

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

Д. Г. Іванченко, Н. П. Рудько, Н. В. Крісанова

Біологічна хімія

Частина 2

ЗБІРНИК ТЕСТОВИХ ЗАВДАНЬ

з поясненнями

для підготовки студентів спеціальностей 222 «Медицина», 228 «Педіатрія»
до ЄДКІ (English language proficiency test)

Запоріжжя, 2024

УДК 577.1(079.1)

I-23

Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМФУ

(протокол № 3 від «22» лютого 2024 р.)

і рекомендовано для використання в освітньому процесі

Колектив авторів:

Д. Г. Іванченко – д-р фарм. наук, професор;

Н. П. Рудько – канд. біол. наук, ст. викладач;

Н. В. Крісанова – канд. біол. наук, доцент.

Рецензенти:

О. В. Ганчева - завідувачка кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології ЗДМФУ, д-р мед. наук, професорка;

А. Г. Каплаушенко - завідувач кафедри фізикоїдної хімії д-р фарм. наук, професор

Іванченко Д. Г.

I-23 **Біологічна хімія. Частина 2** : Збірник тестових завдань з поясненнями для підготовки студентів спеціальностей 222 «Медицина», 228 «Педіатрія» до ЄДКІ (English language proficiency test)/ Д. Г. Іванченко, Н. П. Рудько, Н. В. Крісанова – Запоріжжя : [ЗДМФУ], 2024. – 117 с.

УДК 577.1(079.1)

©Колектив авторів, 2024

©Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, 2024

Content \ Зміст

ПЕРЕДМОВА.....	4
Chapter 1. PURINE AND PYRIMIDINE NUCLEOTIDE METABOLISM \ Розділ 1. МЕТАБОЛІЗМ ПУРИНОВИХ ТА ПРИМІДИНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ.....	5
Chapter 2. NUCLEIC ACID STRUCTURE AND ORGANIZATION. DNA REPLICATION AND REPAIR. GENETIC STRATEGIES IN THERAPEUTICS \ Розділ 2. ОРГАНІЗАЦІЯ ТА СТРУКТУРА НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ. РЕПЛІКАЦІЯ ТА РЕПАРАЦІЯ ДНК. ГЕНЕТИЧНІ СТРАТЕГІЇ В ТЕРАПІЇ.....	18
Chapter 3. TRANSCRIPTION AND RNA PROCESSING. REGULATION OF EUKARYOTIC GENE EXPRESSION. TECHNIQUE OF GENETIC ANALYSIS \ Розділ 3. ТРАНСКРИПЦІЯ І РНК ПРОЦЕСИНГ. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ЕУКАРІОТИЧНИХ ГЕНІВ. МЕТОДИ ГЕНЕТИЧНОГО АНАЛІЗУ.....	40
Chapter 4. GENETIC CODE. MUTATIONS. TRANSLATION \ Розділ 4. ГЕНЕТИЧНИЙ КОД. МУТАЦІЇ. ТРАНСЛЯЦІЯ.....	69
Chapter 5. BIOCHEMISTRY OF HORMONES \ Розділ 5. БІОХІМІЯ ГОРМОНІВ.....	98
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	116

ПЕРЕДМОВА

Збірник тестових завдань складено викладачами кафедри біологічної хімії для використання студентами 2 курсу медичних факультетів, які вивчають біологічну хімію. Даний збірник містить різноманітні тестові завдання з усіх тем, що входять до змісту розділу 2 робочої програми навчальної дисципліни «Біологічна хімія» спеціальностей 222 «Медицина» та 228 «Педіатрія». Рекомендовано до використання студентами в самостійній роботі під час підготовки до кожного з занять (контрольні роботи розподілені по заняттях), для контролю засвоєння базових тем і для підсумкового контролю засвоєння знань з розділу 2.

За допомогою тестового матеріалу студенти мають можливість глибше засвоїти тему, яку вивчають, провести самоконтроль, у разі виявлення незрозумілих для студента питань, звернутися за допомогою до викладача на практичному занятті. У результаті такої форми роботи студент добре готується до підсумкового контролю з розділу 2, до комплексного іспиту та до ліцензійного іспиту «КРОК 1».

У збірнику подано тестові завдання англійською мовою і відповідний їм переклад українською мовою, пояснення до тестів і глосарій. Студентам рекомендується опрацьовувати зміст тестів англійською мовою, тому що за вимогами ЄДКІ їм необхідно розуміти англійську термінологію кожної дисципліни, яка входить до іспиту.

Зміст збірника тестів відповідає робочій програмі навчальної дисципліни «Біологічна хімія» для підготовки магістрів спеціальностей 222 «Медицина», 228 «Педіатрія». та охоплює всі теми розділу 2.

Chapter 1

**PURINE AND PYRIMIDINE NUCLEOTIDE
METABOLISM**

Розділ 1

**МЕТАБОЛІЗМ ПУРИНОВИХ ТА
ПРИМІДИНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ**

1.1

A 6-month-old boy becomes progressively lethargic and pale and shows delayed motor development. Laboratory evaluation reveals normal blood urea nitrogen (BUN), low serum iron, hemoglobin 1.6 g/dL, and leukopenia. His bone marrow shows marked megaloblastosis, which did not respond to treatment with iron, folic acid, vitamin B₁₂, or pyridoxine. His urine developed abundant white precipitate identified as orotic acid. The underlying defect causing the megaloblastic anemia in this child is most likely in which of the following pathways?

- A. Homocysteine metabolism
- B. Pyrimidine nucleotide synthesis
- C. Urea synthesis
- D. Uric acid synthesis
- E. Heme synthesis

The answer: Pyrimidine nucleotide synthesis. Megaloblastosis associated with low hemoglobin content (1.6 g/dL) indicates megaloblastic anemia that is not due to deficiency of folic acid, vitamin B₁₂ (because megaloblastosis did not respond to treatment with iron, folic acid, vitamin B₁₂, or pyridoxine). Accumulation of orotic acid arises because pyrimidine nucleotide synthesis is abnormal: UMP is not produced in required content. But UMP is precursor for dTMP and other pyrimidine deoxyribonucleotides that are required for DNA synthesis.

6-місячний хлопчик стає прогресуюче млявим, блідим і проявляє уповільнений руховий розвиток. За допомогою лабораторної діагностики виявлено нормальний показник азоту сечовини крові, низьке сироваткове залізо, гемоглобін 4,6 г/дл, і лейкопенію. Функція кісткового мозку супроводжується мегалобластною анемією, яка не лікується залізом, фолієвою кислотою, вітаміном B₁₂ або піридоксином. В сечі хворого утворюється рясний білий осад, ідентифікований як оротова кислота. В якому з наступних шляхів найбільш ймовірно проявляється основний дефект, що викликає мегалобластну анемію у цієї дитини?

- A. Метаболізм гомоцистеїну

- B. Синтез піримідинових нуклеотидів
- C. Синтез сечовини
- D. Синтез сечової кислоти
- E. Синтез гема

Правильна відповідь: Синтез піримідинових нуклеотидів. Мегалобластоз, пов'язаний із низьким вмістом гемоглобіну (4,6 г/дл), вказує на мегалобластичну анемію, яка не зумовлена дефіцитом фолієвої кислоти, вітаміну В12 (оскільки мегалобластоз не реагував на лікування залізом, фолієвою кислотою, вітаміном В12 або піридоксином). Накопичення оротової кислоти виникає через те, що синтез піримідинових нуклеотидів ненормальний: УМФ не виробляється в необхідній концентрації. Але УМФ є попередником для dТМФ та інших піримідинових дезоксирибонуклеотидів, необхідних для синтезу ДНК.

1.2

Patients with Lesch-Nyhan syndrome have hyperuricemia, indicating an increased biosynthesis of purine nucleotides, and markedly decreased levels of hypoxanthine phosphoribosyl transferase (HPRT). The hyperuricemia can be explained on the basis of a decrease in which regulator of purine nucleotide biosynthesis?

- A. ATP
- B. GDP
- C. Glutamine
- D. IMP
- E. PRPP

The answer: IMP is a feedback inhibitor of PRPP amidophosphoribosyl transferase, the second reaction in the biosynthesis of purine nucleotides. IMP is formed by the HPRT reaction in the salvage of hypoxanthine. If feed-back control of PRPP amidophosphoribosyl transferase is not promoted normally there is over production of purine nucleotides in the basal pathway. This event causes the extensive breakdown of purine nucleotides to uric acid with hyperuricemia development.

Пацієнти з синдромом Леша-Ніхана мають гіперурикемію, що свідчить про підвищений біосинтез пуринових нуклеотидів і помітно знижений рівень гіпоксантинфосфорибозилтрансферази (ГФРТ). На підставі зменшення якого регулятора біосинтезу пурину можна пояснити гіперурикемію?

- A. АТФ
- B. ГТФ
- C. Глютамін
- D. ІМФ
- E. ГФРТ

Правильна відповідь: ІМФ – інгібітор за принципом зворотного зв'язку ФРПФ амідифосфорибозил-трансферази, ферменту другої реакції в біосинтезі пуринових нуклеотидів. ІМФ частково формується з гіпоксантину в результаті реакції, яку каталізує гіпоксантинфосфорибозилтрансфераза (ГФРТ). Якщо зворотний контроль ФРПФ-амідифосфорибозил-трансферази не виконується, утворюється надлишок пуринових нуклеотидів в клітині за рахунок головного шляху синтезу пуринових нуклеотидів. Ця подія спричиняє активний розпад пуринових нуклеотидів до сечової кислоти з розвитком гіперурикемії.

1.3

A 12-week-old infant with a history of persistent diarrhea and candidiasis is seen for a respiratory tract infection with *Pneumocystis jiroveci*. A chest X-ray confirms pneumonia and reveals absence of a thymic shadow. Trace IgG is present in his serum, but IgA and IgM are absent. His red blood cells completely lack an essential enzyme in purine nucleoside degradation. The product normally formed by this enzyme is:

- A. Guanine monophosphate
- B. Hypoxanthine
- C. Inosine
- D. Xanthine
- E. Xanthine monophosphate

The answer: Inosine. The child most likely has severe combined immunodeficiency

caused by adenosine deaminase deficiency. This enzyme deaminates adenosine (a nucleoside) to form inosine (another nucleoside). Hypoxanthine and xanthine are both purine bases, and the monophosphates are nucleotides.

Немовля 12-тижнів з історією стійкої діареї та кандидозу обстежується щодо інфекції дихальних шляхів *Pneumocystis jiroveci*. Рентген грудної клітки підтверджує пневмонію і виявляє відсутність тимічної тіні. Слідова кількість IgG присутня в його сироватці, але IgA і IgM відсутні. В еритроцитах повністю відсутній есенціальний фермент необхідний для деградації пуринового нуклеозиду. Продуктом, який зазвичай утворюється цим ферментом є:

- A. Гуаніну монофосфат
- B. Гіпоксантин
- C. Інозин
- D. Ксантин
- E. Ксантину монофосфат

Правильна відповідь: Інозин. У дитини швидше за все виникає важкий комбінований імунодефіцит, викликаний недостатністю аденозиндезамінази. Цей фермент дезамінує аденозин (нуклеозид) з утворенням інозину (іншого нуклеозиду). Гіпоксантин і ксантин є пуриновими основами, а монофосфати є нуклеотидами.

1.4

The anticancer drug 6-mercaptopurine is deactivated by the enzyme xanthine oxidase. A cancer patient being treated with 6-mercaptopurine develops hyperuricemia, and the physician decides to give the patient allopurinol. What effect will allopurinol have on the activity of 6-mercaptopurine?

- A. Enhanced deactivation of 6-mercaptopurine
- B. Enhanced elimination of 6-mercaptopurine as uric acid
- C. Enhanced retention and potentiation of activity
- D. Decreased inhibition of PRPP glutamylamidotransferase
- E. 6-mercaptopurine will not be deactivated

The answer: Because allopurinol inhibits xanthine oxidase, the 6-mercaptopurine will not be deactivated as rapidly.

Протипухлинний препарат 6-меркаптопурин дезактивується ферментом ксантиноксидазою. У хворого на рак, що отримує 6-меркаптопурин, розвивається гіперурикемія, і лікар вирішує дати пацієнту аллопуринол. Як впливає аллопуринол на активність 6-меркаптопурину?

- A. Посилена дезактивація 6-меркаптопурина
- B. Підвищена елімінація 6-меркаптопурину як сечової кислоти
- C. Покращене утримання та посилення активності
- D. Зниження інгібування глутаміламідотрансферази ФРПФ
- E. 6-меркаптопурин не буде дезактивований

Правильна відповідь: Оскільки аллопуринол інгібує ксантиноксидазу, 6-меркаптопурин не буде дезактивований так швидко, як за відсутності аллопуринола.

1.5

The anticancer drug 6-mercaptopurine is deactivated by the enzyme xanthine oxidase. A cancer patient being treated with 6-mercaptopurine develops hyperuricemia, and the physician decides to give the patient allopurinol. Resistance of neoplastic cells to the chemotherapeutic effect of 6-mercaptopurine would most likely involve loss or inactivation of a gene encoding:

- A. Thymidylate synthase
- B. Hypoxanthine phosphoribosyltransferase
- C. Purine nucleoside pyrophosphorylase
- D. Orotic acid phosphoribosyltransferase
- E. Adenosine deaminase

The answer: HPRT is required for the transformation of 6-mercaptopurine as drug to its ribonucleotide that inhibits the purine synthesis. The other enzymes listed are not targets for this drug.

