

Г.В. ГЛАЗКО, Г.И. ГЛАЗКО

ВВЕДЕНИЕ В ГЕНЕТИКУ

**БИОИНФОРМАТИКА, ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ, ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ,
ДНК-ЭКОЛОГИЯ, ПРОТЕОМИКА, МЕТАБОЛИКА**

Под редакцией профессора, доктора с/х. н. *Т.Т. Глазко*

Издание третье, исправленное и дополненное :

Учебное пособие

**КУРС
Москва
2018**

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|-----|
| От авторов | 5 |
| Предисловие | 7 |
| Введение-хронология | 9 |
| Глава I. Основы теории наследственности | 27 |
| 1.1. Законы наследственности | 27 |
| 1.2. Хромосомная теория организации материала наследственности | 29 |
| 1.3. Природа материала наследственности | 33 |
| 1.4. Природные биомолекулы | 35 |
| 1.4.1. Липиды | 36 |
| 1.4.2. Белки | 36 |
| 1.4.3. Углеводы, моно- и полисахариды | 38 |
| 1.4.4. История ДНК технологий | 39 |
| 1.5. ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота | 41 |
| 1.5.1. Первичная структура ДНК | 41 |
| 1.5.2. Размеры молекулы ДНК | 43 |
| 1.5.3. Рибонуклеиновые кислоты | 44 |
| 1.6. Метаболизм | 46 |
| 1.6.1. Врожденные нарушения метаболизма | 46 |
| 1.6.2. Гены-кандидаты | 48 |
| 1.7. Генетический код | 49 |
| 1.7.1. Универсальность генетического кода и его свойства | 50 |
| 1.7.2. Кодон-антикодонавое узнавание | 51 |
| 1.7.3. Перекрывание кодонов и чтение кодонов в разных рамках | 52 |
| 1.8. Гены | 52 |
| 1.8.1. Гены, зависящие от пола | 53 |
| 1.8.2. Норма реакции | 54 |
| 1.8.3. Экспрессивность и пенетрантность генов | 55 |
| 1.8.4. Ген или цистрон-функциональные единицы ДНК | 57 |
| 1.9. Транспозоны, или прыгающие гены | 60 |
| 1.10. Понятие генома | 61 |
| 1.11. Изменения систематики и генная номенклатура | 62 |
| Глава II. Молекулярная цитогенетика | 65 |
| 2.1. Прокариоты | 65 |
| 2.2. Археобактерии | 71 |
| 2.3. Эукариоты | 72 |
| 2.4. Структурно-функциональная организация эукариот | 74 |
| 2.4.1. Компартменты | 74 |
| 2.4.2. Эндоплазматический ретикулум (ЭР) и его производные | 75 |
| 2.4.3. Органеллы клетки. Аппарат Гольджи | 75 |
| 2.4.4. Клеточная мембрана, клеточная стенка | 76 |
| 2.4.5. Транспорт субстратов и продуктов | 78 |
| 2.4.6. Ядро | 80 |
| 2.4.7. Ядрышко | 81 |
| 2.4.8. Рибосомы | 82 |
| 2.5. Митохондрии и цитоплазматическая наследственность | 83 |
| 2.5.1. Функции митохондрий | 84 |
| 2.5.2. ДНК митохондрий | 85 |
| 2.5.3. Симбиотическая теория происхождения митохондрий | 87 |
| 2.6. Воспроизводство материала наследственности | 88 |
| 2.6.1. Клеточный цикл | 88 |
| 2.6.2. Митоз | 89 |
| 2.6.3. Мейоз | 89 |
| 2.7. Полуконсервативный синтез ДНК | 92 |
| 2.7.1. Репликация ДНК | 92 |
| 2.7.2. Модель репликации | 95 |
| 2.8. Этапы репликации, ферменты репликации | 99 |
| 2.8.1. Схема репликации вирусов | 99 |
| 2.8.2. Ферменты репликации | 100 |
| 2.8.3. Ферментативный комплекс репликативной вилки <i>E. coli</i> | 103 |
| 2.8.4. Репликоны | 104 |
| 2.9. Репарация ДНК | 104 |
| 2.9.1. Прямая репарация | 105 |
| 2.9.2. Эксцизионная репарация | 105 |
| 2.9.3. Пострепликативная репарация | 106 |
| 2.10. Объекты генетики и ДНК-технологии | 106 |
| 2.10.1. Вирусы | 106 |
| 2.10.2. Типы генетического материала у вирусов | 108 |
| 2.10.3. Бактерии | 110 |
| 2.10.4. Эукариотические клетки | 112 |
| Глава III. Пути реализации генетической информации | 113 |
| 3.1. РНК | 113 |
| 3.1.1. Генетический контроль у эукариот | 113 |
| 3.1.2. Структура РНК | 114 |
| 3.1.3. Свойства мРНК | 115 |
