основания). В многоклеточных организмах величина генома митохондрий — около 16 тыс. пар оснований (у человека, если говорить точно, 16 569 пар оснований). У животных митохондрии кодируют одни и те же 37 белков. Есть два гена рРНК, 22 гена тРНК и 13 генов белков, участвующих в дыхании, репликации ДНК, транскрипции и трансляции.

Каждая митохондрия имеет несколько участков нуклеотидов в ДНК, идентичных во всех митохондриях. Это значит, что в клетке очень много копий митохондриальной ДНК: если каждая митохондрия содержит всего пять копий своей ДНК, а в клетке 200 митохондрий, то всего в клетке 1000 копий генома митохондрий. Наличие множества копий очень важно для митохондрий, неспособных восстанавливать ДНК от повреждений, что означает для



них частоту мутаций в ДНК гораздо более высокую, чем в ядерной ДНК.

Таблица 10.1. Особенности генетического кода, обнаруженные у митохондрий

Организмы	Кодон	Смысл в ДНК митохондрии	Обычный смысл в ядерной ДНК
Различные	УГА	Триптофан	Терминация
Млекопитающие	АГА, АГГ	Терминация	Аргинин
Млекопитающие	АУА	Инициация	Изолейцин
Плодовая мушка	АУА	Инициация	Изолейцин
Дрожжи	АУА	Элонгация	Изолейцин
Дрожжи	ЦУА	Треонин	Лейцин
Плодовая мушка	АГА	Серин	Аргинин

Хотя транскрипция и трансляция ДНК у митохондрий очень схожи с бактериальными, у них есть особенности в генетическом коде, которые варьируют от вида к виду (табл. 10.1). Эти различия, вероятно, являются результатом высокого уровня мутаций в митохондриальной ДНК.

Хлоропласты

Хлоропласты, как полагают, тоже произошли от самостоятельных организмов, только гораздо позднее, чем митохондрии. Общепризнанная теория гласит, что хлоропласты первоначально были фотосинтезирующими цианобактериями (сине-зелеными «водорослями»), которых поглотили ядерные клетки эукариот, содержащие митохондрии. Как и митохондрии до них, цианобактерии вступили в симбиотические отношения с поглотившими их клетками и постепенно превратились в то, что мы видим сегодня: несущие хлорофилл, использующие фотосинтез энергетические фабрики царства растений (рис. 10.2).

У большинства растений много хлоропластов, хотя есть виды (одноклеточные водоросли, например), у которых только один хлоропласт на клетку. Типичное количество хлоропластов в клетке составляет от 40 до 50, каждый хлоропласт содержит от 40 до 80 копий молекул ДНК, которые объединяются в группы и, как предполагается, прикрепляются к внутренней мембране.

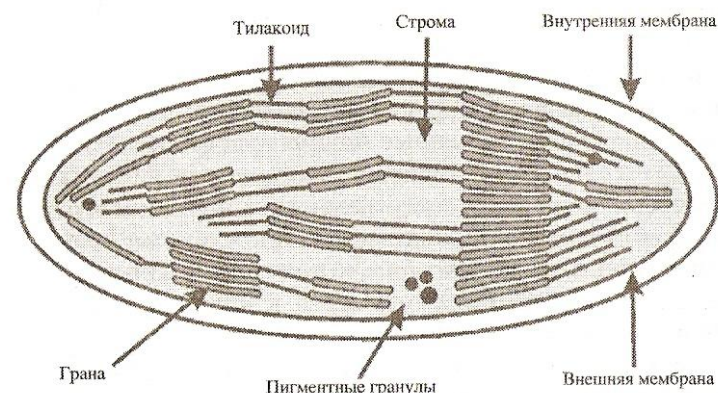


Рис. 10.2. Схема иллюстрирует структуру хлоропласта. Как у митохондрии, у него две мембраны, разделенные пространством. Внутренняя мембрана содержит особые белки, названные транспортёрами, которые регулируют прохождение внутрь клетки и из нее таких маленьких молекул, как сахара и белки, синтезированные в клеточном ядре специально для использования их в хлоропластах. Хлоропласт заполнен системой *тилакоидных* мембран, содержащих белки, включающие хлорофилл, выполняющий на свету реакции фотосинтеза. Наряду с мембранами, хлоропласт заполнен жидкой *стромой*, содержащей вещества, необходимые для темновых реакций фотосинтеза, а также несколько копий ДНК хлоропластов

ДНК хлоропластов больше ДНК митохондрий. Ее величина варьируется от 120 до 150 тыс. пар оснований, кодирующих от 46 до 90 генов. Большинство из кодируемых белков участвует в фотосинтезе. Остальные имеют отношение к репликации ДНК хлоропластов, ее транскрипции, трансляции и делению. Как и митохондриям, хлоропластам для функционирования требуются белки, кодируемые ядерной ДНК.

Примечательно, что у всех растений, от печеночника и выше по эволюционной лестнице, хлоропласты имеют один и тот же геном.

Наследование органелл

У ДНК хлоропластов и митохондрий имеется одна характеристика, которая отличает их от ДНК ядра. Эти ДНК наследуются почти исключительно по материнской линии.

Мужская гамета или та часть ее, которая вовлечена в оплодотворение, имеет совсем мало органелл. У животных наследование



митохондрий почти на сто процентов идет по материнской линии. Считается, что у растений две трети видов имеют строго материнское наследование хлоропластов. ДНК органелл имеет возможность влиять на признаки всего организма. Примером этого служат дрожжи. Клетки дрожжей, названные *petit*, растут медленно из-за недостатка дыхательных ферментов, поставляемых митохондриями. Когда петиты скрещивают с клетками дрожжей «дикого» типа, получают фертильные диплоидные клетки «дикого» типа, которые в нормальных условиях способны к половому размножению. В результате все четыре потомка относятся к «дикому» типу. Признак петит не проявляется ни при каких обратных скрещиваниях, что должно было бы происходить в соответствии с законами Менделя. Это показывает, что признак петит является результатом дефекта скорее митохондриальной ДНК, чем ядерной.

Проблемы с митохондриями могут вызывать также болезни человека. Если митохондрии не в состоянии нормально функционировать, они дают клетке все меньше и меньше энергии, что ведет к ее повреждению и смерти. Если подобная проблема затрагивает много клеток организма, то могут отказать целые системы, приводя к болезненным симптомам слабости, угрожающим жизни.

Судим о прошлом по митохондриям

Тот факт, что наследование митохондрий у человека происходит строго по материнской линии, делает их изучение привлекательным способом познания человеческой эволюции.

В статье, упомянутой в начале главы, авторы сообщали о тщательном сравнении митохондриальной ДНК, взятой у 147 людей из пяти различных географических популяций: африканской, азиатской, австралийской, кавказской и новогвинейской. Они искали различия у митохондриальных ДНК, находящиеся в пределах 9% от общей величины генома митохондрий.

По теории, гласившей, что две последовательности, мало отличающиеся друг от друга, должны были расходиться позже, чем две последовательности, сильно отличающиеся друг от друга, исследователи сгруппировали последовательности по степени вариации между ними. В конце концов они получили две группы: последовательности из Африки и все остальные.

Это показывало, что самые старые последовательности получены из Африки, в то время как другие были не африканскими и имели недавнее и различное происхождение.



Используя для оценки скорость накопления митохондриальных мутаций, составляющую от 2 до 4% на миллион лет, Уилсон с соавторами заключили, что митохондриальные ДНК, которые они изучали, произошли от митохондриальной ДНК одной женщины, жившей около 200 тыс. лет назад, вероятно, в Африке.

Более недавние исследования Дугласа Уолласа (Douglas Wallace) из университета Эмери в Атланте позволили полагать, что у этой «африканской Евы» было 18 потомков, каждый с определенным митохондриальным геномом, которые расселились по всем регионам земного шара.

Со временем митохондриальная ДНК послужила основой для других прозрений ученых в области человеческой истории. Например, в 1997 году группа исследователей под руководством Сванте Пяябо (Svante Paabo), молекулярного антрополога, сообщила, что ей удалось выделить достаточно неповрежденного генетического материала из скелета неандертальца (379 пар оснований митохондриальной ДНК), чтобы сделать заключение: *Homo sapiens* — не потомок неандертальцев, а скорее, их двоюродный брат.

Группа Пяябо пришла к такому выводу, потому что нашла 27 различий между ДНК неандертальца и ДНК человека, в то время как нити митохондриальной ДНК различных людей имели всего восемь индивидуальных различий. Полученный результат заставляет полагать, что неандерталец и человек разошлись 500 тыс. лет назад (более поздние исследования Уильяма Гудвина (William Goodwin) из университета Глазго подтвердили находку Пяябо).

Митохондриальная ДНК оказалась пригодной и для исследования более близких к нам отрезков времени. Брайан Сайкс (Bryan Sykes), генетик из института молекулярной медицины Оксфордского университета, использовал митохондриальную ДНК для изучения вариаций и миграций человека. Он проследил родословную современных европейцев до семи предков-женщин (Сайкс даже основал компанию, которая может по желанию индивидуумов, присылающих образцы своей ДНК, установить их родственные связи с одной из этих «семи дочерей Евы»).

Еще один инструмент из ящика эволюционных генетических инструментов

Митохондриальная ДНК — это не единственная ДНК, которая может использоваться генетиками для изучения эволюции и миграции человека. Как митохон-



митохондриальная ДНК пролила свет на наследование генов по материнской линии, так Y-хромосома проявляет передачу генов по отцовской линии. Это возможно благодаря тому, что Y-хромосома делает человека мужчиной.

Исследования Дэвида Пейджа (David Page) и Брюса Лана (Bruce Lahn) из Чикагского университета показали, что Y-хромосома появилась в результате мутации около 300 млн лет назад (у наших предков-рептилий пол определялся не генами, а такими условиями внешней среды, как температура).

За миллионы лет последующие мутации перестроили и укоротили гены Y-хромосомы до такой степени, что она больше не смогла обмениваться генами с X-хромосомой во время мейоза, хотя обе они составляют пару 23 человеческих хромосом.

Это означает, что единственным источником генетической изменчивости хромосомы стали мутации. Сравнивая специфические, наиболее подверженные изменениям фрагменты Y-хромосомы у мужчин из различных географических регионов, можно составить историческую картину, соответствующую «митохондриальной».

Геномы у митохондрий и хлоропластов, конечно, меньше любых ядерных геномов у эукариот или бактериальных геномов. Но они, безусловно, не самые маленькие из геномов, известных в природе.

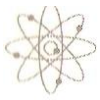
Самые маленькие геномы у вирусов, с которыми вы познакомитесь в следующей главе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Источник энергии для клетки сокращенно называется:
(а) СТП;
(б) СВС;
(в) АТФ;
(г) ПДК.
2. Теория, гласящая, что органеллы произошли от бактерий, поглощенных древними ядерными клетками, называется:
(а) экзобактериальной теорией;
(б) амебной теорией;
(в) теорией «большого глотка»;
(г) теорией эндосимбионтов.



3. Человеческая митохондриальная ДНК содержит приблизительно:
(а) 1600 пар оснований;
(б) 16 тыс. пар оснований;
(в) 160 тыс. пар оснований;
(г) 1 млн 600 тыс. пар оснований.
4. Скорость мутаций в митохондриальной ДНК:
(а) ниже, чем в ядерной ДНК;
(б) выше, чем в ядерной ДНК;
(в) примерно та же, что в ядерной ДНК;
(г) не существует.
5. Хлоропласты, очевидно, произошли от:
(а) цианобактерий;
(б) вирусов;
(в) бактерии *E. coli*;
(г) клеток дрожжей.
6. По сравнению с типичной митохондриальной ДНК, ДНК хлоропластов:
(а) короче;
(б) длиннее;
(в) примерно такая же;
(г) более скрученная.
7. Как митохондриальная ДНК, так и ДНК хлоропластов, ко всему общему удивлению, наследуются:
(а) по материнской линии;
(б) по отцовской линии;
(в) по линии обоих родителей;
(г) от бактерий-симбионтов.
8. Исследования митохондрий показали, что все мы происходим от женщины, жившей:
(а) 10 тыс. лет назад в Шотландии;
(б) 100 тыс. лет назад в России;
(в) 200 тыс. лет назад в Африке;
(г) 500 тыс. лет назад в Китае.



9. Митохондрии свидетельствуют, что:
- (а) неандертальцы — наши прямые предки;
 - (б) неандертальцы все еще живы;
 - (в) неандертальцы никогда не существовали;
 - (г) у неандертальцев и человека был общий предок 500 тыс. лет назад.
10. Для изучения путей миграции человека посредством наследования по отцовской линии исследователи обращаются к:
- (а) Y-хромосоме;
 - (б) X-хромосоме;
 - (в) X-файлам;
 - (г) рассказам «Конан» Роберта Говарда.

Глава 11

Вирусы — захват наследственности

В 1886 году немецкий ученый Адольф Майер (Adolf Mayer) потратил много времени и сил, пытаясь выделить бактерии, которые вызывали болезнь у растений табака. Ее назвали «табачной мозаикой». В соответствии с только что появившейся теорией микробного происхождения болезней, он и искал возбудителя болезни, но так и не смог его найти.

Спустя шесть лет русский ученый Дмитрий Ивановский провел свои опыты и пришел к выводу, что болезнь табачной мозаики вызывается совсем не бактерией. Он решил так, потому что возбудитель болезни не задерживался тончайшими фарфоровыми фильтрами, через поры которых не могли пройти никакие из известных бактерий. Он думал, что возбудителем мог быть токсин какой-то некультивируемой бактерии. Возможно, бактерии также могли проходить через дефекты в фильтрах.

Вероятно, будучи незнаком с работами Ивановского, голландский ученый Мартинус Бейеринк (Martinus Beijerinck) повторил его опыты по фильтрованию возбудителя в 1898 году. Но он, однако, пришел к другим выводам. Поскольку Бейеринк всегда мог заразить здоровые растения фильтратом из больных особей, он заключил, что в жидкости, проходящей через фильтры, содержится живой инфекционный агент. Другие опыты подтвердили, что агент этот не мог быть микробом. Что бы это ни было, следовало подобрать возбудителю название, и Бейеринк назвал его *вирусом*.

Сразу же были найдены несколько вирусов, вызывавших другие болезни. Вирус ящура был выделен у скота в 1898 году, а вирус желтой лихорадки — в 1900-м.

Пятнадцать лет спустя были открыты вирусы, заражавшие бактерий, их называли *бактериофагами*, или *фагами* (пожирателями бактерий). Но вирусные частицы настолько малы, что никто не мог их увидеть до появления электронного микроскопа с увеличением в 1000 или 2000 большим, чем у светового. Такой микроскоп появился только в 1930-е годы.



Сегодня Международный комитет по таксономии вирусов признал около 3000 видов вирусов, и это считается небольшой частью существующих видов. Больше всего нам следует опасаться вирусов, вызывающих заболевания человека: от простой простуды до ветрянки, от гриппа до СПИДа. Фактически, как только у нас начинается насморк или расстройство кишечника, мы, очень возможно, скажем: «Должно быть, я опять подхватил где-то вирус». Так что же такое вирус? И как он вписывается в огромную картину генетики?

Что такое вирус

Вирус представляет собой *ультрамикроскопический* облигатный внутриклеточный паразит, не способный к автономной репликации. Ультрамикроскопический означает, как вы уже смогли подумать, очень маленький. Вирусы гораздо меньше клеток прокариот и эукариот. Тициный вирус составляет в диаметре приблизительно от 30 до 40 нм (1 нм = 1/1000 мкм, а 1 мкм = 1/1 000 000 м). Он внутриклеточный, потому что может жить только в клетке, и *облигатный* паразит, потому что существует только как паразит.

Вирусы не могут самовоспроизводиться, и это делает их опасными для других организмов, а также означает, что, строго говоря, они не являются живыми организмами. Для размножения вирусы захватывают аппарат хозяйской клетки. Они имплантируют в клетку свою генетическую программу, которая переключает клеточные механизмы так, что клетка становится маленькой фабрикой вирусов. Основной задачей клетки становится воспроизведение вирусных частиц, копий заразившего ее вируса. Большинство вирусов, быстро или медленно, убивают хозяйскую клетку. Она разрывается и выделяет копии вирусных частиц, заражающих другие клетки. Некоторые вирусы сохраняют клетку живой, но в таком состоянии, что она постоянно выбрасывает в окружающую среду поток новых вирусов.

Вирусы ошеломляюще разнообразны, но имеют всего шесть общих свойств.

1. У вирусов есть только один вид нуклеиновой кислоты — или ДНК, или РНК (клетки, как вы помните, имеют обе нуклеиновые кислоты).
2. Вирусы не имеют аппарата синтеза белка (рибосомы, другими словами) и системы накопления и передачи энергии (нет митохондрий и других механизмов продукции АТФ).
3. Вирусы не заключены в липидную мембрану, которую не могут сами синтезировать, и не имеют внутренней мембраны.



4. На вирусы не действуют антибиотики.
5. У вирусов нет цитоскелета, они не способны двигаться.
6. Вирусы не растут: сформировавшийся вирус не может становиться больше.

Формально, полностью сформированный вирус называется *вирионом*. Вирион состоит почти исключительно из генетического материала, защищенного оболочкой из белка. Она называется *капсидом* и состоит из отдельных субъединиц — капсомеров (рис. 11.1). Нуклеиновая кислота с белковой оболочкой называется *нуклеокапсидом*.

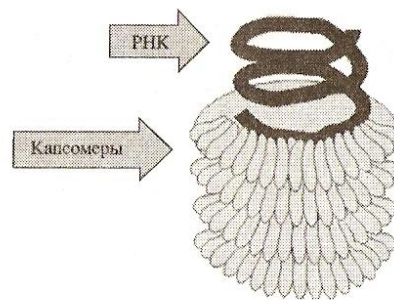


Рис. 11.1. Частица вируса табачной мозаики

У маленьких вирусов маленькие геномы. Самый маленький вирусный геном содержит приблизительно 500 тыс. пар оснований, а самый большой — 5 млн пар. В вирусном геноме только несколько сотен генов кодируют ферменты, необходимые для инфицирования и разрушения других клеток: полимеразы — для репликации, капсидные белки — для построения новых вирионов и другие белки, отличающиеся у различных вирусов в зависимости от циклов их жизни.

Таблица 11.1. Примеры классификации вирусов по форме

Нуклеиновая кислота	Форма капсида	Примеры
РНК	Спиральная симметрия	Вирус табачной мозаики, вирус гриппа, Y-вирус картофеля
РНК	Кубическая симметрия	Вирус полиомиелита, реовирусы, ретровирусы



Продолжение табл. 11.1

Нуклеиновая кислота	Форма капсида	Примеры
ДНК	Спиральная симметрия	Вирус оспы
ДНК	Кубическая симметрия	Вирус полиомы, вирус полиомы Шоппе, ф X174
ДНК	Комплексная (с головкой и хвостом)	Т-фаги, лямбда, P22

Вирусы обычно симметричны по форме и классифицируются (табл. 11.1) по симметрии, включая:

- *спиральную симметрию*: капсид образует длинную спираль;
- *кубическую симметрию*: капсид имеет форму куба;
- *икосаэдрическую симметрию*: капсид в форме икосаэдра, шара, поверхность которого состоит из 20 равносторонних треугольников;
- *комплексные*: это вирусы сложной формы, например с икосаэдрической головкой и хвостом, или необычной формы, асимметричной.

Вирусы приспособлены атаковать специфические типы клеток. Клетки, чувствительные к вирусам, имеют на поверхности рецепторы, к которым прикрепляются вирусы, атакуя клетку. Клетки, не имеющие рецепторов, устойчивы к этим атакам.

Давайте подробнее рассмотрим различные виды вирусов и то, как они атакуют геном клеток.

Бактериофаги

Вирусы, специализирующиеся на поражении определенных бактериальных клеток, называются *бактериофагами*, или просто *фагами* (между прочим, если вы говорите о множестве видов вирусов, то называете их «фагами», во множественном числе. Но если вы имеете в виду один вид вирусов, например Т4 или лямбда, то говорите «фаг», в единственном числе. Так можно говорить о фагах Т4 и лямбда и об атаке на бактериальную клетку двух частиц фага-лямбда).

Многие фаги имеют сложную форму с икосаэдрическими головками и прикрепленными к ним хвостами (вирусы, поражающие клетки эукариот, обычно не имеют хвостов). У большинства фагов генетический материал состоит из двунитевой ДНК. Но также су-



ществуют и бактериофаги, геном которых состоит из одонитевой ДНК, одонитевой или двунитевой РНК.

Разделяют два «цикла жизни» бактериофагов (это, конечно, термин неточный, потому что бактериофаги, как и остальные вирусы, не являются живыми): *литический* (лизис) и *лизогенный* (лизогению).

ЛИТИЧЕСКИЕ ЦИКЛЫ

У большинства фагов цикл жизни один (рис. 11.2). Они убивают хозяйскую клетку, чтобы продуцировать новый фаг. Фаги, убивающие хозяйскую клетку, называются *вирулентными*.

Первая ступень литического цикла состоит из заражения хозяйской клетки вирионом, адсорбирующимся на рецепторе на поверхности клетки. Затем фаг вводит свою ДНК в хозяйскую клетку. Обычно белковый капсид фага остается на поверхности клетки (и его, соответственно, называют *тенью*).