Протипухлинний препарат 6-меркаптопурин дезактивується ферментом ксантиноксидазою. У хворого на рак, що отримує 6-меркаптопурин, розвивається гіперурикемія, і лікар вирішує дати пацієнту аллопуринол. Стійкість неопластичних клітин до хіміотерапевтичного ефекту 6-меркаптопурину найімовірніше буде пов'язана з втратою або інактивацією гену, що кодує:

- A. Тимідилатсинтазу
- B. Гіпоксантинфосфорибозилтрансферазу
- C. Пірофосфорилазу пуринового нуклеозиду
- D. Фосфорибозилтрансферазу оротової кислоти
- E. Аденозиндеаміназу

Правильна відповідь: Гіпоксантинфосфорибозилтрансфераза (ГФРТ). ГФРТ необхідний для перетворення 6-меркаптопурину як лікарського препарату в його рибонуклеотид, який інгібує синтез пуринових нуклеотидів. Інші перелічені ферменти не є мішенню для цього препарату.

Glossary:

Adenosine deaminase— is a key enzyme in catabolism of adenosine (2-deoxyadenosine) in living organisms and plays an extremely important role in the regulation of immunity in mammals by hydrolytically conversion of corresponding nucleosides into inosine (2-deoxyinosine) and ammonia.

Adenosine monophosphate (AMP)— is a nucleotide composed from nitrogenous base adenine linked by N-glycosidic bond with pentose sugar D-ribose containing at 5'-position phosphate group.

Blood Urea Nitrogen (BUN). A blood urea nitrogen (BUN) test measures the amount of nitrogen in human blood that comes from the waste product urea. Urea is made when protein is broken down in human organism to form free amino acids that undergo deamination with the formation of toxic ammonia. Urea is made from ammonia in the liver and passed out of human body in the urine. A BUN test is done to see how well liver and kidneys are working. If kidneys are not able to remove urea from the blood normally, the BUN level rises. Heart failure, dehydration, or a diet high in protein can also make the BUN level higher. Liver disease or damage can lower the BUN level. A low BUN level can occur normally in the second or third trimester of pregnancy.

Allopurinol— is a structural analogue of hypoxanthine, irreversible competitive (suicide) inhibitor of xanthine oxidase.

Hemoglobin— is a hemoprotein placed in erythrocytes to transfer respiratory gases. Its normal content is: for men, 13.5 to 17.5 grams per deciliter; for women, 12.0 to 15.5 grams per deciliter. Normal ranges for children vary with age and sex.

Hyperuricemia— is an abnormally high level of uric acid in the blood. In the pH conditions of body fluid, uric acid exists largely as urate, the ion form. The amount of urate in the body depends on the balance between the amount of purines eaten in food, the amount of urate produced within the body, the amount of urate that is excreted in urine or through the gastrointestinal tract. In humans, the upper end of the normal range is 360 $\mu\text{mol/L}$ (6mg/dL) for women and 400 $\mu\text{mol/L}$ (6.8 mg/dL) for men.

Hypoxanthine (6-oxypurine)– is intermediate metabolite of purine nucleosides breakdown in living cells, which is oxidized by the enzyme xanthine oxidase to xanthine and further to uric acid.

Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT)– is an enzyme that converts purine bases – guanine and hypoxanthine to the corresponding mononucleotides IMP and GMP with the use of 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate. These reactions are found in

Guanosine monophosphate (GMP)– is a nucleotide composed from nitrogenous base guanine linked by N-glycosidic bond with pentose sugar D-ribose containing at 5'-position phosphate group.

Diarrhea– is a pathological condition (clinical symptom) in which unformed or infrequent faeces occur three or more times a day (or more often than usual for a particular person).

Immunoglobulins (antibodies)– are a kind of blood plasma proteins that are synthesized mostly by lymphocytes in humans in response to foreign or potentially dangerous microorganisms or substances (antigenes). In mammals, there are five classes of immunoglobulins– IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, which are differ in structure and amino acid composition and the effector functions that they perform.

Inosinic acid (IMP)– is a nucleotide that is monophosphate of the corresponding ribonucleoside of hypoxanthine.

Xanthine oxidase– is an aerobic oxidoreductase with a molecular weight of 270 kDa., It has 2 FAD, 2 molybdenum ions, and 8 iron ions bound per one enzymemolecule. The molybdenum ions are contained as molybdopterin cofactors and are the active sites of the enzyme. The iron ions are part of [2Fe-2S] ferredoxiniron-sulfur clusters and participate in electron transfer reactions.

Xanthine– is a purine base that is intermediate metabolite of purine nucleosides breakdown. Due to the action of xanthine oxidase, xanthine is converted to uric acid.

Leukopenia–pathological state associated with the a decrease in the number of leukocytes per unit volume of blood.

Megaloblastic anemia– is a disease caused by impaired erythropoiesis due to a some

reasons: 1) deficiency in vitamin B₁₂; 2) deficiency in vitamin B₉, 3) infringements in nucleotide synthesis. Particularly sensitive to the deficiency of these vitamins is the bone marrow and tissues of the nervous system.

Mercaptopurine– is a cytostatic drug from a group of antimetabolites, purine antagonists. Used in oncology for the treatment of malignant tumors, and as an immunosuppressant.

Orotic acid– is a vitamin substance that participates in the metabolic processes occurring in proteins and phospholipids, in the conversions of folic and pantothenic acids, in the metabolism of cyanocobalamin (vitamin B₁₂), the synthesis of methionine amino acids. It is a precursor in the biosynthesis of pyrimidine bases, participating in the formation of pyrimidine nucleotides – UMF and CTF.

Pneumonia– is a disease characterized by inflammation of the lungs, which occurs primarily in air bubbles called alveoli. The cause is infection with bacteria, much less often – viruses and other microorganisms, the defeat of some medical preparations, the defeat of the lungs in autoimmune diseases, etc.

Gout is a disease that occurs as a result of advanced hyperuricemia (possible genetic and secondary causes of this phenomenon), which is accompanied by deposition of urate crystals (tofu) in the body tissues. The accumulation of tofu in the tissue is a factor in causing the development of inflammation in this tissue.

Uric acid– is the end product of the breakdown of purine nucleotides in humans, which is excreted mainly in the urine and slightly in the faeces.

Lesh-Nihan's Syndrome (disease)– is an inherited disease characterized by an increase in uric acid synthesis (in children) caused by a defect in the enzyme hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT), which catalyzes the re-use of guanine and hypoxanthine.

Глосарій:

Аденозидезаміназа– ключовий фермент катаболізму аденозину (2-дезоксаденозину) в живих організмах і грає виключно важливу роль в регуляції імунітету у ссавців, здійснюючи гідролітичне перетворення

відповідних нуклеозидів у інозин (2-дезоксіінозин) та адіак.

Аденозинмонофосфат (АМФ) – це нуклеотид, що у полімерізованому стані входить до складу РНК та складається з фосфатної групи і аденіну.

Нітроген сечовиникові (НСК) – Тест визначення вмісту нітрогену сечовини в крові (НСК) вимірює кількість нітрогену у крові людини, що надходить кінцевого продукту - сечовини. Сечовина утворюється при руйнуванні білків і є продуктом утилізації токсичного амоніаку в печінці людини, виводиться з організму людини з сечею. Наведений тест дозволяє лікарю побачити, наскільки добре працюють печінка та нирки пацієнта. Якщо нирки не в змозі нормально вивести сечовину з крові, рівень НСК підвищується. Серцева недостатність, зневоднення або дієта з високим вмістом білка також можуть підвищити рівень НСК. Захворювання печінки або її пошкодження можуть знизити рівень НСК. Низький рівень НСК може спостерігатися у вагітних у другому чи третьому триместрі вагітності.

Аллопуринол – структурний аналог гіпоксантину, що є незворотним конкурентним (суїцидним) інгібітором ксантинооксидази.

Гемоглобін – це білок, що являє собою гемопротеїн, поміщений в еритроцити для транспорту ними газів: кисену та вуглекислого газу. Нормальний вміст гемоглобіну у крові становить: для чоловіків 13,5-1,5 г на децилітр; для жінок від 12,0 до 15,5 грам на децилітр. Нормальний діапазон для дітей змінюється залежно від віку та статі.

Гіперурикемія – це аномально високий рівень сечової кислоти в крові. В умовах рН рідини в організмі сечова кислота існує значною мірою як урат, іонна форма. Кількість уратів в організмі залежить від балансу між кількістю пуринів в їжі, кількістю уратів, що утворюються всередині організму, кількістю уратів, які виділяються з сечею або крізь шлунково-кишковий тракт. У людей верхній поріг норми становить 360 мкмоль/л (6 мг/дл) для жінок і 400 мкмоль/л (6,8 мг/дл) для чоловіків.

Гіпоксантин (6-оксипурин)– це проміжний метаболіт розпаду пуринових нуклеозидів в живих клітинах, який окислюється ферментом ксантинооксидазою в ксантин і далі в сечову кислоту.

Гіпоксантин-гуанін фосфорибозилтрансфераза (ГФРТ)– фермент, який здійснює перетворення пуринових основ - гуаніну і гіпоксантину до відповідних мононуклеотидів – ІМФ і ГМФ за участю 5-фосфорибозил-1-пірофосфату.

Гуанозинмонофосфат (ГМФ) – це нуклеотид, що входить до складу РНК та складається з фосфатної групи, цукру рибози і азотистої основи гуаніну.

Діарея– патологічний стан (клінічний симптом), при якому виникають неоформлені або рідкі випорожнення три або більше разів на день (або частіше ніж зазвичай для конкретної людини).

Імуноглобуліни (антитіла)– є різновидом білків плазми крові, які синтезуються здебільшого лімфоцитами крові людини у відповідь на сторонні або потенційно небезпечні мікроорганізми чи речовини (антигени). У ссавців існує п'ять класів імуноглобулінів - IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, які відрізняються за структурою та амінокислотним складом та ефекторними функціями, які вони виконують.

Інозинова кислота (ІМР) - це нуклеотид, який є монофосфатом відповідного рибонуклеозиду, який містить гіпоксантин.

Ксантиноксидаза - це аеробна оксидоредуктаза з молекулярною масою 270 кДа. Вона містить 2 FAD, 2 іони молібдену та 8 іонів заліза, зв'язаними з апоферментом. Іони молібдену є кофакторами у складі молібдоптерину і є активними сайтами ферменту. Іони заліза входять до складу залізо-сірчаних кластерів [2Fe-2S] ферредоксину і беруть участь у реакціях перенесення електронів при окисленні субстратів ферменту.

Ксантин – пуринова основа, що утворюється при розпаді пуринових нуклеозидів. Під дією ксантиноксидази ксантин перетворюється в сечову кислоту.

Лейкопенія– патологічний стан, асоційований зі зниженням від норми кількості лейкоцитів в одиниці об'єму крові.

Мегалобластна анемія – це патологічний стан, спричинений порушенням еритропоезу внаслідок деяких причин: 1) дефіцит вітаміну В12; 2) дефіцит

вітаміну В9, 3) порушення синтезу нуклеотидів. Особливо чутливі до дефіциту цих вітамінів кістковий мозок і тканини нервової системи.

Меркаптопурин – цитостатичний препарат з групи антиметаболітів, антагоністів пуринів. Застосовується в онкології для лікування злоякісних пухлин, а також, як імунодепресант.

Оротова кислота – метаболіт в біосинтезі піримідинових нуклеотидів (УМФ), при його накопиченні розглядається патологічний стан - оротова ацидурія.

Пневмонія – хвороба, для якої характерне запалення легень, яке відбувається перш за все у альвеолах. Причиною є інфікування бактеріями, значно рідше – вірусами та іншими мікроорганізмами, ураження деякими медичними препаратами, ураження легень при аутоімунних захворюваннях тощо.

Подагра – це хвороба, яка виникає внаслідок розвинутої гіперурикемії (можливи генетичні та вторинні причини цього явища), яка супроводжується відкладанням в тканинах організму кристалів уратів (тофуси). Накопичення тофусів є фактором спричинення розвитку процесу запалення в цій тканині.

Сечова кислота – кінцевий продукт розпаду пуринових нуклеотидів у людей, який виводиться з організму головним чином із сечею і трохи з фекаліями.

Синдром (хвороба) Леша-Ніхана – це спадкове захворювання, що характеризується збільшенням вмісту сечової кислоти (у дітей). Захворювання викликане дефектом ферменту гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферази (ГГФТ), який каталізує реакції повторного використання гуаніну і гіпоксантину.

Chapter 2

NUCLEIC ACID STRUCTURE AND ORGANIZATION DNA REPLICATION AND REPAIR GENETIC STRATEGIES IN THERAPEUTICS

Розділ 2

ОРГАНІЗАЦІЯ ТА СТРУКТУРА НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ РЕПЛІКАЦІЯ ТА РЕПАРАЦІЯ ДНК ГЕНЕТИЧНІ СТРАТЕГІЇ В ТЕРАПІЇ

2.1

A double-stranded RNA genome isolated from a virus in the stool of a child with gastroenteritis was found to contain 15% uracil. What is the percent-age of guanine in this genome?

- A. 15
- B. 25
- C. 35
- D. 75
- E. 85

The answer: $U = A = 15\%$. Since $A + G = 50\%$, $G = 35\%$. Alternatively, $U = A = 15\%$, then $U + A = 30\%$, $C + G = 70\%$, and $G = 35\%$.

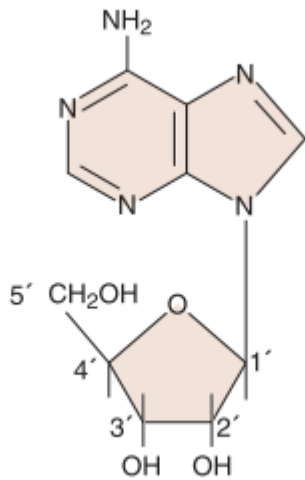
Виявлено, що геном дволанцюжкової РНК, виділений з вірусу у випорожненнях дитини з гастроентеритом, містить 15% урацилу. Який відсоток гуаніну в цьому геномі?