| 3.1.4. РНК-транскрипт – копия ДНК | 116 |
| 3.2. Транскрипция и процессинг у прокариот | 116 |
| 3.2.1. Транскрипция и ее контроль | 116 |

| | |
|---|-----|
| 3.2.2. Процессинг | 117 |
| 3.2.3. Полиденилирование | 117 |
| 3.2.4. ДНК-зависимые РНК-полимеразы | 118 |
| 3.3. Транскрипция у эукариот | 119 |
| 3.4. Биосинтез РНК – транскрипция генов | 121 |
| 3.4.1. Единицы транскрипции | 122 |
| 3.4.2. Промоторы прокариот | 123 |
| 3.4.3. Промоторы структурных генов эукариот | 124 |
| 3.4.4. Промоторы РНК-полимеразы III | 126 |
| 3.4.5. Промоторы РНК-полимеразы I | 126 |
| 3.5. РНК – посттранскрипционные изменения | 128 |
| 3.5.1. Посттранскрипционные изменения | 128 |
| 3.5.2. Стабильность мРНК и контроль экспрессии генов | 129 |
| 3.5.3. Транспортная РНК и рибосомная РНК | 129 |
| 3.5.4. КЭП-связывающий комплекс | 129 |
| 3.5.5. Участие КСК (СВС) в сборке РНП-частиц | 130 |
| 3.5.6. Редактирование пре-мРНК | 130 |
| 3.5.7. Пространственная организация синтеза мРНК | 131 |
| 3.6. Механизмы регуляции экспрессии генов | 133 |
| 3.7. Этапы транскрипции | 134 |
| 3.7.1. Связывание молекул РНК-полимеразы с ДНК и поиск промоторов | 134 |
| 3.7.2. Инициация транскрипции в <i>E. coli</i> | 135 |
| 3.7.3. Элонгация | 136 |
| 3.7.4. Основные факторы элонгации РНК полимеразы II | 137 |
| 3.7.5. Терминация транскрипции у бактерий | 137 |
| 3.7.6. Терминация транскрипции у эукариот | 138 |
| 3.8. Сплайсинг мРНК | 139 |
| 3.9. Хроматин во время транскрипции | 142 |
| 3.9.1. Нуклеосомы и инициация транскрипции | 144 |
| 3.9.2. Белки, изменяющие структуру хроматина | 146 |
| 3.9.3. Концепция транскриптосомы | 147 |
| 3.9.4. Обратная транскрипция | 147 |
| 3.10. Упаковка, топология и конформация ДНК | 147 |
| 3.10.1. Упаковка ДНК | 147 |
| 3.10.2. Топология ДНК | 148 |
| 3.10.3. Конформация ДНК | 150 |
| 3.10.4. Значение сверхспиральности для регуляции транскрипции | 150 |
| 3.11. Метилирование ДНК | 153 |
| Глава IV Регуляция биосинтеза белка | 157 |
| 4.1. Трансляция | 157 |
| 4.1.1. Этапы трансляции | 158 |
| 4.1.2. Присоединение аминокислот к тРНК | 162 |
| 4.1.3. Посттрансляционная регуляция экспрессии генов | 163 |
| 4.1.4. Транспорт белков | 164 |
| 4.2. Биосинтез белков | 165 |
| 4.2.1. Особенности биосинтеза рекомбинантных эукариотических белков в про- и эукариотах | 166 |
| 4.2.2. Селективная деградация мРНК | 171 |
| 4.3. Регулируемая утилизация мРНК | 171 |
| 4.3.1. Регуляция стабильности мРНК в процессе трансляции | 171 |
| 4.3.2. Трансляционная регуляция общего фактора транскрипции | 172 |
| 4.4. Регуляция активности белков | 172 |
| 4.4.1. Регуляция активности белковых посредников путем их ковалентной модификации | 172 |
| 4.4.2. Регуляция активности белковых посредников | 173 |
| 4.4.3. Посттрансляционная активация белков | 173 |
| 4.5. Структурно-функциональная организация белков | 174 |
| 4.5.1. Классификация белков | 174 |
| 4.5.2. Уровни структурной организации белка | 175 |
| 4.5.3. Формирование уровней структурной организации белка | 175 |
| 4.5.4. Связи, ответственные за формирование структуры белка | 176 |
| 4.5.5. Складчатый β -слой | 177 |
| 4.5.6. Упорядоченная и неупорядоченная конформация | 177 |
| 4.6. Макромолекулярные белковые комплексы | 177 |
| 4.6.1. Адресовка белков | 178 |
| 4.6.2. Денатурация | 179 |
| 4.6.3. Методы выделения и анализа белков | 180 |
| 4.7. Получение новых форм белков сайт-направленным мутагенезом | 181 |
