

## Chapte 3: **Biomolecular Principles:**

### **Nucleic Acids**

#### Розділ 3. **Biomolecular Principles**

#### **Основи біохімії та молекулярної біології: Нуклеїнові кислоти**

#### КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Поясніть, чому синтез ДНК та РНК відбувається тільки у напрямку  $5' \rightarrow 3'$ .
2. Що таке плазміда? Яким чином вона використовується як вектор і в чому полягає значущість процесу?
3. Як з послідовностей нижче притаманна молекулі ДНК, а яка РНК?  
Обґрунтуйте вашу відповідь.
  - а) . . . CGCAGAAGGCAA. . .
  - б) . . . CGCTCTTCG . . .
4. Вкажіть кількість нуклеотидів у послідовностях а) та б) у питанні №3.
5. Наведена послідовність із ланцюга ДНК, що транскрибується. Побудуйте послідовність у ланцюгу, що не транскрибується.  
. . . GGGGATGCGAAA. . .
6. Поясніть, на чому ґрунтується метод електрофорезу у гелі і як він використовується для розділу молекули ДНК на фрагменти.
7. Як ви вважаєте, чому доцільно складати генетичні карти геному людини?  
Як їх можна використовувати?

8. Опишіть, як у деяких випадках один і той самий ген можна піддаватися спрайсингу у різний спосіб. У чому полягають переваги альтернативного спрайсингу?

9. Опишіть механізм реплікації ДНК. Що таке фрагменти Оказакі? Яким чином вони формується і як корегується склад нової молекули ДНК?

## КОНТРОЛЬНІ ЗАВДАННЯ

1. Впишіть відсутні літери.

Ланцюг ДНК, що не транскрибується	T G T _ _ _ _ G T
Ланцюг ДНК, що транскрибується	_ _ A C _ _ G _ _
Матрична РНК	U _ _ _ C A _ _ _

Відповідь

Ланцюг ДНК, що не транскрибується	T G T G C A C G T
Ланцюг ДНК, що транскрибується	A C A C G T G C A
Матрична РНК	U G U G C A C G U

2. Напишіть послідовність нуклеотидів, яка кодує наданий ген.

3' C A G G T A C T T G C C A A A T C G G T A C A T C 5'

3. Ланцюг ДНК зазнав мутації внаслідок похибки під час реплікації.

Послідовність перед реплікацією:

3' -C-T-T-A-C-A-T-G-C-G-A-T-G-T-C-C-G-G-G-T-A-C-T-G-5'

Після реплікації нуклеотид G (восьмий, рахуючи з 5'-кінця) зник з нового ланцюга:

3' -C-T-T-A-C-A-T-G-C-G-A-T-G-T-C-C-\*-G-G-T-A-C-T-G-5'

Напишіть послідовність нуклеотидів у матричній РНК. Надайте послідовність нормальної та мутованої мРНК, виділіть зміни, які відбулися через мутацію.

4. Для того, щоб належним чином проаналізувати зразок ДНК, потрібно мати щонайменше 1 мг речовини, що досліджується.

Вхідні умови: проводиться 30 циклів ПЛР, молекулярна маса однієї пари основ близько 660 г/бр (або 330 г/бр для одноланцюгової ДНК), де бр – це пара основ.

Завдання.

- а) Приблизно розрахуйте, скільки молекул ДНК потрібно отримати в результаті проведення ПЛР, щоб отримати зразок достатній для дослідження маси (вихідний фрагмент ланцюгу ДНК складається із 10000 нуклеотидів).
- б) Запропонуйте спосіб підвищення чутливості методу – тобто яким чином можна реплікувати ДНК із фрагменту ланцюга меншої довжини.

5. У порівнянні з дріжджами або бактеріями, людина має значно більшу кількість некодуєчої ДНК у генетичному коді. Геном людини складається близько з 3-ох мільярдів пар основ ДНК. Порівняйте це зі звичайною бактерією, у якої тільки 3 мільйони, або із дріжджами (найпростішими еукаріотами), які мають 14 мільйонів.

Завдання.