Внутри клетки различные фаги используют разные способы репликации своего генетического материала. Наиболее часто РНК-

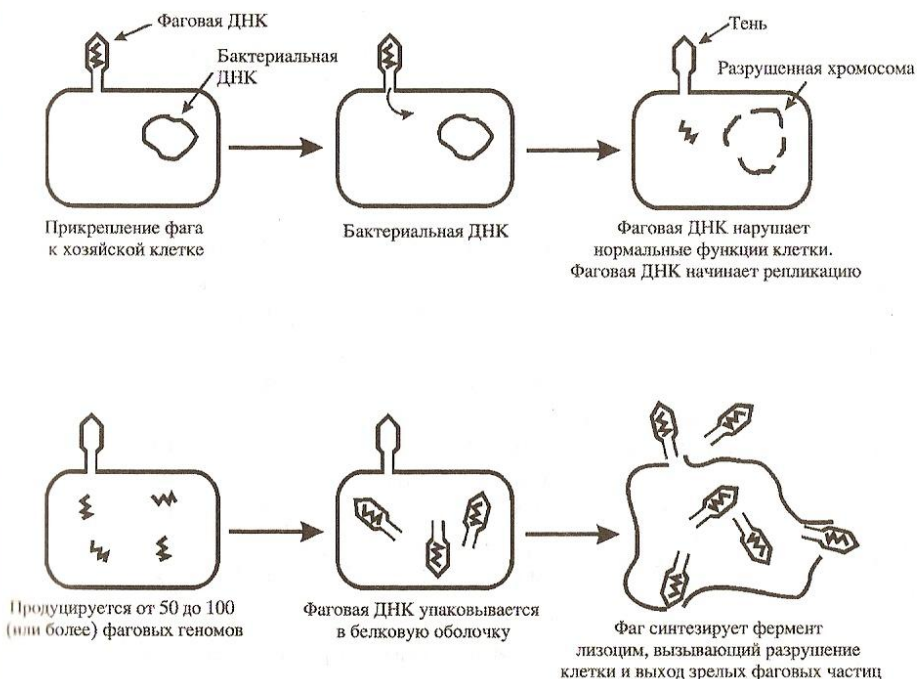


Рис. 11.2. Литический цикл жизни бактериофага (лизис)



полимераза клетки транскрибирует ДНК бактериофага в мРНК, которая транслируется в ферменты (необходимые для репликации фагового генома, транскрипции и иногда разрушения ДНК хозяйской клетки), регуляторные белки (контролирующие время активации фаговых белков) и структурные белки (которые образуют белковую часть новых копий фага).

Сборка нового фага напоминает линию конвейера: вирусный геном копируется репликацией по типу катящегося кольца, а копии упаковываются в новые белковые головки. В деталях процесс может отличаться от вируса к вирусу. Так, у *E. coli* фаг Т4, например, упаковывает более одной копии генома в головку, отрезая нить ДНК, когда головка полностью заполнена. Это значит, что порядок генов у различных вирусных частиц отличается, а также существует два *терминальных (концевых) участка* ДНК (делают геном *терминально избыточным*) на каждом конце ДНК фага и отделяют истинный геном от дополнительной ДНК, упакованной с ним. У некоторых других фагов, например у фага лямбда *E. coli*, нить ДНК, продуцируемая репликацией по типу катящегося кольца, разрезается в специфических местах.

Как только фаг собран, продуцируется белок, называемый *лизацином*, который разрушает хозяйскую клетку (процесс называется *лизисом*) и освобождает обычно от 50 до 300 новых фаговых частиц.

ЛИЗОГЕННЫЙ ЦИКЛ

Некоторые фаги имеют лизогенный цикл (лизогению), при котором хозяйская клетка остается живой, по крайней мере, на время, чтобы продуцировать новый фаг. Поскольку при лизогенном цикле хозяйская клетка не разрушается так быстро, как при литическом цикле, фаги называются *умеренными*, или *невирулентными*.

При типичном лизогенном цикле (рис. 11.3) фаговая ДНК в хозяйской клетке не остается автономной (как при литическом цикле), а включается (интегрирует) в бактериальную хромосому. Реже фаговая ДНК не соединяется с хромосомой, а реплицируется одновременно с хромосомой хозяйской бактерии, представляя подобие плазмиды.

Типичный лизогенный цикл состоит из четырех основных этапов.

1. Фаг впрыскивает свою линейную ДНК в хозяйскую клетку (входящая в клетку ДНК называется *профагом*). Эта ДНК образует петлю, два концевых участка ДНК соединяются.

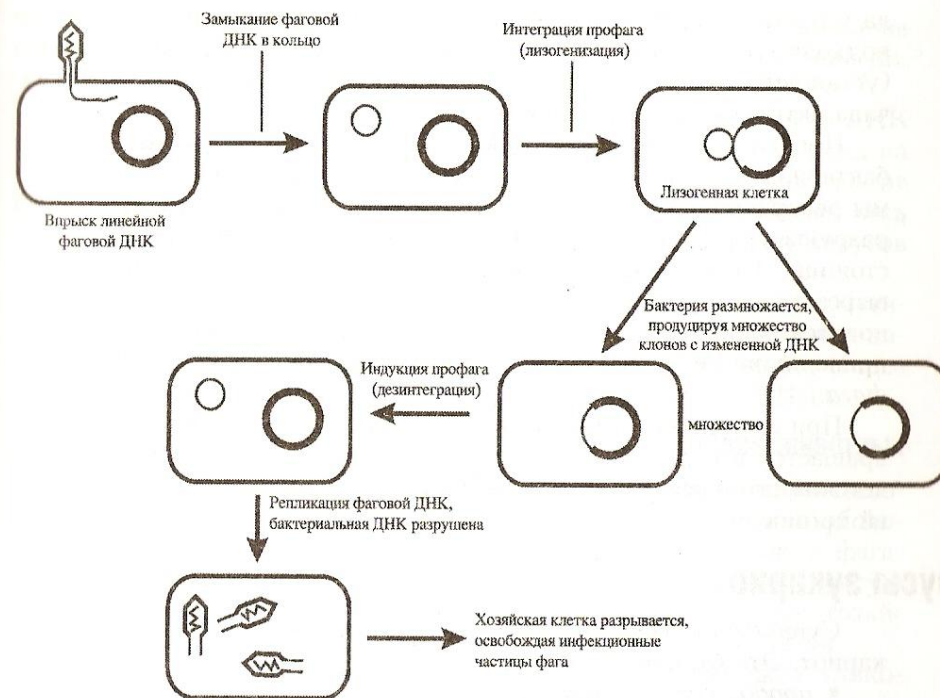


Рис. 11.3. Типичный лизогенный цикл фага (лизогения)

2. Некоторые гены (называемые ранними) транскрибируются, производя белок-репрессор, выключающий транскрипцию других фаговых генов. А вот фермент, называемый *интегразой*, продуцируется.
3. Интеграза обеспечивает встраивание профага в специфический участок на хромосоме хозяйской клетки.
4. При репликации хромосомы бактерии встроенный профаг реплицируется как часть хромосомы.

Некоторые инфицированные клетки выживают во время лизогенного цикла, но затем клетки переключаются на литический цикл, приводящий их к гибели. Ключ к циклу, который выберет клетка, — уровень питательных веществ в окружающей ее среде. Когда питательных веществ не хватает, бактерии находятся в состоянии покоя. Поскольку фаги могут вызывать литический цикл только тогда, ког-



да у бактерии активен обмен веществ, голодающие клетки фагам не подходят. Если фаги могут лизогенизировать голодающую бактерию (установить лизогенный цикл), то могут пережить в клетке и до начала активного обмена веществ.

Профаг, встроенный в ДНК бактерии, может удалить себя из бактериальной хромосомы в случае ее повреждения. Частью системы репарации ДНК у бактерий является фермент протеаза, который разрушает репрессор, держащий профаг в хромосоме в «спящем» состоянии. Тогда профаг начинает синтезировать фермент *эксципазу*, вырезающий профаг из хромосомы хозяйской клетки. Профаг становится полностью активным, а клетка вступает в литический цикл, приводящий ее к гибели. Этот процесс называется *индукцией профага*.

При плазмидном типе лизогенного цикла, как только профаг превращается в кольцевую молекулу и репрессируется, он просто прячется в цитоплазме бактерии, реплицируясь синхронно с репликацией хромосомы.

Вирусы эукариот

Существует несколько отличий вирусов эукариот от вирусов прокариот. Эти отличия включают:

- *продолжительность жизненного цикла*. Литический цикл фага длится от 20 до 60 мин. Жизненный цикл вируса эукариот — от 6 до 48 ч;
- *количество потомства*. Фаг, содержащий ДНК, продуцирует от 50 до 1000 новых вирионов, выбрасываемых при лизисе хозяйской клетки. Эукариотические вирусы продуцируют в среднем от 500 до 100 тыс. вирионов на одно поколение клетки;
- *эффективность заражения*. Потомство бактериофага заразно на 100%. К счастью, большая часть потомства вирусов эукариот не в состоянии вызывать инфекцию. Количество инфицирующих вирионов может колебаться от 1/10 до 1/10 000 в популяции вируса;
- *судьбу хозяйской клетки*. Литический и лизогенный циклы бактериофагов, в конце концов, кончаются гибелью хозяйских клеток. У эукариот погибает только часть хозяйских клеток, в то время как остальные клетки продолжают жить и постоянно продуцировать вирус;
- *нарушения функций клетки*. Фаги обычно выключают репликацию ДНК клетки, синтез клеточной РНК и белка вскоре



после заражения ими хозяйской клетки. Вирусы эукариот не нарушают функций хозяйской клетки до последней стадии инфекции;

- *способ введения ДНК*. Фаги обычно впрыскивают свою ДНК сквозь клеточную мембрану через хвосты, оставляя капсид на поверхности бактерии. Эукариотические вирусы никогда не впрыскивают свою ДНК, вместо этого в клетку входит весь вирион (и, как уже упоминалось, у эукариотических вирусов не бывает хвостов);
- *частоту мутаций*. Неизвестны бактериофаги, которые мутируют с большой частотой. К сожалению, существует много вирусов эукариот, мутирующих с очень высокой частотой. К ним относятся вирусы гриппа и ВИЧ-1, возбудителя СПИДа.

ВИРУСЫ ЖИВОТНЫХ

Вирусы животных обычно бывают спиралевидными или икосаэдрическими, они могут быть *непокрытыми* («голыми») или *оболочечными*. У непокрытого вируса есть только капсид, как у фага. У оболочечного вируса тоже есть капсид, но, кроме него, присутствует и липидная оболочка, состоящая из части мембраны хозяйской клетки, которую вирус захватывает при выходе из клетки.

Вирусный геном определяет продукцию специфических гликопротеинов, которые вставляются в мембрану. Капсид вириона прикрепляется к концам этих гликопротеинов на цитоплазматической стороне мембраны, что вызывает связывание части мембраны с вирионом. В таком «конверте» он может отщепиться от клеточной мембраны в результате процесса, называемого *почкованием*, не оставляя в ней отверстия.

Вирион прикрепляется к специфическому рецептору на клеточной мембране, чтобы заразить клетку. Рецептор, как ключ к замку, подходит к капсиду непокрытого вируса или гликопротеину липидной оболочки оболочечного вируса. В клетке капсид, или конверт, удаляется и освобождает вирусный геном, который может состоять из ДНК или РНК, однонитевой или двунитевой, линейной или кольцевой (если это ДНК, так как вирусные геномы, состоящие из ДНК, реплицируются в ядре хозяйской клетки, в то время как геномы, состоящие из РНК, остаются в цитоплазме клетки).

Вирусы вызывают четыре типа инфекции у животных:

1. *Острая*, или *литическая*. Вирусы проходят литический цикл (описанный выше в разделе о фагах) и быстро уби-



вают хозяйскую клетку, вызывая ее разрушение и выход потомства вирионов.

2. *Латентная*. Соответствует лизогенному циклу бактериофагов. Вирус заражает клетку, но остается неактивным до наступления определенных условий.
3. *Персистирующая*. Новые вирионы медленно освобождаются с поверхности клетки, но клетка остается живой. В результате продуцируются упакованные вирусы.
4. *Трансформирующая*. Хозяйская клетка не только продуцирует вирионы, но и трансформируется из нормальной в раковую за счет вставки онкогена, принесенного вирусом.

ДНК или РНК содержащие вирусы, имеют различные пути репликации, транскрипции и трансляции, когда заражают животные клетки.

Типичные вирусы, содержащие двунитевую ДНК, прикрепляются к поверхности клетки, проникают внутрь и затем освобождаются от капсида (процесс называется *распаковкой*). Ферменты хозяйской клетки реплицируют вирусную ДНК и транскрибируют ее в мРНК, которую рибосомы хозяйской клетки транслируют в белки вирусного капсида или (иногда) в ферменты, обеспечивающие преимущество репликации вирусной ДНК перед репликацией собственной ДНК хозяйской клетки. Белки капсида — капсомеры — образуют капсид вокруг реплицирующейся вирусной ДНК, а затем освобождаются при разрушении клетки или почковании (когда продуцируются упакованные в липидную оболочку вибрионы, описанные выше). Однонитевая ДНК вируса следует по такому же пути, вот только сначала достраивается вторая нить из нуклеотидов клетки, а уж потом полученная двунитевая ДНК транскрибируется и транслируется.

Жизненный цикл РНК содержащих более сложен, чем циклы жизни ДНК содержащих вирусов. Большинство хозяйских клеток не могут реплицировать или репарировать РНК, потому что в клетке нет для этого нужных ферментов. В результате РНК, содержащие вирусы больше подвержены мутациям. Вирусные геномы, состоящие из РНК, должны включать гены, кодирующие ферменты собственной репликации, или вирусы должны уже нести с собой эти ферменты при проникновении в хозяйскую клетку.

Вирусные геномы, состоящие из однонитевых РНК, метятся или (+), или (—). РНК (+) нить служит в хозяйской клетке в качестве мРНК, кодируя (по минимуму) белки капсида и ферменты для



репликации вирусной РНК. РНК (—) нить комплементарна нити мРНК, кодирующей все эти белки, и должна нести с собой фермент, который может синтезировать нить (+) по нити (—), после чего начинается синтез необходимых белков и ферментов.

Двунитевые РНК-геномы реплицируются более-менее сходно с двунитевыми ДНК-геномами, используя фермент, названный *РНК-репликазой*. И, наконец, ретровирусы несут с собой *обратную транскриптазу* — фермент, который копирует РНК их геномов в ДНК. Полученная ДНК может встраиваться в геном хозяйской клетки или использоваться для транскрипции. Как отмечено в главе 8, некоторые ретровирусы несут онкогены, превращая хозяйские клетки в раковые. Другим примером ретровирусов, встраивающихся в хозяйский геном опасные гены, является вирус ВИЧ-1, вызывающий СПИД. Это самый сложный из существующих вирусов, потому что он содержит по крайней мере шесть дополнительных генов.

ВИРУСЫ РАСТЕНИЙ

Вирусы растений напоминают по форме палочки или многогранники (полиэдры) и имеют, в основном, геномы РНК (+). Интересно, что геномы некоторых вирусов растений не могут реплицироваться, пока в клетку не попадет два различных вируса, каждый из которых несет часть генома. Этот тип вирусов называется вирусами с *фрагментированными геномами*.

Существуют содержащие ДНК вирусы растений, например вирус табачной мозаики, у которых геном расположен в полиэдрическом капсиде. Есть также *вирусы-близнецы* с парой соединенных друг с другом капсидов, каждый из которых несет кольцевую однонитевую молекулу ДНК длиной в 2500 нуклеотидов. У некоторых вирусов-близнецов парные молекулы ДНК идентичны, в то время как у других они кардинально отличаются.

И, наконец, есть еще *вириоды*. Это маленькие кольцевые однонитевые геномы, состоящие из РНК размером от 270 до 380 нуклеотидов — слишком маленькие, чтобы кодировать любые известные белки. Как и вирусы, которые в сотни и тысячи раз меньше клеток, заражаемых ими, вириоды в тысячи раз меньше вирусов. Они полностью полагаются на ферменты хозяйской клетки в обеспечении репликации своих геномов. Несмотря на маленькие размеры, вириоды вызывают болезни растений, поскольку некоторые фрагменты их генома нарушают механизм трансляции в клетке.

Способность вирусов ставить под контроль нормальные функции клетки, вставлять в клетку свой генетический материал делает их



весьма ценными объектами генетической инженерии, одной из наиболее ярких и противоречивых областей генетики, которая рассматривается в следующей главе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Первым найденным вирусом был вирус:
 - (а) оспы;
 - (б) гриппа;
 - (в) табачной мозаики;
 - (г) увядания картофеля.
2. Вирусы — это:
 - (а) симбионты;
 - (б) паразиты;
 - (в) маленькие бактерии;
 - (г) мутанты водорослей.
3. Капсид — это:
 - (а) белковая оболочка вируса;
 - (б) шапочка вирусологов;
 - (в) европейский цветок, поражаемый вирусом;
 - (г) клетка, зараженная вирусом.
4. Вирусы, атакующие бактерии, называются:
 - (а) прокариовирусами;
 - (б) плазмидотронами;
 - (в) бактериофагами;
 - (г) бактериоблохами.
5. Для хозяйской клетки литический цикл заканчивается, когда:
 - (а) она реплицируется;
 - (б) она разрушается;
 - (в) она съезживается;
 - (г) она становится раковой.
6. Жизненный цикл фага, который не убивает хозяйскую клетку, называется:
 - (а) падающим циклом;
 - (б) не литическим циклом;
 - (в) полуфаговым циклом;
 - (г) лизогенным циклом.



7. Жизненный цикл вирусов эукариот:
 - (а) короче, чем у фагов;
 - (б) такой же, как у фагов;
 - (в) длиннее, чем у фагов;
 - (г) длиннее у растений, короче у животных.
8. Оболочечный вирус:
 - (а) имеет липидную мембрану, захваченную у хозяйской клетки;
 - (б) имеет очень толстый капсид;
 - (в) имеет очень длинный хвост;
 - (г) проглочен лейкоцитом.
9. ВИЧ и некоторые другие ретровирусы:
 - (а) имеют меньше генов, чем другие вирусы;
 - (б) не имеют белковой оболочки;
 - (в) имеют дополнительные гены, не требующиеся для репликации;
 - (г) имеют ДНК, которая считывается в ином направлении, чем у других вирусов.
10. Вироиды — это:
 - (а) крайне маленькие геномы, состоящие из РНК;
 - (б) мертвые вирусы;
 - (в) искусственные вирусы, сконструированные методами нанотехнологии;
 - (г) гланды в глотке, которые часто воспаляются.



Глава 12

Генетическая инженерия — скульптор кода

В ноябре 1972 года в кафе на Гавайских островах два молекулярных биолога, Стенли Кoen (Stanley Cohen) из Стенфорда и Герберт Бойер (Herbert Boyer) из Калифорнийского университета в Сан-Франциско, разговаривали после долгого дня участия в научной конференции.

Они беседовали о своей работе, понимая, что каждый имеет свои знания, приборы и методы, в которых нуждается собеседник. Покончив с ростбифами, ученые запланировали серию опытов, которые должны были произвести революцию в генетике.

Кoen был заинтересован во введении нового генетического материала в бактериальную клетку. Это можно было сделать, забирая плазмиду из одной клетки и вводя ее в другую. Такой процесс происходит естественным путем при конъюгации у бактерий, но Кoen планировал искусственный путь введения.

Бойер работал над чем-то совершенно иным.

Ферменты рестрикции

Нуклеазы — это ферменты, разрывающие связи, которые скрепляют нуклеотиды в цепи, дезоксирибонуклеазы атакуют молекулы ДНК, а рибонуклеазы атакуют молекулы РНК (особенно одонитевые). Некоторые нуклеазы удаляют по одному нуклеотиду с концов нуклеотидной цепи, они называются экзоназы. Ферменты, которые разрезают остов молекул ДНК и РНК во всех других местах, кроме концов, называются эндонуклеазами.

Бойер сфокусировал свою работу на особом типе нуклеаз, называемых эндонуклеазами рестрикции, в частности, на эндонуклеазах типа II (есть еще эндонуклеазы рестрикции типа I и типа III). Ферменты типа II узнают основание в последовательности двунитевой ДНК, в точке, называемой сайтом рестрикции, и связываются с ним, а разрезают остов каждой нити за 20 оснований от данного сайта (рис. 12.1).

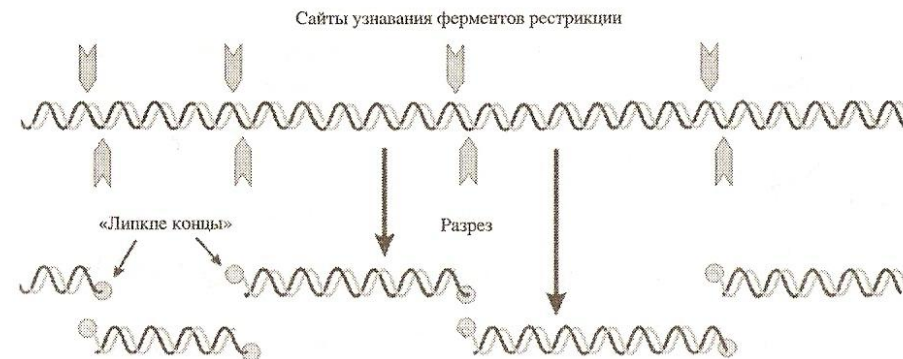


Рис. 12.1. Ферменты рестрикции разрезают длинную молекулу ДНК на фрагменты в зависимости от сайтов узнавания. Полученные в результате фрагменты обладают «липкими концами» — несколькими неспаренными основаниями

Типичный сайт рестрикции состоит из четырех-восьми оснований, которые следуют друг за другом непрерывно (например, ГААТТЦ) или прерываются (например, ГТХХАЦ, где на месте Х могут стоять любые основания). Последовательность симметрична, то есть ее можно точно так же прочитать (но в противоположном направлении) на другой нити ДНК. В приведенных примерах на противоположной нити последовательности читаются как ЦТТААГ и ЦАХХТГ. Эта симметрия делает комплементарные основания *палиндромом*.

Ферменты рестрикции обычно встречаются у бактерий, где они помогают отразить нападение вирусов. Сайты узнавания в бактериальной ДНК модифицируются добавлением к ним метильной группы ($-\text{CH}_3$) в процессе *метиляции*, который выполняется ферментами, называемыми (как же еще?) *метилазами*. Метилирование не позволяет ферментам рестрикции разрезать геном в сайтах рестрикции. А вот геномы вирусов, у которых сайты рестрикции не модифицированы, могут быть разрезаны ферментами рестрикции и разрушены. Совокупность указанных процессов называется *системой рестрикции и модификации*.