| 4.7.1. Сайт-специфичный мутагенез и трансляция разрыва | 181 |
| 4.7.2. Время существования внутриклеточных белков | 181 |
| 4.8. Молекулярная патология и врожденные "ошибки" метаболизма | 183 |
| 4.9. Биоинформационный аспект эволюции белков | 184 |
| Глава V. Изменчивость материала наследственности | 186 |
| 5.1. Популяция и генофонд | 186 |
| 5.1.1. Понятие биологического вида | 186 |
| 5.1.2. Уровни организации живой материи | 187 |
| 5.1.3. Гея | 187 |
| 5.1.4. Генетический груз | 190 |
| 5.1.5. Популяция | 190 |
| 5.1.6. Программируемая гибель клеток | 193 |
| 5.2. Мутации | 194 |
| 5.2.1. Мутационная изменчивость | 194 |

| | |
|---|-----|
| 5.2.2. Комбинативная изменчивость | 194 |
| 5.2.3. Структурные мутации хромосом | 195 |
| 5.2.4. Молекулярный механизм и причины возникновения генных мутаций | 196 |
| 5.2.5. Мутагены | 197 |
| 5.2.6. Мутирование генов <i>in vitro</i> | 199 |
| 5.3. Биологическая сложность белков | 200 |
| 5.4. Генетическая рекомбинация и кроссинговер | 201 |
| 5.4.1. Кроссинговер и частота рекомбинаций | 202 |
| 5.4.2. Внутрихромосомная рекомбинация | 202 |
| 5.4.3. Рекомбинация ДНК и РНК | 204 |
| 5.4.4. Рекомбинация РНК | 205 |
| 5.4.5. Молекулярные механизмы рекомбинаций | 206 |
| 5.5. Конверсия генов | 208 |
| 5.6. Конъюгация, трансдукция, трансформация | 209 |
| 5.7. Прыгающие генетические элементы | 210 |
| 5.7.1. Мобильные элементы у бактерий | 212 |
| 5.7.2. Мобильные элементы у зукариот | 213 |
| 5.8. Природная ДНК-технология | 214 |
| 5.9. Нуклеотидные мотивы | 216 |
| 5.9.1. Сателлитная ДНК | 216 |
| 5.9.2. Особенности полиморфизма динуклеотидных повторов | 218 |
| 5.9.3. Три- и тетра-нуклеотидные повторы | 218 |
| 5.9.4. Возможности получения районов ДНК для изоляции маркеров | 219 |
| 5.10. Теломераза | 220 |
| 5.11. Универсальность нуклеотидных мотивов | 222 |
| 5.12. Размер генома | 224 |
| Глава VI. ДНК-технологии в анализе и изучении популяционно-генетического разнообразия | 226 |
| 6.1. Генетические маркеры | 226 |
| 6.1.1. Типы ДНК-маркеров | 229 |
| 6.1.2. Маркеры ДНК | 230 |
| 6.2. Молекулярно-генетические маркеры на основе полиморфизма ДНК | 231 |
| 6.3. Полимеразная цепная реакция. Принципы и методические детали | 232 |
| 6.4. ДНК-полиморфизм и методы его выявления | 235 |
| 6.4.1. Полиморфные ДНК-маркеры | 235 |
| 6.4.2. RFLP (ПДРФ) | 237 |
| 6.4.3. RAPD | 238 |
| 6.4.4. ISSR | 238 |
| 6.4.5. AFLP | 239 |
| 6.4.6. SSR | 239 |
| 6.4.7. IRAP | 240 |
| 6.4.8. SSAP | 240 |
| 6.4.9. REMAP | 241 |
| 6.4.10. RBIP | 242 |
| 6.5. Сравнение различных типов молекулярно-генетических маркеров | 243 |
| 6.6. Современная биотехнология | 252 |
| Глава VII. Клонирование ДНК. Основные ферменты, используемые в ДНК-технологии | 256 |
| 7.1. Ферменты, используемые для рекомбинации ДНК <i>in vitro</i> | 258 |
| 7.1.1. Классификация рестриктаз | 259 |
| 7.1.2. Распространенность и применение рестриктаз | 262 |
| 7.1.3. Метилазы | 264 |
| 7.1.4. Ферменты матричного синтеза ДНК и РНК | 266 |
| 7.2. Получение фрагментов ДНК | 268 |
| 7.2.1. Клонирование ДНК | 268 |
| 7.2.2. Метод химического синтеза олигонуклеотидов | 269 |
| 7.2.3. Конструирование искусственных ДНК на твердых матрицах | 270 |
| 7.2.4. Конструирование ДНК-дуплексов из частично комплементарных полинуклеотидов | 271 |
| 7.2.5. Выделение генов | 272 |
| 7.2.6. Промежуточное клонирование | 274 |
| 7.3. Конструирование гибридных молекул ДНК <i>in vitro</i> | 276 |