Використовуючи дані з Таблиці 1, для кожного типу клітин виконайте наступне:

- а) розрахуйте щільність генів у геномі (відношення кількості генів на пару основ);
- б) визначте співвідношення генів у геномі, які кодують синтез білків, тобто містять генетичну інформацію;
- в) поясніть, чому вищі організми мають більш складні білки, та інше співвідношення кодуєчої частки геному.

Таблиця 1.

	Людина	Дріжджі	Бактерії
Кількість генів у геномі	100000	6000	3500
Кількість пар основ у гені	3000	1200	1100

6. Розгляньте матричну РНК з наступною послідовністю нуклеотидів:

5'-G-C-A-U-G-G-A-C-C-C-G-U-U-A-U-U-A-A-A-C-A-C-A-C-3'

Завдання.

а) Визначте послідовність амінокислот у пептиді, яку кодує наданий ланцюг РНК.

б) Визначте послідовність основ у ланцюгові ДНК, який передує наданій послідовності у РНК.

7. Звичайна хромосома складається зі 100 000 000 основ; швидкість реплікації – 200 основ у секунду.

Розрахуйте, скільки потрібно вихідних точок реплікації для того, щоб реплікувати дану хромосому за 8 годин.

⓪ **Увага!** Для правильної відповіді ретельно розгляньте процес реплікації.

8. Транспортна РНК для синтезу фенілаланіну містить тринуклеотидний антикодон ААА. Визначте, з яких основ складається відповідний кодон матричної РНК.

9. Тринуклеотидний кодон у ланцюгові, що не транскрибується, складається із послідовності САТ. Визначте відповідний антикодон транспортної РНК.

10. У процесі трансляції матричної РНК беруть участь не всі основи. Наприклад, кодон AUG може бути як стартовим кодоном, так і кодоном синтезу метіоніну.

Визначте послідовність амінокислот у пептидному ланцюгові, яку кодує наступна послідовність ДНК:

TGCTACGTGGATATTGGG

Генетичний код (таблиця трансляції) наведений у Таблиці 2.

Таблиця 2.

		SECOND LETTER				
		U	C	A	G	
FIRST LETTER	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } Stop UAG } Stop	UGU } Cys UGC } UGA } Stop UGG } Trp	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gin CAG }	CGU } CGC } Pro CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

11. Кільцева ДНК (така, як плазміда) була розщеплена трьома різними ендонуклеазами рестрикції, далі довжина фрагментів була визначена методом електрофорезу у гелі (див. Таблицю 4).

Таблиця 4

Ендонуклеаза	Довжина фрагменту рестрикції (1 000 основ)
<i>EcoRI</i>	13, 2
<i>BamHI</i>	15
<i>HindIII</i>	8, 7
<i>EcoRI</i> + <i>BamHI</i>	8, 5, 2
<i>EcoRI</i> + <i>HindIII</i>	7, 5, 2, 1
<i>BamHI</i> + <i>HindIII</i>	8, 4, 3

Завдання.

- Визначте довжину кільцевої ДНК.
- Складіть карту кільцевої ДНК із зазначенням розташування центрів розщеплення ДНК для ендонуклеаз *EcoRI*, *HindIII*, *BamHI* та визначте відстань між центрами.

12. В результаті досліджень груп крові у популяції був виявлений наступний розподіл генотипу: 1050 MM, 1423 MN, 502 NN.

Завдання.

- а) Розрахуйте частотність алелей M та N.
- б) Визначте частоту трьох генотипів, припускаючи, що спарювання є випадковим.

13. У США один з 1700 новонароджених європеїдної раси має муковісцидоз.

Алель C – домінуючий алель здорової людини, алель c – алель муковісцидозу.

Завдання.

- а) Розрахуйте, який відсоток популяції має муковісцидоз.
- б) Складіть решітку Пеннета для можливих комбінацій алелів.
- в) Розрахуйте частотність, з якою зустрічаються носії всіх можливих генотипів. Використовуйте отриману решітку Пеннета та припускайте, що розподіл частот у популяції підпорядковується закону Харді-Вайнберга.