- A. 15
- B. 25
- C. 35
- D. 75
- E. 85

Правильна відповідь: $U = A = 15\%$. Оскільки $A + G = 50\%$, $G = 35\%$. Альтернативно, $U = A = 15\%$, тоді $U + A = 30\%$. $C + G = 70\%$, і $G = 35\%$.

2.2

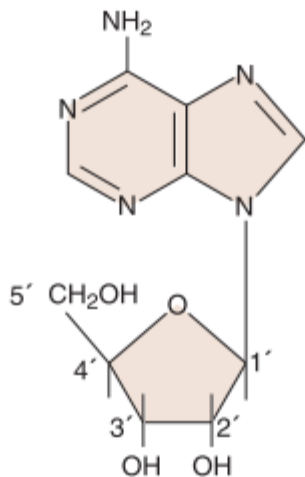
What is the structure indicated below?



- A. Purine nucleotide
- B. Purine
- C. Pyrimidine nucleoside
- D. Purine nucleoside
- E. Deoxyadenosine

The answer: A nucleoside consists of a base and a sugar. The figure shows the nucleoside adenosine, which is the base adenine attached to ribose.

Яка структура вказана нижче?



- A. Пуриновий нуклеотид
- B. Пурин
- C. Піримідиновий нуклеозид
- D. Пуриновий нуклеозид
- E. Дезоксиаденозин

Правильна відповідь: Нуклеозид складається з основи і моносахариду. На малюнку показаний нуклеозидний аденозин, де основою є аденін, приєднаний до рибози.

2.3

Endonuclease activation and chromatin fragmentation are characteristic features of eukaryotic cell death by apoptosis. Which of the following chromosome structures would most likely be degraded first in an apoptotic cell?

- A. Barr body
- B. 10-nm fiber
- C. 30-nm fiber
- D. Centromere
- E. Heterochromatin

The answer: The more "opened" the DNA, the more sensitive it is to enzyme attack. The 10-nm fiber, without the H1, is the most open structure listed. The endonuclease would attack the region of unprotected DNA between the nucleosomes.

Активация эндонуклеази і фрагментація хроматину є характерними ознаками руйнування еукаріотичної клітини апоптозом. Які з наступних хромосомних структур, швидше за все, будуть деградовані спочатку в апоптичній клітині?

- A. Тіло Барра
- B. 10-нм волокна
- C. 30-нм волокна
- D. Центромера
- E. Гетерохроматин

Правильна відповідь: Чим більше "відкрита" ДНК, тим більш чутлива вона до ензимної атаки. 10-нм волокно без H1 є найбільш відкритою структурою. Ендонуклеаза атакувала б область незахищеної ДНК між нуклеосомами.

2.4

A medical student working in a molecular biology laboratory is asked by her mentor to determine the base composition of an unlabeled nucleic acid sample left behind by a former research technologist. The results of her analysis show 10% adenine, 40% cytosine, 30% thymine and 20% guanine. What is the most likely source of the nucleic acid in this sample?

- A. Bacterial chromosome
- B. Bacterial plasmid
- C. Mitochondrial chromosome
- D. Nuclear chromosome
- E. Viral genome

The answer: A base compositional analysis that deviates from Chargaff's rules ($\%A = \%T$, $\%C = \%G$) is indicative of single-stranded, not doublestranded, nucleic acid molecule. All options listed except E are examples of circular (choices A, B and C) or linear (choice D) DNA double helices. Only a few viruses (e.g. parvovirus) have single-stranded DNA.

Студента-медика, що працює в лабораторії молекулярної біології, його викладач просить визначити склад азотистих основ зразка нуклеїнової кислоти без мітки, залишеного колишнім технологом досліджень. Результати аналізу показують 10% аденіну, 40% цитозину, 30% тиміну і 20% гуаніну. Яке найбільш вірогідне джерело нуклеїнової кислоти в цьому зразку?

- A. Бактеріальна хромосома
- B. Бактеріальна плазміда
- C. Мітохондріальна хромосома
- D. Ядерна хромосома
- E. Вірусний геном

Правильна відповідь: Композиційний аналіз складу азотистих основ, який відхиляється від правил Чаргаффа ($\% A = \% T$, $\% C = \% G$), є показником одноланцюгової, а не дволанцюгової молекули нуклеїнової кислоти. Всі перераховані варіанти, крім E, є прикладами циклічних (вибір A, B і C) або

лінійних (вибір D) ДНК подвійних спіралей. Тільки кілька вірусів (наприклад, парвовірус) мають одноланцюгову ДНК.

2.5

It is now believed that a substantial proportion of the single nucleotide substitutions causing human genetic disease are due to misincorporation of bases during DNA replication. Which proofreading activity is critical in determining the accuracy of nuclear DNA replication and thus the base substitution mutation rate in human chromosomes?

- A. 3' to 5' polymerase activity of DNA polymerase δ
- B. 3' to 5' exonuclease activity of DNA polymerase γ
- C. Primase activity of DNA polymerase α
- D. 5' to 3' polymerase activity of DNA polymerase III
- E. 3' to 5' exonuclease activity of DNA polymerase δ

The answer: The 3' to 5' exonuclease activity of DNA pol δ represents the proofreading activity of an enzyme required for the replication of human chromosomal DNA. DNA pol γ (mitochondrial) and DNA pol III (prokaryotic) do not participate in this process, short RNA primers are replaced with DNA during replication, and new DNA strands are always synthesized in the 5' to 3' direction.

В даний час вважається, що значна частка однонуклеотидних заміщень, що викликають генетичні захворювання людини, обумовлена неправильним включенням основ під час реплікації ДНК. Яка коригуюча активність є критично важливою для визначення точності реплікації ядерної ДНК і, відповідно, базою заміщення рівня мутацій в людських хромосомах?

- A. 3' - 5' полімеразна активність ДНК-полімерази δ
- B. 3' - 5' екзонуклеазна активність ДНК полімерази γ
- C. Примазна активність ДНК-полімерази α
- D. 5' - 3' полімеразна активність ДНК полімерази III
- E. 3' - 5' екзонуклеазна активність ДНК полімерази δ

Правильна відповідь: 3' - 5' екзонуклеазна активність ДНК полімерази δ являє собою коригуючаактивність ферменту, необхідного для реплікації хромосомної ДНК людини. ДНК полімераза γ (мітохондріальна) і ДНК полімераза III (прокаріотична) не беруть участі у цьому процесі, короткі праймери РНК замінюються ДНК під час реплікації, і нові ланцюги ДНК завжди синтезуються в напрямку 5' до 3'.

2.6

The proliferation of cytotoxic T-cells is markedly impaired upon infection with a newly discovered human immunodeficiency virus, designated HIV-V. The defect has been traced to the expression of a viral-encoded enzyme that inactivates a host-cell nuclear protein required for DNA replication. Which protein is a potential substrate for the viral enzyme?

- A. TATA-box binding protein (TBP)
- B. Cap binding protein (CBP)
- C. Catabolite activator protein (CAP)
- D. Acyl-carrier protein (ACP)
- E. Single-strand binding protein (SBP)

The answer: TBP and CBP participate in eukaryotic gene transcription and mRNA translation, respectively. CAP regulates the expression of prokaryotic lactose operons. ACP is involved in fatty acid synthesis.

Проліферація цитотоксичних Т-клітин помітно погіршується при інфікуванні нововиявленого вірусу імунодефіциту людини, що позначається ВІЛ-V. Дефект простежується до експресії ферменту, кодованого вірусом, який інактивує ядерний білок клітин-господарів, необхідний для реплікації ДНК. Який білок є потенційним субстратом для вірусного ферменту?

- A. ТАТА-бокс зв'язуючий білок (ТВР)
- B. Білок, зв'язуючий кеп (СВР)
- C. Катаболітний активаторний білок (САР)
- D. Білок-ацил-носій (АСР)

Е. Однонитковий зв'язуючий білок (SBP)

Правильна відповідь: ТВР і СВР беруть участь у транскрипції еукаріотичного гена і трансляції мРНК відповідно. САР регулює експресію прокаріотичних оперонів лактози. АСР бере участь у синтезі жирних кислот.

2.7

The deficiency of an excision endonuclease may produce an exquisite sensitivity to ultraviolet radiation in xeroderma pigmentosum. Which of the following functions would be absent in a patient deficient in this endonuclease?

- A. Removal of introns
- B. Removal of pyrimidine dimers
- C. Protection against DNA viruses
- D. Repair of mismatched bases during DNA replication
- E. Repair of mismatched bases during transcription

The answer: Nucleotide excision repair of thymine (pyrimidine) dimers is deficient in XP patients.

Дефіцит вирізаючої ендонуклеази може призвести до надмірної чутливості до ультрафіолетового випромінювання у вигляді пігментної ксеродерми (ХР). Які з наступних функцій були б відсутні у пацієнта з недостатністю цієї ендонуклеази?

- A. Видалення інтронів
- B. Видалення димерів піримідину
- C. Захист від вірусів ДНК
- D. Репарація невідповідних основ під час реплікації ДНК
- E. Репарація невідповідних підстав під час транскрипції

Правильна відповідь: Відновлення з нуклеотидним видаленням тимінових (піримідинових) димерів є дефіцитним у хворих на ХР.

2.8

The anti-Pseudomonas action of norfloxacin is related to its ability to inhibit chromosome duplication in rapidly dividing cells. Which of the following enzymes participates in bacterial DNA replication and is directly inhibited by this antibiotic?

- A. DNA polymerase I
- B. DNA polymerase II
- C. Topoisomerase I
- D. Topoisomerase II
- E. DNA ligase³⁰

The answer: Norfloxacin inhibits DNA gyrase (topoisomerase II).

Антипсевдомонадну дію норфлораксацину пов'язано з його здатністю інгібувати дублювання хромосом у клітинах, що швидко діляться. Який з наступних ферментів бере участь у реплікації бактеріальної ДНК і безпосередньо інгібується цим антибіотиком?

- A. ДНК-полімераза I
- B. ДНК-полімераза II
- C. Топоізомераза I
- D. Топоізомераза II
- E. ДНК-лігаза 30

Правильна відповідь: Норфлораксацин пригнічує ДНК-гіразу (топоізомеразу II).

2.9

Cytosine arabinoside (araC) is used as an effective chemotherapeutic agent for cancer, although resistance to this drug may eventually develop. In certain cases, resistance is related to an increase in the enzyme cytidine deaminase in the tumor cells. This enzyme would inactivate araC to form

- A. Cytosine
- B. Cytidylic acid
- C. Thymidine arabinoside

D. Uracil arabinoside

E. Cytidine

The answer: Deamination of cytosine would produce uracil.

Цитозин арабінозид (araC) використовується як ефективний хіміотерапевтичний засіб при раку, хоча стійкість до цього препарату може з часом розвиватися. У певних випадках резистентність пов'язана зі збільшенням ферменту цитидинової дезамінази в пухлинних клітинах. Цей фермент інактивував araC до утворення

A. Цитозин

B. Цитидилова кислота

C. Тимидин арабінозид

D. Урацил арабінозид

E. Цитидин

Правильна відповідь: Дезамінування цитозину призвело б до отримання урацилу.

2.10

Dyskeratosis congenital (DKC) is a genetically inherited disease in which the proliferative capacity of stem cells is markedly impaired. The defect has been traced to inadequate production of an enzyme needed for chromosome duplication in the nuclei of rapidly dividing cells. Structural analysis has shown that the active site of this protein contains a singlestranded RNA that is required for normal catalytic function. Which step in DNA replication is most likely deficient in DKC patients?

A. Synthesis of centromeres

B. Synthesis of Okazaki fragments

C. Synthesis of RNA primers

D. Synthesis of telomeres

E. Removal of RNA primers

The answer: The enzyme is described as an RNA dependent DNA polymerase required for chromosome duplication in the nuclei of rapidly dividing cells.

This enzyme is telomerase, a reverse transcriptase, that replicates the ends (telomeres) of linear chromosomes. None of the other options have reverse transcriptase activity.

Вроджений дискератоз - це генетично успадковане захворювання, при якому проліферативна здатність стовбурових клітин помітно знижена. Дефект простежується у недостатньому виробництві ферменту, необхідного для дублювання хромосом в ядрах клітин, які швидко діляться. Структурний аналіз показав, що активний сайт цього білка містить одноланцюгову РНК, необхідну для нормальної каталітичної функції. Який етап реплікації ДНК, швидше за все, є дефіцитним у пацієнтів з дискератозом?

- A. Синтез центромерів
- B. Синтез фрагментів Оказакі
- C. Синтез РНК-праймерів
- D. Синтез теломер
- E. Видалення РНК-праймерів

Правильна відповідь: Фермент визначається як РНК-залежна ДНК-полімераза, яка необхідна для дублювання хромосом в ядрах клітин, які швидко діляться. Цей фермент являє собою теломеразу, зворотну транскриптазу, що реплікує кінці (теломери) лінійних хромосом. Жоден з інших варіантів не має активності зворотної транскриптази.

2.11

Single-strand breaks in DNA comprise the single most frequent type of DNA damage. These breaks are frequently due to reactive oxygen species damaging the deoxyribose residues of the sugar phosphate backbone. This type of break is repaired by a series of enzymes that reconstruct the sugar and ultimately reform the phosphodiester bonds between nucleotides. Which class of enzyme catalyses the formation of the phosphodiester bond in DNA repair?