Классификация ферментов рестрикции

Ферменты рестрикции называются по имени вида бактерий, которые их продуцируют. Обычно название начинается с трех букв. Первая, заглавная, — это первая буква названия рода бактерий, а вторая и третья — первые буквы назва-



ния вида. Они выделяются курсивом (потому что научные названия традиционно пишутся курсивом). За тремя буквами следуют три римские цифры (не выделенные курсивом), чтобы показать, какой из типов фермента выделен из этого вида бактерий.

Если фермент выделен из специфического штамма бактерий, то четвертая буква указывает на название штамма (она не выделяется курсивом).

Несколько примеров:

- *Pst*II — второй фермент, выделенный из *Providentia stuartii*;
- *Eco*RI — первый фермент, выделенный из *E. coli*, штамма *RY13*;
- *Hind*III — третий фермент, выделенный из *Haemophilus influenzae*, штамма *Rd*.

Ферменты рестрикции привлекли внимание Бойера и других ученых, потому что их использование давало метод для расщепления очень длинной нити ДНК на куски заранее определенной длины, с которыми оказалось гораздо легче работать. Ферменты рестрикции делают и еще кое-что полезное: они оставляют на концах разрезанного фрагмента ДНК короткую последовательность неспаренных оснований. Например, Бойер особенно интересовался ферментом *Eco*RI, который с одного конца фрагмента ДНК оставлял ТТАА, а с другого конца — ААТТ.

Следовательно, любой фрагмент ДНК, разрезанный специфическими ферментами рестрикции, мог быть соединен с любым другим фрагментом, разрезанным этим же ферментом рестрикции, потому что фрагменты имеют «липкие концы». После этого фермент лигаза мог сшить фрагменты друг с другом.

Во время дискуссии в Гонолулу Бойер и Кoen поняли, что, объединив силы, смогут сделать то, чего никто и никогда раньше не делал: напрямую сконструировать геном организма.

Первые опыты

Бойер и Кoen начали совместные опыты, в которых участвовали Анни Ченг (Annie Chang) и Роберт Хеллинг (Robert Helling), в Калифорнии в 1973 году. Они использовали *Eco*RI для разрезания плазмид из различных штаммов *E. coli*. Одна из плазмид содержала ген, который обеспечивал клетке устойчивость к антибиотику тетрациклину. Другая плазида гарантировала резистентность к антибиоту канамицину. Как только кольцевые геномы обеих плазмид



были разрезаны ферментом, исследователи соединили их вместе, и образовался один большой новый геном, содержащий гены обеих устойчивостей к антибиотикам.

Они ввели новую плазмиду в штамм *E. coli*, который был чувствителен к обоим антибиотикам, и поместили полученные бактерии в чашки с питательной средой, содержащей оба антибиотика. Некоторые бактерии выжили в этих условиях, и это значило, что новые гены были полностью функциональными.

Затем Бойер и Кoen соединили плазмиды двух различных видов бактерий, а потом вставили в плазмиду ген лягушки. В обоих случаях гены выражались в клетках бактерий, которые получили новые плазмиды, и передавались их потомству.

Ученые создали совершенно новые организмы за счет прямой манипуляции с генами. Началась эра генетической инженерии.

Амплификация ДНК

Чтобы ввести в организм гены, сначала необходимо получить их в достаточном количестве. Итак, первый шаг в опытах по генетической инженерии — получение и клонирование генетического материала.

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНОВ

В обычном понимании клоном считается идентичная копия высшего организма, например всемирно известная и ныне покойная овечка Долли. Молекулярные биологи, однако, клоном считают популяцию генетически идентичных (за исключением мутаций, происходящих во время клонирования) организмов, клеток, вирусов или молекул ДНК.

Для получения клона вируса необходимо заразить одну клетку одним вирионом. Все образующиеся вирионы, произведенные зараженной клеткой, будут клонами исходного вириона. Поскольку эти клоны могут заражать новые клетки, то очень быстро можно получить множество копий исходного вириона. Они выглядят как отдельные ясные пятна (*бляшки*), вызванные гибелью зараженных клеток, на слое (*газоне*) незараженных клеток в чашке Петри.

Вы можете клонировать клетку, просто выращивая ее на слое ростовой среды (обычно *агара* — вещества, приготовленного из морских водорослей). Бактериальные клетки, как и клетки млекопитающих, легко клонируются таким образом.



Однако целью клонирования, с точки зрения изучения ДНК, является не получение идентичных копий нормальной клетки, а получение большого количества определенного фрагмента ДНК.

В генетической инженерии цель клонирования, как правило, — получение значительного количества копий специфического гена. Этот ген сообщает клетке функцию, которую вы хотите получить в генетически модифицированном организме.

Прежде чем получить множество копий гена, его нужно сначала отделить от остального генома. Первый шаг на этом пути — создание *библиотеки*, в которой ДНК генома разбита на куски. Если удача сопутствует вам, то ген, который вы ищете, будет расположен на одном из таких кусков.

Библиотека в данном случае ничего общего с книгами не имеет. Скорее, это коллекция фрагментов ДНК, выделенных из одного источника, коллекция клонов.

Для создания библиотеки понадобится *вектор*. Какая-нибудь молекула ДНК, в которую вы сможете встроить новую ДНК и внести ее в хозяйскую клетку, чтобы она могла реплицировать ее. Самыми распространенными векторами являются плазмиды (мы рассматривали их в главе 9). Также векторами могут служить фаги (рассмотренные в главе 11).

Выбор вектора для клонирования

Не только вирус или плазида могут использоваться как векторы. Идеальный вектор для генетической инженерии должен иметь три характеристики.

1. Хороший потенциал клонирования. То есть должен давать большое количество реплик в хозяйской клетке.
2. Его геном должен иметь один сайт узнавания для каждого из многих ферментов рестрикции. Таким образом, чужой ген сможет встраиваться только в одну точку вектора.
3. Он должен иметь полезную функцию в клетке, например нести ген устойчивости к антибиотику, чтобы можно было легко отличить клетки, несущие вектор, и выделить встроенный в него ген.

ДНК генома из донорского организма разрезается на множество фрагментов ферментами рестрикции, которые также разрезают ДНК-плазмиды в одном месте. Фрагменты геномной ДНК и разрезанной ДНК-плазмиды смешивают. Их липкие концы соединяются друг с



другом, в основном, случайно. В результате образуется множество различных плазмид, каждая из которых несет фрагмент донорской ДНК, все они вместе (надо надеяться) содержат совокупную ДНК генома донора.

Эти плазмиды вводятся в клетки бактерий-реципиентов (клетки становятся проницаемыми для чистой плазмидной ДНК при обработке их холодным раствором хлорида кальция). Трансформированные бактериальные клетки распределяют тонким слоем по агару, так что каждая клетка может размножаться отдельно от остальных.

Плазида, используемая в качестве вектора, обычно несет гены устойчивости к двум антибиотикам. Исследователи пользуются ферментом рестрикции, чтобы разрезать ДНК плазмиды в одном из этих генов. Любая бактерия, не несущая плазмид, гибнет от каждого из двух антибиотиков. Бактерии, получившие плазмиды без клонированного в них чужого фрагмента ДНК, выживают на агаре с каждым из двух антибиотиков. А вот клетки, несущие плазмиды, в которые встроена чужеродная ДНК, будут расти на агаре только с антибиотиком, ген устойчивости к которому не был разрушен ферментом рестрикции (рис. 12.2). Эти клетки, у которых чужой ген встроен в ген устойчивости ко второму антибиотику, сформируют колонии, или клоны. Все клетки в каждой колонии будут нести множество копий исходной ДНК, но каждая из них будет также содержать копию нового, чужеродного фрагмента ДНК.

Такая же методика применяется для вирусных или фаговых векторов.

Однажды созданные библиотеки хранятся как постоянный источник ДНК для клонирования (почему, собственно, их и называют библиотеками).

Библиотеками часто пользуются, чтобы выделить определенные гены. Есть два пути поиска специфических клонов в библиотеке, которые несут фрагменты ДНК с последовательностями нужного гена. Один путь заключается в поиске специфической последовательности оснований этого гена (если она известна). Другой путь состоит в поиске специфического белка, кодируемого геном. В любом случае, поиск называется *скринингом*. Есть много методов скрининга, зависящих от используемого вектора и гена, который предстоит найти.

Пример поиска гена, для которого известна последовательность оснований ДНК, приведен на рис. 12.3.

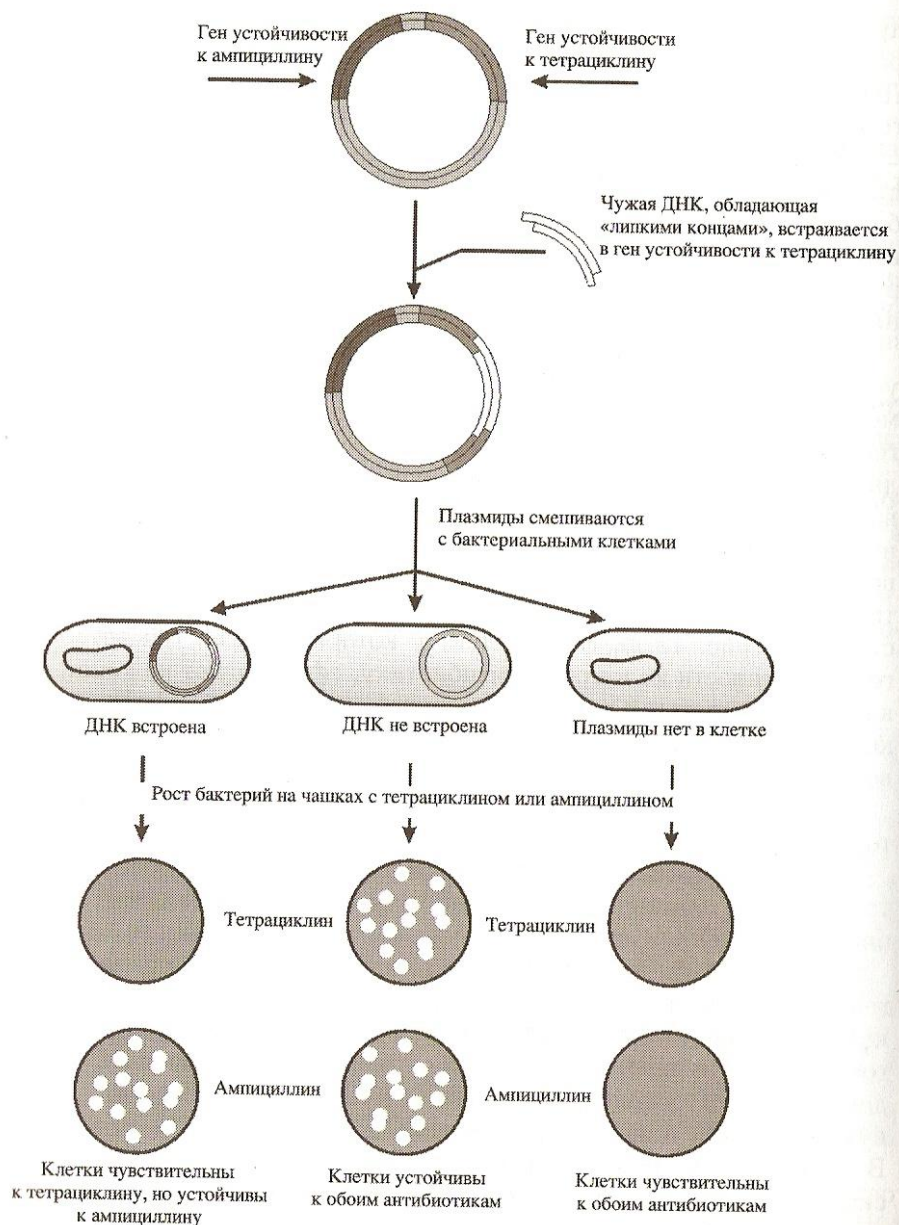


Рис. 12.2. Использование плазмидного вектора с двумя генами устойчивости к антибиотикам облегчает создание библиотеки

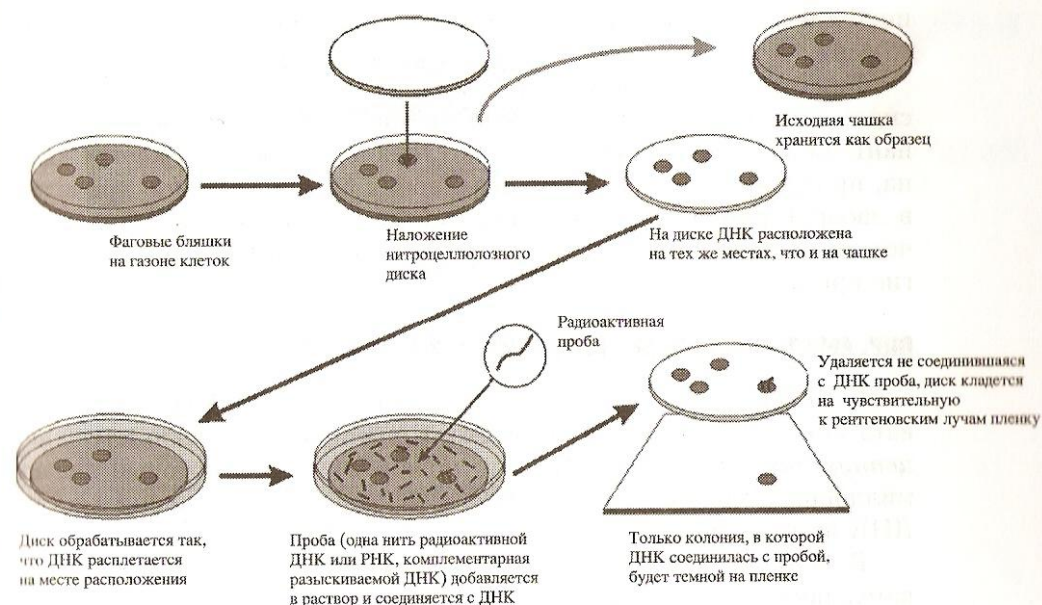


Рис. 12.3. Один из методов поиска (скрининга) клонов с определенной последовательностью ДНК

Колонии бактерий или бляшки фага с агара на чашках Петри переносят на твердый диск, обычно из целлюлозы, очень простой методикой. Диск кладут на агар, потом поднимают. Колонии и бляшки остаются на месте, но достаточное для анализа количество материала переносится с них на нитроцеллюлозу диска.

Затем ДНК на диске расплывается за счет помещения его в химический раствор, содержащий одонитивую ДНК или РНК, комплементарные одной из нитей клона и меченные радиоактивными атомами. Меченая нить называется *пробой*.

В местах соединения пробы с одной из рекомбинантных нитей она оставляет меченые атомы, которые могут регистрироваться на фотографической пленке. Эти места полностью соответствуют местам расположения клонов на агаре в чашке Петри.

Если последовательность ДНК разыскиваемого гена неизвестна, можно использовать другой метод скрининга. Он основан на создании клонов с использованием векторов, позволяющих выражаться генам, которые на них расположены, в новых хозяйских клетках. Клетки начинают продуцировать белок, кодируемый ге-



ном, а исследователям остается искать в библиотеке белок нужного гена.

Как только место расположения клона найдено, клон можно снять с агара микробиологической петлей и размножить. Рекомбинантная ДНК легко выделяется из клона и очищается, а клетки клона, продуцирующие ее, длительное время размножаются и хранятся в лаборатории. Все это обеспечивает генным инженерам неограниченное поступление материала нужного гена для его встройки в другие организмы.

ПЦР: АМПЛИФИКАЦИЯ БЕЗ КЛОНИРОВАНИЯ

С 1985 года генетики получили замечательный метод продуцировать новые копии ДНК безо всякого клонирования: *полимеразную цепную реакцию*, или *ПЦР*. Это мощный процесс, который делает миллионы и миллиарды копий любой выбранной последовательности ДНК всего за несколько часов.

В методике ПЦР используются праймеры — короткие последовательности синтезированной ДНК длиной, в основном, от 10 до 20 пар оснований. Праймеры соответствуют нуклеотидным последовательностям, расположенным на концах копируемой последовательности ДНК.

Матрица — последовательность оснований ДНК, которая должна быть скопирована, не требует высокой степени очистки, также не требуется большого количества копий матрицы.

ПЦР осуществляется в три этапа, как только матрица выбрана, а праймеры синтезированы (рис. 12.4):

1. *Денатурация.* ДНК, содержащая фрагмент, предназначенный для копирования, нагревается, что вызывает расплетение нитей ДНК. Затем к смеси добавляются праймеры вместе с ДНК-полимеразой, устойчивой к нагреванию.

2. *Отжиг.* При охлаждении смеси праймеры соединяются с однонитевыми цепями ДНК.

3. *Удлинение.* Полимераза, начиная с праймеров, достраивает каждую нить фрагмента ДНК, создавая двунитевые молекулы ДНК этого фрагмента.

Эти три этапа повторяются снова и снова. Во время отжига любые избыточные (или вновь добавленные праймеры) связываются с новыми матрицами и удлиняются, продуцируя все больше двунитевых молекул ДНК.

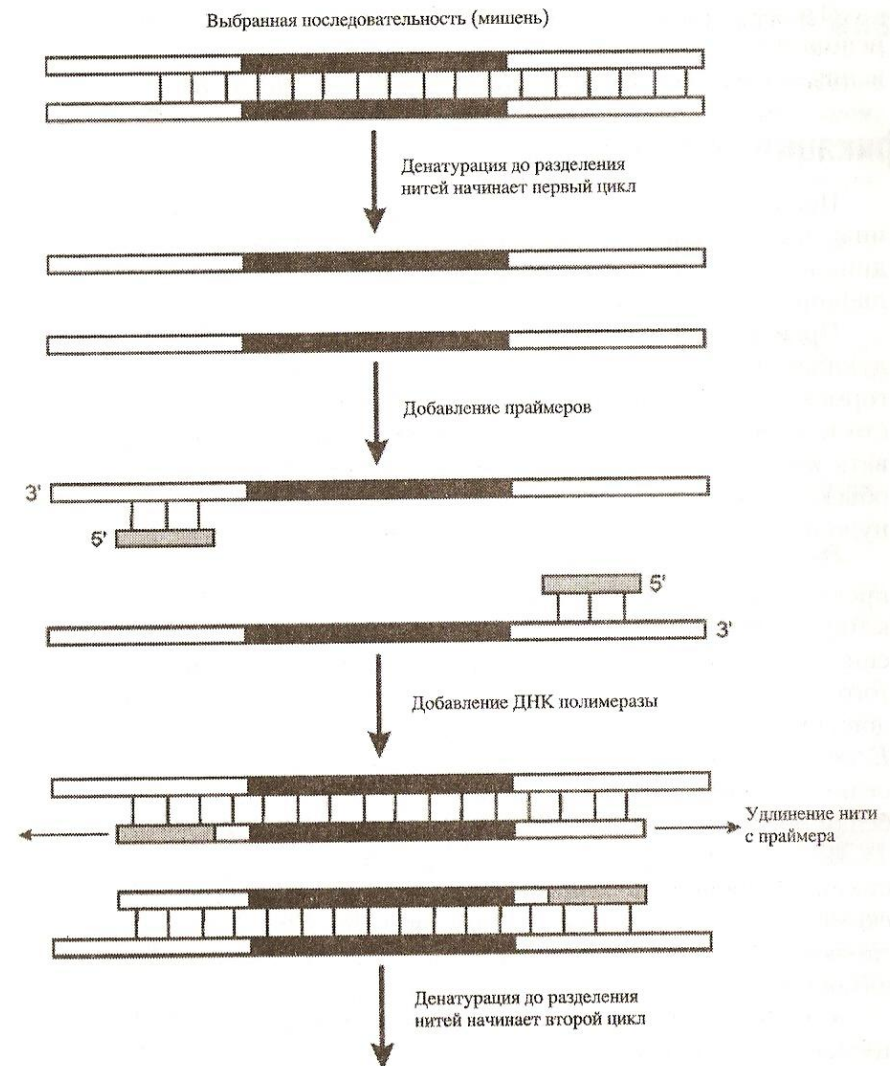


Рис. 12.4. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Каждый цикл занимает несколько минут, но за несколько часов, через 20 циклов, одна молекула ДНК может быть скопирована около миллиона раз. А через 30 циклов копируется около миллиарда молекул ДНК, чего с избытком хватает для исследования.



Что касается ДНК, копированной методом клонирования, то она используется для идентификации определенных генов и секвенирования последовательностей ДНК, интересующих ученых.

Модификация белков

Первым ощутимым результатом прорыва в области генетической инженерии оказалась возможность производить белки, важные с медицинской и экономической точки зрения, используя генетически модифицированную бактерию *E. coli*.

Процесс казался простым: клонировать ген, направляющий продукцию определенного белка (скажем, инсулина или человеческого гормона роста), вставить этот ген в плазмидный вектор, затем ввести плазмиду в клетки *E. coli*. Бактерия должна начать продуцировать инсулин. Поскольку бактерии легко выращиваются в больших объемах питательной среды, из них можно выделять очень много нужного белка.

Но процесс оказался более капризным, чем ожидалось. Такие прокариоты, как *E. coli*, не имеют интронов в отличие от геномов, которые обычно кодируют гормоны. Это значит, что они не могут синтезировать правильную мРНК, кодирующую гормоны. Кроме того, многие продукты трансляции эукариотических генов требуют дополнительных химических изменений, чтобы стать активными. Но *E. coli* таких изменений обеспечить не может. Оказалось, что многие белки эукариот токсичны для клеток *E. coli*, в то время как другие белки легко разрушаются ферментами этой бактерии.