| 7.3.1. Использование линкеров | 278 |
| 7.3.2. Использование адаптеров | 278 |
| 7.4. Введение рекомбинированной ДНК в клетки реципиентов | 279 |
| 7.4.1. Векторы | 279 |
| 7.4.2. Векторы для генных банков | 281 |
| 7.4.3. Классификация векторов | 281 |
| 7.4.4. Плазмидные векторы | 282 |
| 7.4.5. Векторы на основе фага λ | 286 |
| 7.4.6. Интегрирующие векторы | 288 |
| 7.4.7. Челночные векторы | 289 |
| 7.5. Векторы для переноса ДНК в клетки животных | 291 |
| 7.5.1. Экспрессирующий вектор pKSV-10 | 292 |
| 7.5.2. Транспорт генов посредством ретровирусных векторов | 292 |
| 7.6. Векторы растений | 295 |
| 7.6.1. <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | 296 |
| 7.6.2. <i>Agrobacterium rhizogenes</i> | 298 |
| 7.6.3. Вирусы растений | 298 |
| 7.7. Конструирование экспрессирующихся векторов, стабильность рекомбинантных белков и РНК | 299 |
| Глава VIII. ДНК-технологии в создании новых организмов | 304 |
| 8.1. Задачи трансгеноза | 304 |
| 8.2. Методы трансгеноза | 309 |

| | |
|---|-----|
| 8.2.1. Основные этапы подготовки ДНК для трансгеноза | 309 |
| 8.2.2. Классификация методов трансфекции клеток | 311 |
| 8.2.3. Модификации гена белка оболочки и псевдотипирование | 314 |
| 8.2.4. Липофекция и эндоцитоз | 314 |
| 8.2.5. Эффективность трансфекции | 316 |
| 8.2.6. Классификация методов введения чужеродного генетического материала в высшие организмы | 317 |
| 8.3. Экспрессия трансгенов и доказательство их интеграции | 318 |
| 8.3.1. Экспрессия и инактивация трансгенов | 319 |
| 8.3.2. РНК-интерференция и косупрессия | 320 |
| 8.3.3. Фенотипическая характеристика трансгенных растений | 321 |
| 8.4. Генетически модифицированные микроорганизмы | 322 |
| 8.4.1. ДНК-технологии в исследовании структуры микробных сообществ | 323 |
| 8.4.2. ДНК-систематика | 324 |
| 8.4.3. ДНК-технологии в производстве и синтезе аминокислот и ферментов | 326 |
| 8.5. Трансгенные растения | 326 |
| 8.5.1. Агробактериальная трансформация | 327 |
| 8.5.2. Микробомбардировка (биолистик) | 331 |
| 8.5.3. Гербицидустойчивые трансгенные растения | 331 |
| 8.5.4. Устойчивость к вирусам и вириоидам | 332 |
| 8.5.5. Трансгенные растения с общей устойчивостью к болезням | 333 |
| 8.5.6. Использование ДНК-технологий для разработки вакцин | 334 |
| 8.6. Методы транспорта генов | 336 |
| 8.7. Транспорт генов посредством микроинъекции ДНК | 338 |
| 8.7.1. Метод микроинъекций ДНК | 338 |
| 8.7.2. Генетическая модификация на уровне индивидуальных генов | 341 |
| 8.7.3. Другие методы получения ГМ-животных | 341 |
| 8.8. Использование эмбриональных стволовых клеток | 345 |
| 8.9. Регуляция экспрессии трансгенов в клетках-мишенях | 347 |
| 8.9.1. Промоторы и сайты интеграции | 348 |
| 8.9.2. Экспрессия, инактивация трансгенов и методы их стабилизации | 349 |
| Глава IX. Организация и картирование геномов сельскохозяйственных животных | 352 |
| 9.1. Половое размножение | 352 |
| 9.1.1. Детерминация пола | 353 |
| 9.1.2. Наследование признаков, сцепленных с полом | 354 |
| 9.1.3. Методы определения пола | 355 |
| 9.1.4. Образование числовых и структурных аномалий карิโอטיפа | 357 |
| 9.1.5. Нарушения в системе половых хромосом | 358 |
| 9.2. Карิโอטיפы с/х животных | 360 |
| 9.2.1. Карิโอטיפы крупного рогатого скота: <i>Bos taurus</i> , <i>Bos indicus</i> | 360 |
| 9.2.2. Карิโอтип лошади: <i>Equus caballus</i> | 363 |
| 9.2.3. Карิโอтип и хромосомные аномалии курицы: <i>Gallus domesticus</i> | 363 |