- A. DNA glycosylases
- B. DNA helicases

- C. DNA ligases
- D. DNA phosphodiesterases
- E. DNA polymerases

The answer: All DNA repair systems use a ligase to seal breaks in the sugar phosphate backbone of DNA. Although polymerase enzymes make phosphodiester bonds during DNA synthesis, these enzymes do not ligate strands of DNA.

Одноланцюгові розриви в ДНК є найпоширенішим типом пошкодження ДНК. Ці розриви часто викликані реакційноздатними видами кисню, що пошкоджують залишки дезоксирибози цукрової фосфатної основи. Цей тип розриву ремонтується серією ферментів, які реконструюють цукор і в кінцевому підсумку реформують фосфодієфірні зв'язки між нуклеотидами. Який клас ферменту каталізує утворення фосфодієфірного зв'язку в репарації ДНК?

- A. ДНК глікозилази
- B. ДНК Гелікази
- C. ДНК-лігази
- D. ДНК фосфодіестерази
- E. ДНК-полімерази

Правильна відповідь: Всі системи репарації ДНК використовують лігазу для ущільнення розривів у фосфатно-цукровій основі ДНК. Хоча ферменти полімерази роблять фосфодієфірні зв'язки під час синтезу ДНК, ці ферменти не зв'язують нитки ДНК.

2.12

If a patient with cystic fibrosis were to be treated by gene therapy, which type of cells should be targeted as host cells?

- A. Germ cells
- B. Epithelial cells
- C. T cells
- D. Hemopoietic stem cells

The answer: The pathogenesis of cystic fibrosis is related to defective chloride transport in epithelial cells.

Якщо пацієнта з кістозним фіброзом треба лікувати за допомогою генної терапії, то який тип клітин повинен бути клітиною-господарем?

- A. Зародкові клітини
- B. Епітеліальні клітини
- C. Т-клітини
- D. Гемопоетичні стовбурові клітини
- E. В-лімфоцити

Правильна відповідь: Патогенез муковісцидозу пов'язаний з дефектом транспорту хлориду в епітеліальних клітинах.

2.13

A pharmaceutical firm is interested in the bacterial production of thymidylate synthase in large quantities for drug-targeting studies. An important step in the overall cloning strategy involves the ligation of synthase cDNA into a plasmid vector containing a replication origin, an antibiotic resistance gene, and a promoter sequence. Which additional nucleotide sequence should be included in this vector to ensure optimal production of the thymidylate synthase?

- A. Operator sequence
- B. PolyA sequence
- C. Shine-Dalgarno sequence
- D. Attenuator sequence
- E. 3'-splice acceptor sequence

The answer: Incorporation of a Shine-Dalgarno sequence into the expression vector will promote ribosome binding to the translation start site on the mRNA produced by transcription of the cDNA insert.

Фармацевтична фірма зацікавлена у бактеріальному виробництві тимидилатсинтази у великих кількостях для досліджень, спрямованих на

медикаментозну спрямованість. Важливим етапом в загальній стратегії клонування є лігування кДНК синтази в плазмідний вектор, що містить початок реплікації, ген стійкості до антибіотиків і промоторну послідовність. Які додаткові нуклеотидні послідовності повинні бути включені в цей вектор для забезпечення оптимальної продукції тимидилатсинтази?

- A. Послідовність оператора
- B. Поліамінова послідовність
- C. Послідовність Shine-Dalgarno
- D. Послідовність аттенюатора
- E. 3'-сплайс-акцепторна послідовність

Правильна відповідь: Включення послідовності Shine-Dalgarno у вектор експресії буде сприяти зв'язуванню рибосом з початковою ділянкою трансляції на мРНК, яку отримали транскрипцією вставки кДНК.

2.14

Restriction fragment length polymorphisms may be produced by mutations in the sites for restriction endonucleases. For instance, a single base change in the site for the nuclear SalI produces the sequence GTGGAC, which can no longer be recognized by the enzyme. What was the original sequence recognized by SalI?

- A. GTAGAC
- B. GCGGAC
- C. CTGGAC
- D. GTCGAC
- E. GTGTAC

The answer: All options represent single-base changes in the mutant sequence in the stem, but only choice D reestablishes a palindrome.

Поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів може бути визваний мутаціями в ділянках рестрикції для ендонуклеаз. Наприклад, заміна однієї основи в ділянці ядерного SalI (фермент рестрикції) продукує послідовність

GTGGAC, яка більше не може бути розпізнана ферментом. Якою була оригінальна послідовність, визнана SalI?

A. GTAGAC

B. GCGGAC

C. CTGGAC

D. GTCGAC

E. GTGTAC

Правильна відповідь: Всі варіанти представляють одноосновні заміни в послідовності мутантів у ланцюзі, але тільки варіант D відновлює паліндром.

Glossary

Nucleic acid is a high molecular weight organic compound formed by nucleotide residues. The nucleotide sequence determines the primary structure of nucleic acids. Nucleic acids are present in the cells of all living organisms.

Deoxyribonucleic acid (DNA) is a polymeric natural compound found in the cell nuclei of living organisms. DNA is a carrier of genetic information. Certain sequences in DNA correspond to specific genes. DNA is precisely reproduced during cell division, which ensures the transmission of hereditary traits and specific forms of metabolism in a series of generations of cells and organisms.

Ribonucleic acids (RNAs) are varieties of nucleic acids. They are high molecular weight organic compounds formed by nucleotides, which include: adenine, guanine, cytosine, uracil and ribose sugar and phosphate. In the cells of all living organisms, RNAs are involved in the realization of genetic information. There are three main types of RNA: mRNA or iRNA - messenger or informational RNA; tRNA - transport RNA; - rRNA - ribosomal RNA.

Chromatin is a filamentous complex of DNA, histones and other proteins that form the basis of eukaryotic chromosomes.

Chargaff's rules are the rules of nitrogenous bases pairing: the molar sum of purine bases (Adenine, Guanine) is equal to the sum of pyrimidine bases (Cytosine, Thymine) in any DNA molecule.

DNA denaturation is the transition of DNA from a double-stranded form to a single-stranded form during the breaking of hydrogen bonds between complementary base pairs under the influence of high temperatures.

Complementarity is the spatial relationship between two molecules or their parts each following the lock-and-key principle. In the structure of nucleic acids, two polynucleotide chains as a result of complementary interaction of pairs of purine and pyrimidine bases (A-T, G-C) form a double-stranded molecule.

Nucleotides are phosphoric esters of nucleosides. Nucleotides consist of a nitrogenous base: purine or pyrimidine; carbohydrate: ribose or deoxyribose; and one or more phosphoric acid residues.

Recombinant DNA - chimeric DNA molecules made up of fragments of different origin.

Restrictases are group of bacterial enzymes with nuclease activity that specifically cleave DNA. Restrictases protect bacterial cells against foreign DNA. They are used in DNA primary structure determination (sequencing), used for mapping genes; in genetic engineering to create and clone hybrid DNA molecules.

DNA reduplication is the self-doubling of a DNA molecule or (for some viruses) RNA, in which the double helix of the molecule is first divided into two polynucleotide chains, and then daughter strands are formed on each of the chains. Free nucleotides of the interphase nucleus are collected in accordance with the rule of complementarity and in this way, DNA duplication of molecules occurs.

The replication fork is the point at which the strands of the parent double-stranded DNA diverge so that replication can occur.

A palindrome is a DNA sequence that remains unchanged if it is read from left to right on one of the DNA chains, and on the other from right to left; consists of adjacent inverted turns.

DNA ligase is an enzyme that catalyzes the formation of a phosphodiester bond between the 3'-end of one DNA fragment and the 5'-end of another under conditions when both fragments are complementary paired with the template chain.

DNA polymerase is an enzyme that catalyzes the main reaction in DNA synthesis – phosphodiester bond formation between substrates deoxyribonucleoside-5'-triphosphates in the presence of the parental DNA as a template.

Okazaki fragments are short DNA fragments with a length of 1000-2000 bases. They are formed as a result of discontinuous replication; subsequently covalently join in a continuous chain.

Reverse transcriptase is an RNA-dependent DNA polymerase synthesized by retroviruses that can catalyze the synthesis of DNA complementary to RNA.

Primer is a short sequence (often an RNA) that complementary interacts with one of the DNA strands; forms a free 3'-OH-terminus, using which DNA polymerase starts the synthesis of the deoxyribonucleotide chain.

A primosome is a complex of proteins involved in the initiation of Okazaki fragment synthesis in the process of discontinuous DNA replication; the primosome can move along the DNA, participating in subsequent acts of initiation.

Exonuclease is an enzyme that hydrolyzes only the terminal phosphodiester linkage of a nucleic acid.

Endonuclease is an enzyme that can hydrolyze internal phosphodiester bonds in nucleic acids.

Topoisomerases are a class of isomerase enzymes that affect DNA topology. Topoisomerases are able to relax supercoiled DNA molecules by introducing single- or double-stranded breaks with subsequent ligation. However, in some cases, topoisomerases can introduce negative supercoils or catenans into DNA.

Helicases are a class of enzymes that are found in all living organisms. They belong to the class of "molecular machines", because they use the energy of hydrolysis of nucleoside triphosphates (ATP, GTP) to move along the sugar phosphate backbone of nucleic acids (DNA, RNA, hybrids between DNA and RNA) and the breaking of intra- or intermolecular hydrogen bonds between the bases.

Single-strand binding proteins (SSB, SSBP) bind to single-stranded regions of DNA, and prevent complementary pairing. SSB proteins prevent duplex formation and allow replication fork components to replicate DNA.

Telomeres are the terminal parts of chromosomes. Telomeric regions of chromosomes are characterized by a lack of ability to connect with other chromosomes or their fragments and perform a protective function.

Telomerase is an enzyme that adds special repeating DNA sequences (TTAGGGs in vertebrates) to the 3'-end of the DNA strand at the telomere sites that are located at the ends of chromosomes in eukaryotic cells.

Reparation is a special function of cells, which consists in the ability to repair chemical damage and breaks in DNA molecules damaged during normal DNA biosynthesis in a cell or as a result of exposure to physical or chemical reagents. It is carried out by special enzyme systems of the cell.

A plasmid vector is a bacterial plasmid used to transfer a gene or genes of foreign DNA to a host cell (bacterium) and to ensure the propagation of foreign genes in these cells.

The Shine - Dalgarno sequence (Shine-Dalgarno box) is a ribosome binding site of a prokaryotic mRNA. It usually is at a distance of about 10 nucleotides from the AUG start codon. That was described by Australian scientists John Shine and Lynn Dalgarno.

Глосарій

Нуклеїнова кислота - високомолекулярна органічна сполука, яка утворюється із залишків нуклеотидів. Послідовність нуклеотидів визначає первинну структуру нуклеїнових кислот. Нуклеїнові кислоти присутні в клітинах всіх живих організмів.

Дезоксирибонуклеїнова кислота - високополімерна природна сполука, що міститься в ядрах клітин живих організмів. ДНК - носій генетичної інформації; окремі ділянки ДНК відповідають певним генам. ДНК точно відтворюється при розподілу клітин, що забезпечує в ряду поколінь клітин і організмів передачу спадкових ознак і специфічних форм обміну речовин.

Рибонуклеїнові кислоти - тип нуклеїнових кислот; високомолекулярні органічні сполуки, утворені нуклеотидами, в які входять: аденін, гуанін, цитозин, урацил і моносахарид рибоза. У клітинах всіх живих організмів РНК беруть участь в реалізації генетичної інформації. Розрізняють три основних види РНК: - мРНК або іРНК - матричні або інформаційні РНК; - тРНК - транспортні РНК; - рРНК - рибосомальні.

Хроматин - ниткоподібний комплекс ДНК, гістонів та інших білків, що становить основу еукаріотичних хромосом.

Правило Е.Чаргаффа - біологічний закон, відповідно до якого в будь-яких молекулах ДНК молярна сума пуринових основ (Аденін + Гуанін) дорівнює сумі піримідинових основ (Цитозин + Тимин).

Денатурація ДНК - перехід ДНК з двохнитчастої форми в одностичасту при розриві водневих зв'язків між комплементарними парами основ під впливом високих температур.

Комплементарність - просторова взаємодоповнюваність молекул або їх частин, що приводить до утворення водневих зв'язків. У будові нуклеїнових кислот дві полінуклеотидних ланцюга в результаті комплементарної взаємодії пар пуринових і піримідинових основ (А-Т, Г-Ц) утворюють двохспіральну молекулу.

Нуклеотиди - фосфорні ефіри нуклеозидів. Нуклеотиди складаються з азотистої основи: пуринової або піримідинової; вуглеводу: рибози або дезоксирибози; і одного або декількох залишків фосфорної кислоти.

Рекомбінантна ДНК - химерні молекули ДНК, що складаються з фрагментів різного походження.

Рестриктази - група бактеріальних нуклеаз, специфічно розщеплюють ДНК. Рестриктази: - оберігають бактеріальні клітини від чужорідних ДНК; - використовуються при визначенні первинної структури ДНК; - використовуються для картування генів; - використовуються в генній інженерії для створення і клонування гібридних молекул ДНК.

ДНК-редуплікація - самоподвоєння молекули ДНК або (у деяких вірусів) РНК, при якому подвійна спіраль молекули - спочатку розділяється на дві полінуклеотидних ланцюга, - а потім на кожній з утворених ланцюгів з вільних нуклеотидів інтерфазного ядра відповідно до правила комплементарності азотистих основ добудовуються дочірні ланцюги.

Вилка реплікації - точка, в якій ланцюги батьківської двохланцюгової ДНК розходяться для того, щоб могла статися реплікація.