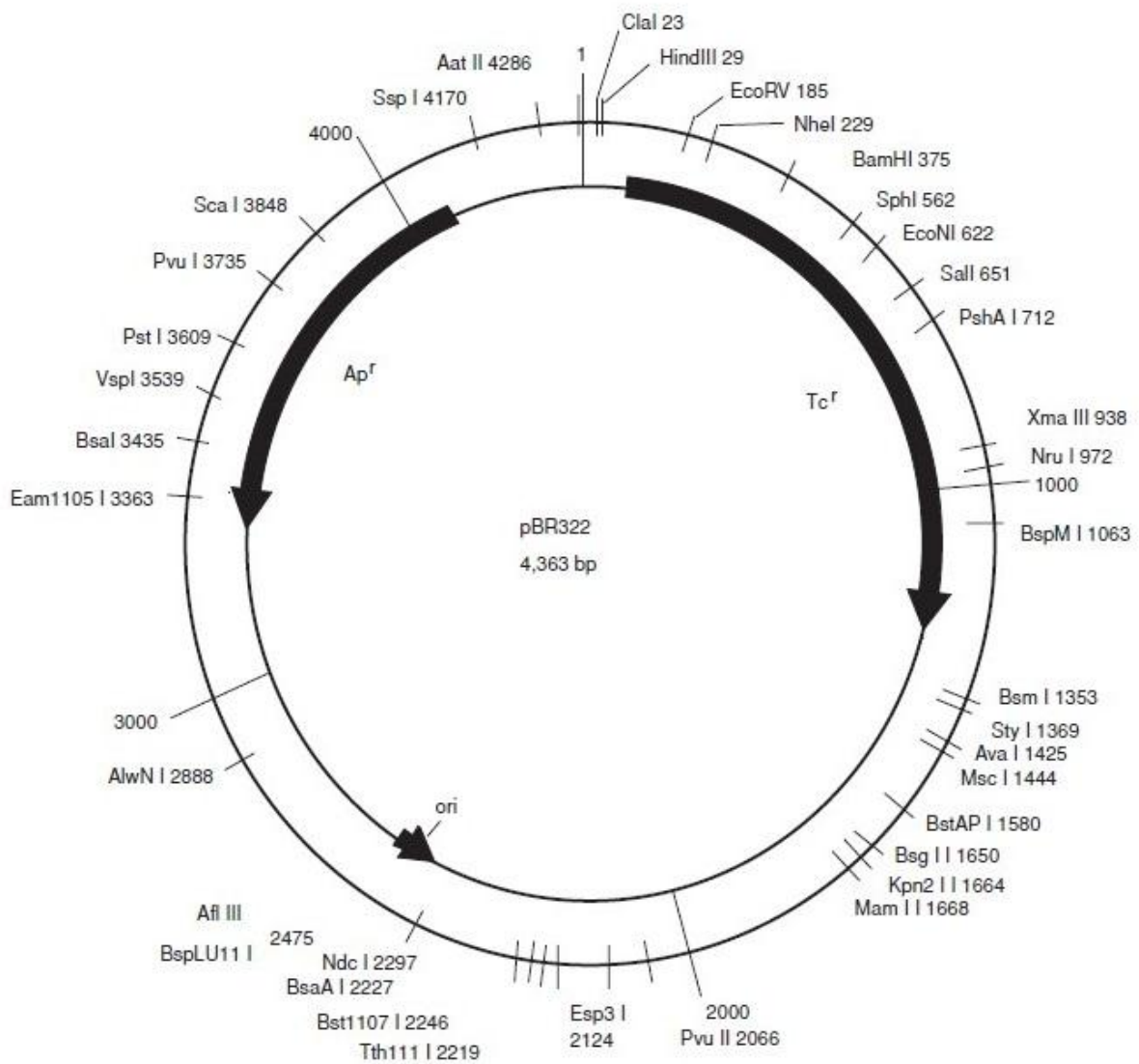
⓪ Спочатку визначіть  $q$ .

- г) Розрахуйте кількість здорових гомозигот.
- д) Розрахуйте кількість носіїв гену муковісцидозу (гетерозигот).