Довольно быстро, однако, эти проблемы были разрешены. В настоящее время ряд полезных белков производится различными хозяйскими клетками: не только *E. coli*, но и *Bacillus*, дрожжей и других грибов, например *Aspergillus* и *Fusarium*, и даже растений, млекопитающих и клеточных культур насекомых.

Как только стабильная клеточная культура, содержащая работоспособную генетическую модификацию, создана, можно вырастить столько клеток, сколько потребуется для продукции нужного белка. Среди белков, производимых данным способом, можно назвать инсулин (для лечения диабета), факторы свертывания крови (для лечения гемофилии) и человеческий фактор роста. Некоторые вакцины также производятся по этой методике, например вакцина против гепатита В. Можно привести еще дюжину примеров.



Генетическая инженерия животных

Есть два способа генетической модификации животных: путем изменения соматических клеток (клеток тела) и половых клеток. Первый путь приводит к изменению клеток индивидуального организма, получившего модификацию, а вот второй приносит новые наследуемые признаки.

Модификация соматических клеток состоит из четырёх этапов.

1. Удалить клетки из организма.
2. Сделать из них культуру клеток.
3. Трансформировать клетки вектором, содержащим ген, который желательно ввести в клетки.
4. Вновь ввести трансформированные клетки в организм.

Это основная схема, применяемая в генной терапии человека, которую мы подробнее разберем в данной главе.

Изменение половых клеток дает организмы с новыми наследуемыми признаками. Организм, передающий новые признаки своему потомству, называется трансгенным, а новый ген, введенный в организм, — трансгеном.

Процесс получения трансгенных животных оказался гораздо сложнее введения новых генов бактериям. Однако к настоящему времени создано много трансгенных животных. Вот только несколько примеров:

- мышь модифицирована для различных целей. Некоторым введены человеческие гены для получения нечеловеческой модели человеческих болезней. Например, измененные методами генетической инженерии мыши несут человеческий ген клеточного рецептора для вируса полиомиелита. В отличие от нормальных мышей они могут быть заражены данным вирусом, у них даже развиваются симптомы этой болезни. Другим примером могут стать мышь с иммунной системой человека, которые позволяют исследовать ее без участия больных людей;
- куры успешно изменены генными инженерами и несут яйца, в белке которых содержатся потенциально полезные человеческие белки;
- генетически модифицированные овцы продуцируют человеческий ген альфа 1-антитрипсина в молоке. Люди, наследующие два нефункционирующих гена этого белка, страдают болезнью,



называемой альфа 1-антитрипсиновой недостаточностью. Она поражает легкие и иногда печень;

- исследователи из Гелфа, Онтарио создали «Енвиросвинью», генетически модифицированную так, что в ее навозе содержится на 60% меньше фосфора;
- козы, измененные методами генетической инженерии, дают молоко, содержащее человеческий инсулин или белки паутины пауков (не одновременно, конечно).

Методы модификации, использованные при работе с различными животными, отличаются, но два метода, примененных на мышах, дают представление о типичной модификации (рис. 12.5).

В методе эмбриональных стволовых клеток используются стволовые клетки эмбриона, обладающие потенциалом превращаться в клетки любой ткани организма. Они собираются с внутренней стороны бластоцита мышей (мыши на очень ранней стадии развития после зачатия).

Ген, выражение которого исследователи хотят получить у мыши, выделяется и клонируется методами, описанными выше. В составе соответствующего вектора новый ген, несущий необходимые последовательности промотора и энхансера, вводится в стволовые клетки. Среди полученных в результате клеток ведется поиск несущих нужный ген, успешно встроенный не просто в клетку, а в нужное место генома. Эти трансформированные клетки культивируются, потом вводятся во внутренний массив клеток мышьиного бластоцита, который переносится псевдобеременной самке, то есть скрещенной со стерильным самцом для инициации гормональных изменений, приводящих к изменениям в матке. Эти изменения позволяют ей принять эмбрион.

Не более трети эмбрионов разовьется в здоровых мышатах. Из них только у 10–20% будет обнаружен желаемый ген, и мышата будут гетерозиготными, то есть несущими одну копию данного гена.

Полученных мышей скрещивают друг с другом, а среди их потомства ищут одну из четырех мышей (по закону Менделя), которая будет гомозиготной, т.е. несущей две копии гена. Скрещивание гомозиготных мышей стабилизирует новую линию трансгенных особей, у которых выражается новый ген, введенный исследователями.

Второй метод называется методом проядра. Он заключается в получении свежееоплодотворенных яйцеклеток, а донорская ДНК (получение которой описано в предыдущем методе) вводится в головки

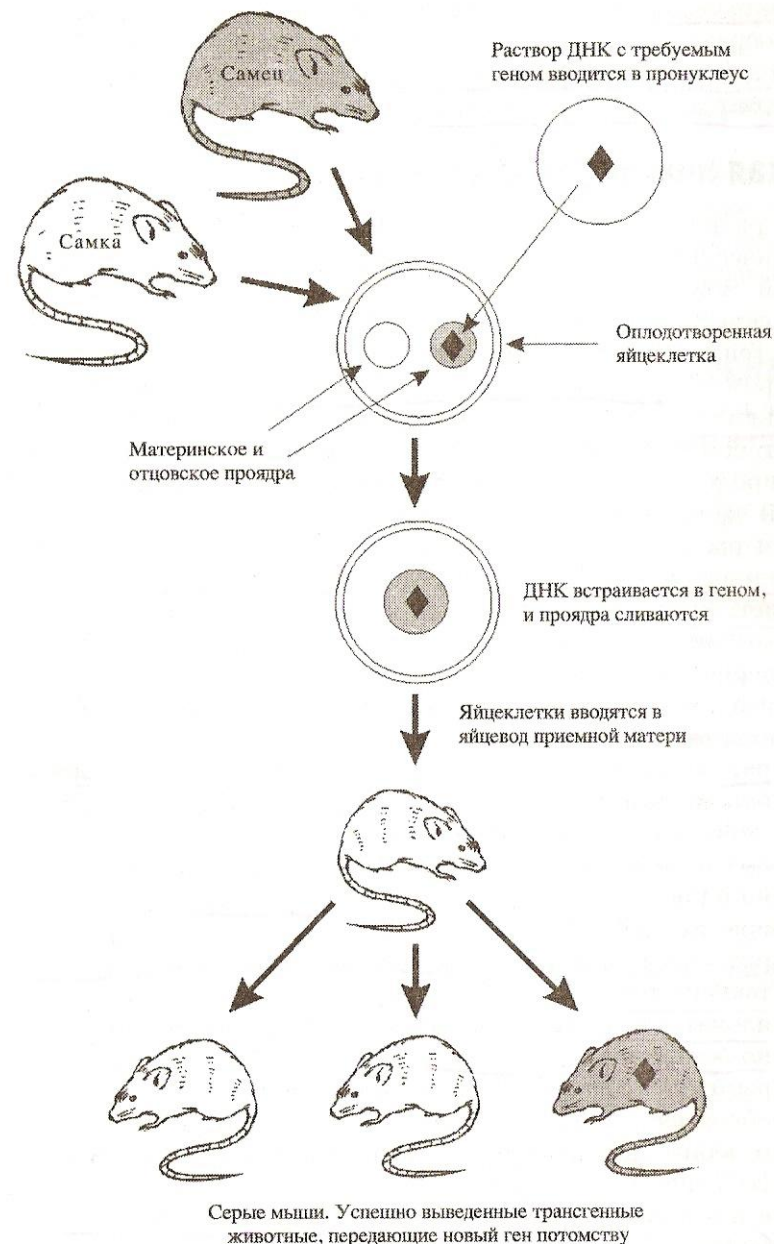


Рис. 12.5. Создание трансгенной мыши



сперматозоидов до образования протидра. Как только оплодотворенное яйцо образует ядро и делится, превращаясь в двуклеточный эмбрион, он вводится псевдобеременной мыши. После этого процесс полностью повторяется, как в первом методе.

Генетическая инженерия растений

У растений в отличие от животных нет особых различий между соматическими и половыми клетками, потому что из соматических тканей можно выращивать взрослые растения, которые цветут и дают семена.

В генетической инженерии растений пользуются одним общим вектором — семейством плазмид из бактерий, вызывающих корончатый галл, *Agrobacterium tumefaciens*. Плазмиды *A. tumefaciens* имеют естественный механизм для передачи плазмид растениям. В природе бактерии прикрепляются к поврежденной ткани растения, и часть плазмидной ДНК вводится в его клетку. В результате клетки растения образуют опухоль, называемую корончатый галл. Это единственный пример передачи генов бактериальной плазмиды клеткам эукариот, и такого рода передача представляет собой прекрасный механизм, который можно применять в генетической инженерии.

Ниже приводятся образцы растений, сконструированных методами генетической инженерии:

- рис модифицирован с целью производства в его эндосперме бета-каротина, предшественника витамина А. Есть надежда, что это поможет бороться с дефицитом витамина А во многих частях света, где рис является главным продуктом питания (у нормального риса бета-каротин содержится в шелухе, которая удаляется при молотьбе);
- различные виды растений модифицированы для получения токсина *Bacillus thuringiensis*. Этот бактериальный токсин *Bt* ядовит для ряда насекомых, вредителей сельского хозяйства, но безвреден для человека;
- растения табака были модифицированы добавлением гена, сообщающего им устойчивость к вирусу табачной мозаики (что, наверное, доставило бы удовольствие нашему другу Мартину Бейеринку, о котором мы писали в начале главы 11);
- в некоторые зерновые внесены гены, делающие их семена стерильными, что заставляет фермеров каждый год закупать новые семена;



- растения рапса модифицированы, что сделало их устойчивыми к действию специфического гербицида, который может убивать сорняки на поле, не трогая это растение;
- получены трансгенные помидоры, которые прекрасно растут на засоленных почвах;
- кукуруза, табак, пшеница, картофель и рис были модифицированы так, что они могут продуцировать ряд лечебных белков, включая гормон роста человека (ген встраивается в ДНК хлоропластов у растений табака), гуманизированных антител, белковых антигенов для производства вакцин и т.д.

Генная терапия

Генной терапией называется генетическая инженерия соматических клеток человека, направленная на исправление генетического клеточного дефекта, вызывающего болезнь.

В 1990 году трехлетняя девочка по имени Ашанти де Силва (Ashanthi da Silva) стала первым ребенком, излеченным генной терапией. Ашанти страдала дефицитом АДА. Клетки больных с дефицитом АДА не могут продуцировать фермент аденозин-деаминаза, который в нормальных клетках разрушает некоторые вещества. Хотя последние не повреждают большинство клеток, накапливаясь в них, для некоторых клеток белой крови они токсичны, а клетки белой крови играют ключевую роль в функционировании системы иммунитета. В результате дети с дефицитом АДА имеют ослабленный иммунитет и постоянно болеют. Большинство умирает, не дожив до двух лет.

Пытаясь лечить болезнь методами генетической инженерии, врач по имени У. Френч Андерсон (W. French Anderson) и его коллеги взяли у девочки немного крови, отфильтровали клетки белой крови и смешали их с генетически измененным ретровирусом, несущим ген АДА. Клетки размножали в течение 10 дней, а затем снова ввели их Ашанти (рис. 12.6).

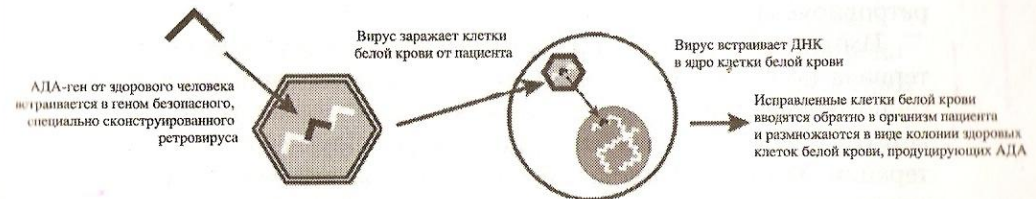


Рис. 12.6. Первый случай генотерапии у человека



Сначала лечение повторяли каждый месяц. Ашанти вводили АДА-ПЭГ. Это комплекс АДА, не разрушаемый в крови, что отличает его от нормальной АДА. После нескольких лет лечение ограничили одним введением половины дозы АДА-ПЭГ. Имунная система девочки постоянно улучшалась, и Ашанти начала жить обычной жизнью здорового ребенка.

Кроме ретровирусов в опытах по генной терапии используются и другие векторы, включая аденовирусы (двунитевые ДНК-содержащие вирусы, среди других заболеваний вызывающие простуду), аденоассоциированные вирусы (однонитевые ДНК-содержащие вирусы, которые встраивают генетический материал в специфический сайт на хромосоме 19) и вирус Herpes simplex (двунитевые ДНК-вирусы, которые специфически поражают нейроны). Вирус, вызывающий лихорадку на губе, называется Herpes simplex тип I.

Другие подходы включали введение терапевтической ДНК прямо в клетки-мишени и создание искусственных липидных сфер с жидким ядром, содержащим терапевтическую ДНК. Эти липосомы могут проходить через мембраны клеток-мишеней.

Исследователи экспериментируют даже с созданием искусственной 47-й хромосомы, которая могла бы нести большое количество генетического материала. Однако введение такой большой молекулы в клетку-мишень, вероятно, будет очень сложным делом.

Несмотря на первые успехи, генная терапия еще должна дожить до выполнения данных учеными обещаний.

В 1999 году основной неудачей была смерть Джесса Гелсингера (Jesse Gelsinger), 18-летнего добровольца, принимавшего участие в испытании препарата для генной терапии. У него оказался необычайно сильный иммунный ответ на введение аденовирусного вектора. В 2002 году произошла другая неудача. У двух детей во Франции развилось состояние, очень похожее на лейкемию, когда их лечили от иммунодефицита методом генной терапии. Использованный метод заключался во введении генов в стволовые клетки крови при помощи ретровирусов.

Иммунный ответ организма на вторжение в него чужеродного материала не только увеличивает риск тяжелой иммунной реакции на генно-терапевтическое вмешательство, но и мешает генной терапии встать на ноги как лечебной дисциплины. Другие проблемы генной терапии, которые приходится преодолевать, включают в себя трудности длительного сохранения и функционирования терапевтической ДНК в организме пациента; риск использования вирусов в качестве



векторов; мультигенность многих болезней, делающую их трудной мишенью для генной терапии. Но исследования продолжаются, и обещают они много.

Клонирование

Клоны высшего организма очень напоминают клоны гена. Это генетически идентичные копии. Растения клонировали тысячи лет: растение, выращенное из срезанного листка генетически идентично растению, с которого срезали этот листок.

Существуют естественные клоны и в царстве животных. При правильной химической стимуляции неоплодотворенные яйца некоторых маленьких беспозвоночных, червей, рыб, ящериц и лягушек могут развиваться во взрослых особей, которые станут материнскими клонами (этот процесс называется партеногенезом). Ну и, конечно, идентичные (однойяйцевые) близнецы являются клонами.

Однако первый искусственный клон животного был получен Джоном Гурдоном (John Gurdon) в 1970-е годы. Он трансплантировал ядро соматической клетки лягушки в неоплодотворенное яйцо второй лягушки, из которого было удалено, энуклеировано, собственное ядро (его разрушили ультрафиолетовым светом). Яйцо развилось в головастика, генетически идентичного лягушке, из клетки которой было взято ядро. Однако во взрослую лягушку головастик не вырос.

Такой тип клонирования называется соматическим ядерным переносом. Его долго не удавалось выполнить на млекопитающих. В 1997 году Ян Уилмут (Ian Wilmut) и его коллеги по институту Рослина в Эдинбурге смогли клонировать овцу, названную Долли. Уилмут вынул ядро из клетки молочной железы финн-дорсетской овцы и трансплантировал его в энуклеированную яйцеклетку шотландской черномордой овцы. Яйцеклетку и ядро вынудили слиться (и стимулировали к делению) импульсом электрического тока, в процессе электрослияния. Новая клетка разделилась, и ее поместили в матку черномордой овцы для вынашивания (рис. 12.7). Долли родилась через несколько месяцев. Этот процесс повторяли 275 раз, пока он не завершился рождением Долли.

После Долли многие животные были успешно клонированы, включая коров, коз, мышей, свиней и кошек. и собак

Методы генетической инженерии часто объединяются с методами клонирования. Ядро рекомбинантной соматической клетки может быть имплантировано в энуклеированное яйцо. В результа-

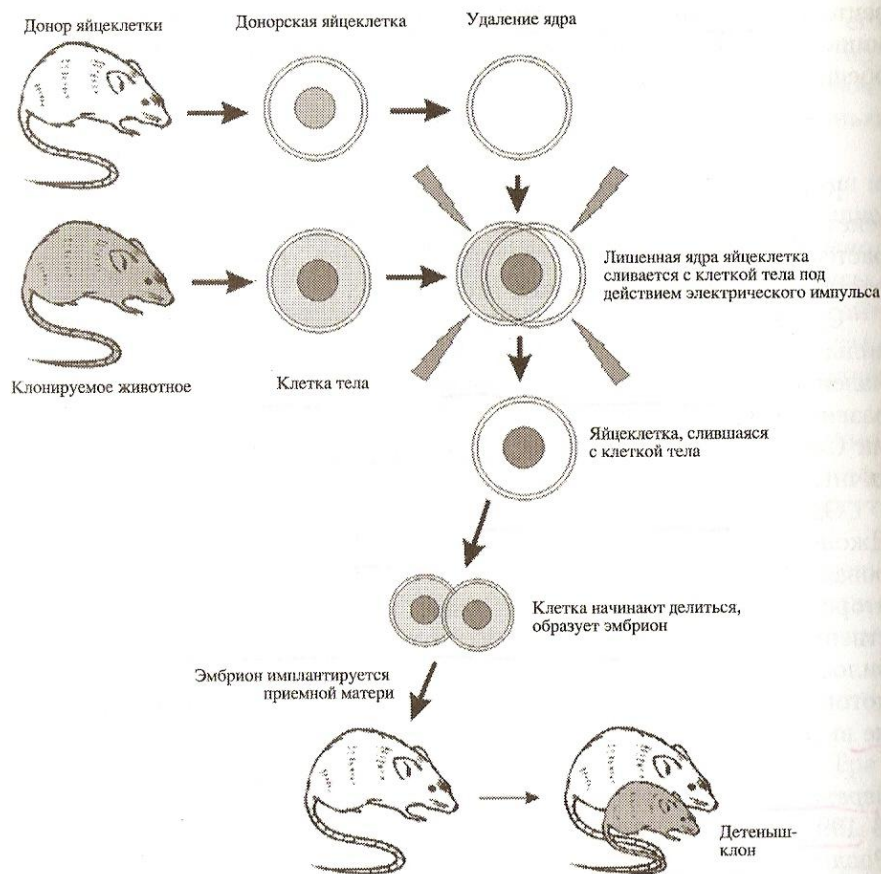


Рис. 12.7. Передача соматической клетки — вот процесс, использованный при клонировании овечки Долли и других животных

те появится животное с генами, кодирующими определенные белки. Одна из целей клонирования животных — создание клонов, продуцирующих человеческие белки для лечения человека (создана трансгенная овца, продуцирующая человеческий инсулин). Другая цель клонирования — получение животных с органами и тканями, совместимыми с организмом человека, и органами, пригодными для решения терапевтических и исследовательских задач. Клонирование может оказаться предпочтительным методом для поддержания линий таких генетически модифицированных



животных и гарантией сохранения желаемых признаков, которые могли бы пропасть в результате нормального полового размножения животных.

Беспокойства и споры

После объявления Бойером и Коэнном о создании технологии рекомбинантных ДНК генетики были возбуждены открывающимися горизонтами ее научного применения. Но она также вызвала тревогу в умах некоторых ученых, включая Пола Берга (Paul Berg), коллеги Коэна по Стенфордскому университету. Берг в это время заканчивал собственные опыты по перемещению генов из одного организма в другой. Он перенес (не пользуясь ферментами рестрикции, а это гораздо труднее сделать) ген из вируса SV40, заражающего обезьян, в геном бактериофага лямбда.

Но Берг не стал вводить полученную рекомбинантную ДНК в клетки *E. coli* и показывать, что она функционирует в бактерии. Ученый сделал это, в частности, из-за озабоченности, высказанной Робертом Поллаком (Robert Pollack), генетиком, работавшим в Колд Спринг Харборе. Поллак высказал озабоченность по поводу введения вируса, вызывавшего рак у мышей и хомяков (хотя и безопасного для обезьян) в бактерию, естественно обитающую в кишечнике человека.

В конце 1973 года Берг и еще 77 молекулярных биологов написали в журнал *Science* и рекомендовали Национальному институту здоровья установить правила безопасности для опытов, которые проводили Бойер, Коэн и многие другие ученые. Через несколько месяцев, в июле 1974 года, во втором письме встревоженные ученые попросили установить мораторий на слияние генов до тех пор, пока не будут оценены возможные опасности и приняты меры безопасности для работы с таким генетическим материалом.

В феврале 1975 года 140 молекулярных биологов встретились в Асиломаре, Калифорния, и пришли к выводу, что работа с рекомбинантными ДНК должна продолжаться, но только в определенных условиях, обеспечивающих ее безопасность. Правила безопасности должны были предотвратить утечку из лаборатории и распространение в природе вновь созданных организмов. В 1976 году Национальный институт здоровья издал правила, очень похожие на предложенные в Асиломаре и обязательные для всех ученых, получавших государственное финансирование. Национальный институт здоровья также создал комитет по надзору за рекомбинант-



ными ДНК (Recombinant DNA Advisory Committee), который должен был давать разрешение на опыты по генетической инженерии. Многие тревоги того времени были рассеяны, но комитет все еще существует.

Это стало началом длящихся и поныне споров о безопасности и этичности генетической инженерии.

Некоторые из возникающих вопросов приведены ниже.

1. Вопросы, связанные со здоровьем. Возникают вокруг генетически модифицированных продуктов питания. Могут ли они быть токсичными? Или менее питательными? Не вызывают ли пищевые аллергии?

