

Тема: СУЧАСНІ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ СПАДКОВІСТІ ЛЮДИНИ.

Вивчення нового матеріалу

Сучасні молекулярно-генетичні методи досліджень

Молекулярно-генетичні методи досліджень спадковості людини працюють переважно з молекулами ДНК і білків. Вони використовують біохімічні властивості цих молекул, у першу чергу те, що ДНК і білки є біополімерами. Їх широко використовують у різноманітних наукових дослідженнях та в медицині.

Сучасні молекулярно-генетичні методи можна умовно поділити на кілька груп:

- виокремлення й очищення потрібних молекул,
- ампліфікація (копіювання) ДНК,
- гібридизація,
- обробка даних і моделювання.

Зазвичай усі ці методи використовують у комплексі. До найбільш поширених технологій зараз належать секвенування ДНК, полімеразна ланцюгова реакція, генетичні маркери та ДНК-мікрочіп.

Що є предметом досліджень молекулярної генетики?

МОЛЕКУЛЯРНА ГЕНЕТИКА — це розділ генетики й молекулярної біології, що вивчає молекулярні основи спадковості й мінливості живих організмів і вірусів. Як самостійний напрям молекулярна генетика виокремилась в 40-х рр. ХХ ст. у зв'язку із упровадженням у біологію нових методів, що дали змогу глибше й точніше дослідити будову й функції генетичного апарата вірусів і клітин.

Найголовнішими досягненнями молекулярної генетики є з'ясування хімічної природи гена, штучний синтез гена, з'ясування механізмів реплікації, транскрипції, зворотної транскрипції, трансляції, репарації, регуляції експресії та біосинтезу білків. Основою цієї науки є концепція генетичного коду, який первинно зумовлює такі ознаки живої матерії, як спадковість і мінливість. За допомогою методів молекулярної генетики поглиблено розуміння мутаційного процесу, з'ясовано механізми кросинговеру. Молекулярна генетика стала підґрунтям, на якому сформувалась молекулярна біологія, сприяла розвитку біохімії, біофізики, цитології, мікробіології, вірусології, біології розвитку, відкрила нові підходи до розуміння еволюції життя на Землі. Досягнення молекулярної генетики уже реалізуються в селекції, біотехнології, медицині, спорті, криміналістиці, антропології (іл. 89).



Іл. 89. Предмет досліджень молекулярної генетики

Отже, молекулярна генетика вивчає структури, що зберігають й формують генетичну інформацію, та їх функціональні властивості.

Які особливості організації молекулярно-генетичних досліджень спадковості?

Молекулярно-генетичні методи — це методи дослідження структури й мінливості генетичного апарату, з яким пов'язані процеси збереження й реалізації спадкової інформації. За їх допомогою науковці можуть визначати подібність та відмінності геномів різних організмів, виявляти ушкодження структури ДНК, встановлювати нуклеотидні послідовності генів у нормі й у разі захворювань тощо.

Для проведення молекулярно-генетичних досліджень використовують не всю ДНК, а лише невеликі фрагменти, що є різними в різних особин. Так, ступінь подібності геномів різних людей становить 99,9 %. І лише 0,1 % послідовностей ДНК мають мінливість, що її називають структурним поліморфізмом ДНК. На початку 80—х років у молекулах ДНК людини було виявлено ділянки, унікальні за своєю будовою в кожній людині. Ці ділянки називають варіабельними тандемними повторами (ВТП). Масштаби цієї варіативності такі, що між послідовностями ДНК двох людей (якщо вони не монозиготні близнята) існують мільйони відмінностей, що досить часто у організмів фенотипово не виражено.

Для виявлення необхідних фрагментів застосовують метод гібридизації ДНК з використанням ДНК-зондів. Вирізання відповідних фрагментів ДНК здійснюють за допомогою особливих ферментів-«ножиць» — рестриктаз. Різні рестриктази розпізнають тільки відповідні послідовності нуклеотидів і розрізають ДНК у визначених місцях.

Наступним етапом молекулярно-генетичного аналізу є одержання копій з досліджуваних фрагментів ДНК. Отримання достатньої кількості фрагментів ДНК відбувається шляхом ампліфікації ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Копіюють виокремлені фрагменти ДНК за допомогою спеціальних ферментів — полімераз. Копійовані фрагменти ДНК за допомогою

електрофорезу на гелі розділяють на фракції. Під дією електричного поля фрагменти ДНК рухаються в гелі зі швидкістю, що залежить від їх довжини: чим вони коротші, тим швидкість більша. У результаті цього фрагменти ДНК через деякий час займають певне місце на гелі у вигляді окремих смужок, що дає змогу оцінити неповторність структури ДНК (іл. 90).



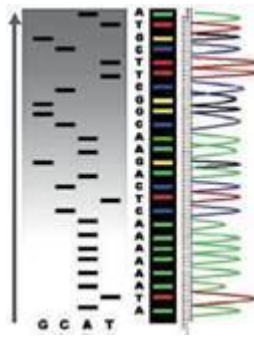
Іл. 90. Генетичний аналізатор (секвенатор) із комп'ютерним й програмовим забезпеченням

Отже, особливостями організації молекулярно-генетичних методів досліджень є використання фрагментів ДНК, ферментів-рестриктаз і спеціальних методів для отримання, розмноження й вивчення ділянок ДНК.