| 9.2.4. Аномалии у сельскохозяйственных животных, обусловленные мутациями генов | 364 |
| 9.3. Хромосома. Морфология и внутренняя организация | 364 |
| 9.3.1. Дифференциальное окрашивание хромосом | 366 |
| 9.3.2. Хромосомы | 367 |
| 9.3.3. Хроматин | 369 |
| 9.3.4. Структурная организация хроматина и хромосом эукариот | 370 |
| 9.3.5. Последовательность нуклеотидов эукариотического генома | 371 |
| 9.3.6. Повторяющиеся последовательности ДНК | 371 |
| 9.3.7. Вариабельность членов семейств повторяющихся последовательностей | 372 |
| 9.4. Хромосомная исчерченность | 372 |
| 9.4.1. Петельно-доменный уровень организации хроматина | 373 |
| 9.4.2. Последовательности S/MARs как семейство повторенных последовательностей | 374 |
| 9.4.3. Экспериментальные данные о колокализации S/MARs и МГЭ | 374 |
| 9.4.4. Компьютерный анализ колокализации S/MARs и МГЭ последовательностей | 374 |
| 9.4.5. Паттерн локализации S/MARs в различных МГЭ | 374 |
| 9.4.6. Колокализация S/MARs и повторов | 375 |
| 9.4.7. Негистоновые белки хроматина | 375 |
| 9.5. Картирование генов | 376 |
| 9.6. Типы генных карт и методы картирования | 378 |
| 9.6.1. Анализ сцепления с хромосомными маркерами в семьях | 378 |
| 9.6.2. Принцип метода генного картирования посредством клеточных гибридов | 379 |
| 9.6.3. Проведение соматической клеточной гибридизации | 379 |
| 9.6.4. Использование полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (RFLP) для генного картирования | 381 |
| 9.7. Использование генетического консерватизма в картировании генов | 384 |
| 9.8. Стратегия картирования генов | 385 |
| 9.9. Современное состояние генных карт сельскохозяйственных видов животных | 386 |
| 9.9.1. Индексные маркеры | 386 |
| 9.9.2. Молекулярное клонирование | 387 |
| 9.9.3. Прогулки по хромосоме | 387 |
| Глава X. Микрометоды в анализе множеств ферментов ДНК | 389 |
| 10.1. Основные направления и методы получения фрагментов ДНК | 389 |
| 10.1.1. Молекулярные конструкции на основе молекул нуклеиновых кислот | 390 |
| 10.1.2. Селективные маркеры и гены-репортеры | 391 |
| 10.2. Системы скрининга | 391 |
| 10.2.1. Скрининг с помощью гибридизации | 391 |
| 10.2.2. Нерадиоизотопные метки | 392 |
| 10.2.3. Радиоавтография | 393 |
| 10.2.4. Иммунологический скрининг | 393 |
| 10.2.5. Скрининг по активности белка | 394 |

| | |
|---|-----|
| 10.2.6. Клонирование структурных генов эукариот | 394 |
| 10.2.7. Методы иммунодиагностики | 396 |
| 10.2.8. Ферментный иммуносорбентный анализ | 397 |
| 10.3. Моноклональные антитела | 398 |
| 10.3.1. Образование гибридных клеток | 399 |
| 10.3.2. Идентификация гибридных клеточных линий | 401 |
| 10.3.3. Использование моноклональных антител | 402 |
| 10.3.4. Маркирование антител | 403 |
| 10.3.4. Моноклональные антитела как лекарственные средства | 403 |
| 10.4. Системы ДНК-диагностики | 405 |
| 10.4.1. Применение блот-гибридизации для изучения болезней человека | 405 |
| 10.4.2. Выявление аллелей бета-глобинового гена методом гибридизации с синтетическими олигонуклеотидами | 406 |
| 10.4.3. Геномная дактилоскопия | 407 |
| 10.4.4. Метод "ДНК-отпечатков" | 408 |
| 10.5. ДНК диагностика заболеваний | 409 |
| 10.5.1. ДНК-диагностика | 410 |
| 10.5.2. Молекулярная диагностика генетических заболеваний | 411 |
| 10.5.3. Электрофорез продуктов ПЦР в денатурирующем градиентном геле | 412 |
| 10.5.4. Методы, основанные на обнаружении ошибочно спаренных нуклеотидов | 412 |