Палиндром - послідовність ДНК, яка залишається незмінною, якщо на одному з ланцюжків ДНК її читати зліва направо, а на інший справа наліво; складається з прилеглих один до одного інвертованих поворотів.

ДНК-лігаза - фермент, що каталізує утворення фосфодіефірних зв'язків між 3'-кінцем одного фрагмента ДНК і 5'-кінцем іншого в умовах, коли обидва фрагмента комплементарно спарені з ланцюгом-матрицею.

ДНК-полімераза - фермент, який каталізує протікає в присутності матриці реакцію синтезу ДНК з попередників - дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфату.

Фрагменти Окадзакі - короткі фрагменти ДНК завдовжки 1000-2000 основ; утворюються в результаті переривчастої реплікації; згодом ковалентно з'єднуються в безперервний ланцюг.

Зворотна транскриптаза - РНК-залежна ДНК-полімераза, яка синтезується ретровірусами та здатна каталізувати синтез ДНК, комплементарно до РНК.

Праймер - коротка послідовність (часто це РНК), комплементарно взаємодіє з однією з ланцюгів ДНК; утворює вільний 3'-ОН-кінець, використовуючи який ДНК-полімераза починає синтез дезоксирибонуклеотидного ланцюга.

Праймосома - комплекс білків, які беруть участь в ініціюванні синтезу фрагментів Окадзакі в процесі переривчастої реплікації ДНК; праймосома може переміщатися уздовж ДНК, беручи участь в наступних актах ініціації.

Екзонуклеаза - фермент, який гідролізує тільки кінцеву фосфодієфірний зв'язок нуклеїнової кислоти.

Ендонуклеаза - фермент, здатний гідролізувати внутрішні фосфодієфірні зв'язки в нуклеїнових кислотах.

Топоізомерази - клас ферментів-ізомераз, які впливають на топологію ДНК. Топоізомерази здатні релаксувати понадспіралізованні молекули ДНК шляхом внесення одно- або дволанцюгових розривів з подальшим відновленням (лігуванням). Разом з тим в деяких випадках топоізомерази можуть вносити в ДНК негативні супервитки або катенани.

Хелікази - клас ферментів, які є у всіх живих організмів. Їх відносять до класу «молекулярних машин», оскільки вони використовують енергію гідролізу нуклеозидтрифосфатів (АТФ, ГТФ) для руху уздовж цукрофосфатним остовом нуклеїнових кислот (ДНК, РНК, гібридів між ДНК і РНК) і розриву внутрішньо- або міжмолекулярних водневих зв'язків між основами.

Білки, що зв'язують одноланцюгову ДНК (англ. Single-strand binding protein, SSB, SSBP) - пов'язують одноланцюгові фрагменти ДНК, і запобігають їх комплементарному спаровуванню. Одноланцюгові ділянки ДНК мають термодинамічно більш вигідну форму - дуплекс. Білки SSB запобігають

утворенню дуплексу і дозволяють компонентам вилки реплікації здійснювати реплікацію ДНК.

Теломери - кінцеві ділянки хромосом. Теломерні ділянки хромосом характеризуються відсутністю здатності до з'єднання з іншими хромосомами або їх фрагментами і виконують захисну функцію.

Теломераза - фермент, який додає особливі послідовності ДНК (TTAGGG у хребетних) до 3'-кінця ланцюга ДНК на ділянках теломер, які розташовуються на кінцях хромосом в клітині.

Репарація - особлива функція клітин, яка полягає в здатності виправляти хімічні пошкодження і розриви в молекулах ДНК, пошкоджених при нормальному біосинтезі ДНК в клітині або в результаті впливу фізичних або хімічних реагентів. Здійснюється спеціальними ферментними системами клітини.

Плазмідний вектор - бактеріальна плазміда, яку використовують для перенесення гена або генів чужорідної ДНК в клітину господаря (бактерію) і яка забезпечує розмноження чужорідних генів в цих клітинах.

Послідовність Шайна - Дальгарно (англ. Shine-Dalgarno sequence, Shine-Dalgarno box) - сайт зв'язування рибосом на молекулі мРНК прокариотів, зазвичай на відстані близько 10 нуклеотидів до стартового кодону AUG. Описана австралійськими вченими Джоном Шайном і Лінн Дальгарно.

Chapter 3

**TRANSCRIPTION AND RNA PROCESSING.
REGULATION OF EUKARYOTIC GENE EXPRESSION.
TECHNIQUE OF GENETIC ANALYSIS**

Розділ 3

**ТРАНСКРИПЦІЯ І РНК ПРОЦЕСИНГ.
РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ЕУКАРІОТИЧНИХ ГЕНІВ.
МЕТОДИ ГЕНЕТИЧНОГО АНАЛІЗУ**

3.1

Which of the following is a co-transcriptional event in RNA synthesis?

- A. Addition of a 7-methyl G cap
- B. Splicing
- C. Poly A tailing
- D. Telomers formation
- E. Restriction

Answer: Addition of 7-methyl guanosine monophosphate (addition of "cap"). The formation of "cap" is observed in the process of transcription until the separation of the polynucleotide chain of the primary transcript from the DNA template.

Яка подія з наступних супроводжує транскрипцію первинного транскрипту для м-РНК?

- A. Додавання 7-метил гуанозин- монофосфату (додавання «кепу»)
- B. Сплайсинг
- C. Поліаденілування
- D. Формування теломерів
- E. Рестрикція

Правильна відповідь: Додавання 7-метил-гуанозинмонофосфату (додавання «кепу»). Утворення «кепу» спостерігається в процесі транскрипції до моменту відділення полінуклеотидного ланцюгу первинного транскрипту від матриці ДНК.

3.2

During RNA synthesis, the DNA template sequence TAGC would be transcribed to produce which of the following sequences?

- A. GCUA
- B. ATCG
- C. GCTA
- D. CGTA
- E. AUCG

The answer: GCUA. RNA is antiparallely produced and complementary to the template strand. Also remember that, by convention, all base sequences are written in the 5' to 3' direction regardless of the direction in which the sequence may actually be used in the cell.

Під час синтезу РНК, послідовність TAGC у полінуклеотидному ланцюгу ДНК буде використана для отримання наступної послідовності в ланцюгу РНК?

- A. GCUA
- B. ATCG
- C. GCTA
- D. CGTA
- E. AUCG

Правильна відповідь: GCUA . Ланцюг РНК формується антипаралельно і комплементарно до фрагменту-матриці ДНК. Також пам'ятайте, що, за згодою, всі послідовності азотистих основ записані в напрямку від 5' до 3'кінця, незалежно від напрямку, в якому послідовність може бути фактично використовуватися в клітині.

3.3

What would be the base sequence of the mRNA produced using the transcription of the following sequence of the tryptophan operon: 3' CGTCAGC 5'?

- A. 5'...GCAGUCG...3'
- B. 5'...CGUGAGC...3'
- C. 5'...GCUGACG...3'
- D. 5'...CGUCAGC...3'
- E. 5'...CGUGAGC...3'

The answer is 5'...GCAGUCG...3'. Because all nucleic acids are synthesized in the 5' to 3' direction, mRNA and the coding strand of DNA must each be oriented 5' to 3', i.e., in the direction of transcription. This means that the bottom strand in this example is the coding strand. The top strand is the template strand.

Якою буде послідовність азотистих основ мРНК, яка утворюється з використанням транскрипції наступної послідовності триптофан-оперону:

3 'CGTCAGC 5'?

- A. 5 '... GCAGUCG... 3'
- B. 5 '... CGUGAGC... 3'
- C. 5 '... GCUGACG... 3'
- D. 5 '... CGUCAGC... 3'
- E. 5 '... CGUGAGC... 3'

Правильна відповідь: 5 '... GCAGUCG ... 3 '. Оскільки всі нуклеїнові кислоти синтезуються в напрямку від 5 ' до 3' кінця, мРНК кодується ланцюгом ДНК і повинна бути орієнтована в напрямку транскрипції , тобто в напрямку від 5 ' до 3 ' кінця.

3.4

The base sequence of codons 57-58 in the cytochrome β 5 reductase gene is CAGCGC. The mRNA produced upon transcription of this gene will contain which sequence?

- A. GCGCUG
- B. GCGCTG
- C. CUGCGC
- D. CAGCGC
- E. GUCGCG

The answer: GUCGCG. Since the sequence in the stem represents the coding strand, the mRNA sequence must be identical (except U for T). No T in the DNA means no U in the mRNA.

Послідовність азотистих основ кодонів 57-58 в гені цитохром β 5-редуктази є CAGCGC. Яка послідовність в молекулі м-РНК утворюється при транскрипції цього гена?:

- A. GCGCUG
- B. GCGCTG

- C. CUGCGC
- D. CAGCGC
- E. GUCGCG

Правильна відповідь: GUCGCG . Послідовність мРНК повинна бути ідентичною за принципом комплементарності (за винятком U для T).

3.5

A gene encodes a protein with 150 amino acids. There is one intron of 1,000 bps, a 5'-untranslated region of 100 bp, and a 3'-untranslated region of 200 bp. In the final processed mRNA, how many bases lie between the start AUG codon and the final termination codon?

- A. 450
- B. 1,750
- C. 750
- D. 650
- E. 150

The answer: Only the coding region remains to be calculated $3 \times 150 = 450$.

Ген кодує поліпептидний ланцюг білку, який містить 150 амінокислотних залишків. У гені присутні інтрон з 1000 пар азотистих основ, 5'-некодуєча послідовність з 100 пар азотистих основ і 3'-некодуєча послідовність з 200 пар азотистих основ. Скільки азотистих основ присутні в синтезованій після процесингу мРНК між стартовим кодоном AUG і термінуючим кодоном?:

- A. 450
- B. 1750
- C. 750
- D. 650
- E. 150

Правильна відповідь: 450. Кодуюча послідовність для поліпептидного ланцюга рахується таким чином: $3 \times 150 = 450$.

3.6

Which of the following protein classes is related to the transcription factor for steroid receptors?

- A. Zinc fingers
- B. Helix-turn-helix
- C. Leucine zipper
- D. Rel domains
- E. Alpha-helix

The answer: Zinc fingers. An experimental study using X-ray analysis shows the presence of a specific conformation in the steroid hormone receptor, which is called "Zinc Fingers".

Визначте домен білку- стероїдного рецептора, який виконує функцію контакту зі специфічними ділянками ДНК при стимуляції транскрипції:

- A. Цинкові пальці
- B. Спіраль-поворот-спіраль
- C. Лейцинова застібка
- D. Rel домени
- E. Альфа-спіраль

Правильна відповідь: Цинкові пальці. Експериментальне дослідження за допомогою рентген-структурного аналізу доказує наявність специфічної конформації в рецепторі стероїдного гормону, яка має назву «Цинкові пальці».

3.7

Klein-Waardenburg syndrome is a single-gene disorder that includes dystopia canthorum (lateral displacement of the inner corner of the eye), impaired hearing, and pigmentary abnormalities. The gene involved is most likely to be a...:

- A. Homeotic gene
- B. Pseudogene
- C. Proto-oncogene

D. Transgene

E. Tumor suppressor gene

The answer: homeotic gene. Multiple developmental abnormalities due to mutation in a single gene.

Синдром Клейна-Ваарденбурга є розладом в одному гені, який має наступні прояви у пацієнтів: Dystopia canthorum (латеральне зміщення внутрішнього кута ока), порушення слуху і аномальна пігментація. Цей ген, швидше за все, буде...:

A. Псевдогеном

B. Прото-онкогеном

C. Трансгеном

D. Гомеотичним геном

E. Ген супресора пухлини

Правильна відповідь: Цей ген, швидше за все, буде гомеотичним геном. Якщо спостерігаються множинні порушення в організмі внаслідок мутації тільки в одному гені, він має назву «гомеотичний ген».

3.8

Enhancers are transcriptional regulatory sequences that function by enhancing the activity of:

A. RNA polymerase at a single promoter site

B. General transcriptional factors

C. RNA polymerase to enable the enzyme to transcribe through the terminating region of a gene

D. Transcription factors that bind to the promoter but not to RNA polymerase

E. Spliceosomes

The answer: RNA polymerase at a single promoter site. Specific transcription factors (e.g., any steroid receptor) bind to specific DNA sequences (enhancers) and to RNA polymerase at a single promoter sequence and enable the RNA polymerase to transcribe the gene more efficiently.

Енхансери – це ділянки ДНК, які при контакті зі спеціальними факторами транскрипції стимулюють:

- A. РНК-полімераза, скорочуючи час її контакту з єдиним промотором
- B. Головні фактори транскрипції
- C. РНК-полімераза, що дозволяє ферменту транскрибувати крізь термінуючу послідовність гена
- D. Фактори транскрипції, які зв'язуються з промотором, але не з РНК-полімеразою
- E. Сплайсосоми

Правильна відповідь: РНК-полімераза, скорочуючи час контакту з єдиним промотором. Специфічні фактори транскрипції (наприклад, будь-який стероїд-рецепторний комплекс) зв'язуються зі специфічними послідовностями ДНК (енхансерами) і дозволяють РНК-полімеразі транскрибувати ген більш ефективно, прискорюючи її час контакту з промоторним сайтом.

3.9

A pharmacologist employed by a pharmaceutical company is investigating the mechanism of action of a new drug that significantly inhibits the division of tumor cells obtained from patients with acute myelogenous leukemia. He has determined that the drug serves as a potent inactivator of chromatin-modifying activity that up-regulates the expression of a cluster of oncogenes in these tumor cells. Which type of chromatin-modifying activity is most likely stimulated by the enzyme target of this drug?