14. Популяція складається з 1000 індивідів, з яких 250 проявляють рецесивний фенотип. Розрахуйте частотність алелей (A – домінуючий, a – рецесивний) за рівнянням Харді-Вайнберга.

15. Карта плазмід рBR322 (яку поставляє на ринок компанія *Invitrogen*) наведена на рис. 1. Плазміда складається з 4363 пар основ, які наведена нижче у таблиці 5. Для виконання завдань використовуйте виключно інформацію з цього підручника.

Рисунок 1. Карта плазміди pBR322

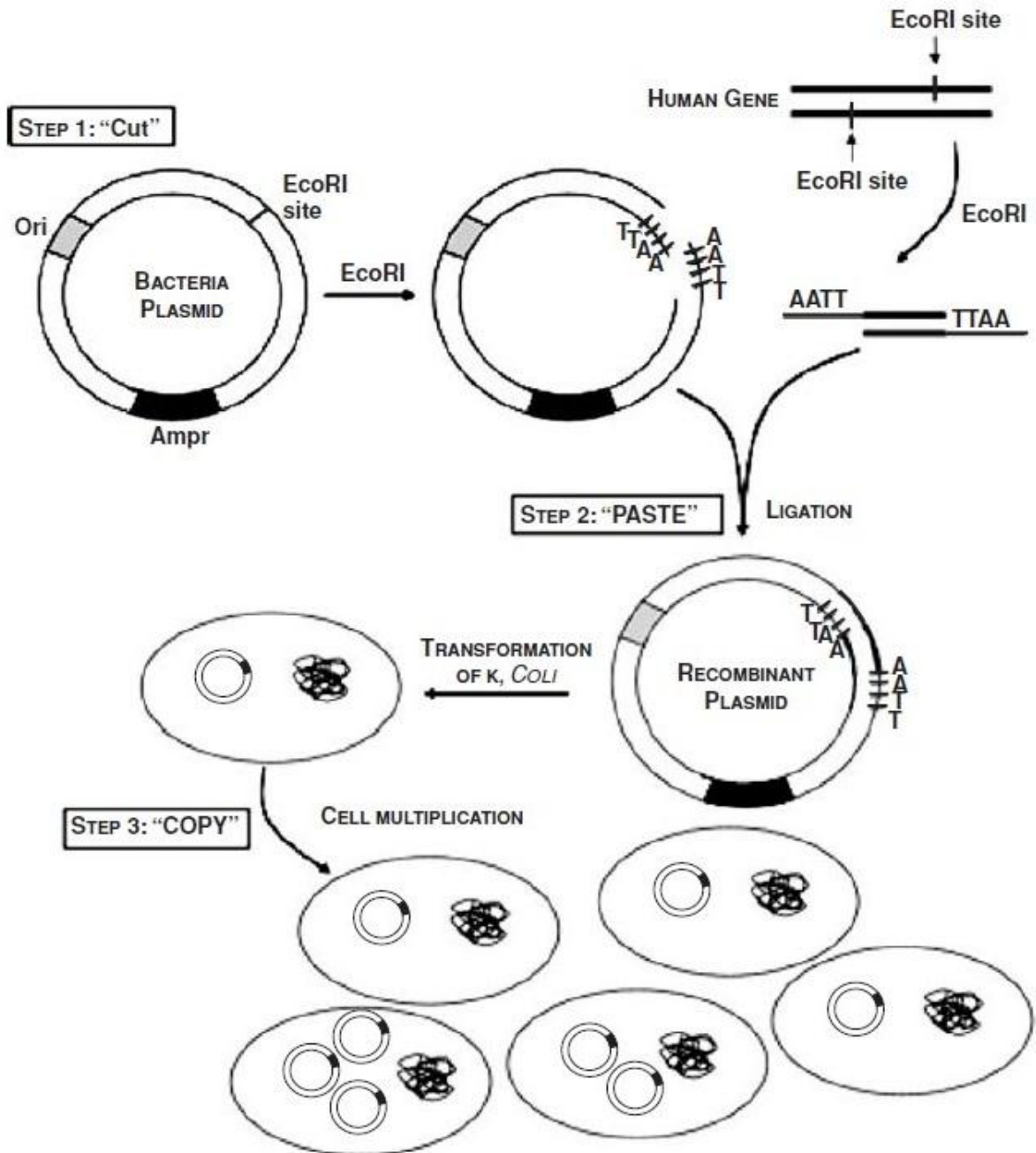


- Ендонуклеаза рестрикції *HindIII* розщеплює плазмиду тільки в одному центрі (№ 29 на карті). Визначите, яку послідовність основ розпізнає ендонуклеаза.
- Визначте ендонуклеазу рестрикції, яка розщеплює плазмиду виключно в одному центрі та розщеплює ген, який відповідає за резистентність до тетрацикліну (Tc<sup>r</sup>), але не розщеплює ген резистентності до ампіциліну (Ap<sup>r</sup>). Визначте послідовність, яку розпізнає ендонуклеаза. Оцініть можливу корисність використання цієї ендонуклеази для клонування.
- Визначте послідовність амінокислот у пептиді Tc<sup>r</sup>. Користуйтеся рис. 2, на якому наведений процес клонування ДНК за допомогою плазмиди та