| 10.5.5. Лигазная цепная реакция – ЛЦР | 414 |
| 10.5.6. Масс спектрометрия | 415 |
| 10.5.7. Пренатальная диагностика наследственных болезней | 415 |
| 10.6. Гибридизация <i>in situ</i> | 416 |
| 10.6.1. Гибридизация | 418 |
| 10.6.2. Мечение зондов | 418 |
| 10.7. Проточная цитометрия | 420 |
| 10.7.1. Измерение содержания ДНК | 420 |
| 10.7.2. Сортировка хромосом при помощи цитофлуометрии | 421 |
| 10.8. Методы характеристики рекомбинантной ДНК | 422 |
| 10.8.1. Разделение ДНК и РНК центрифугированием в градиенте плотности CsCl и сахарозы | 423 |
| 10.8.2. Электрофоретическое и хроматографическое разделение нуклеиновых кислот | 423 |
| 10.8.3. Секвенирование ДНК | 427 |
| 10.9. Методы идентификации клонов рекомбинированных клеток | 429 |
| 10.10. Обнаружение и анализа рекомбинантных белков | 431 |
| 10.10.1. Методы идентификации генов (ДНК-зонды) | 431 |
| 10.10.2. Методы скрининга клонотек генов | 431 |
| 10.11. Применение рекомбинации ДНК <i>in vitro</i> | 432 |
| 10.11.1. Клонотеки генов | 432 |
| 10.11.2. Таргетинг генов | 436 |
| 10.11.3. Системы селекции и векторы для «нокаутирования» генов | 437 |
| Глава XI. Клонирование и трансгенез животных | 439 |
| 11.1. Клонирование животных | 441 |
| 11.1.1. Проблемы клонирования соматических клеток млекопитающих | 442 |
| 11.1.2. Клонирование ядер | 444 |
| 11.1.3. Клонирование – манипулирование на уровне целых геномов | 452 |
| 11.1.4. Клонирование и трансгенез с помощью переноса ядра | 453 |
| 11.2. Генетически модифицированные животные | 453 |
| 11.2.1. Извлечение яйцеклеток и эмбрионов | 454 |
| 11.2.2. Пересадка инъецированных эмбрионов | 455 |
| 11.3. Генные конструкции | 456 |
| 11.3.1. Интеграция и экспрессия трансгенов у сельскохозяйственных животных | 457 |
| 11.3.2. Перенос генов с помощью искусственных хромосом | 458 |
| 11.3.3. Искусственные хромосомы дрожжей – YAC | 458 |
| 11.3.4. Искусственные хромосомы бактерий – BAC | 459 |
| 11.3.5. Искусственные хромосомы млекопитающих (MAC) | 460 |
| 11.3.6. Примеры генетически модифицированных животных | 461 |
| 11.4. Развитие методов генетической модификации сельскохозяйственных видов животных | 462 |
| 11.5. Клонирование овец | 465 |
| 11.6. Клонирование коз | 468 |
| Глава XII. Генная терапия | 471 |
| 12.1. Генная терапия: история и перспективы | 471 |
| 12.1.1. История развития генной терапии | 471 |
| 12.1.2. Программы генной терапии | 472 |
| 12.1.3. Направления генной терапии | 472 |
| 12.1.4. Генная терапия восполнения функции | 473 |
| 12.1.5. Подавление избыточных функций клетки | 474 |
| 12.1.6. Применение антисмысловых РНК | 474 |
| 12.1.7. Модификация генетического аппарата клетки | 475 |
| 12.2. Методы трансфекции в генной терапии | 476 |
| 12.2.1. Методы физической трансформации | 476 |
| 12.2.2. Методы химической трансфекции | 477 |
| 12.2.3. Биологические методы трансфекции | 478 |
| 12.2.4. Генная терапия при помощи антисенс-олигонуклеотидов | 479 |
| 12.2.5. Вирусы – векторы для генной терапии | 480 |
| 12.2.6. Пути использования новых векторных систем | 482 |
| 12.3. Генетически детерминированные заболевания человека | 482 |
| 12.3.1. Локализованные заболевания | 484 |
| 12.3.2. Биологическое моделирование патологических состояний человека | 485 |
| 12.4. Генно-терапевтические подходы к лечению наследственных заболеваний | 486 |
| 12.4.1. Клиническая генетика | 487 |

| | |
|---|-----|
| 12.4.2. Генная терапия через печень | 488 |