- A. Acetylation of core histones
- B. Binding of histone H1 to nucleosomes
- C. Deacetylation of core histone H4
- D. Deamination of cytosine bases in DNA
- E. Methylation of cytosine bases in DNA

The answer: Acetylation of core histones. Acetylation of nucleosome core histones is strongly associated with transcriptionally active chromatin. Other modifications

(choices B, C and E) are associated with down-regulation of gene expression. Deamination of cytosine in DNA (choice D) is not related to chromatin remodeling and increased gene expression.

Фармаколог - робітник фармацевтичної компанії, досліджує механізм дії нового препарату, який значно пригнічує мітоз пухлинних клітин, отриманих від хворих на гострий мієлогенний лейкоз. Він визначив, що препарат є потужним інактиватором хроматин-модифікуючої активності, має вплив на регуляцію експресії кластера онкогенів у цих пухлинних клітинах. Який тип активності, що модифікує хроматин, найімовірніше стимулюється ферментом-мішенню цього препарату?

- A. Ацетилювання основних гістонів
- B. Зв'язування гістону H1 з нуклеосомами
- C. Деацетилювання основного гістона H4
- D. Дезамінування цитозинових основ в ДНК
- E. Метилювання цитозинових основ в ДНК

Правильна відповідь: Ацетилювання основних гістонів. Ацетилювання нуклеосомних гістонів ядра сильно пов'язано з транскрипційно активним хроматином. Інші модифікації (інші варіанти відповідей) пов'язані з понижуючою регуляцією експресії генів. Дезамінація цитозину в ДНК не пов'язана з ремоделюванням хроматину і експресією генів.

3.10

Which of the following is an application of cDNA libraries rather than PCR technique?

- A. Producing transgenic animals
- B. Comparing DNA
- C. Diagnosing specific viral infections
- D. Paternity testing

The answer: Producing transgenic animals. Creation of a library of cDNA_i is carried out as follows: for this purpose, the total mRNA from the cells of a certain type is

initially allocated. Using reverse transcriptase and oligo-T, complementary to the 3'-terminal polyA tails of the mRNA as primers, these mRNAs are used for synthesis of complementary DNA strands. Further, the cDNA molecules obtained are cloned. Unlike the genomic, the cDNA clone library contains only the encoding sequences (exons) of genes and only those genes that are active in cells of this type. The desired nucleotide sequence among the library of clones can be found by hybridizing cloned DNA with a radio-labeled DNA probe. The technology of growing a transgenic animal involves steps: the ovary is placed in a special mixer with foreign DNA (cDNA) and small silicone-carbide needles. The needles make multiple holes in the cell, through which the cDNA enters the cell. With this technology, the bull growth hormone has been introduced into the ovary of many species of animals. Thanks to this technology, large fish, cows, pigs, rabbits, and sheep have been obtained. Transgenic animals are created for the production of medical products.

Що з наведеного нижче є методом застосування бібліотек кДНК, а не методом ПЛР?

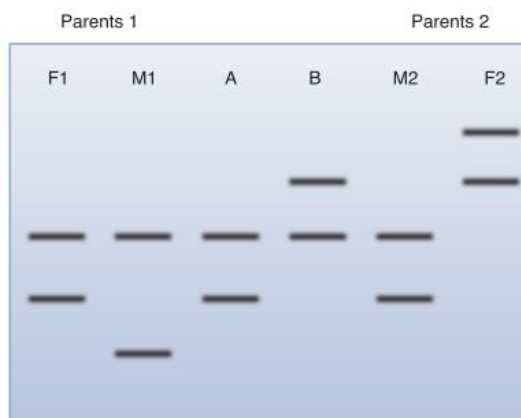
- A. Вирощування трансгенних тварин
- B. Порівняння ДНК
- C. Діагностика специфічних вірусних інфекцій
- D. Тестування на батьківство

Правильна відповідь: Вирощування трансгенних тварин. Створення бібліотеки клонів кДНК проводять таким чином: для цього спочатку виділяють сумарну мРНК із клітин певного типу. Використовуючи зворотну транскриптазу та oligo-T, що комплементарні до 3'-кінцевих polyA-хвостів мРНК, як праймери, на цих мРНК синтезують комплементарні ланцюги ДНК. Далі отримані молекули кДНК піддають клонуванню. На відміну від геномної, бібліотека клонів кДНК містить тільки кодуючі послідовності (екзони) генів і тільки таких генів, які є активними в клітинах даного типу. Потрібну нуклеотидну послідовність серед бібліотеки клонів можна знайти за допомогою гібридизації клонованої ДНК із радіоактивно міченим ДНК-зондом. Технологія вирощування трансгенної тварини передбачає кроки : яйцеклітину поміщають у

спеціальну мішалку разом із чужорідною ДНК (кДНК) і дрібними силікон-карбідними голками. Голки роблять множинні отвори в оболонці, крізь які кДНК потрапляє в яйцеклітину. За допомогою цієї технології бичачий гормон росту був уведений у яйцеклітини багатьох видів тварин. Завдяки цій технології отримано великі риби, корови, свині, кролики, вівці. Трансгенні тварини створено для виробництва продуктів медичного значення.

3.11

Two sets of parents were friends in a small town and had babies on the same day. The wristbands of the two similar-looking infants (A and B) were in advertently mixed at the pediatric care unit. In order to accurately identify the parents of the respective infants, PCR analysis was performed on samples of blood taken from the two infants and both sets of parents (Father 1 and Mother 1 versus Father 2 and Mother 2). Shown below is the analysis of the PCR products by gel electrophoresis.



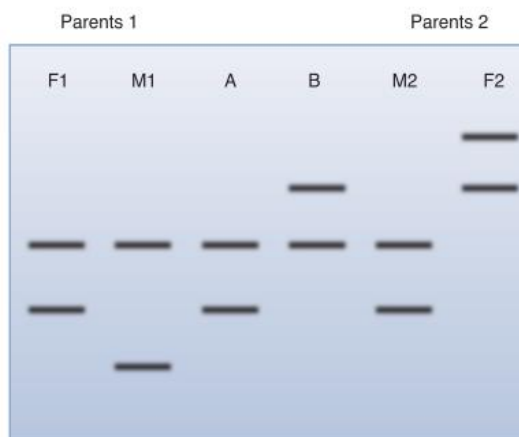
What is the best conclusion from the analysis?

- A. A is the child of Parents 1.
- B. A is the child of Parents 2.
- C. B is the child of Parents 1.
- D. Father 1 (F1) could be the father of both infants.
- E. Father 2 (F2) could be the father of both infants.

The answer: A is the child of Parents 1. Among the conclusions offered, only A is consistent with the results on the blot. Infant A's pattern shows a PCR product (lower on the blot) matching F1 and another PCR product (higher on the blot) matching M1. Neither of infant A's PCR products match F2 (choices B and E). The upper PCR

product in infant B's pattern does not match with either F1 or M1 (choices C and D). Although unlikely given the situation, another possibility is consistent with the blot. Infant A could be the child of M2 and F1, although this is not offered as an option.

Двоє батьків були друзями в маленькому містечку і отримали дітей в той же день. Браслети цих немовлят (А і В) були помилково змішані в педіатричному відділенні. Для того, щоб точно визначити батьків відповідних дітей, проводили аналіз ПЛР на зразках крові, взятих у двох немовлят і обох наборів батьків (батько 1 і мати 1 проти батька 2 і матері 2). Нижче наведено аналіз продуктів ПЛР за допомогою гелі-електрофорезу. Який з висновків аналізу є найкращим?:



- A. А - дитина батьків 1
- B. А - дитина батьків 2
- C. В - дитина батьків 1
- D. Батько 1 (F1) може бути батьком обох немовлят
- E. Батько 2 (F2) може бути батьком обох немовлят

Правильна відповідь: А - дитина батьків 1. Серед запропонованих висновків лише А відповідає результатам на блоті. На малюнку у малюка А показаний продукт ПЛР (нижче на блоті), що відповідає F1, і інший продукт ПЛР (вище на блоті), що відповідає M1. Жоден з продуктів ПЛР для немовляти А не відповідає F2. Верхній продукт ПЛР у малюнку дитини В не відповідає ні F1, ні M1. Незважаючи на малоймовірну ситуацію, інша можливість узгоджується з

блотом. Немовля А може бути дитиною М2 і F1, хоча це не пропонується як варіант відповіді.

3.12

Paternal relationship between a man and infant can be best determined by the technique commonly referred to as DNA fingerprinting. Which of the following sequences is most conveniently analyzed in a DNA fingerprint?

- A. Microsatellite tandem repeats (STRs)
- B. Histocompatibility loci
- C. Centromeres
- D. Restriction enzyme sites
- E. Single-copy sequences

The answer: Microsatellite Tandem Repeats (STRs). DNA fingerprinting was developed in 1984 by Professor Sir Alec Jeffries after he realized that you can detect differences in human DNA in the form of these microsatellites. DNA fingerprinting is a method that simultaneously detects a number of microsatellites in the genome to create a unique pattern for an individual. Microsatellite Tandem Repeats (STRs) - STR sequences are amplified by PCR and analyzed by gel electrophoresis.

Генетичну спорідненість між батьком і немовлям можна краще визначити за допомогою техніки, яка зазвичай називається ДНК-дактилоскопія. Яку з наступних послідовностей найбільш зручно аналізувати у відбитку ДНК?

- A. Локуси гістосумісності
- B. Центромери
- C. Мікросателітні тандемні повтори (STRs)
- D. Рестрикційні сайти ферментів
- E. Однокопійні послідовності

Відповідь: Мікросателітні тандемні повтори (STRs). ДНК дактилоскопія була розроблена в 1984 році професором сером Алеком Джеффрісом після того, як він зрозумів, що ви можете виявити відмінності в ДНК людини, у вигляді цих мікросателітів. ДНК- дактилоскопія - це метод, який одночасно виявляє багато

мікросателітів в геномі, щоб створити унікальний для індивідуума шаблон. Мікросателітні тандемні повтори (STRs) - STR послідовності ампліфікують за допомогою методу ПЛР і аналізують за допомогою гел-електрофорезу.

3.13

Sickle cell anemia is caused by a missense mutation in codon 6 of the β -globin gene.

Codon number 5 6 7 8

Normal allele CCT GAG GAG AAG

Mutant allele CCT GTG GAG AAG

A man with sickle cell disease and his phenotypically normal wife request genetic testing because they are concerned about the risk for their unborn child. DNA samples from the man and the woman and from fetal cells obtained by amniocentesis are analyzed using the PCR to amplify exon 1 of the β -globin gene. Which 12-base nucleotide sequence was most likely used as a specific probe complementary to the coding strand of the sickle cell allele?

- A. CTTCTCCACAGG
- B. CCTCACCTCAGG
- C. CCTGTGGAGAAG
- D. GGACACCTCTTC
- E. CTTCTCCTCAGG

The answer: CTTCTCCACAGG. The complementary probe will be antiparallel to the coding strand of the mutant allele, with all sequences written 5' \rightarrow 3'.

Серповидно-клітинна анемія обумовлена міссенс-мутацією в кодоні 6 β -глобіновий гену.

Номер кодону 5 6 7 8

Нормальний аллель CCT GAG GAG AAG

Мутантний аллель CCT GTG GAG AAG

Чоловик з серповидно-клітинною хворобою і його фенотипово нормальна дружина хочуть провести генетичне тестування, тому що вони стурбовані ризиком виникнення захворювання у їх майбутньої дитини. Зразки ДНК

чоловика і жінки, а також клітини плода, отримані за допомогою амніоцентозу, аналізують за допомогою ПЛР шляхом ампліфікації екзона 1 гена β -глобіну. Яка полінуклеотидна послідовність, швидше за все, використовувалася як специфічний зонд, комплементарний кодуєчому ланцюгу аллеля серповидних клітин?:

- A. CTTCTCCACAGG
- B. CCTCACCTCAGG
- C. CCTGTGGAGAAG
- D. GGACACCTCTTC
- E. CTTCTCCTCAGG

Відповідь: CTTCTCCACAGG. Комплементарна проба буде антипаралельною кодуєчій матриці мутантного аллеля, при цьому всі послідовності читаються у напрямку $5' \rightarrow 3'$

3.14

mRNA encoding glucose 6-phosphatase was isolated from baboon liver and used to make a ^{32}P -cDNA probe. DNA was then isolated from marmoset and from human tissue, digested with a restriction endonuclease, Southern blotted, and probed with the ^{32}P -cDNA. Which of the following conclusions can be drawn from the results of this analysis shown below?



- A. The glucose 6-phosphatase gene is present in baboon, marmoset and human liver.
- B. Both marmoset and human liver express the glucose 6-phosphatase gene.

- C. There are two glucose 6-phosphatase genes in the human liver.
- D. The glucose 6-phosphatase gene is on different chromosomes in the marmoset and in the human.
- E. The human and marmoset tissue used in this experiment is from liver.

The answer: The glucose 6-phosphatase gene is present in baboon, marmoset and human liver. All 3 tissues contain the gene (the probe was produced from baboon mRNA, implying the gene is also there). Marmoset is a small Central and South American monkey with a silky coat and a long nonprehensile tail.

мРНК, що кодує глюкозо-6-фосфатазу, виділяли з печінки бабуїнів і використовували для виготовлення зонда ^{32}P -кДНК. Потім ДНК виділяли з мармозеті і з людської тканини, розщеплювали ендонуклеазою рестрикції, стерилізували і зондували з допомогою ^{32}P -кДНК. Які з наступних висновків можна зробити за результатом цього аналізу, який наведений нижче?