таблицю 5. Беріть до уваги розташування гену резистентності до тетрацикліну (Tcr), також враховуйте, що пептидний ланцюг починається з стартового кодону (AUG) та закінчується термінальним кодомом (UAA, UGA, або UAG).

Рисунок 2. Клонування ДНК за допомогою плазміди



Таблиця 5. Основи плазміди pBR322

ОСНОВИ	Номер позиції
TTCTCATGTT TGACAGCTTA TCATCGATAA GCTTTAATGC GGTAGTTTAT CACAGTTAAA	60
TTGCTAACGC AGTCAGGCAC CGTGTATGAA ATCTAACAAT GCGCTCATCG TCATCCTCGG	120
CACCGTCACC CTGGATGCTG TAGGCATAGG CTTGGTTATG CCGGTACTGC CGGGCCTCTT	180
GCGGGATATC GTCCATTCCG ACAGCATCGC CAGTCACTAT GGCGTGCTGC TAGCGCTATA	240
TGCGTTGATG CAATTTCTAT GCGCACCCGT TCTCGGAGCA CTGTCCGACC GCTTTGGCCG	300
CCGCCAGTC CTGCTCGCTT CGCTACTTGG AGCCAТATC GACTACGCGA TCATGGCGAC	360
CACACCCGTC CTGTGGATCC TCTACGCCGG ACGCATCGTG GCCGGCATCA CCGGCGCCAC	420
AGGTGCGGTT GCTGGCGCCT ATATCGCCGA CATCACCGAT GGGGAAGATC GGGCTCGCCA	480
CTTCGGGCTC ATGAGCGCTT GTTTCGGCGT GGGTATGGTG GCAGGCCCCG TGGCCGGGGG	540
ACTGTTGGGC GCCATCTCCT TGCATGCACC ATTCCTTGCG GCGGCGGTGC TCAACGGCCT	600
CAACCTACTA CTGGGCTGCT TCCTAATGCA GGAGTCGCAT AAGGGAGAGC GTCGACCGAT	660
GCCCTTGAGA GCCTTCAACC CAGTCAGCTC CTTCCGGTGG GCGCGGGGCA TGAТATCGT	720
CGCCGCACTT ATGACTGTCT TCTTTATCAT GCAACTCGTA GGACAGGTGC CGGCAGCGCT	780