2. Проблемы окружающей среды и экологии. Не приведет ли использование трансгенных растений к большему (или меньшему) применению пестицидов в сельском хозяйстве? Не будут ли трансгенные растения переноситься с полей и становиться суперсорняками? Не смогут ли новые гены, встроенные методами генетической инженерии в трансгенные растения, передаваться другим культурным растениям и сорнякам? Не могут ли растения, модифицированные геном *Bt* (которые продуцируют белок, токсический для насекомых-вредителей), убивать и других насекомых?

3. Экономические и этические вопросы. Могут ли быть запатентованы новые организмы, произведенные за счет генетической модификации? Этично ли создавать зерновые культуры со стерильными семенами? Угрожают ли клоны разнообразию видов? Этично ли клонирование человека (даже не человека, а стволовых клеток) для возможного медицинского применения? И кто все это будет решать?

Вполне уместно сказать, что в настоящее время мы, конечно, можем перемещать гены из организма в организм, но потребуются много времени и усилий на изучение, когда и где это можно будет делать безопасно и этично.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Ферменты, которые разрезают связи, удерживающие остов ДНК, называются:
 - (а) нуклеазами;
 - (б) фициназами;
 - (в) связеломами;
 - (г) дебазерами.



2. Термин «липкие концы» относится к:
 - (а) клеточному клею, который склеивает клетки в ткани;
 - (б) коротким комплементарным однонитевым ДНК-последовательностям с каждого конца фрагмента ДНК;
 - (в) генетический сленг, обозначающий несчастный случай в лаборатории, испортивший образец ДНК;
 - (г) хвост фага, используемого как вектор в генетической инженерии.
3. Первым организмом, использованным в генетической инженерии:
 - (а) была овца;
 - (б) были дрожжи;
 - (в) был вирус *Haemophilus influenzae*;
 - (г) была *E. coli*.
4. Клоном называется:
 - (а) генетически идентичная копия другого организма;
 - (б) генетически модифицированная копия другого организма;
 - (в) генетический гибрид двух организмов;
 - (г) бактерия, измененная для продукции человеческого гормона.
5. ПЦР (полимеразная цепная реакция) используется для:
 - (а) выращивания *E. coli* в лаборатории;
 - (б) снабжения клетки энергией;
 - (в) быстрой продукции многих копий последовательности ДНК;
 - (г) очистки лабораторной посуды от ДНК.
6. Соматические клетки представляют собой:
 - (а) клетки тела;
 - (б) покоящиеся клетки;
 - (в) зараженные бактериофагом клетки;
 - (г) клетки, которые невозможно культивировать.
7. Организм, сконструированный генетической инженерией, который может передавать новые гены потомству, называется:
 - (а) фотогеничным;
 - (б) трансгенным;
 - (в) гигиеничным;
 - (г) бионичным.



8. Первой болезнью, вылеченной при помощи генной терапии, был:
 - (а) рак;
 - (б) сердечно-сосудистая болезнь;
 - (в) иммунодефицит;
 - (г) гипотирозидизм.
9. Соматический ядерный перенос используется для:
 - (а) перемещения меченной радиоактивностью молекулы ДНК из клетки в клетку;
 - (б) лечения диабета;
 - (в) быстрой дубликации молекул РНК;
 - (г) клонирования животных.
10. Первым успешно клонированным млекопитающим была:
 - (а) корова;
 - (б) овца;
 - (в) свинья;
 - (г) человек.

Глава 13

Эволюция — изменения, направляемые наследственностью

Как отмечено в главе 1, когда Чарльз Дарвин в 1859 году опубликовал свою книгу «О происхождении видов», больше всего его критиковали за то, что он не дал удовлетворительного объяснения тому, как потомство наследует признаки от родителей. Дарвин должен был признать, что критики правы. Работа Менделя и все, что из нее следовало, была еще в будущем.

Но как только открыли генетику с ее законами, она обеспечила как механизм для эволюции, так и массу новых данных, способствовавших прогрессу в ее изучении.

Что такое эволюция

Эволюция — это изменение во времени. В биологии она имеет дело с наследуемыми в популяции изменениями, растянутыми на много поколений. Другое определение, которое может вам встретиться, формулируется так: «Любое изменение аллелей внутри пула генов из поколения в поколение» (что, конечно, обретет смысл, когда вы дойдете до раздела данной главы, посвященного популяционной генетике).

За большой период времени медленные изменения постепенно создают совершенно новый организм.

Дарвин называл движущую силу эволюции *естественным отбором*. Естественный отбор можно разделить на четыре составляющие.

1. В каждом поколении рождается больше индивидуумов, чем может выжить.
2. Признаки у различных индивидуумов варьируются, и эти изменения могут передаваться следующему поколению.



3. Индивидуумы с признаками, позволяющими лучше приспособиться к условиям окружающей среды, имеют большую вероятность выжить.
4. Когда размножающаяся популяция изолирована от других представителей своего вида, образуется новый вид.

Свидетельство эволюции видов можно найти, анализируя ископаемых животных. Ученые уверены, что история жизни выглядела примерно так (скажем прямо — в совсем кратком виде):

- 4,5 млрд лет назад. Формируется Земля;
- 4,2 млрд лет назад. Океан покрывает всю ее поверхность;
- 3,7 млрд лет назад. Образуются рудиментарные клетки, способные передавать генетическую информацию (первой информационной молекулой, как считается, была РНК. Эти древние клетки стали предками трех царств существующих и поныне организмов: бактерий, архей и эукариот);
- 0,7 млрд лет назад. Появились и быстро распространились первые многоклеточные организмы, названные метазоями (они обладали совершенно различным строением, многие варианты исчезли благодаря вымиранию их основных групп);
- 5—6 млн лет назад. Наши предки отделились от общего ближайшего предка с шимпанзе, самым близким нам родственником среди живущих в настоящее время животных.

Популяционная генетика

Для эволюции не так важна генетика, действующая на уровне отдельных особей, как ветвь этой науки, действующая на уровне целых популяций и названная, естественно, *популяционной генетикой*.

В популяционной генетике слово «популяция» имеет особое значение. Это не просто группа особей. Скорее, *менделевская популяция* — это группа организмов, размножающихся половым путем, имеющих относительно близкое генетическое родство, живущих в одном географическом регионе и скрещивающихся между собой.

Пулом генов называют гипотетическую смесь всех генов, содержащихся в популяции. Именно из этого пула черпает все гены каждое следующее поколение особей.

Различия фенотипов и генотипов среди особей популяции называется генетическим *полиморфизмом*. У некоторых популяций наблюда-



ется большое разнообразие признаков, а у других признаки почти не варьируются. Одним из методов определения варьирования является анализ генотипических частот, которые указывают, какие генотипы преобладают в популяции.

Анализируемый генотип называют локусом. В табл. 13.1 показано, как анализируются генотипические частоты определенного генотипа, гены которого помечены соответственно А и В. Возможны генотипы АА, АВ и ВВ, а данные о них собраны среди 7287 особей.

По полученной информации можно рассчитать частоту аллелей. Поскольку каждая особь популяции имеет два аллеля в этом локусе, то вся популяция состоит из 14 574 (7287×2) аллелей. Чтобы вычислить частоту аллелей, вы просто считаете количество аллелей каждого типа, а затем делите его на общее количество аллелей.

Таким образом, частота аллелей для аллеля А составит:

$$[(2 \times 2185) + 3623] / 14574 = 0,5484,$$

а частота аллелей для аллеля В составит:

$$[(2 \times 1479) + 3623] / 14574 = 0,4516.$$

Условились обозначать один из аллелей p , а другой — q , так что в проведенных расчетах $p = 0,5484$, $q = 0,4516$ (сумма p и q должна равняться 1, в противном случае учтены не все аллели). Популяция считается полиморфной, если два аллеля разделяются, а частота самого часто встречающегося аллеля составляет менее 0,99, как в приводимом примере. Основной объединяющей популяционную генетику концепцией является *закон Гарди — Вайнберга*, названный по имени английского математика Годфри Гарольда Гарди (Godfrey Harold Hardy) и Вильгельма Вайнберга (Wilhelm Weinberg), немецкого физика, который самостоятельно сформулировал его в 1898 году. Закон гласит, что изменения частот аллелей не наблюдается из поколения в поколение, если соблюдается ряд условий. Такая популяция, как говорят, находится в состоянии *равновесия* и называется *равновесной популяцией*.

Таблица 13.1

Генотип	Количество особей	Генотипические частоты
АА	2185	$AA = 2185/7287 = 30\%$
АВ	3623	$AB = 3623/7287 = 49,7\%$
ВВ	1479	$BB = 1479/7287 = 20,3\%$



Условия, которые должны соблюдаться для сохранения состояния равновесия Гарди — Вайнберга:

1. *Популяция неограниченно большая, и скрещивания происходят случайно.* Это позволяет избежать генетического дрейфа — ухода генотипической частоты от случайного отклонения. Причина данного явления — *эффект основателя*, отличие между генетическими частотами в пуле генов вида и генотипическими частотами малой изолированной популяции данного вида. Это не сказывается на средних и больших популяциях. Таким образом, на практике популяция может быть в равновесии Гарди — Вайнберга в течение одного или нескольких поколений, даже если она не бесконечно большая, а таких, как правило, не бывает.
2. *Естественный отбор не включен.* Это значит, что каждый рассматриваемый генотип может выжить и производить потомство.
3. *Популяция закрыта.* Другими словами, особи не иммигрируют и не эмигрируют (это редко случается в реальной жизни, но если отток и приток особей очень мал, равновесие может установиться на какое-то время).
4. *Нет мутации одного аллельного состояния в другое.* Это происходит, если мутации не отменяют друг друга, в таком случае мутации разрешены.
5. *Мейоз нормальный.* Случайность является единственным фактором в комбинации генов при каждом скрещивании.

Эволюция начинается при нарушении хотя бы одного из этих условий, что выводит популяцию из состояния равновесия. Естественный отбор вступает в дело, когда несколько особей с определенными генотипами живут дольше (и, таким образом, имеют больший шанс размножиться) или просто оказываются более плодовитыми. Изменения в распределении скрещивающихся пар более не будут случайными, а генотипические частоты, в результате, начнут сдвигаться в следующих поколениях.

Есть три основные причины изменений, движущие эволюцию популяций: *мутация, миграция и селекция.*

МУТАЦИЯ

Генетическая изменчивость, которая дает работу естественному отбору, в основном, основана на мутациях. Мутации бывают трех типов, в зависимости от их действия на фенотип.



1. *Вредные.* Большинство мутаций вредные, а большинство вредных мутаций элиминируются из популяции, потому что особи, рожденные с ними, имеют меньший шанс выжить и передать свои гены потомству. Однако есть примеры мутаций, вредных в гомозиготном состоянии, но сохраняющихся в гетерозиготном состоянии, потому что в нем они полезны. Один из примеров — серповидно-клеточная анемия. Хотя в гомозиготном состоянии серповидно-клеточная мутация вызывает болезнь и даже раннюю смерть, в гетерозиготном состоянии она сообщает особям устойчивость к заражению возбудителями малярии. Таким образом, люди в географических регионах, где малярия эндемична, имеют большую вероятность выжить и обзавестись потомством, чем люди, не имеющие копии этого гена.
2. *Нейтральные.* Нейтральные мутации, не дающие организму преимуществ или недостатков, не поддаются действию естественного отбора. С генетической точки зрения, эти мутации изменяют кодон так, что он не меняет кодируемой аминокислоты или меняет ее на другую, вполне приемлемую. Нейтральные мутации имеют тенденцию уходить из популяции посредством генетического дрейфа.
3. *Полезные.* Эти редкие мутации дают преимущество особям, увеличивая продолжительность их жизни или способность к размножению.

Поскольку чаще встречаются мутации вредные, а они убираются из пула генов (или никогда не попадают в него), большинство генетических вариантов в популяции состоит из нейтральных или умеренно вредных мутаций, которые не влияют на приспособляемость.

Одной из модификаций генома может быть *дупликация генов*. Если дублируется важный ген, мутация в нем необязательно влияет на приспособляемость особи, поскольку она будет всего лишь в копии исходного гена. Это позволяет возникнуть новой мутации в копии гена и появляться мутациям в нем до тех пор, пока не образуется совершенно новый ген с функцией, сходной с функцией исходного гена. Но он сможет функционировать в другой отрезок времени развития организма или в другом месте. Это приводит к появлению *мультигенных семейств*. Гены гемоглобина и мышечной ткани у человека скомпонованы в мультигенные семейства, как и гены семенных коробочек и фотосинтеза у растений.



МИГРАЦИЯ

Миграция изменяет частоты генов в популяции, принося дополнительные копии одного специфического аллеля или внося мутацию, возникшую в другой популяции того же вида (без подобной миграции изолированные популяции одного вида могут развиваться в два различных вида).

В повседневном применении этого слова, миграция означает поступление новой особи в популяцию. В генетике миграция — это успешное скрещивание вновь появившейся в популяции особи с особями популяции и, соответственно, введение новых генов в пул генов популяции. Введение новых генов посредством миграции называется *поток генов*.

СЕЛЕКЦИЯ

Как уже обсуждалось, если особи в популяции имеют определенный генотип, который делает их более приспособленными к выживанию и воспроизводству, способными передавать эти преимущества потомству, то со временем данный генотип становится более частым в популяции. То есть возрастает его генотипическая частота.

Происхождение видов

В терминах популяционной генетики вид — это группа популяций, через которую проходит поток генов и чье потомство обладает приспособленностью, равной родительской приспособленности.

Если поток генов (то есть миграция) между одной популяцией вида и всеми остальными его популяциями останавливается, то в изолированной популяции происходят различные изменения генотипических частот. Со временем они настолько разойдутся, что особи данной популяции не смогут скрещиваться с особями других популяций. В этой точке поток генов становится невозможным, изолированная популяция превращается в новый вид, а процесс называется *филетической (филогенетической) эволюцией*, или *анагенезом*.

Также у изолированной популяции существует возможность развиваться в два различных вида, существующих одновременно. Это называется *истинным видообразованием*, или *кладогенезом*.

Кладогенез имеет место, когда две субпопуляции теряют способность скрещиваться друг с другом. Существует три типа кладогенеза.



1. *Аллопатрическое видообразование*. Происходит по тому же механизму, что и филетическая эволюция, но вместо целой популяции, отсекаемой физическим барьером, изолируется субпопуляция (становящаяся, фактически, маленькой популяцией).
2. *Парапатрическое видообразование*. Имеет место, когда субпопуляция мигрирует в новую экологическую нишу, где ранее этот вид не обитал.
3. *Симпатрическое видообразование*. Происходит при мутации в субпопуляции, предотвращающей ее скрещивание с исходной популяцией (но не с другими членами субпопуляции) и адаптирующей особей к экологической нише лучше, чем адаптированы особи исходной популяции. Например, есть вид солончаковой травы *Spartina townsendii*, которая произошла от *S. alterniflora* (американской солончаковой травы) и *S. maritime* (европейской солончаковой травы), но больше не может скрещиваться ни с одной из них. Она более приспособлена к прибрежным районам Голландии, чем любой из родительских видов, и укоренилась в этом регионе.

Филогенетическая систематика

Таксономия представляет собой область науки, которая занимается классификацией организмов по группам. Ее основоположником был Карл Линней. Он ввел известную *биномиальную номенклатуру*, которой до сих пор пользуются для идентификации организмов, например, *Homo sapiens*. В настоящее время таксономия вошла составной частью в более крупную область науки, *систематику*, которая пытается разгадать родство, существующее между различными формами жизни.

Чарльз Дарвин признавал, что таксономия, которая уже существовала к моменту издания им своей книги, являлась грубым подобием истории эволюции (хотя сам Линней не имел ключа к разгадке эволюции). Но только в 1950-х годах немецкий энтомолог Вилли Геннинг (Willi Hennig) предложил, чтобы систематика базировалась на известной эволюционной истории организмов. Он назвал этот подход *филогенетической систематикой*, в которой упор делался не на видах, а на *монофилетических группах*, совокупно со всеми их потомками, известными как *клады*. Этот подход сейчас часто называют *кладистикой*.



Ученые, используя в качестве ключей археологию и генетическую информацию, строят филогенетические деревья, топология (ветвление) которых представляет родство между различными организмами (рис. 13.1).

Филогенетические деревья состоят из нескольких частей:

- **узлов.** Представляют таксономическую единицу (вид, популяцию или особь, существующую или ее предка);
- **ветвей.** Определяют родство между таксономическими единицами по их происхождению и истории;
- **корней.** Общий предок всех таксономических единиц;
- **клада.** Группа из двух или более таксономических единиц или последовательностей ДНК, которая включает в себя общего предка и всех его потомков.

Только одна ветвь может связать два родственных узла. Ветви могут быть *масштабными* и *немасштабными*; если ветви масштабные, то длина ветви обычно показывает количество происшедших изменений. Деревья могут быть *коренными* и *некоренными*. В коренных деревьях есть один общий узел, представляющий общего предка, а у некоренных древ родство между таксономическими единицами отмечается, но не прослеживается общий предок и эволюционный путь.

Возможность секвенировать ДНК и белки стала истоком *молекулярной филогенетики*, которая использует точную генетическую информацию для определения родства различных организмов, особенно тех, чья форма и внутренняя структура (морфология) не дают достаточно информации для их классификации. Молекулярная филогенетика сосредоточена на исследовании эволюции специфических последовательностей ДНК, а не эволюции целых организмов.

Идея молекулярной филогенетики заключается в том, что два очень схожих генома считаются разошедшимися в эволюции недавно, в отличие от сильно отличающихся друг от друга геномов, разошедшихся в эволюции давно, поскольку геномы развиваются посредством постепенного накопления мутаций.

Основной метод этой области генетики — сравнение *гомологов*, ДНК-последовательностей, имеющих общее происхождение, но могущих иметь или не иметь общую функцию. Про последовательности ДНК с определенным уровнем сходства, основанным на идентичности сравниваемых пар оснований, говорят, что они *гомологичные* (или *монофилетические*) и унаследованы от общего предка. Впрочем, модификация оснований со временем затрудняет определение предка, от которого они унаследованы.

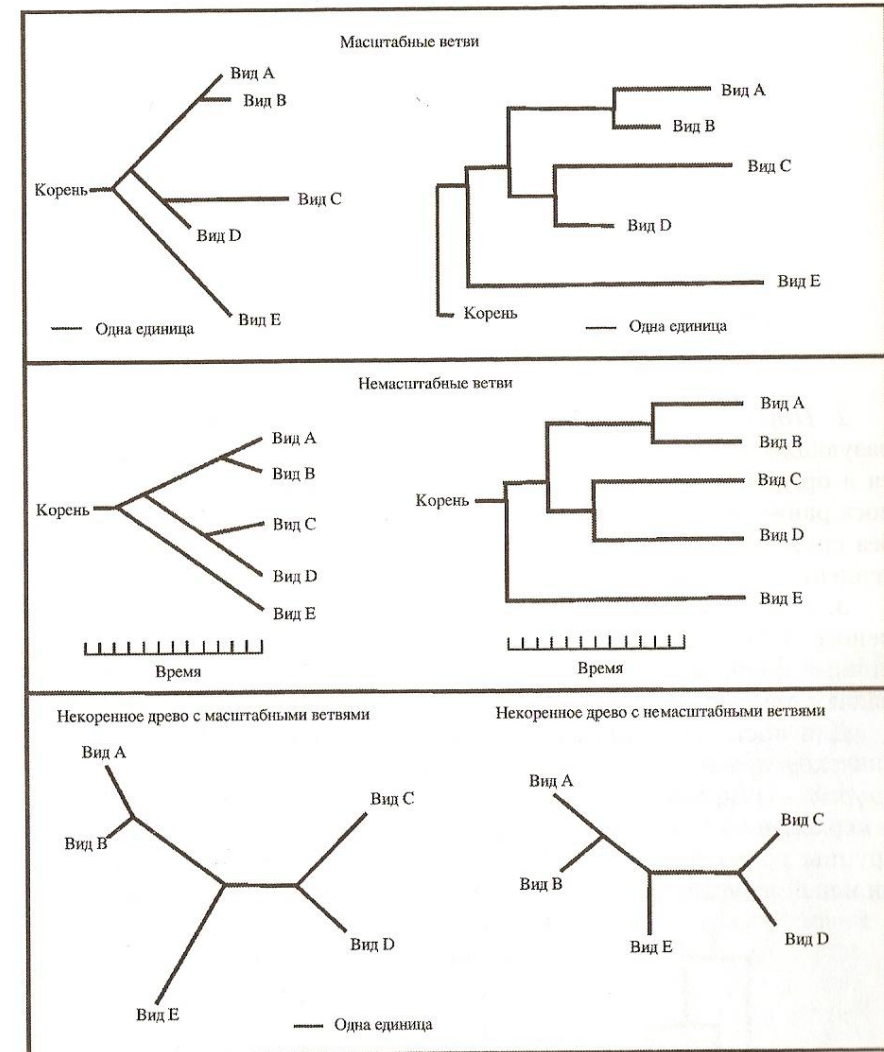


Рис. 13.1. Несколько способов изображения филогенетического дерева

Существует три типа гомологов:

1. *Ортологи.* Гомологи, образуемые при видообразовании. Они являются генами, разошедшимися от общего предка, потому имеют одну и ту же функцию, независимо от того, в каком организме находятся.

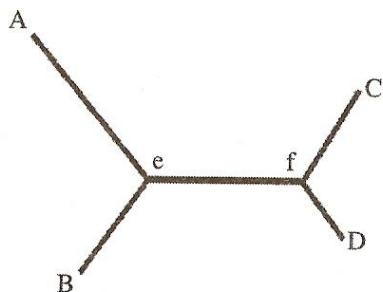


Рис. 13.2. Типичное некоренное филогенетическое древо, основанное на гомологах

2. *Паралоги*. Гомологи, образованные при дупликации гена. Образующиеся гены происходят от одного гена, который дублировался в организме предка, а потом его копии разошлись. Как указывалось ранее, дублированные гены могут мутировать более свободно, без снижения жизнеспособности организма. В результате у них есть тенденция в различных организмах выполнять различные функции.