Яке значення найпоширеніших молекулярно-генетичних методів?

До найважливіших методів молекулярної генетики, що лежать в основі геномних технологій і ДНК-діагностики, належать: секвенування генів, полімеразна ланцюгова реакція, застосування генетичних маркерів та ін.

Секвенування генів (від лат. *sequendum* — послідовність) — методи встановлення послідовності нуклеотидів у молекулах ДНК (іл. 91). Винайдено британським ученим Фредеріком Сенгером у 1977 р. Велика швидкість секвенування, що стала доступною на початку ХХІ ст. завдяки новим технологіям, сприяла встановленню повної послідовності геному людини. Секвенування здійснюють за допомогою автоматичних секвенаторів, в яких застосовуються флуоресцентно-мічені праймери. Для кожного з чотирьох нуклеотидів беруть чотири різні флуоресцентні мітки, котрі випромінюють світло в різних спектральних діапазонах. Сканування гелю після електрофорезу лазерним променем, що збуджує флуоресценцію, дає змогу визначити різні нуклеотиди й прочитати послідовність.



Іл. 91. Секвенування фрагмента ДНК різними методами

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) — метод збільшення кількості фрагментів ДНК у біологічному матеріалі. Метод широко використовують у біологічній і медичній практиці для клонування генів, дослідження мутацій, виділення нових генів, створення генетично модифікованих організмів, діагностики захворювань, ідентифікації малих кількостей ДНК, встановлення батьківства тощо. Винахідник методу — американський біохімік К. Малліс так писав про нього: «Починаючи з єдиної молекули ДНК, носія генетичної інформації, ПЛР може надати 100 мільярдів подібних молекул за кілька годин. Реакцію дуже легко провести, вона вимагає однієї тестової трубки, незначної кількості реагентів та джерела теплоти».

Генетичні маркери — специфічні нуклеотидні послідовності з відомою первинною структурою, які дають змогу ідентифікувати аналізовану нуклеїнову кислоту. Молекулярно—генетичними маркерами можуть бути білки та ділянки ДНК у вигляді генів або коротких послідовностей нуклеотидів. На сьогодні генетичні маркери вже застосовуються в таких галузях діяльності людини, як криміналістика, біотехнологія, селекція, антропологія, генетична інженерія, медицина, спорт та ін. Так, у генеалогії для встановлення спорідненості по чоловічій лінії аналізують Y-хромосоми за допомогою STR-тестів. Для цього використовуються спеціальні ДНК-маркери, нуклеотидна послідовність у яких повторюється безліч разів — «короткі тандемні повтори» (англ. Short Tandem Repeats, STR). Оскільки Y-хромосома передається тільки від батька, то число повторів у маркерах сина буде таким самим, що й у його батька. У сільському господарстві STR-аналіз слугує для досліджень варіабельності геному та поліморфізму, що впливає на продуктивність сортів, у медицині існують маркери спадкових і онкологічних захворювань, у спорті — для визначення схильності спортсменів до занять певним видом спорту. У криміналістиці широко застосовується метод «генетичних відбитків пальців».

Отже, секвенування генів, полімеразна ланцюгова реакція, застосування генетичних маркерів допомагають вивчати процеси життєдіяльності на

молекулярному рівні організації життя й застосовувати ці знання в різних галузях діяльності людини.

Біологія + Медицина. Метод Сенгера



Фредерік Сенгер (1918—2013) — британський біохімік, двічі лауреат Нобелівської премії з хімії (в 1958 р. «за встановлення структур білків, особливо інсуліну» і 1980 р. — «за внесок щодо визначення послідовності основ у нуклеїнових кислотах»). У 1977 р. запропонував метод розкодування первинної структури ДНК, заснований на ферментативному синтезі високорадіоактивної комплементарної послідовності ДНК на одонитковій ДНК, що досліджується, як на матриці. Назвіть цей метод та оцініть його значення для медицини й дослідження спадковості людини.

Домашнє завдання:



1. Переглянути відео за посиланням:
<https://www.youtube.com/watch?v=n0QpRGdzn4g>
2. Виконайте тест за посиланням:
3. <https://naurok.com.ua/test/join?gamecode=7456764>
4. Дайте відповіді на запитання: (усно)

1. Що таке молекулярна генетика?
2. Назвіть основні галузі застосування досягнень молекулярної генетики.
3. Що таке молекулярно-генетичні методи?
4. Назвіть сучасні молекулярно-генетичні методи дослідження спадковості.
5. Що таке секвенування?
6. Що таке генетичні маркери?
7. Що є предметом досліджень молекулярної генетики?
8. Які особливості молекулярно-генетичних досліджень спадковості?
9. Яке значення найпоширеніших молекулярно-генетичних методів?

Шановні учні, 1 групи!

Нагадую Вам, що на цьому тижні будуть виставлені оцінки за II семестр та річні. Тому прошу всі роботи до кінця тижня сдати наперед, особливо директорську контрольну (урок № 41).

Бережіть себе та близьких!