CTGGGTCATT TTCGGCGAGG ACCGCTTTCG CTGGAGCGCG ACGATGATCG GCCTGTCGCT	840
TGCGGTATTC GGAATCTTGC ACGCCCTCGC TCAAGCCTTC GTCACTGGTC CCGCCACCAA	900
ACGTTTCGGC GAGAAGCAGG CCATTATCGC CGGCATGGCG GCCGACGCGC TGGGCTACGT	960
CTTGCTGGCG TTCGCGACGC GAGGCTGGAT GGCCTTCCCC ATTATGATTC TTCTCGCTTC	1020
CGGCGGCATC GGGATGCCCG CGTTGCAGGC CATGCTGTCC AGGCAGGTAG ATGACGACCA	1080
TCAGGGACAG CTTCAAGGAT CGCTCGCGGC TCTTACCAGC CTAACTTCGA TCACTGGACC	1140
GCTGATCGTC ACGGCGATTT ATGCCGCCTC GGCGAGCACA TGGAACGGGT TGGCATGGAT	1200
TGTAGGCGCC GCCCTATACC TTGTCTGCCT CCCC GCGTTG CGTCGCGGTG CATGGAGCCG	1260
GGCCACCTCG ACCTGAATGG AAGCCGGCGG CACCTCGCTA ACGGATTCAC CACTCCAAGA	1320
ATTGGAGCCA ATCAATTCTT GCGGAGAACT GTGAATGCGC AAACCAACCC TTGGCAGAAC	1380
ATATCCATCG CGTCCGCCAT CTCCAGCAGC CGCACGCGGC GCATCTCGGG CAGCGTTGGG	1440
TCCTGGCCAC GGGTGCGCAT GATCGTGCTC CTGTCGTTGA GGACCCGGCT AGGCTGGCGG	1500
GGTTGCCTTA CTGGTTAGCA GAATGAATCA CCGATACGCG AGCGAACGTG AAGCGACTGC	1560
TGCTGCAAAA CGTCTGCGAC CTGAGCAACA ACATGAATGG TCTTCGGTTT CCGTGTTTCG	1620

TAAAGTCTGG AAACGCGGAA GTCAGCGCCC TGCACCATTA TGTTCCGGAT CTGCATCGCA	1680
GGATGCTGCT GGCTACCCTG TGGAACACCT ACATCTGTAT TAACGAAGCG CTGGCATTGA	1740
CCCTGAGTGA TTTTCTCTG GTCCCGCCGC ATCCATACCG CCAGTTGTTT ACCCTCACAA	1800
CGTTCCAGTA ACCGGGCATG TTCATCATCA GTAACCCGTA TCGTGAGCAT CCTCTCTCGT	1860
TTCATCGGTA TCATTACCCC CATGAACAGA AATTCCCCCT TACACGGAGG CATCAAGTGA	1920
CCAAACAGGA AAAAACCGCC CTTAACATGG CCCGCTTTAT CAGAAGCCAG ACATTAACGC	1980
TTCTGGAGAA ACTCAACGAG CTGGACGCGG ATGAACAGGC AGACATCTGT GAATCGCTTC	2040
ACGACCACGC TGATGAGCTT TACCGCAGCT GCCTCGCGCG TTTCGGTGAT GACGGTGAAA	2100
ACCTCTGACA CATGCAGCTC CCGGAGACGG TCACAGCTTG TCTGTAAGCG GATGCCGGGA	2160
GCAGACAAGC CCGTCAGGGC GCGTCAGCGG GTGTTGGCGG GTGTCGGGGC GCAGCCATGA	2220
CCCAGTCACG TAGCGATAGC GGAGTGTATA CTGGCTTAAC TATGCGGCAT CAGAGCAGAT	2280
TGTACTGAGA GTGCACCATA TGCGGTGTGA AATACCGCAC AGATGCGTAA GGAGAAAATA	2340
CCGCATCAGG CGCTCTCCG CTCCTCGCT CACTGACTCG CTGCGCTCGG TCGTTCGGCT	2400
GCGGCGAGCG GTATCAGCTC ACTCAAAGGC GGTAATACGG TTATCCACAG AATCAGGGGA	2460