3. *Ксенологи*. Гомологи, образующиеся при горизонтальном переносе гена между двумя организмами. Ксенологи могут иметь различные функции в различных организмах, но, в основном, они обладают тенденцией выполнять одну и ту же функцию.

Для построения наиболее вероятного эволюционного пути генетическое древо должно включать по крайней мере одну *внешнюю группу* — ген, менее родственный по отношению к четырем группам, по сравнению с родством четырех гомологов между собой. Внешние группы позволяют идентифицировать корень древа и описать правильный эволюционный путь (рис. 13.4).

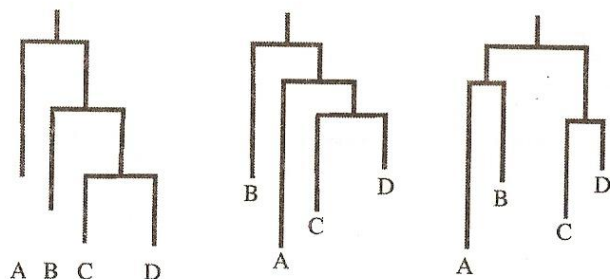


Рис. 13.3. Три различных коренных филогенетических древа, каждое из которых может быть логически выведено из древа на рис. 13.2

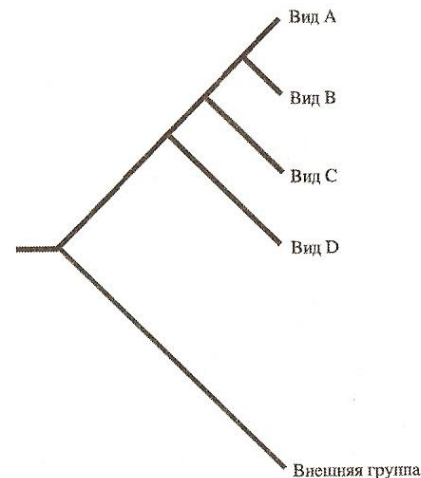


Рис. 13.4. Внешняя группа, ген, известный как отделившийся от четырех гомологов до появления их общего предка, может помочь в нахождении правильного корня для филогенетического древа на рис. 13.3

Гипотеза молекулярных часов

Гипотеза молекулярных часов — основа практики молекулярных филогенетиков. Она заключается в том, что точковые мутации (замены пар оснований) происходят с постоянной скоростью, так что степень различия между двумя последовательностями может использоваться для определения даты их расхождения с последовательностью общего предка.

Однако скорость молекулярных изменений неодинакова у различных организмов, генов и даже частей одного и того же гена. Это значит, что молекулярные часы должны калиброваться по известным ископаемым организмам для определения времени исходной точки образования клад и скорости молекулярных изменений, происшедших с того времени. Например, молекулярные часы для ДНК митохондрий (мтДНК) были установлены по времени расхождения человека и шимпанзе, происшедшего шесть миллионов лет назад. Поскольку мтДНК человека и шимпанзе отличаются на 12%, скорость изменений человеческой мтДНК была определена в 2% на миллион лет.

Необходимость калибровки молекулярных часов означает, что история ископаемых организмов все еще жизненно важна для практической систематики. И генетический анализ никоим образом не может ее заменить.



Заметьте, что генные и видовые древа не всегда совпадают. Внутренний узел на древе генов показывает разделение родительского гена на два гена с последовательностями ДНК, отличающимися друг от друга. Внутренний узел на древе видов представляет расхождение родительского вида на два, не скрещивающихся друг с другом. Поскольку каждое расщепление гена совсем не означает начало нового вида, два события не всегда совпадают по времени.

Генетика эволюции человека

В главе 10 я писал о гипотезе «африканской Евы», основанной на данных, которые свидетельствовали о том, что митохондриальная ДНК всех современных людей может быть прослежена во времени до митохондриальной ДНК женщины, жившей в Африке около 200 тыс. лет назад (отметьте, что нужно принимать во внимание возможность ошибки при оценке использования митохондриальных часов; некоторые новые данные указывают, что Ева жила 400 тыс. лет назад, а верхняя граница возможного возраста составляет 800 тыс. лет). Генетики, однако, могут получать, и получили, информацию о наших еще более отдаленных предках.

Та же самая митохондриальная ДНК, использованная для отслеживания нашего общего предка по материнской линии, помогла ответить на животрепещущий вопрос эволюции: кто является более близким родственником человека — горилла или шимпанзе. Теперь кажется решенным, что наш более близкий родственник — шимпанзе. Наш общий с шимпанзе предок жил пять-шесть миллионов лет назад, в то время как общий предок с гориллами — около восьми миллионов лет назад (рис. 13.5).

ДНК может многое рассказать об изменчивости людей. Как отмечено в главе 6, человеческий геном состоит из трех миллиардов пар оснований, а у любых двух людей идентичны 99,9% пар оснований. Конечно, для трех миллиардов 0,1% составляет три миллиона, и хотя большинство вариаций не приводят к принципиальным отличиям, нас отличают друг от друга тысячи черт.

Но мы менее отличаемся между собой, чем отличаются друг от друга наши ближайшие родственники. У двух шимпанзе в четыре раза больше генетических различий, чем у двух человек. Это показывает, что когда-то в прошлом люди пережили сильное, но кратковременное сокращение популяции до нескольких тысяч или долго-

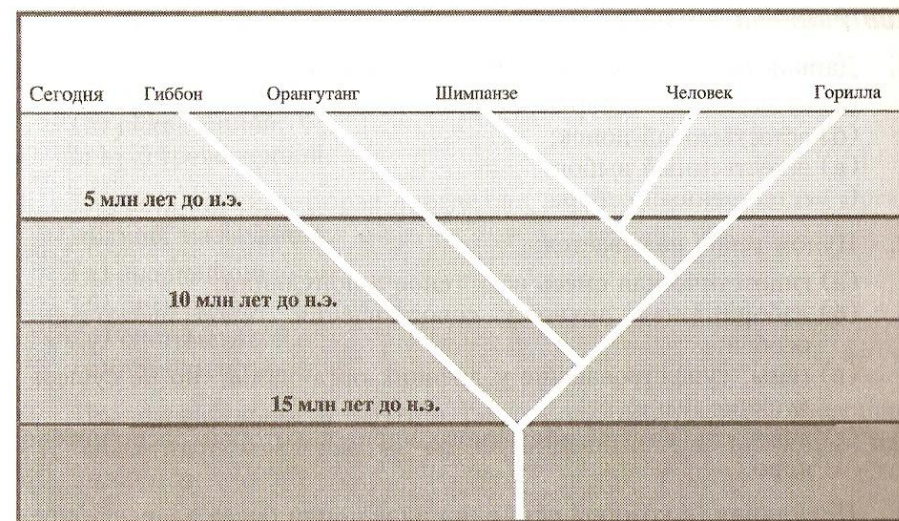


Рис. 13.5. Это филогенетическое древо показывает наше родство с обезьянами и человекообразными обезьянами

временное, но более умеренное сокращение до десятков или сотен тысяч человек.

Интересно отметить, что хотя раса — может быть, самое видимое генетическое различие у людей, анализ последовательности ДНК человека подтвердил работу 1970-х годов по секвенированию белков. Показано, что от 80 до 90% вариаций происходит внутри этнической популяции, только 5—10% приходится на межэтнические различия в основных расовых группах, и 5—10% вариаций — на их межрасовые различия.

Другими словами, если все люди вымрут, кроме одного восточноафриканского племени, то 85% всех вариаций у людей все равно сохранятся при последующем росте популяции.

Генетическая изменчивость у человека играет огромную роль как в устойчивости к болезням (которые помогли сформировать нашу эволюцию посредством естественного отбора), так и в развитии наследственных болезней.

В завершающей главе этой книги мы рассмотрим некоторые из наследственных болезней и то, как они (а также наши знания о том, как обнаруживать эти болезни и другие генетические дефекты) действуют на нас.



КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Дарвин назвал движущей силой эволюции:
(а) естественное совершенство;
(б) естественный поиск;
(в) естественный выбор;
(г) естественный отбор.
2. Пулом генов называется:
(а) гипотетическая смесь всех генов в популяции;
(б) лабораторная техника сопоставления генов нескольких особей;
(в) гены, существовавшие у древних организмов, но не существующие ныне;
(г) жидкость внутри клеточного ядра, в которой расположено ядро.
3. Популяция, в которой есть один аллель или более аллелей определенного гена, называется:
(а) полианной;
(б) полиэфирной;
(в) полиморфной;
(г) полигенной.
4. Закон Гарди — Вайнберга описывает:
(а) регламент генетической инженерии в Германии;
(б) условия, в которых популяция достигает генетического равновесия;
(в) механизм естественного отбора у насекомых;
(г) максимально возможный размер генома у эукариот.
5. Нейтральные мутации:
(а) обычно исчезают при генетическом дрейфе;
(б) постепенно становятся вредными;
(в) постепенно становятся полезными;
(г) не случаются никогда.
6. Говоря языком генетики, миграции не происходит, пока мигрирующий организм не:
(а) купит лошадь;
(б) получит водительские права;
(в) завершит успешное скрещивание;
(г) мутирует.



7. Чтобы популяция стала видом, она должна быть:
(а) изолированной;
(б) рассеянной;
(в) захваченной;
(г) растревоженной.
8. Область науки, которая определяет эволюционное родство организмов, называется:
(а) эволюционизмом;
(б) релятивной генетикой;
(в) систематикой;
(г) номенклатурой.
9. Последовательности ДНК в различных организмах, имеющие общее происхождение, но не обязательно общую функцию, называются:
(а) гомологами;
(б) гомогенами;
(в) гомокладами;
(г) гомооснованиями.
10. Генетики обнаружили, что нашими ближайшими родственниками являются:
(а) мартышки;
(б) гориллы;
(в) шимпанзе;
(г) лемуры.

Глава 14

Люди: как генетика влияет на нас

Название главы, следует признаться, вводит в заблуждение. Генетика не *влияет* на нас, точнее сказать: «Генетика — это мы». Но возрастающее и расширяющееся знание *генетики* влияет и будет влиять на человечество в будущем. Однако даже трудно себе представить, каким образом.

Генетика пола

Хотя глава эта посвящена человеку, не мы придумали пол, а наш любимый способ комбинировать гены — не единственный, изобретенный природой. Есть вид простейших, *Paramecium bursaria*, например, обладающий особями восьми полов. Особь каждого пола не в состоянии скрещиваться с другими того же пола, но может передавать генетическую информацию особям остальных семи полов.

Однако у высших животных количество полов ограничено двумя (хотя оба пола иногда присутствуют в одном организме: животное с половыми органами обоих полов называется *гермафродитом*, а двуполое растение — *однодомным*).

С точки зрения генетики, эти подробности не имеют значения. У пола одна функция: создавать генетическое разнообразие посредством обмена генетической информацией, чтобы обеспечить способность популяции приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды.

Первым шагом к последующему обмену всегда бывает определение пола организма (в тех видах, у которых пол представляет отдельный организм, как у *Homo sapiens*, например).

У большинства млекопитающих есть две различные, или *гетероморфные*, половые хромосомы: X и Y. Присутствие Y-хромосомы делает организм мужским. У женского организма имеется пара хромосом XX, а их половые клетки, гаметы, всегда несут X-хромосому;

ГЛАВА 14 Люди: как генетика влияет на нас



а у мужского пара хромосом XY, и в половых клетках может быть или X-, или Y-хромосома. Самки — *гомогаметные* особи, а самцы — *гетерогаметные*.

Мужские гаметы определяют пол эмбриона, образующегося после успешного оплодотворения яйцеклетки. Есть насекомые, птицы и рыбы, у которых самки бывают гетерогаметными, а самцы гомогаметны. Чтобы избежать путаницы, соответствующие хромосомы у этих видов называются Z и W, вместо X и Y.

Один специфический ген, определяющий пол, был установлен. Ген SRY (по «определяющему пол региону Y») расположен на коротком плече Y-хромосомы и кодирует продукт, называемый TDF — *фактор, детерминирующий яички*. В совокупности с другими генами он кодирует связывающийся с ДНК белок, который, в свою очередь, регулирует выражение одного или нескольких генов, участвующих в формировании яичек и способности к оплодотворению.

Из-за механизма, определяющего пол у человека, и очень большого различия в размере X- и Y-хромосом (X несет от 2000 до 3000 генов, а на Y-хромосоме расположено несколько дюжин генов) есть много признаков, гены которых расположены только на X-хромосоме. Они не имеют соответствующих аналогов на Y-хромосоме. Есть несколько белков, гены которых расположены только на Y-хромосоме и не имеют аналогов на X-хромосоме, но такие гены редки.

Признаки, сцепленные с полом, могут быть как доминантными, так и рецессивными. Сцепленные с полом признаки, кодируемые рецессивными генами на X-хромосоме, обычно имеют три характеристики, которые сильно отличаются от характеристик признаков, кодируемых генами на *аутосомах* (неполовых хромосомах).

1. Обычно они чаще встречаются у самцов, чем у самок.
2. Они не появляются у самок, если отсутствовали у родителя по отцовской линии.
3. Они редко встречаются у отца и сына, и только в том случае, если мать гетерозиготна.

Возможно, самый известный пример такого сцепленного с полом признака — гемофилия, болезнь, при которой нарушается нормальное свертывание крови (другие примеры приведены в табл. 14.1).

Хромосома X несет рецессивные гены, контролирующие продукцию двух факторов свертывания крови, называемых факторами VIII и IX. Если девочка наследует X-хромосому с отсутствием таких генов, или они повреждены, то у нее остаются нормальные копии генов на другой X-хромосоме, и гемофилии у нее не будет.



Однако если мальчик наследует X-хромосому с отсутствующими или поврежденными генами факторов свертываемости крови, то у него нет полноценных копий этих генов на Y-хромосоме. В результате в крови отсутствуют факторы свертывания крови, и развивается гемофилия.

В крайне редких случаях девочка рождается с гемофилией, если у матери повреждена одна X-хромосома, а у отца тоже гемофилия.

Признак сцепленного с полом доминантного гена на X-хромосоме обычно имеет следующие характеристики:

1. Чаще встречается у самок, чем у самцов.
2. Встречается у всего женского потомства самца с таким признаком.
3. Не передается сыну от матери, если у нее нет этого признака.

Таблица 14.1. Примеры наследственных болезней, сцепленных с полом

Болезнь	Симптомы
Мышечная дистрофия Дюшенна	Прогрессирующая мышечная слабость и смерть.
Синдром Леша — Нигана	Церебральный паралич, членовредительство.
Агидротическая эктодермальная дисплазия	Отсутствие выделения пота, отсутствие зубов, редкие волосы.
Агаммаглобулинемия	Отсутствие гаммаглобулинов, частые бактериальные инфекции.
Синдром хрупких X-хромосом	Умственная отсталость, характерное строение лица, большие яички.

Хромосомы X и Y не могут спариваться во время мейоза, если у них отсутствует, по крайней мере, небольшой участок спаривающейся ДНК. Он называется *человеческим псевдоаутосомным регионом*. Один из генов, расположенных в этом участке, — MIC2. Он кодирует гликопротеин, входящий в состав некоторых клеток тела. Гены в этом участке ведут себя, как гены в неполовых хромосомах, и следуют обычным менделевским законам наследственности.

Всего около дюжины генов расположено на нерекombинирующей части Y-хромосомы, хотя она и составляет 95% хромосомы. Такие признаки выражаются только у самцов и передаются от отца сыну. Ген SRY, упомянутый выше, кодирует один из таких признаков, и можно сказать, что способность быть самцом сама по себе является сцепленным с полом признаком.



В дополнение к сцепленным с полом признакам существует ряд признаков, находящихся *под влиянием пола*. Гены, контролирующие эти признаки, находятся на аутосомах или в псевдоаутосомном регионе половых хромосом. Благодаря влиянию половых гормонов нормальное выражение, ожидаемое от доминантных или рецессивных аллелей, меняется на противоположное у признаков, находящихся под влиянием пола. Поэтому такие признаки обычно находят у высших животных с хорошо выраженными гормональными системами, например у людей.

Очевидно, наиболее известным из таких признаков является облысение, которое относится к доминантным признакам у мужчин, но к рецессивным признакам у женщин (чему женщины должны только радоваться). В табл. 14.2 это проиллюстрировано. Когда мужчина имеет один ген облысения и один ген необлысения, он лысеет. А вот женщина при такой комбинации генов лысой не станет.

В дополнение к признакам, на которые влияет пол, есть еще признаки, *ограниченные полом*. Они выражаются только у особей одного пола, хотя гены присутствуют у обоих полов. Это происходит благодаря гормональному контролю или различию в анатомии особей различного пола. Например, у мужчин есть гены продукции молока, которые они передают своим дочерям, но сами они молоко не продуцируют.

Таблица 14.2. Наследование облысения, признака, на который влияет пол

Генотипы	Фенотипы	
	Мужчины	Женщины
Две копии гена плешивости	Лысеют	Лысеют
Одна копия гена плешивости, одна копия гена дикого типа	Лысеют	Не лысеют
Две копии гена дикого типа	Не лысеют	Не лысеют

Генетические болезни

В 1902 году английский врач по имени Арчибальд Гаррод (Archibald Garrod) показал, что редкая болезнь *алкаптонурия*, которая окрашивает мочу больных людей в черный цвет, передается по наследству в соответствии с законами Менделя. Это была первая болезнь человека, наследуемая по менделевским законам, и первый



человеческий признак, подчинявшийся этим законам. Гаррод назвал ее *врожденной ошибкой обмена веществ*. Сегодня мы называем ее *генетической*, или *наследственной болезнью*.

Генетические болезни возникают из-за проблем в геноме организма. Они могут наследоваться или возникать из-за мутаций в половых клетках. В последнем случае, если индивидуум выживает и обзаводится потомством, болезнь может передаваться следующим поколениям.

Среди самых серьезных генетических нарушений те, которые возникают из-за ошибок клеточного деления на ранних стадиях развития (или еще до зачатия), приводящих к ошибкам в числе хромосом. Эти хромосомные нарушения включают:

- **Трисомию.** Образуются три копии какой-либо хромосомы вместо обычных двух. Самой известной из трисомий является трисомия 21-й хромосомы, также известная как синдром Дауна.
- **Моносомию.** При моносомии отсутствует одна из хромосом в паре. Примером является синдром Тернера, генетическое нарушение у девочек, рождающихся с одной хромосомой X.
- **Делеции.** Отсутствует маленькая часть хромосомы; в случае микроделений в хромосоме может не хватать всего лишь одного или нескольких генов.
- **Транслокации.** Куски хромосомы перемещены из одной хромосомы в другую.
- **Инверсии.** Маленькие куски хромосомной ДНК выщепляются и снова встраиваются в хромосому в противоположной ориентации.

Последствия приведенных выше изменений могут быть различными: как незначительными, так и смертельными. Они зависят от того, какие затронуты хромосомы или фрагменты хромосом.

Мутации в одном из генов также могут приводить к ряду генетических болезней. Среди них фиброз мочевого пузыря, серповидно-клеточная анемия (упоминавшаяся уже несколько раз), болезнь Тей-Сакса и ахондроплазия (один из вариантов карликовости).

Рак, подробно обсуждавшийся в главе 8, также относится к генетическим болезням, вызываемым не только изменениями клеточных генов, но и перестройками в геноме. Многие болезни не вызываются мутациями в геноме, но их течение может зависеть от определенных мутаций. Например, болезнь Паркинсона может быть связана с геном хромосомы 4, множественный склероз — с геном хромосомы 6, а болезнь Альцгеймера — с изменениями в гене хромосомы 19.



В табл. 14.3 перечислен ряд генетических болезней. Кроме них, существуют сотни других. Хотя каждая из генетических болезней редка, вместе они поражают миллионы людей.

Таблица 14.3. Часто встречающиеся генетические болезни

Болезнь	Приблизительная частота у новорожденных
Фиброз мочевого пузыря	1/1600 детей белой расы
Мышечная дистрофия Дюшена	1/3000 мальчиков (сцепленная с X-хромосомой)
Болезнь Гоше	1/2500 евреев Ашкенази; 1/75 000 других
Болезнь Тей-Сакса	1/3500 евреев Ашкенази; 1/35 000 других
Первичная пентозурия (доброкачественная)	1/2000 евреев Ашкенази; 1/50 000 других
Классическая гемофилия (дефект фактора VIII свертываемости крови)	1/10 000 мальчиков (сцепленная с X-хромосомой)
Фенилкетонурия	1/5000 ирландцев, кельтского происхождения; 1/15 000 других
Цистинурия	1/15 000
Метахромная лейкодистрофия	1/40 000
Галактоземия	1/40 000
Серповидно-клеточная анемия	1/400 афроамериканцев (и еще чаще в странах Западной Африки)
β-талассемия	1/400 среди некоторых популяций Средиземноморья

Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов

Для определения генетического дефекта нужно знать, какой из генов затронут и где расположен этот ген. Мощным инструментом для определения пораженных генов и скрининга популяции людей на наличие измененного гена считается анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

В главе 12 мы писали, что ферменты, названные эндонуклеазами рестрикции, разрезают ДНК по специфичным последовательностям — сайтам рестрикции. Две молекулы ДНК будут разрезаны на фрагменты одинаковой длины, если молекулы идентичны. Но если



в одной молекуле есть сайт рестрикции, а другой нет, то фрагменты будут различной длины. Если в одной молекуле будет больше пар оснований до сайта рестрикции, чем в другой, то фрагменты также будут различными и т.д.