| 12.4.3. Модельные системы | 489 |
| 12.5. Генотерапия ненаследственных заболеваний | 491 |
| 12.5.1. Терапия онкологических заболеваний | 491 |
| 12.5.2. Генная терапия рака <i>ex vivo</i> | 493 |
| 12.5.3. Генная терапия рака <i>in vivo</i> | 494 |
| 12.5.4. ДНК- технология онкологических заболеваний | 495 |
| 12.5.5. ДНК-технологии в развитии методов диагностики и лечения онкологических заболеваний | 496 |
| 12.5.6. Гены-супрессоры злокачественности | 498 |
| 12.5.7. Терапия предшественниками цитотоксических лекарств, активируемых продуктами экспрессии трансгенов в клетках-мишенях | 499 |
| 12.5.8. Проблемы, возникающие в связи с практическим применением генотерапии | 500 |
| 12.5.9. Генная терапия инфекционных заболеваний | 502 |
| 12.6. Роль ДНК-технологии в наследственных и приобретенных заболеваниях человека | 504 |
| 12.6.1. Экспансия ДНК | 505 |
| 12.6.2. Синдром ломкой X-хромосомы | 506 |
| 12.7. Генотерапия наследственных и приобретенных заболеваний | 508 |
| 12.7.1. Создание белков с гибридными свойствами | 508 |
| 12.7.2. Иммунотоксины | 510 |
| 12.7.3. Искусственные иммуногены | 511 |
| 12.8. Пополняющая генная терапия | 515 |
| 12.9. Микробиологическое производство лекарственных средств | 515 |
| Глава XIII. ДНК-селекция | 519 |
| 13.1. Многоклеточные организмы | 519 |
| 13.2. ДНК-селекция | 520 |
| 13.2.1. Выявление единичных компонентов фенотипичных признаков | 521 |
| 13.2.2. ДНК-диагностика | 521 |
| 13.2.3. ДНК-зависимая селекция | 522 |
| 13.2.4. Индивидуальные отличия между животными | 524 |
| 13.2.5. Идентификация животных | 524 |
| 13.2.6. Типирование тканей химерных животных | 525 |
| 13.2.7. ДНК-диагностика наследственных заболеваний крупного рогатого скота | 526 |
| 13.3. ДНК-диагностика вирусных инфекций | 528 |
| 13.3.1. Генетическое типирование микроорганизмов | 528 |
| 13.3.2. ДНК-диагностика вируса бычьего лейкоза | 529 |
| 13.3.3. Инфекционные заболевания | 531 |
| 13.4. ДНК-технологии в анализе генов, связанных с продуктивностью животных | 533 |
| 13.4.1. Полиморфизм генов белков молока | 533 |
| 13.4.2. α -s-казеин | 533 |
| 13.4.3. Бета-казеин | 534 |
| 13.4.4. Каппа-казеин | 534 |
| 13.4.5. Бета-лактоглобулин | 536 |
| 13.4.6. Диагноз наследственных пороков | 537 |
| 13.4.7. Генная диагностика | 538 |
| 13.5. Полиморфизм некоторых генов крупного рогатого скота | 538 |
| 13.5.1. DUMPS | 539 |
| 13.5.2. Цитрулинемия | 540 |
| 13.5.3. Лептин | 540 |
| 13.5.4. Миостатин | 540 |
| 13.5.5. HYPF | 541 |
| 13.6. Изменчивость митохондриальной ДНК | 542 |
| 13.7. ДНК-типирование и сертификация | 544 |
| 13.7.1. Генотипирование по полиморфизму сателлитной ДНК | 544 |
| 13.7.2. Определение отцовства | 546 |
| 13.8. Определение сцепления и картирования | 549 |
| 13.9. Биоинформатика в анализе нуклеотидной эволюции | 552 |
| Глава XIV. Некоторые сведения о биоинформатике | 554 |
| 14.1. Выравнивание последовательностей | 555 |
| 14.1.1. Пример выравнивания | 555 |
| 14.1.2. Число возможных выравниваний | 555 |
| 14.1.3. Основной алгоритм сравнения последовательностей | 555 |
| 14.1.4. Оптимальное выравнивание | 556 |
| 14.1.5. Локальное выравнивание | 556 |
| 14.1.6. Псевдоглобальное выравнивание | 556 |
| 14.1.7. Общая функция штрафа | 557 |
| 14.1.8. Сравнение подобных последовательностей | 557 |
| 14.2. Поиск гомологии в базах данных | 557 |
| 14.2.1. Матрица PAM | 557 |
| 14.2.2. BLAST | 558 |
| 14.2.3. FAST | 559 |