TAACGCAGGA AAGAACATGT GAGCAAAAGG CCAGCAAAAG GCCAGGAACC GTAAAAAGGC	2520
CGCGTTGCTG GCGTTTTTCC ATAGGCTCCG CCCCCCTGAC GAGCATCACA AAAATCGACG	2580
CTCAAGTCAG AGGTGGCGAA ACCCGACAGG ACTATAAAGA TACCAGGCGT TTCCCCCTGG	2640
AAGCTCCCTC GTGCGCTCTC CTGTTCCGAC CCTGCCGCTT ACCGGATACC TGTCCGCCTT	2700
TCTCCCTTCG GGAAGCGTGG CGCTTTCTCA TAGCTCACGC TGTAGGTATC TCAGTTCGGT	2760
GTAGGTCGTT CGCTCCAAGC TGGGCTGTGT GCACGAACCC CCCGTTCAGC CCGACCGCTG	2820
CGCCTTATCC GGTA ACTATC GTCTTGAGTC CAACCCGGTA AGACACGACT TATCGCCACT	2880
GGCAGCAGCC ACTGGTAACA GGATTAGCAG AGCGAGGTAT GTAGGCGGTG CTACAGAGTT	2940
CTTGAAGTGG TGGCCTAACT ACGGCTACAC TAGAAGGACA GTATTTGGTA TCTGCGCTCT	3000
GCTGAAGCCA GTTACCTTCG GAAAAAGAGT TGGTAGCTCT TGATCCGGCA AACAAACCAC	3060
CGCTGGTAGC GGTGGTTTTT TTGTTTGCAA GCAGCAGATT ACGCGCAGAA AAAAAGGATC	3120
TCAAGAAGAT CCTTTGATCT TTTCTACGGG GTCTGACGCT CAGTGGAACG AAAACTCACG	3180
TTAAGGGATT TTGGTCATGA GATTATCAAA AAGGATCTTC ACCTAGATCC TTTTAAATTA	3240

AAAATGAAGT TTAAATCAA TCTAAAGTAT ATATGAGTAA ACTTGGTCTG ACAGTTACCA	3300
ATGCTTAATC AGTGAGGCAC CTATCTCAGC GATCTGTCTA TTTCGTTTCAT CCATAGTTGC	3360
CTGACTCCCC GTCGTGTAGA TAACTACGAT ACGGGAGGGC TTACCATCTG GCCCCAGTGC	3420
TGCAATGATA CCGCGAGACC CACGCTCACC GGCTCCAGAT TTATCAGCAA TAAACCAGCC	3480
AGCCGGAAGG GCCGAGCGCA GAAGTGGTCC TGCAACTTTA TCCGCCTCCA TCCAGTCTAT	3540
TAATTGTTGC CGGGAAGCTA GAGTAAGTAG TTCGCCAGTT AATAGTTTGC GCAACGTTGT	3600
TGCCATTGCT GCAGGCATCG TGGTGTCACG CTCGTCGTTT GGTATGGCTT CATTAGCTC	3660
CGGTTCCCAA CGATCAAGGC GAGTTACATG ATCCCCCATG TTGTGCAAAA AAGCGGTTAG	3720
CTCCTTCGGT CCTCCGATCG TTGTCAGAAG TAAGTTGGCC GCAGTGTTAT CACTCATGGT	3780
TATGGCAGCA CTGCATAATT CTCTTACTGT CATGCCATCC GTAAGATGCT TTTCTGTGAC	3840
TGGTGAGTAC TCAACCAAGT CATTCTGAGA ATAGTGTATG CGGCGACCGA GTTGCTCTTG	3900
CCCGGCGTCA ACACGGGATA ATACCGCGCC ACATAGCAGA ACTTTAAAAG TGCTCATCAT	3960
TGGAAAACGT TCTTCGGGGC GAAAACTCTC AAGGATCTTA CCGCTGTTGA GATCCAGTTC	4020
GATGTAACCC ACTCGTGCAC CCAACTGATC TTCAGCATCT TTTACTTTCA CCAGCGTTTC	4080

TGGGTGAGCA            AAAACAGGAA            GGCAAAATGC CGCAAAAAG GGAATAAGGG CGACACGGAA	4140
ATGTTGAATA CTCATACTCT TCCTTTTCA ATATTATTGA AGCATTTATC AGGGTTATTG	4200
TCTCATGAGC GGATACATAT TTGAATGTAT TTAGAAAAT AAACAAATAG GGGTTCCGCG	4260
CACATTTCCC CGAAAAGTGC CACCTGACGT CTAAGAAACC ATTATTATCA TGACATTAAC	4320
CTATAAAAAT AGGCGTATCA CGAGGCCCTT TCGTCTTCAA GAA	4363