На практике это означает, что, разрезая эндонуклеазами рестрикции часть генома двух индивидуумов одного вида, можно получить фрагменты различной длины, в зависимости от строения проверяемой части генома индивидуума. Это также значит, что при сравнении гомологичных районов обеих хромосом пары можно получить фрагменты различной длины. Такая картина наблюдается, если в хромосоме есть делеция, или где-нибудь между сайтами рестрикции существует инсерция — мутация, убирающая сам сайт рестрикции, а также если аллели генов различны между сайтами рестрикции.

ПДРФ наследуются по законам Менделя и представляются незаменимыми при определении генов наследственных болезней, например болезни Гантингтона. Ученые исследуют популяции с высокой частотой заболевания болезнью на наличие ПДРФ, наследуемого страдающими от болезни людьми, но не встречающегося у здоровых людей. Это хороший индикатор того, что ПДРФ расположен около гена болезни.

Например, ПДРФ помог установить точную локализацию гена фиброза мочевого пузыря (рис. 14.1). Как только расположение гена

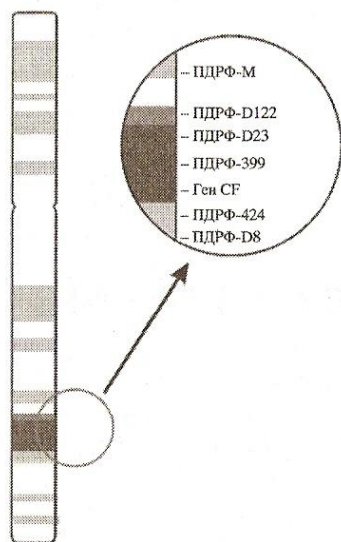


Рис. 14.1. ПДРФ позволил определить точное расположение гена фиброза мочевого пузыря



установлено, его можно клонировать, определить природу дефекта, вызывающего генетическую болезнь, разработать новые методы лечения.

Анализ ПДРФ можно выполнить, имея очень небольшие количества ДНК из клеток белой крови или клеток плода, которые также пригодны для использования в диагностике болезней. Зная о сцеплении определенного ПДРФ с геном наследственной болезни, можно устанавливать ее диагноз точно и быстро.

В редких случаях, которые очень удобны для проведения диагностики, мутировавший ген изменяет непосредственно ПДРФ. Например, при серповидно-клеточной анемии отсутствует сайт рестрикции в гене больных людей, но он есть в гене людей здоровых (рис. 14.2). В результате у нормальных клеток два фрагмента в ПДРФ, а у клеток больных людей — только один.

Весь процесс использования ПДРФ для картирования, диагностики и определения дефектных генов сходен с приводимым ниже, использованным для раскрытия механизма, лежащего в основе мышечной дистрофии Дюшенна:

1. Большие семьи, в которых встречается болезнь, проверяются на известные и картированные ПДРФ.
2. Результаты исследуются на наличие статистически значимых связей между наследуемыми ПДРФ и болезнью.
3. В случае успеха ген может быть картирован в специфическом участке определенной хромосомы. Если несколько известных



Рис. 14.2. ПДРФ, расположенный в гене нормального гемоглобина, отсутствует в семейном гене, вызывающем серповидно-клеточную анемию. Это позволяет ставить диагноз болезни, используя метод ПДРФ



ПДРФ окружают ген и расположены близко от него, ген можно клонировать.

4. Если нормальный ген клонирован, можно создать для него пробу и использовать ее для проверки библиотеки нормальных мышечных клеток.
5. Из библиотеки можно клонировать нормальный ген и другие последовательности ДНК, необходимые для его выражения.
6. Полученная ДНК может быть встроена в вектор и введена в *E. coli*.
7. *E. coli* синтезирует белок клонированного гена. Это белок нормального гена.
8. Тесты могут определить наличие или отсутствие белка у людей, страдающих болезнью. В случае болезни Дюшена было показано, что в организме не синтезируется белок, названный дистрофином. Причиной этого является мутация в гене дистрофина.

По аналогичной схеме проводятся исследования других плохо изученных генетических болезней.

Судебно-медицинская генетика

Косвенно эндонуклеазы применяются в *судебно-медицинской генетике* с целью установления идентичности ДНК, оставленной на месте преступления или взятой у преступника или жертвы преступления.

Получение *ДНК-фингерпринтов* (отпечатков) основано на том факте, что различные геномы человека обладают различным количеством *тандемных* (следующих друг за другом) *повторов последовательностей ДНК*. Каждая из них называется *мини-сателлитом*, или *локусом с варьирующим числом тандемных повторов* (локусом VNTR).

Количество, длина и порядок этих повторяющихся последовательностей ДНК уникальны для каждого человека. Но независимо от длины последовательности, она содержит общее для последовательностей ядро (менее 20 пар оснований в длину), которое узнается соответствующей пробой.

ДНК из образца, взятого на месте преступления, из клеток подозреваемого в преступлении или клеток жертвы преступления разрезается одной или несколькими эндонуклеазами рестрикции, затем помещается в гель для электро-



фореза, где фрагменты ДНК разделяются. Далее фрагменты денатурируются до отдельных нитей, переносятся на нитроцеллюлозный фильтр и обрабатываются радиоактивной пробой ДНК, после чего делается автордиография. Количество полос, определяемое на автордиограммах, уникально для каждого человека.

Генетический скрининг

Наши возможности в исследовании индивидуальных геномов человека все время растут. На сегодняшний день генетическое тестирование включает в себя:

- *пренатальную (дородовую) диагностику*. Исследуя амниотическую жидкость, клетки плода, клетки крови плода или матери, врачи могут определить риск развития у плода различных наследственных болезней или патологических состояний, например синдрома Дюшена;
- *скрининг новорожденных*. Кровь или образцы тканей новорожденного берутся сразу после рождения, чтобы определить наследственные болезни, при которых важно раннее вмешательство, чтобы предотвратить серьезные проблемы со здоровьем или смерть. Например, с 1970-х годов новорожденные афроамериканские дети исследуются на серповидно-клеточную анемию;
- *скрининг носителей*. Определяются индивидуумы с аномалиями хромосом, которые могут вызывать болезни у этих людей и их потомства. Тесты разработаны на фиброзный цистит, болезнь Дюшена, гемофилию, болезнь Гантингтона и другие болезни;
- *тест на совместимость*. Используется для определения работников, чувствительных к определенным токсическим веществам, контакт с которыми может в будущем привести к инвалидности.

Будущее генетического скрининга, предназначенного предотвратить или облегчить страдания людей, кажется очевидным. Однако существует озабоченность по поводу возможного использования подобной информации. Это особенно касается ее разглашения в деловом мире, где человеку могут отказать в страховании, например, из-за риска сердечного заболевания в раннем возрасте.



Как показали социологические опросы в 2002 году, подобная озабоченность по поводу генетической дискриминации широко распространена в общественном мнении (табл. 14.4).

Таблица 14.4. Кому вы хотели бы показать результат своего генетического тестирования?

	Да (%)	Нет (%)
Муж, жена или партнер	68	32
Близкие родственники	53	47
Страховая компания	27	73
Работодатель	12	88

Одни призывают ввести жесткие законы против разглашения информации о генетическом тестировании. Другие напоминают об исследованиях, показывающих, что, строго говоря, нет болезней, не имеющих генетического компонента. Скорее всего, поток информации, полученной при изучении генома человека, как и прогресс во всех остальных областях генетики, только укрепит подобное мнение. В этих условиях закон может иметь непредсказуемые последствия. Например, фирмам, страхующим здоровье, может быть отказано в информации, которая необходима для оценки рисков и установления соответствующих ставок страхования.

Чем подробнее мы знакомимся с генетикой, тем больше этических вопросов возникает перед нами. В следующие несколько десятилетий мы сможем увидеть, как будет развиваться клонирование человека, генетическое сканирование, генетическая модификация человека, эффективная генная терапия, разработка новых средств борьбы с раком, создание новых вакцин. Создадутся не только безграничные возможности для улучшения человеческого здоровья, но и новые этические проблемы.

Когда Грегор Мендель сажал горох в монастырском саду в Брюнне в конце XIX века, он даже мечтать не мог, что его урожай мы продолжим убирать в начале XXI века.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

- Животные с двумя различными половыми хромосомами называются:
 - гетероморфными;
 - гелиотропными;



- гетерогенными;
 - гомофобными.
- У млекопитающих большинство сцепленных с полом признаков расположено на:
 - W-хромосоме;
 - X-хромосоме;
 - Y-хромосоме;
 - Z-хромосоме.
 - Аутосомы представляют собой:
 - хромосомы, которые могут реплицироваться вне клетки;
 - хромосомы, содержащие гены хорошего вождения автомобиля;
 - хромосомы, не являющиеся половыми;
 - половые хромосомы.
 - Хромосомный участок, одинаковый у X- и Y-хромосом, называется:
 - человеческим родовым участком;
 - человеческим неполовым участком;
 - участком хромосомного согласия;
 - человеческим псевдоаутосомным участком.
 - В настоящее время «врожденная ошибка метаболизма» называется:
 - половым влечением;
 - генетической болезнью;
 - обычной простудой;
 - несварением.
 - Люди с тремя хромосомами в паре страдают от:
 - трисомии;
 - тригеники;
 - хромотроицы;
 - возведения в третью степень.
 - ПДРФ — это сокращение, обозначающее:
 - полностью чужеродные липопотеины;
 - переработанные протоколы лизиса клеток;
 - по-настоящему смешные длинные произношения;
 - полиморфизм длины рестрикционных фрагментов.



ГЕНЕТИКА без тайн

8. Какое из следующих утверждений верно?
- (а) ПДРФ наследуются по законам Менделя;
 - (б) ПДРФ всегда одной длины;
 - (в) ПДРФ полезны для определения расположения генов на хромосоме;
 - (г) ПДРФ никогда не варьируют у различных индивидуумов.
9. Лocus VNTR — это термин, используемый в:
- (а) микроскопии;
 - (б) выращивании клеток;
 - (в) ДНК-фингерпринтировании;
 - (г) футболе.
10. Американцы менее всего хотят делиться результатами своего генетического тестирования с:
- (а) мужем, женой, партнером;
 - (б) близкими родственниками;
 - (в) страховыми компаниями;
 - (г) работодателем.

Заключительный экзамен

Не подсматривайте в текст книги во время экзамена. 75% правильных ответов — это хороший результат. Попросите друга проверить ваши ответы в первый раз, чтобы не запомнить ответы и иметь возможность еще раз провести экзамен.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Чья работа с садовым горохом стала основой современной генетики?
- (а) Грегора Менделя;
 - (б) Исаака Ньютона;
 - (в) Роберта Гука;
 - (г) Джеймса Уотсона.
2. Принцип сегрегации гласит, что:
- (а) виды не могут скрещиваться;
 - (б) семена растений следует держать на определенном расстоянии от родительского растения до того, как они дадут ростки;
 - (в) каждое растение передает только один «фактор» своему потомству;
 - (г) природа наследственности неизвестна.
3. Принцип независимого рекомбинирования гласит, что:
- (а) один признак организма не влияет на другие признаки;
 - (б) ни одно генетическое правило не может быть получено при изучении одного организма;
 - (в) два рядом растущих растения различных генетических видов могут обмениваться генетической информацией без скрещивания;
 - (г) генетические факторы одинаково распространены среди всех клеток организма.
4. Если особь организма гетерозиготна, то у нее:
- (а) одна копия определенного гена;
 - (б) две различные копии определенного гена;
 - (в) есть признаки обоих полов;
 - (г) смертельная генетическая болезнь.



Заключительный экзамен

5. Одна из форм гена называется:
 - (а) зиготой;
 - (б) хромосомой;
 - (в) аллелью;
 - (г) фактором.
6. Клеткам эукариот свойственны:
 - (а) фотосинтез;
 - (б) способность двигаться;
 - (в) распределение генетического материала по всему телу;
 - (г) выраженное ядро и другие ограниченные мембраной структуры.
7. Клеткам прокариот свойственны:
 - (а) метаболизм АТФ;
 - (б) отсутствие генетического материала;
 - (в) одна клеточная мембрана и отсутствие выраженного ядра и других внутриклеточных структур;
 - (г) неподвижность.
8. Органеллы — это:
 - (а) нити, образующиеся между хромосомами;
 - (б) маленькие структуры внутри клетки, выполняющие различные функции;
 - (в) чувствительные к свету точки в некоторых прокариотах;
 - (г) глубокие складки в клеточной мембране.
9. Дупликация и деление хромосом в клетке тела называются:
 - (а) митоз;
 - (б) мейоз;
 - (в) галитоз;
 - (г) кручение.
10. Мейоз — это:
 - (а) дупликация и деление хромосом в клетках тела;
 - (б) процесс клеточного деления, приводящий к образованию гамет (сперматозоидов и яйцеклеток);
 - (в) рост новой клеточной мембраны перед делением клетки;
 - (г) запрограммированная смерть клетки после определенного количества делений.

Заключительный экзамен



11. Гаплоидная клетка содержит:
 - (а) только половину полного набора хромосом;
 - (б) обычный набор хромосом;
 - (в) удвоенный набор хромосом;
 - (г) поврежденные хромосомы.
12. Работа Освальда Эвери подтвердила, что:
 - (а) ДНК является основным носителем наследственности;
 - (б) пол у человека определяется X- и Y-хромосомами;
 - (в) плодовые мушки и человек обладают одинаковым генетическим материалом;
 - (г) некоторые болезни вызываются агентом, меньшим, чем бактерии.
13. Остов двойной спирали ДНК сделан из:
 - (а) аминокислот;
 - (б) РНК;
 - (в) сахаров и фосфатов;
 - (г) липидов.
14. Нуклеотид — это:
 - (а) элемент остова ДНК с прикрепленным к нему основанием;
 - (б) нить ДНК, меченная радиоактивной меткой;
 - (в) короткая нить РНК, используемая для переноса информации между нитями ДНК;
 - (г) особый тип хромосомы.
15. Репликационная вилка — это:
 - (а) разрыв, вызванный бинарным делением клетки;
 - (б) лабораторный инструмент для стимуляции деления ДНК;
 - (в) точка, в которой репликация происходит в нити ДНК;
 - (г) генетический дефект в некоторых гаметах.
16. Ферменты — это:
 - (а) белки, действующие как катализаторы, позволяющие идти биохимическим реакциям, но не изменяющиеся в результате реакции;
 - (б) участки ДНК хромосомы, не имеющие функций в наследственности;
 - (в) маленькие частицы хромосомы, которые окрашиваются и видны во время клеточного деления;
 - (г) токсины, разрушающие клеточную структуру и убивающие клетку.



Заключительный экзамен

17. Половые клетки имеют:
- (а) такое же количество хромосом, что и клетки тела;
 - (б) половину хромосом по сравнению с клетками тела;
 - (в) в два раза больше хромосом по сравнению с клетками тела;
 - (г) в четыре раза меньше хромосом, чем клетки тела.
18. *Drosophila melanogaster* — это вид:
- (а) вируса;
 - (б) бактерии;
 - (в) амебы;
 - (г) плодовой мушки.
19. Признак, свойственный только одному полу, называется:
- (а) признаком, ограниченным полом;
 - (б) неполовым признаком;
 - (в) родовым признаком;
 - (г) рецессивным признаком.
20. Сколько индивидуальных хромосом в клетках тела человека?
- (а) 23;
 - (б) 46;
 - (в) 12;
 - (г) 69.
21. Центромера:
- (а) расплетает ДНК молекулы;
 - (б) появляется между двумя дочерними клетками во время бинарного деления;
 - (в) определяет расположение ядра в клетке;
 - (г) делит хромосому на два плеча различной длины.
22. Гены, расположенные на одной хромосоме, называются:
- (а) сцепленными;
 - (б) связанными;
 - (в) переплетенными;
 - (г) биполярными.
23. Картирование хромосом открывает:
- (а) генетические дефекты;
 - (б) их расположение в клеточном ядре;
 - (в) какова природа изучаемой клетки;
 - (г) где расположены определенные гены.

Заключительный экзамен



24. ДНК считается как код для производства цепи:
- (а) клеток;
 - (б) сахаров;
 - (в) аминокислот;
 - (г) солей.
25. Кодон — это:
- (а) одно «слово» в три буквы в генетическом коде;
 - (б) белковая шапочка на конце хромосомы;
 - (в) фермент, обеспечивающий репликацию ДНК;
 - (г) специальный тип РНК, дающий энергию для клеточного деления.
26. Транскрипция — это:
- (а) обмен генетической информацией между двумя хромосомами в паре хромосом;
 - (б) синоним бинарного деления;
 - (в) введение последовательности оснований ДНК в компьютер для анализа;
 - (г) процесс копирования генетической информации с ДНК на РНК.
27. Трансляция — это:
- (а) синоним бинарного деления;
 - (б) процесс превращения клеточных органелл в ДНК;
 - (в) процесс построения цепи аминокислот по генетической информации, закодированной в мРНК;
 - (г) процесс перестройки клеточной ДНК для изменения функции клетки.
28. Рибосомы — это:
- (а) маленькие структуры в клеточной цитоплазме, обеспечивающие энергией всю клетку;
 - (б) маленькие структуры в клеточной цитоплазме, контролирующие процесс построения цепочек из аминокислот;
 - (в) маленькие структуры в клеточном ядре, у которых есть собственная ДНК, отличающаяся от ДНК ядра;
 - (г) маленькие структуры в клеточной мембране, контролирующие поток белков через клеточную стенку.



Заключительный экзамен

29. Физическое выражение генетической информации в организме называется:
- (а) фенотипом;
 - (б) генотипом;
 - (в) индикатором признака;
 - (г) белковым дисплеем.
30. Полигенные признаки определяются:
- (а) неядерной ДНК;
 - (б) полом;
 - (в) многими генами;
 - (г) только одним геном.
31. Гомеотические гены:
- (а) расположены в митохондриях;
 - (б) гораздо меньше обычных генов;
 - (в) определяют сексуальную ориентацию;
 - (г) иницируют или блокируют действие других генов.
32. Наиболее популярный метод секвенирования ДНК изобретен:
- (а) Барбарой МакКлинток;
 - (б) Френсисом Криком;
 - (в) Освальдом Эвери;
 - (г) Фредом Зангером.
33. Из какого числа пар оснований состоит человеческий геном?
- (а) три тысячи;
 - (б) три миллиона;
 - (в) три миллиарда;
 - (г) три триллиона.
34. Какое шутовое название дали методу Д. Крейга Вентера по секвенированию генома?
- (а) метод «дробовика»;
 - (б) метод пулемета;
 - (в) метод серебряной пули;
 - (г) ядерная опция.
35. Сколько генов в настоящее время числится в геноме человека?
- (а) 2500;
 - (б) 25 000;
 - (в) 250 000;
 - (г) 2 500 000.

Заключительный экзамен

36. Мой геном отличается от вашего приблизительно:
- (а) 1 основанием на 1200 оснований;
 - (б) 1 основанием на 12000 оснований;
 - (в) 1 основанием на 120 000 оснований;
 - (г) 1 основанием на 1 200 000 оснований.
37. Генетическая вариация, проявляющаяся у одного или более процентов в популяции, называется:
- (а) генетической миграцией;
 - (б) эволюционным маркером;
 - (в) большой мутацией;
 - (г) геномным полиморфизмом.
38. Мутагеном называется вещество, которое:
- (а) предотвращает мутации;
 - (б) индуцирует мутации;
 - (в) метит мутации для анализа;
 - (г) делегирует мутации из образца ДНК.
39. Точковая мутация:
- (а) изменяет одну пару оснований;
 - (б) делегирует, по крайней мере, 10 пар оснований;
 - (в) инвертирует фрагмент хромосомы;
 - (г) всегда летальна.
40. Мутация сдвига рамки:
- (а) делегирует целую хромосому;
 - (б) заменяет один кодон другим;
 - (в) может перемещаться с одного места на другое в геноме;
 - (г) удаляет одну пару оснований, нарушая рамку считывания генетической последовательности на одну букву.
41. Транспозоны:
- (а) делегируют целую хромосому;
 - (б) заменяют один кодон на другой;
 - (в) могут перемещаться с места на место в геноме;
 - (г) удаляют одну пару оснований, нарушая рамку считывания генетической последовательности на одну букву.
42. Мутация, которая отменяет другую мутацию или обходит изменение, вызванное действием первой мутации, называется:
- (а) вредной;
 - (б) нейтральной;



Заключительный экзамен

- (в) полезной;
(г) супрессорной.
43. Варианты генов, которые наиболее часто встречаются в природе, называются:
(а) природными генами;
(б) генами дикого типа;
(в) ВЧ (высокочастотными) генами;
(г) РМ (редкомутуирующими) генами.
44. Раковые клетки обладают способностью бесконечно делиться. Они стали:
(а) бессмертными;
(б) десенсибилизированными;
(в) трансдуцированными;
(г) неразрушимыми.
45. Когда раковые клетки приобретают способность самостоятельно двигаться и вторгаться в другие ткани, говорят, что они:
(а) выделяются;
(б) метастазируют;
(в) метаморфны;
(г) мобилизованы.
46. Неоплазма — это:
(а) популяция бесконтрольно растущих клеток;
(б) клеточная органелла, которая превращает опухоль в злокачественную;
(в) ядро раковой клетки;
(г) боль, вызываемая раковыми клетками, сдавливающими нейроны.
47. Гены, которые, изменившись, могут вызывать рак, называются:
(а) пренаркогены;
(б) неогены;
(в) протоонкогены;
(г) онкосомы.
48. Ретинобластома — это рак:
(а) глаза;
(б) толстой кишки;
(в) мочевого пузыря;
(г) лимфатической системы.



