ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ

УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, МЕХАНИКИ И ОПТИКИ

ИНСТИТУТ ХОЛОДА И БИОТЕХНОЛОГИЙ

Кафедра органической, физической, биологической химии и микробиологии

Основы Генетической инженерии

Контрольная работа

Студентки 5 курса ФЗОиЭ

Ефимовой Анастасии

Санкт-Петербург, 2014

Задание 1. Выберите и запишите в таблицу соответствующие термины, отметив знаком «+» принадлежность к генетическому аппарату прокариот и/или эукариот: оперон, репликация, транскрипция, экзон, промотор, энхансер сайленсер, оператор, репрессор, активатор, сплайсинг, интрон, праймер, альтернативный сплайсинг, ген, геном, индуктор, кодон, процессинг, репликатор.

Таблица 1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Определение |  Термин | Генетический аппарат |
|  |  | прокариот | эукариот |
| 1.Регуляторный участок ДНК, усиливающий транскрипцию ближайшего гена в десятки и сотни раз.  | энхансер |  | + |
| 2.Некодирующие последовательности генов (не представлены в мРНК) | интрон |  | + |
| 3.Низкомолекулярное вещество, которое предотвращает связывание репрессора с операторной областью и возобновляет транскрипцию. | индуктор | + | + |
| 4.Нуклеотидная последовательность, в которой закодировано несколько белков, обычно контролирующих родственные функции. | оперон | + |  |

Задание 2. Дополните недостающую информацию

1. Делеция - это тип хромосомной перестройки, в результате которой выпадает участок генетического материала.
2. Совокупность совместно транскрибируемых генов, обычно контролирующих родственные функции в клетках прокариот называется опероном.

Задание 3. Опишите основные положения сплайсинга. Приведите схему процесса

Сплайсинг - удаление из молекулы РНК нитронов (участков РНК, которые практически не несут генетич. информации) и соединение оставшихся участков, несущих генетич. информацию (экзонов), в одну молекулу.

Сплайсинг - один из этапов образования функциональноактивных молекул РНК (процессинг РНК) из их предшественников, к-рый осуществляется после завершения транскрипции (синтез РНК на ДНК-матрице). В результате удаления каждого интрона происходит разрыв двух фосфодиэфирных связей с последующим образованием одной новой (см. Нуклеиновые кислоты).

Сплайсингу подвергаются предшественники подавляющего большинства матричных РНК (пре-м РНК), а также нек-рых транспортных и рибосомных РНК (соотв. пре-т РНК и пре-р РНК). Сплайсинг характерен для РНК эукариот (все организмы, за исключением бактерий и синезеленых водорослей); известны также случаи сплайсинга РНК бактериофагов.

Механизмы сплайсинга у разл. классов РНК различаются между собой. Для всех них характерна точность удаления интронов и соединения экзонов. Специфичность удаления единств. интрона, если он имеется в пре-т РНК, обеспечивается ее трехмерной структурой. Эндонуклеаза, ассоциированная с ядерной мембраной, с участием др.ферментов расщепляет предшественник на участках (сайтах) по краям интрона с образованием на концах экзонов2',3'-циклофосфатного и 5'-гидроксильного концов (рис. 1). Соединение этих концов осуществляется в неск. стадий: у растений и дрожжей фосфорилирование 5'-конца в месте разрыва молекулы, превращение 2',3'-циклофосфата в 2'-фосфат и образование 3',5 '-фосфодиэфирной связи с участием остатка фосфорной к-ты из АТФ (левая часть рис.); у позвоночных механизм сплайсинга пре-тРНК не включает фосфорилирование экзонов в месте разрыва (правая часть рис.; на схеме указаны ферменты, катализирующие осн. этапы сплайсинга).