| 14.3. Паттерны в нуклеотидных и аминокислотных последовательностях и их статистическая значимость | 560 |
| 14.3.1. "Случайные" модели последовательностей | 560 |
| 14.3.2. Свойства распределения размера и количества длинных общих слов и паттернов между последовательностями и в последовательностях для случайных моделей | 560 |
| 14.4. Анализ с ферментами рестрикции | 561 |
| 14.4.1. Распределение длин фрагментов рестрикции | 561 |
| 14.4.2. Порядок расположения фрагментов | 561 |
| 14.4.3. Число решений проблемы совместной рестрикции | 561 |
| 14.4.4. Алгоритмы для проблемы совместной рестрикции | 561 |
| 14.4.5. Составление библиотеки | 561 |

| | |
|--|-----|
| 14.4.6. Картирование генов с помощью полиморфизма длин рестрикционных фрагментов | 562 |
| 14.5. Поиск консенсусов | 562 |
| 14.5.1. Консенсусные слова во многих последовательностях | 562 |
| 14.5.2. Консенсус-палиндромы в нескольких последовательностях | 563 |
| 14.5.3. Консенсусы в одной последовательности | 563 |
| 14.5.4. Длинные консенсусы | 563 |
| 14.5.5. Оценки статистической значимости | 563 |
| 14.6. Примеры применения методов биоинформатики для решения экспериментальных задач | 564 |
| 14.6.1. Разработка алгоритма для анализа сложности мутационного спектра и его зависимости от нуклеотидного контекста | 564 |
| 14.6.2. Анализ сложности мутационного спектра хромосом | 569 |
| 14.6.3. Подходы для идентификации некоторых структурно-функциональных фрагментов хромосомной ДНК | 570 |
| 14.6.4. Пример использования программы ChrClass для изучения структуры генома эукариот | 574 |
| Глава XV. Геномика и протеомика | 577 |
| 15.1. Микроматрицы | 577 |
| 15.1.1. Некоторые ключевые моменты получения микроматриц ДНК | 578 |
| 15.1.2. Микроматрицы и ДНК | 579 |
| 15.1.3. Исследование экспрессии генов с использованием микроматриц ДНК | 579 |
| 15.1.4. Работа по геному человека | 580 |
| 15.1.5. Эволюция геномов | 581 |
| 15.2. Протеомика | 582 |
| 15.2.1. Протеомика, основанная на масс-спектрометрии | 582 |
| 15.2.2. Упорядоченность протеомики | 583 |
| 15.2.3. Направления развития | 583 |
| 15.2.4. Структура ДНК-связывающих белков | 584 |
| 15.3. Фолдинг, домены и геномные единицы | 587 |
| 15.4. Гениная сеть | 590 |
| Глава XVI. Метаболика | 593 |
| 16.1. ДНК-метаболика | 593 |
| 16.1.1. Оптимизация получения некоторых биотехнологических продуктов | 593 |
| 16.1.2. ДНК-метаболика в производстве антибиотиков | 594 |
| 16.1.3. ДНК-технология и клонирование генов биосинтеза антибиотиков | 595 |
| 16.1.4. ДНК-технология и усовершенствование производства антибиотиков | 596 |
| 16.2. Рекombинантные микроорганизмы для получения коммерческих продуктов | 597 |
| 16.3. Метаболика и селекция | 599 |
| 16.3.1. Улучшение качества растительных жиров | 599 |
| 16.3.2. Трансгенные растения-производители фармакологических пептидов | 600 |
| 16.3.3. Улучшение качества белка растений | 600 |
| 16.3.4. Улучшение сохранности и качества плодов и овощей | 603 |
| 16.3.5. Изменение содержания углеводов | 603 |
| Глава XVII. ДНК-экология | 607 |
| 17.1. Микробные инсектициды | 609 |
| 17.2. Проблемы сохранения биоразнообразия | 610 |
| 17.3. Молекулярные маркеры устойчивости к неблагоприятным факторам | 612 |
| 17.4. Биоконтроль патогенных организмов | 614 |
| 17.5. Проблемы биодegradации | 614 |
| 17.6. Стресс и генетическое разнообразие | 618 |
| 17.7. Трансгеноз и эволюция | 622 |
| Заключение | 624 |
| Послесловие | 628 |