Заключительный экзамен

49. Канцерогены — это:
(а) гены, которые вызывают рак;
(б) раковые опухоли, вызывающие дополнительные мутации;
(в) мутагены, которые могут превратить клетку в раковую;
(г) токсические отходы раковых клеток.
50. «Единственная кольцевая молекула ДНК» — это описание:
(а) единственного генетического материала раковой клетки;
(б) бактериальной хромосомы;
(в) вирусной хромосомы;
(г) транспозоны.
51. Без ДНК-гиразы бактериальные хромосомы:
(а) скрутятся так туго, что не смогут реплицироваться;
(б) развалятся;
(в) мутируют;
(г) образуют хромосому, как у эукариотов.
52. Компетентные бактерии могут:
(а) вызывать болезни;
(б) оставаться спящими тысячи лет;
(в) встраивать чистую ДНК;
(г) переживать действие антибиотиков.
53. При конъюгации две бактерии:
(а) убивают друг друга;
(б) обмениваются генетической информацией;
(в) сливаются в одну гигантскую клетку;
(г) объединяются для борьбы с вирусами.
54. Плазмиды — это:
(а) маленькие молекулы ДНК вне бактериальной хромосомы, которые могут самостоятельно реплицироваться;
(б) слабые вирусы, которые могут войти в клетку, но не могут ее убить;
(в) белки, из которых строится бактериальная мембрана;
(г) вирулентные вирусы, быстро убивающие бактериальную клетку.
55. Корепрессоры:
(а) инициируют прекращение трансляции гена;
(б) инициируют прекращение транскрипции гена;



Заключительный экзамен

- (в) инициируют прекращение репликации в клетке;
 - (г) инициируют выключение иммунной системы.
56. Теория эндосимбионтов предполагает, что:
- (а) органеллы произошли от бактерий;
 - (б) зубактерии развились из органелл в археях;
 - (в) органеллы — это паразиты бактерий;
 - (г) вирусы и органеллы могут скрещиваться.
57. Хлоропласты — это органеллы растений, содержащие:
- (а) хлороформ;
 - (б) хлорофилл;
 - (в) хлор;
 - (г) вызывающие рак агенты.
58. Родитель организма по материнской линии:
- (а) передает ему свою митохондриальную ДНК;
 - (б) передает ему свою ДНК хлоропластов;
 - (в) передает ему свою ДНК митохондрий и хлоропластов;
 - (г) не передает ему своей ДНК митохондрий и хлоропластов.
59. Митохондриальная ДНК показывает, что женщина, которая жила около 200 тыс. лет назад в Африке, была:
- (а) прямым предком по материнской линии всех живущих ныне людей;
 - (б) последним общим предком шимпанзе и человека;
 - (в) первым представителем вида *Homo sapiens*;
 - (г) первым говорящим человеком.
60. Болезнь табачной мозаики была первой болезнью эукариот, причиной которой признали:
- (а) бактерию;
 - (б) вирус;
 - (в) генетический дефект;
 - (г) радиацию.
61. Белковая оболочка вируса называется:
- (а) конвертом;
 - (б) протомембраной;
 - (в) вирусной раковиной;
 - (г) капсидом.

Заключительный экзамен



62. Бактериофаги являются вирусами, которые:
- (а) атакуют бактерии;
 - (б) защищают бактерии от антибиотиков;
 - (в) вызывают инфекции, не отличимые от бактериальных;
 - (г) вызывают рак.
63. Взрыв хозяйской клетки — это конечная стадия:
- (а) бактериоморфного цикла;
 - (б) литического цикла;
 - (в) лизогенного цикла;
 - (г) цикла бинарного деления.
64. Липидная мембрана, захваченная вирусом в хозяйской клетке, называется:
- (а) капсидом;
 - (б) капсомером;
 - (в) липидной оболочкой;
 - (г) гелевой капсулой.
65. Нуклеазы представляют собой ферменты, которые могут:
- (а) разрушать связи остова ДНК;
 - (б) разрушать связи оснований ДНК;
 - (в) вызывать разрушение клеток;
 - (г) убивать вирусы.
66. Генетически идентичная копия другого организма называется:
- (а) геноморфом;
 - (б) клоном;
 - (в) клоуном;
 - (г) моногеном.
67. ПЦР, методика быстрой продукции множества копий последовательности ДНК, называется:
- (а) полимеразной цепной реакцией;
 - (б) полигенной репликацией копий;
 - (в) превосходным повторением клеток;
 - (г) предхромосомной реакцией.
68. Трансгенный организм — это:
- (а) организм с необычным набором транспозонов в геноме;
 - (б) организм с неполовой репликацией;



Заключительный экзамен

- (в) организм, созданный методами генетической инженерии и способный передавать новые гены своему потомству;
 - (г) организм, в популяции которого много генетических вариантов.
69. Высших животных клонируют посредством:
- (а) генетического переноса хромосомы;
 - (б) соматического ядерного переноса;
 - (в) атомного деления ДНК;
 - (г) гаплоидного полимеразного распространения.
70. Гипотетическая смесь всех генов популяции называется:
- (а) тотальной хромосомной аккумуляцией (ТХА);
 - (б) ДНК-агломерацией (ДНК-АГГ);
 - (в) пулом генов;
 - (г) репродукционным ресурсом.
71. Популяция может находиться в генетическом равновесии только в условиях, описанных:
- (а) законом Гарди — Вайнберга;
 - (б) законом Уотсона — Крика;
 - (в) законом Гаксли — Дарвина;
 - (г) принципом МакКлинток — Моргана.
72. Большинство мутаций:
- (а) полезные;
 - (б) нейтральные;
 - (в) вредные;
 - (г) смертельные.
73. С генетической точки зрения, приток новых организмов в популяцию не считается миграцией, пока они:
- (а) не вступят в скрещивание с организмами существующей популяции и не произведут потомство;
 - (б) не построят домов;
 - (в) не вступят во взаимодействие с другими видами;
 - (г) не будут отделены от предыдущей популяции.
74. Систематика:
- (а) устанавливает физическое взаимоотношение хромосом и генов;
 - (б) исследует социальные взаимоотношения между мужчинами и женщинами;

Заключительный экзамен



- (в) устанавливает эволюционное родство между организмами;
 - (г) устанавливает симбиотическое родство между бактериями и животными.
75. Гомологи — это:
- (а) ДНК-последовательности у различных организмов, которые обладают общей функцией, но не имеют общего происхождения;
 - (б) ДНК-последовательности у различных организмов, которые имеют общее происхождение, но не обязательно выполняют одну и ту же функцию;
 - (в) ДНК-последовательности у одного организма, которые имеют одинаковую функцию, но различные последовательности оснований;
 - (г) ДНК-последовательности у одного организма со сходными последовательностями оснований, выполняющие совершенно разные функции.
76. У гетероморфных животных:
- (а) нет половых хромосом (пол определяется факторами внешней среды);
 - (б) две идентичные половые хромосомы (пол определяется случайно);
 - (в) две различные половые хромосомы;
 - (г) множество половых хромосом и множество полов.
77. Неполовые хромосомы называются:
- (а) моносомами;
 - (б) архосомами;
 - (в) аутосомами;
 - (г) феносомами.
78. Синдром Дауна представляет собой пример хромосомного отклонения, названного:
- (а) трисомия;
 - (б) моносомия;
 - (в) делеция;
 - (г) инверсия.



Заключительный экзамен

79. Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) используется при:
- (а) лечении рака;
 - (б) генетическом тестировании;
 - (в) увеличении плодовитости;
 - (г) разработке вакцин.
80. Американцы больше всего хотят поделиться результатами генетического тестирования с:
- (а) мужем, женой и партнером;
 - (б) близкими родственниками;
 - (в) страховой компанией;
 - (г) работодателем.

Ответы на контрольные вопросы и на вопросы заключительного экзамена

Глава 1

1.Б; 2.В; 3.Г; 4.Б; 5.В; 6.А; 7.Г; 8.Б; 9.Б; 10.В

Глава 2

1.В; 2.Г; 3.Б; 4.Г; 5.В; 6.А; 7.В; 8.Б; 9.Г; 10.А

Глава 3

1.В; 2.Б; 3.В; 4.В; 5.А; 6.Б; 7.А; 8.В; 9.Г; 10.Б

Глава 4

1.Г; 2.Б; 3.В; 4.Г; 5.Б; 6.А; 7.Г; 8.А; 9.Г; 10.А

Глава 5

1.Б; 2.В; 3.А; 4.Г; 5.В; 6.А; 7.В; 8.А; 9.Г; 10.Б

Глава 6

1.В; 2.А; 3.В; 4.Г; 5.А; 6.Б; 7.А; 8.В; 9.А; 10.В

Глава 7

1.Г; 2.В; 3.А; 4.Б; 5.В; 6.Б; 7.А; 8.В; 9.А; 10.Б

Глава 8

1.А; 2.С; 3.Б; 4.Г; 5.В; 6.В; 7.А; 8.Г; 9.Б; 10.В

Глава 9

1.А; 2.В; 3.Б; 4.Г; 5.Б; 6.В; 7.Б; 8.А; 9.Г; 10.Б

Глава 10

1.В; 2.Г; 3.Б; 4.Б; 5.А; 6.Б; 7.А; 8.С; 9.Г; 10.А



Ответы на контрольные вопросы

Глава 11

1.В; 2.Б; 3.А; 4.В; 5.Б; 6.Г; 2.В; 8.А; 9.В; 10.А

Глава 12

1.А; 2.Б; 3.Г; 4.А; 5.В; 6.А; 7.Б; 8.В; 9.Г; 10.Б

Глава 13

1.В; 2.А; 3.В; 4.Б; 5.А; 6.В; 7.А; 8.В; 9.А; 10.В

Глава 14

1.А; 2.Б; 3.В; 4.Г; 5.Б; 6.А; 7.Г; 8.А; 9.В; 10.Г

Заключительный экзамен

1.А; 2.В; 3.А; 4.Б; 5.В; 6.Г; 7.В; 8.Б; 9.А; 10.Б; 11.А; 12.А; 13.В;
14.А; 15.В; 16.А; 17.Б; 18.Г; 19.А; 20.Б; 21.Г; 22.А; 23.Г; 24.В; 25.А;
26.Г; 27.В; 28.Б; 29.А; 30.В; 31.Г; 32.Г; 33.В; 34.А; 35.Б; 36.А; 37.Г;
38.Б; 39.А; 40.Г; 41.В; 42.Г; 43.Б; 44.А; 45.Б; 46.А; 47.В; 48.А; 49.В;
50.Б; 51.А; 52.В; 53.Б; 54.А; 55.Б; 56.А; 57.Б; 58.В; 59.А; 60.А;
61.Г; 62.А; 63.Б; 64.В; 65.А; 66.Б; 67.А; 68.В; 69.Б; 70.В; 71.А;
72.В; 73.А; 74.В; 75.Б; 76.В; 77.Г; 78.А; 79.Б; 80.А

Предлагаемая дополнительная литература

Вот несколько книг, которые помогли мне написать этот учебник. Может быть, они окажутся полезными и вам!

1. Агол В.И., Богданов А.А., Гвоздев В.А. и др.; под ред. А.С. Спирина. Молекулярная биология: Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. — М.: Высшая школа, 1990.

2. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. — М.: Мир, 1987.

3. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. — М.: Мир, 1994.

4. Льюин Б. Гены. — М.: Мир, 1987. (Имеется онлайн-версия этого учебника: <http://www.genes.net>)

5. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. — СПб.: СПбГТУ, 1998, 2-е издание, перераб. и дополн.

6. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. — М.: Мир, 1998.

7. Энциклопедия. Современное естествознание. Том 8. Молекулярные основы биологических процессов. Под редакцией Ю.А. Владимирова. — М.: Магистр-Пресс, 2000.



Словарь терминов

При первом упоминании большинства терминов в этой книге приводятся их определения, а многие потом обсуждаются в деталях. Однако мы даем краткие определения некоторых наиболее важных терминов, которые вы можете встретить в этой книге и других справочниках по генетике, представленные в алфавитном порядке для быстрого поиска.

Активатор — белок, увеличивающий транскрипцию гена.

Аллель — один из вариантов какого-либо гена.

Антикодон — последовательность из трех оснований на молекуле транспортной РНК, комплементарная кодону аминокислоты, переносимой этой тРНК.

Аутосомы — неполовые хромосомы.

Бактериофаг — вирус, заражающий бактерию.

Библиотека — популяция идентичных векторов, каждый из которых несет различные ДНК, которые в совокупности представляют целый геном или определенную его часть.

Вектор — молекула ДНК, обычно вируса или плазмиды, которая способна соединяться с чужими фрагментами ДНК, а образующаяся ДНК может вводиться в клетку.

Вирион — полноценная вирусная частица с генетическим материалом и белковой оболочкой.

Выражение гена — процесс превращения информации, содержащейся в гене, в компонент клетки.

Гамета — гаплоидная половая клетка.

Гаплоид — клетка, имеющая одну копию каждой хромосомы, специфической для своего вида.

Ген — фрагмент ДНК или РНК, содержащий генетическую информацию.

Генетическая карта — графическая схема порядка, в котором гены расположены на хромосоме.

Генетический код — язык ДНК и РНК, в котором все слова складываются только из трех букв алфавита, состоящего всего из четырех букв. Каждое слово из трех букв, кодон, обозначает одну специфическую аминокислоту, начало или конец кодирующей последовательности.

Генотип — генетический план организма в отличие от фенотипа, представляющего совокупность физических признаков организма.

Гетерозиготный — состояние диплоидного генома, при котором на каждой из пары хромосом существуют различные аллели.

Гомозиготный — состояние диплоидного генома, при котором в каждой паре хромосом имеются две копии одного аллеля.

Гомологичный — содержащий одну и ту же последовательность генов (в хромосоме) или пар оснований (в ДНК).

Гормон — относительно маленькая белковая молекула, служащая сигналом для координации активности различных клеток и тканей в многоклеточном организме.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — основа наследственности, самореплицирующаяся молекула в форме двойной спирали, состоящая из двух сахарофосфатных остовов, соединенных вместе парами азотистых оснований.

Дикий тип — наиболее часто встречающийся в природе, то есть «нормальный» генотип или фенотип.

Диплоид — клетка, имеющая две копии каждой хромосомы, специфической для своего вида.

ДНК-полимераза — фермент, удлиняющий цепь ДНК посредством сборки последовательности из отдельных нуклеотидов и соединения их за счет спаривания оснований нуклеотидов с основаниями другой цепи ДНК.

ДНК-фингерпринт — картина фрагментов ДНК, полученных при разрезании определенных фрагментов генома специфическими ферментами, нуклеазами рестрикции, с последующим разделением полученных фрагментов электрофорезом в геле. Картина может быть уникальной для индивидуального организма или вида.

Зигота — диплоидная клетка, образовавшаяся в результате слияния мужской и женской половых клеток (гамет).

Интрон — часть гена, которая не кодирует никакого белка.

Капсид — белковая оболочка вирусной частицы.

Канцероген — мутаген, который способен превратить клетки в раковые.

Клада — любая определенная группа, члены которой обладают общими свойствами, отличающими их от нечленов группы; например, вид и его потомство.

Клетка — основная единица жизни, способная к росту и размножению.

Клон — любой организм (или колония организмов у бактерий), который является генетически идентичной копией оригинала.



Кодирующий участок — отрезок ДНК или РНК, содержащий последовательность кодонов, которые могут быть транслированы в цепочку полипептида.

Кодон — три следующих друг за другом нуклеотида в цепи ДНК или РНК, которые обозначают определенную аминокислоту или начало и окончание кодирующего участка.

Комплементарный — основания, которые могут спариваться друг с другом.

Комплементарная ДНК (кДНК) — цепь ДНК, образованная путем копирования цепи РНК ферментом, называемым обратной транскриптазой.

Конъюгация — передача ДНК от одной бактерии другой при контакте двух бактерий.

Лизогенный цикл (лизогения) — цикл развития вируса, который не убивает хозяйскую клетку, но изменяет так, что она постоянно продуцирует вирус.

Литический цикл (лизис) — цикл развития вируса, который быстро убивает хозяйскую клетку, приводя к ее лизису — разрыву, при котором освобождается большое количество копий вируса в окружающую клетку среду.

Матричная, или информационная, РНК (мРНК) — одонитевая цепь РНК, которая может транслироваться в белок.

Мейоз — процесс сортировки хромосом при делении клетки, приводящей к образованию новых гаплоидных половых клеток.

Метастазы — распространение раковых клеток из одной части тела в другую.

Митоз — процесс сортировки хромосом при делении клетки, приводящий к образованию новых диплоидных соматических клеток.

Митохондрия — органелла, играющая жизненно важную роль в клеточном метаболизме, имеющая собственную ДНК и способная к полуавтономному размножению.

Мутация — любое изменение структуры ДНК клетки, передаваемое потомству.

Неоплазма — группа клеток (опухоль), растущих бесконтрольно, которую называют доброкачественной, если клетки не метастазируют, или злокачественной в противном случае.

Нуклеотиды — основные кирпичики, из которых строятся ДНК и РНК.

Онкоген — измененный ген, который может вызвать превращение клетки в раковую.



Основания — части нуклеиновой кислоты, обеспечивающие специфичность ДНК (или РНК) молекулы. Четыре основания в ДНК — аденин (А), тимин (Т), гуанин (Г) и цитозин (Ц). Вместо тимина в РНК содержится урацил (У).

Органеллы — маленькие структуры внутри клетки, выполняющие специализированные функции в клетке.

Ори — точка в цепи ДНК, с которой начинается репликация.

Плаزمид — кольцо двунитевой ДНК в клетке, которое реплицируется независимо от ДНК хромосомы клетки.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — методика продукции большого количества копий фрагмента ДНК без его клонирования.

Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) — различие в величинах фрагментов, полученных в результате разрезания одного и того же участка генома нуклеазой рестрикции.

Полипептид — молекула, образующаяся при соединении в цепочку большого количества (обычно 20 или более) аминокислот.

Половые клетки — клетки, соединяющиеся, чтобы дать начало новому многоклеточному организму, например сперматозоид и яйцеклетка у животных, яйцеклетка и пыльца у растений.

Проба — фрагмент ДНК или РНК, меченный радиоактивной меткой (или другой легко определяемой молекулой), используемый для определения комплементарных последовательностей нуклеиновых кислот в библиотеках.

Прокариоты — одноклеточные организмы, не имеющие ядра, например бактерии.

Промотор — последовательность ДНК, необходимая для начала транскрипции.

Протоонкогены — нормальные варианты генов, которые в измененной форме иногда вызывают рак.

Равновесная популяция — популяция, у которой частоты аллелей в пуле генов не меняются в ряду поколений.

Рекомбинантная ДНК — молекула ДНК, образованная в лабораторных условиях посредством сборки фрагментов ДНК из различных источников, биологических или синтетических.

Репрессор — белок, прекращающий транскрипцию гена за счет связывания со специфической последовательностью ДНК.

Рестрикции нуклеаза — фермент, расщепляющий молекулу ДНК по специфической последовательности.

Рестрикции сайт — специфическая последовательность, по которой нуклеаза рестрикции расщепляет молекулу ДНК.



Рибонуклеиновая кислота (РНК) — сходная с ДНК, однако в остове вместо дезоксирибозы имеет сахар рибозу, а основание урацил — вместо тимина в ДНК.

Рибосомы — частицы, построенные из РНК и белка, которые собирают аминокислоты в полипептиды на основе РНК-матрицы.

РНК-полимераза — фермент, удлиняющий цепь РНК, собирая ее из отдельных нуклеотидов по комплементарной нити ДНК в качестве матрицы.

Сдвиг рамки — тип мутаций, при которых выпадение пары оснований приводит к неправильному считыванию последующих кодонов.

Соматические клетки — все клетки тела, кроме половых клеток.

Соматический ядерный перенос — методика, используемая при клонировании высших животных, заключающаяся во введении ядра соматической клетки в яйцеклетку, из которой ядро удалено.

Стартовые и стоп-кодоны — кодоны, отмечающие начало и конец транслируемой последовательности ДНК.

Сцепленные с полом признаки — признаки, гены которых расположены на одной из половых хромосом, у видов с двумя половыми хромосомами.

Теломера — конец хромосомы.

Точковая мутация — мутация, изменяющая одну пару оснований в последовательности ДНК или РНК.

Трансдукция — введение бактериофагом чужеродной ДНК в бактерию.

Трансгенный — организм, геном которого изменен посредством введения в него новых последовательностей ДНК, способный передавать эти генетические изменения потомству.

Транскрипция — процесс, при котором РНК-полимераза синтезирует цепь РНК, комплементарную ДНК-матрице.

Трансляция — процесс, в результате которого последовательность кодонов мРНК переводится в специфическую последовательность аминокислот в полипептиде.

Транспозирующиеся элементы — фрагменты ДНК, которые могут перемещаться из одного места генома в другое; их еще называют транспозонами, мобильными элементами или «прыгающими генами».

Транспортная РНК (тРНК) — маленькие цепочки РНК, каждая из которых способна соединяться со специфической аминокислотой



и так же несет три последовательных нуклеотида, комплементарных кодону этой аминокислоты.

Трансформация — постоянное и наследуемое изменение свойств клетки, вызванное мутацией или встраиванием новой последовательности ДНК.

Фенотип — физическое выражение генетического плана организма (генотипа).

Фермент — белок, действующий в качестве катализатора химической реакции в клетке; он ускоряет химические реакции, но сам в них не изменяется.

Хроматин — субстанция, состоящая из свернутой конденсированной двунитевой ДНК, связанной с различными специфическими белками; субстанция, из которой состоят хромосомы.

Хромосомы — структуры в клеточном ядре, состоящие из плотно сконденсированной ДНК, хранящей закодированную генетическую информацию, и связанных с ней белков.

Цитоплазма — весь клеточный материал, заключенный в клеточную мембрану, за исключением ядра.

Экзон — часть гена, сохраняющаяся в функциональной РНК и содержащая последовательности, кодирующие полипептид.

Эписома — генетические элементы у бактерий, которые могут реплицироваться независимо от бактериальной хромосомы или прикрепляться к хромосоме и реплицироваться вместе с ней.

Эукариоты — организмы, клетка которых содержит ядро.

Ядро — заключенная в мембрану органелла, которая содержит хромосомы, внутри эукариотической клетки.