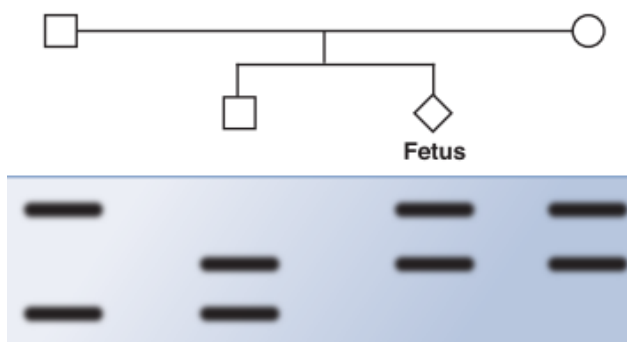


- A. Ген глюкозо-6-фосфатази є присутним у бабуїні, мармозеті і в печінці людини
- B. І в мармозеті і в печінці людини ген глюкозо-6-фосфатази експресується
- C. У печінці людини є два гени глюкозо-6-фосфатази
- D. Ген глюкозо-6-фосфатази знаходиться на різних хромосомах у мармозеті і у людини
- E. Зразки людини і мармузи, що використовуються в цьому експерименті, з печінки

Відповідь: Ген глюкозо- 6-фосфатази є присутним у бабуїні, у мармозеті і в печінці людини. Всі три тканини містять ген (зонд був вироблений з мРНК бабуїна, маючи на увазі, що ген також є). Мармозета – це маленька мавпа з Центральної Африці, Південної Америки з шовковистою шкірою і довгим ТОНКИМ ХВОСТОМ.

3.15

A couple seeks genetic counseling because both the man and the woman (unrelated to each other) are carriers of a mutation causing β -thalassemia, an autosomal recessive condition. The couple has one son who is phenotypically normal and has been shown by DNA analysis to be homozygous for the normal allele. They wish to know whether the fetus in the current pregnancy will have β -thalassemia. Using a probe for the β -globin gene that detects a BamHI RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), the following results are obtained. What is the best conclusion about the fetus?

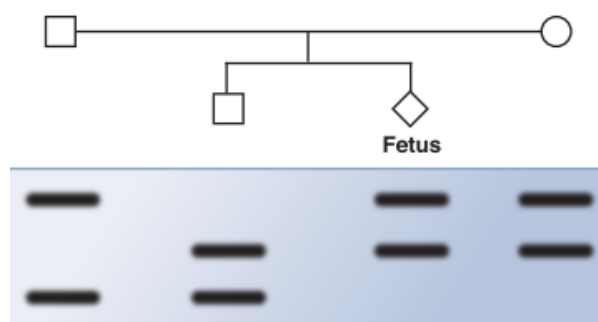


- A. The fetus has inherited the mutation from the father but not from the mother.
- B. The fetus has inherited the mutation from both parents.
- C. The fetus has inherited the mutation from the mother but not from the father.
- D. The fetus has not inherited the mutation from either parent.
- E. The results are inconclusive

The answer: The fetus has inherited the mutation from the father but not from the mother. Knowing the son is homozygous for the normal allele, one can conclude that the two restriction fragments shown in his pattern derived from chromosomes without the mutation. It is also clear that the upper (larger) fragment came from his mother's chromosome and the lower (smaller) fragment came from his father's chromosome.

The fetus has the fragment from his mother's normal chromosome. The other fragment (to one on the blot) must have come from the father's chromosome with the mutation. The fetus therefore is heterozygous for the mutation and the normal allele of the β -globin gene.

Сімейна пара має намір отримати генетичну консультацію, тому що і чоловік, і жінка (не є родичами) є носіями мутації, що викликає β -таласемію аутосомно-рецесивного типу. У подружжя є один син, який є фенотипічно нормальним і за допомогою аналізу ДНК було показано, що він є гомозиготним для нормального аллеля. Вони хочуть знати, чи буде у пліді в наступній вагітності β -таласемія? Використовуючи зонд для гена β -глобіну, який виявляють методом VAMHIRFLP, отримані наступні результати. Який найкращий висновок про плід може бути запропонований?



- A. Плід успадкував мутацію від батька, але не від матері.
- B. Плід успадкував мутацію від обох батьків.
- C. Плід успадкував мутацію від матері, але не від батька.
- D. Плід не успадкував мутацію від будь-якого з батьків.
- E. Результати не є надійними

Відповідь: Плід успадкував мутацію від батька, але не від матері. Знаючи, що син є гомозиготним для нормального аллеля, можна зробити висновок, що два фрагменти рестрикції, які показані на його рисунку, отримані з хромосом без мутації. Також зрозуміло, що верхній (більший) фрагмент походить від хромосоми матері, а нижній (менший) - від хромосоми батька. У плода є фрагмент із звичайної хромосоми матері. Інший фрагмент (верхній на блоті)

повинен був походити з хромосоми батька з мутацією. Тому плід є гетерозиготним за мутацією і нормальним алелем гена β -глобіну.

Glossary

Transcription is the synthesis of ribonucleic acid polynucleotide chain on separated DNA fragment (template) using mononucleoside triphosphates as substrates under the action of RNA polymerases. Prokaryotes have one single enzyme named DNA-dependent RNA polymerase. Eukaryotes have three subtypes of those enzyme.

Holoenzyme DNA-dependent RNA polymerase. RNA polymerase in the phase of transcription initiation is a holoenzyme containing five subunits. One of these is named the σ -factor and it is the most important in the initiation phase because this factor fulfills the main purpose of the phase - to join the promoter sequence at the transcription initiation site and to make unwinding of DNA double-helix (ATP use in this action). The effect of the σ -factor in the RNA polymerase holoenzyme may be stimulated by a special protein (in English - CAP protein) in the presence of cAMP.

The core enzyme of DNA-dependent RNA polymerase is formed after the dissociation of the σ -factor from other subunits of holoenzyme, core-enzyme continues the synthesis of the polynucleotide chain in the elongation phase and, particularly, in the transcription termination phase.

The promoter. The searching of start point of transcription at initiation phase by RNA polymerase is performed due to special signal sequences in the polynucleotide fragment of DNA molecule. These sequences are united under the name of the promoter. The guanine nucleotide residue is usually present at the start point; its location is determined by TATA sequence, another signal sequence is named -35 sequence. Typically, it contains the following sequence of nitrogenous bases: TTGACA. Two types of promoter sequences are considered in eukaryotes: 1) the main (basal) promoter, which is in the sequence of 40 pairs of nitrogen bases at the transcription start point; 2) promoter sequence - "upstream" promoter, which is at a considerable distance from the start point (200 pairs of nitrogen bases above the start point).

Enhancer is a sequence of nitrogen-base pairs that has an affinity for transcription-stimulating regulatory factors; it may be located above, below, or inside the gene being monitored.

Insulators are sequences of DNA that have 42 pairs of nitrogen bases and may be located between the enhancer and the promoter, or between the silencer and the promoter. They help transcription enzymes and transcription regulation factors to separate and to find out the promoter and enhancer sequences of different genes.

Silencer is a regulatory sequence in a DNA molecule whose attachment to transcription regulation factors blocks the transcription process.

Zinc-finger conformation. The glucocorticoid-receptor complex acts as a transcription factor having a "zinc-finger" conformation. Four zinc atoms, each of them joins a polypeptide chain (finger) through cysteine residues. When a steroid hormone molecule appears in the cytoplasm of a cell, its receptor must: join the hormone, form a hormone-receptor complex homodimer, move into the nucleoplasm, attach to its copy, attach to related DNA sequences, activate transcription factors.

Factor-independent mechanism of transcription termination. According to this mechanism, RNA polymerase finds terminal sequences on the DNA template that are rich in GC repeats and encode the reverse repeating of nitrogenous bases in the synthesized polynucleotide chain. The synthesized sequences, which are complementary to the repeats, form the spatial conformation of the Loop. This "hairpin" helps to separate the synthesized chain from the DNA template, because after the "hairpin" is synthesized a sequence that is rich in AU and not so tightly attached by hydrogen bonds to the DNA template.

Factor-dependent mechanism of transcription termination. For some prokaryotes, there is a special Rho -protein with ATPase activity that has affinity for terminal sequences in the DNA strand. In the termination phase, this protein joins them and, using ATP, helps to separate the synthesized RNA strand from the DNA template.

Post-transcriptional processing. The product of RNA polymerase II action - the primary transcript (engl. - heterogenous nuclear RNA or hn-RNA) undergoes intensive processing, which consists of three important transformations:

1. At the 5 'end of the primary transcript, 7-methyl-guanine (“**cap**”) is attached. It promotes the attachment of m-RNA to the ribosome, enhances its rate of translation, prevents its destruction by cytoplasmic ribonucleases.

2. A sequence of 200 nucleotides containing adenine is added from the 3' end (**polyadenylation**) due to the action of poly-A polymerase. This conversion protects m-RNA from the destruction of nucleases in the nucleus and in the cytoplasm of the cell.

3. **Splicing**: sequences (introns) that do not encode a polypeptide chain are resicted. Coding sequences (exons) are stitched. These actions are performed by a multi-enzyme system named the spliceosome. The spliceosome consists of five subunits (u1, u2, u4, u5, u6), each of them contains short nuclear snRNAs. Formed m-RNA is attached in the nucleus to a special protein. The product of this action is the m-RNP ribonucleoprotein, which transports m-RNA through nuclear pores and promotes m-RNA attachment to the small ribosome subunit.

Eukaryotic genes that encode a sequence of polypeptide chain have:

- **exons** - encoding sequences;
- **introns** are sequences that are excised because they do not encode a polypeptide chain;
- **transcription start point**, usually represented by purine mononucleoside phosphate residue;
- **the promoter sequence**.

Homeotic gene. If there are multiple disorders in the body due to mutation in only one gene, it is named "homeotic gene".

Clone DNA (cDNA). The creation of a library of cDNA clones is carried out as follows: for this purpose, first the total mRNA is allocated from cells of a certain type. Using reverse transcriptase and oligo-T complementary to the C'-terminal polyA-tailed of mRNAs as primers, complementary strands of DNA are synthesized on these mRNAs. The resulting cDNA molecules are cloned. Unlike the genomic library, the cDNA clone library contains only the coding sequences (exons) of genes and only those genes that are active in cells of this type. The desired nucleotide sequence among the clone library can be found by hybridization of cloned DNA with a radiolabeled DNA probe.

Transgenic animals. The technology of growing a transgenic animal involves steps: the ovary is placed in a special mixer with foreign DNA (cDNA) and small silicone-

carbide needles. The needles make multiple holes in the cell, through which the cDNA enters the cell. With this technology, the bull growth hormone has been introduced into the ovary of many species of animals. Thanks to this technology, large fish, cows, pigs, rabbits, and sheep have been obtained. Transgenic animals are created for the production of medical products.

Polymerase chain reaction(PCR) is an experimental method of molecular biology that allows a significant increase in small concentrations of certain nucleic acid (DNA) fragments in a biological material (sample). In addition to DNA amplification, PCR allows for many other manipulations of nucleic acids (introduction of mutations, fusion of DNA fragments) and is widely used in biological and medical practice, for example, for the diagnosis of diseases (hereditary, infectious), for establishing paternity, and more.

Microsatellite Tandem Repeats (STRs). These are sites (loci) in nuclear DNA and DNA of organelles (mitochondria and plastids), consisting of tandemly repeating monomers less than 9 pairs of nitrogen bases in length and forming fields of less than 1,000 pairs of nitrogenous bases. They are widespread molecular markers in genetic and genomic studies.

DNA fingerprinting was developed in 1984 by Professor Sir Alec Jeffries after he realized that you can detect differences in human DNA in the form of these microsatellites. DNA fingerprinting is a method that simultaneously detects a number of microsatellites in the genome to create a unique pattern for an individual. Microsatellite Tandem Repeats (STRs) - STR sequences are amplified by PCR and analyzed by gel electrophoresis.

BamHI(from *Bacillus amyloliquefaciens*) is a type II restriction endonuclease, having the capacity for recognizing short sequences (6 b.p.) of DNA and specifically cleaving them at a target site.

Restriction fragment length polymorphism (RFLP). In molecular biology, restriction fragment length polymorphism is a technique that exploits variations in homologous DNA sequences, known as polymorphisms, in order to distinguish individuals, populations, or species or to pinpoint the locations of genes within a sequence.

Blotting techniques have been developed to detect and visualize specific DNA, RNA, and protein among complex mixtures of contaminating molecules. These techniques have allowed the identification and characterization of the genes involved in numerous inherited diseases. The fragments in the material to be analyzed (DNA, RNA, or protein) are separated by gel electrophoresis. The smaller molecules travel faster and appear nearer the bottom of the gel. The bands of material in the gel are transferred, or blotted, to the surface of a membrane. The membrane is incubated with a (usually radioactive) labeled probe that will specifically bind to the molecules of interest. Visualization of the labeled probe (usually by autoradiography) will reveal which band(s) interacted with the probe. Most typically, DNA restriction fragments are analyzed on a Southern blot.

DNA labeled probes are radioactively labeled single-stranded DNA molecules that are able to specifically hybridize (anneal) to particular denatured DNA sequences. Probes that bind to part of a specific gene region; often produced by cloning cDNA transcribed from the gene and labeling it with ^{32}P , a radioactive isotope of phosphorus. Probes that bind to markers known to be in close proximity (closely linked) to a gene. Probes that bind specifically to a single allele of a gene—allele-specific oligonucleotide (ASO) probes.