Сплайсинг нек-рых пре-р РНК происходит автокаталитически (аутосплайсинг, самосплайсинг). В этом случаекатализатор процесса - удаляемая интронная последовательность (рибо-зим). При этом сплайсинг осуществляется в результате серии после-доват. р-ций, включающих превращение одного фосфоэфира в другой без промежут. гидролиза фосфодиэфирных связей и использования энергии извне. Р-ция происходит в присут. Одновалентных катионов, Mg2+ и гуанозинового кофактора (гуанозинового нуклеотида или самого гуанозина), к-рый инициирует серию превращений - высвобождение интрона, соединение двух экзонов, а также циклизацию интрона (при этом гуанозиновый кофактор регенерируется).

Рис. 1. Механизм сплайсинга пре-т РНК; W, X, Y, Z-пуриновые или пиримидиновые основания; АДФ, АМФ, РР и P-соотв. аденозиндифосфат, аде-нозинмонофосфат, пирофосфорная к-та и остаток фосфорной к-ты.

Самосплайсинг происходит у пре-р РНК простейших (напр., у тетрахимоны) и ряда пре-мРНК митохондрий низших грибов и нек-рых др. пре-РНК, у к-рых интроны содержат консервативные последовательности, что обусловливает образование определенных вторичной и третичной структур.

Установлено участие при удалении ряда интронов мито-хондриальных пре-мРНК у низших грибов особых белков-матюраз, к-рые кодируются частично нитронами, частично экзонами. Роль матюраз, как и нек-рых др. белков, сводится, по-видимому, к фиксации конформации интрона, необходимой для осуществления им каталитич. ф-ции.

Сплайсинг пре-м РНК, находящихся в ядре, происходит в составе специфич. нуклеопротеидных частицах (сплайсомах). Обычно сплайсингу подвергается кэпированная полиаденилированная линейная пре-м РНК. К.-л. строгого порядка для удаления множественных интронов из пре-мРНК не наблюдается, хотя удаление однихинтронов может происходить быстрее, чем других. Сплайсинг происходит исключительно в ядре; несплайсированная РНК остается в ядре и деградирует. Однако если пре-м РНК содержит интрон, к-рый может участвовать в альтернативном пути сплайсинга (см. ниже), то она м. б. транспортирована в цитоплазму.

Сплайсинг ядерных пре-мРНК происходит обычно по границам интронов, к-рые содержат на концах динуклеотиды 5'-GU и AG-3' (A, G и U-соотв. остатки аденозина, гуанозина и уридина; правило Шамбона). Известно только неск. исключений, когда вместо GU расположен динуклеотид GC (С-остаток цитидина). Рядом с этими динуклеотидами расположены т. наз. консенсусные· последовательности, к-рые имеют близкое строение у разл. пре-м РНК. Общая схема сплайсинга ядерных пре-мРНК показана на рис. 2.

Для мн. пре-РНК известны альтернативные пути сплайсинга, дающие множественные формы зрелой РНК из транскрип-тов одного гена. Это может иметь значение как один из механизмов регуляции экспрессии генов, а также как ср-во увеличения кодирующей емкости генома (экспрессия одного гена может выражаться в синтезе разныхмРНК). Известен также транс-сплайсинг (межмолекулярный сплайсинг), при к-ром происходит соединение двух экзонов из разных молекул РНК.

прокариота делеция сплайсинг

Рис. 2. Схема сплайсинга пре-м РНК в ядрах клеток высших эукариот: 1 и 3-соотв. 5'- и 3'-концы интрона; 2-место разветвления; Y-остаток псевдоуридина (отсутствует атом N в положении 1 гетероцикла основания). Толстые линии-экзоны (L1 и L2), тонкие - интроны.

Нарушение правильного сплайсинга в результате мутаций, затрагивающих нуклеотидные последовательности ок. границ интронов или экзонов, м. б. причиной возникновения наследственных болезней; нарушенный сплайсинг у пре-м РНК арги-нинсукцинатсинтетазы приводит к цитрулинемии, пре-мРНК глобинов-к разл. типам талассемий, пре-м РНК иммуноглобулинов - к заболеваниям, связанным с нарушением синтеза тяжелых цепей антител и др.