Глосарій

Транскрипція – процес синтезу полінуклеотидного ланцюга рибонуклеїнової кислоти на матриці фрагменту полінуклеотидного ланцюга ДНК зі застосуванням мононуклеозидтрифосфатів в якості субстратів при дії РНК-полімерази. У прокаріотів один фермент, який має назву ДНК-залежна РНК-полімераза. У еукаріотів їх три типи.

Холофермент ДНК-залежної РНК-полімерази РНК-полімераза в фазі ініціації транскрипції уявляє з себе холофермент, який містить п'ять субодиниць. Одна з них має назву σ -фактор і є найважливішою у фазі ініціації, тому що цей фактор виконує головну мету фази – приєднатися до промоторної послідовності в сайті ініціації транскрипції і провести розплетення подвійної спіралі ДНК (витрати АТФ). Дія σ -фактору у складі холоферменту РНК-полімерази можливо

стимулюється спеціальним протеїном (англійською мовою - CAP-protein) у присутності цАМФ.

Core-фермент ДНК-залежної РНК-полімерази утворюється після дисоціації σ -фактору від інших субодиниць ферменту, він продовжує синтез полінуклеотидного ланцюга в фазі елонгації та, частково, у фазі термінації транскрипції.

Промотор. Пошук стартової точки ініціації транскрипції РНК-полімераза виконує завдяки спеціальним сигнальним послідовностям у полінуклеотидному фрагменті молекули ДНК. Ці послідовності об'єднуються під назвою промотор. Звичайно в точці ініціації є присутнім залишок гуанілового нуклеотиду, його положення в ланцюзі детермінується ТАТА- послідовністю, яка розташована вище точки ініціації на 10 пар азотистих основ (друга назва: -10 послідовність). Інша сигнальна послідовність має назву -35 послідовність. Зазвичай, вона містить таку послідовність азотистих основ: ТТГАЦА. У еукаріотів розглядають два типи промоторних послідовностей: 1) **основний (базальний) промотор**, який знаходиться в послідовності 40 пар азотистих основ біля точки старту транскрипції; 2) **промоторна послідовність -"upstream" промотор**, яка знаходиться на значному віддаленні від точки старту (на відстані 200 пар азотистих основ вище точки старту).

Енхансер – послідовність пар азотистих основ, яка має спорідненість до факторів регуляції стимулюючих транскрипцію; вона може бути розташована вище, нижче чи усередині гена, який контролюється .

Інсалейтори (ізолятори) - це послідовності ДНК, які мають в собі 42 пари азотистих основ і можуть бути розташовані: між енхансером і промотором, або між сайленсером і промотором. Вони допомагають ферментам транскрипції і факторам регуляції транскрипції знаходити промоторні та енхансерні послідовності різних генів.

Сайленсер – це регуляторна послідовність в молекулі ДНК, приєднання до якої факторів регуляції транскрипції призводить до блокування процесу транскрипції.

Конформація «zinc-finger». Глюкокортикоїд-рецепторний комплекс виконує функцію фактора транскрипції, який має конформацію «zinc-finger». Чотири атоми цинку (zinc), кожний з яких з'єднується з поліпептидним ланцюгом (finger; переклад –палець) крізь залишки цистеїну. При появі молекули стероїдного гормону у цитоплазмі клітини його рецептор повинен: приєднатися до гормону, зформувати гомодимер гормон-рецепторного комплексу, рухатися у нуклеоплазму, приєднатися до його копії, приєднатися до споріднених послідовностей у складі ДНК, активувати відповідні фактори регуляції транскрипції.

Фактор-незалежний механізм термінації транскрипції. Згідно цього механізму, РНК-полімераза знаходить на матриці ДНК термінальні послідовності, які багаті ГЦ-повтореннями і кодуєть зворотне повторення азотистих основ у синтезованому полінуклеотидному ланцюзі. Синтезовані послідовності, які є компліментарними зворотним повторенням, формують просторову конформацію «шпильки». Ця «шпилька» сприяє відділенню синтезованого ланцюга від матриці ДНК, тому що після «шпильки» синтезується послідовність, яка багата урацилом і не так міцно приєднується водневими зв'язками до матриці ДНК

Фактор-залежний механізм термінації транскрипції. Для деяких прокариотів існує спеціальний **Rho-протеїн** з АТФ-азною активністю, який має спорідненість до термінальних послідовностей у структурі ДНК. В фазі термінації протеїн приєднується до них і, застосовуючи АТФ, сприяє відділенню синтезованого ланцюга РНК від матриці ДНК.

Пост-транскрипційний процесинг. Продукт дії РНК-полімерази II - первинний транскрипт (англ мовою – heterogenous nuclear RNA or hn-RNA) зазнає інтенсивного процесингу, який складається з трьох важливих перетворень:

1. На 5'-кінці первинного транскрипту приєднується 7-метил-гуанін (**кепірування**). Це сприяє приєднанню м-РНК до рибосоми, посилює швидкість її трансляції, запобігає її руйнуванню цитоплазматичними рибонуклеазами.
2. Послідовність із 200 нуклеотидів, які містять аденін додається з 3' кінця

(**поліаденілування**) завдяки дії полі-А-полімерази. Це захищає м-РНК від руйнування нуклеазами в ядрі і в цитоплазмі клітини.

3. Проведення **сплайсінгу**: вирізаються послідовності (інтрони), які не кодують поліпептидний ланцюг. Зшиваються змістові послідовності (екзони). Ці дії виконуються поліферментною системою за назвою **сплайсосома**. Сплайсосома складається з п'яти субодиниць (u_1, u_2, u_4, u_5, u_6), кожна з них містить короткі ядерні snРНК. Сформована м-РНК приєднується в ядрі до спеціального протеїну. Продуктом цієї дії є рибонуклеопротеїн м-РНК, який транспортує м-РНК крізь ядерні пори і сприяє приєднанню м-РНК до малої субодиниці рибосом.

Еукаріотичні гени, які кодують послідовність поліпептидних ланцюгів мають:

- **екзони** – кодуючі послідовності;
- **інтрони** – послідовності, які вирізаються, тому що вони не кодують поліпептидний ланцюг;
- **стартову точку транскрипції**, вона представлена зазвичай пуриновим мононуклеозидфосфатом;
- промоторну послідовність.

Гомеотичний ген. Якщо спостерігаються множинні порушення в організмі внаслідок мутації тільки в одному гені, він має назву «гомеотичний ген».

Клони ДНК (кДНК). Створення бібліотеки клонів кДНК проводять таким чином: для цього спочатку виділяють сумарну мРНК із клітин певного типу. Використовуючи зворотну транскриптазу та oligo-T, що комплементарні до 3'-кінцевих polyA-хвостів мРНК, як праймери, на цих мРНК синтезують комплементарні ланцюги ДНК. Далі отримані молекули кДНК піддають клонуванню. На відміну від геномної, бібліотека клонів кДНК містить тільки кодуючі послідовності (екзони) генів і тільки таких генів, які є активними в клітинах даного типу. Потрібну нуклеотидну послідовність серед бібліотеки клонів можна знайти за допомогою гібридизації клонованої ДНК із радіоактивно міченим ДНК-зондом.

Трансгенні тварини. Технологія вирощування трансгенної тварини передбачає кроки : яйцеклітину поміщають у спеціальну мішалку разом із

66

чужорідною ДНК (кДНК) і дрібними силікон-карбідними голками. Голки роблять множинні отвори в оболонці, крізь які кДНК потрапляє в яйцеклітину. За допомогою цієї технології бичачий гормон росту був уведений у яйцеклітини багатьох видів тварин. Завдяки цій технології отримано великі риби, корови, свині, кролики, вівці. Трансгенні тварини створено для виробництва продуктів медичного значення.

ПЛР. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) - експериментальний метод молекулярної біології, що дозволяє домогтися значного збільшення малих концентрацій певних фрагментів нуклеїнової кислоти (ДНК) в біологічному матеріалі (пробі). Крім ампліфікації ДНК, ПЛР дозволяє проводити безліч інших маніпуляцій з нуклеїновими кислотами (введення мутацій, зрощення фрагментів ДНК) і широко використовується в біологічній і медичній практиці, наприклад, для діагностики захворювань (спадкових, інфекційних), для встановлення батьківства та інше.

Мікросателітні тандемні повтори (STRs). Це ділянки (локуси) в ядерній ДНК і ДНК органел (мітохондрій і пластид), що складаються з тандемно повторюваних мономерів довжиною менше 9 пар азотистих основ і утворюють поля менше 1 тисячі пар азотистих основ. Вони є широко поширеними молекулярними маркерами в генетичних і геномних дослідженнях.

ДНК дактилоскопія. ДНК дактилоскопія була розроблена в 1984 році професором сером Алеком Джеффрісом після того, як він зрозумів, що ви можете виявити відмінності в ДНК людини, у вигляді мікросателітів. ДНК-дактилоскопія - це метод, який одночасно виявляє багато мікросателітів в геномі, щоб створити унікальний для індивідуума шаблон. Мікросателітні тандемні повтори ампліфікують за допомогою методу ПЛР і аналізують за допомогою гель-електрофорезу.

VamII (від *Bacillus amyloliquefaciens*) - це рестрикційна ендонуклеаза типу II, яка має здатність розпізнавати короткі послідовності (з 6 азотистих основ) ДНК і специфічно розщеплювати їх.

RFLP. У молекулярній біології **поліморфізм довжини рестрикції** (англ. мовою: restriction fragment length polymorphism - RFLP) - це техніка, яка

використовує варіації гомологічних послідовностей ДНК, відомих як поліморфізми, щоб розрізнити індивідууми, популяції чи види або визначити місця розташування генів у послідовності ДНК.

Методи блоттингу. Для розпізнавання та візуалізації специфічних ДНК, РНК або білку серед складних сумішей молекул розроблені методи блоттингу. Ці методи дозволили ідентифікувати та охарактеризувати гени, які пов'язані з численними спадковими захворюваннями. Фрагменти аналізованого матеріалу (ДНК, РНК або білок) відокремлюють гель-електрофорезом. Менші молекули рухаються швидше і виявляються ближче до дна гелю. Смуги досліджуваного матеріалу в гелі переносяться на поверхню мембрани. Мембрана інкубується з (як правило, радіоактивним) міченим зондом, що буде специфічно зв'язуватися з молекулами, які досліджуються. Візуалізація міченого зонда (як правило, за допомогою авторадіографії) дозволить виявити, яка смуга взаємодіяла з зондом. Найчастіше фрагменти рестрикції ДНК аналізують за допомогою Саузерн-блоттинга.

Са́узерн-блоттинг (англ. Southern blot) — метод молекулярної біології, що зазвичай використовується для встановлення, чи певна нуклеотидна послідовність присутня в зразку ДНК за допомогою зондів. Саузерн-блот комбінує агарозний гелевий електрофорез, що використовується для розділення фрагментів ДНК за розміром, з методами переносу розділеної за розміром ДНК на мембрану і гібридизації. Метод названий на честь його винахідника, британського біолога Едвіна Саузерна

ДНК-зонди - це радіоактивно мічені одниткові фрагменти молекул ДНК, які здатні специфічно гібридизуватися до конкретних денатурованих послідовностей ДНК. Зонди, які зв'язуються з частиною конкретного фрагменту специфічного гену; часто продукуються клонуванням к-ДНК, транскрибованої з матриці гена зі застосуванням ^{32}P - радіоактивного ізотопу фосфору. Зонди, які зв'язуються з маркерами, як відомо, знаходяться в безпосередній близькості (тісно пов'язані) з геном. Зонди, які специфічно зв'язуються з одним аллелем гена - аллель-специфічний олігонуклеотид (АСО)- зонд.

Chapter 4
**GENETIC CODE. MUTATIONS.
TRANSLATION**

Розділ 4
**ГЕНЕТИЧНИЙ КОД. МУТАЦІЇ.
ТРАНСЛЯЦІЯ**

4.1

Which of the following terms is used to describe a disease that, from generation to generation, shows a decrease in the age of onset and an increase in the severity of symptoms?

- A. Acception
- B. Assumption
- C. Anticipation
- D. Mutation

The answer: The mutant alleles in certain diseases, such as Huntington disease, fragile X syndrome, and myotonic dystrophy, differ from their normal counterparts only in number of tandem copies of a trinucleotide. In these diseases, the number of repeats often increases with successive generations and correlates with increasing severity and decreasing age of onset, a phenomenon called **anticipation**. For example, in the normal Huntington allele, there are 5 tandem repeats of CAG in the coding region. Affected family members may have 30-60 of these CAG repeats. The normal protein contains 5 adjacent glutamine residues, whereas the proteins encoded by the disease-associated alleles have 30 or more adjacent glutamines. The long glutamine tract makes the abnormal proteins extremely unstable. A major clinical manifestation of the trinucleotide repeat expansion disorders is neurodegeneration of specific neurons.

Який із наведених нижче термінів використовується для опису захворювання, яке від покоління до покоління проявляється у більш ранньому віці та з більш вираженими симптомами?

- A. Прийнятне
- B. Припущене
- C. Передбачуване
- D. Мутація

Правильна відповідь: Мутантні алелі у хворих з такими патологіями, як хвороба Хантінгтона, синдром крихкої X хромосоми та міотонічна дистрофія, відрізняються від своїх нормальних аналогів тільки кількістю тандемів копій

тринуклеотиду. При цих захворюваннях кількість повторів часто збільшується у кожному наступному поколінні та корелює зі збільшенням ступеня тяжкості і зменшенням віку початку захворювання. Такі захворювання позначаються терміном «**передбачувані**». Наприклад, у нормальному алелі Хантінгтона існує 5 тандемних повторів CAG в кодуючій ділянці. Уражені члени сім'ї можуть мати 30-60 таких повторів. Нормальний білок містить відповідно 5 суміжних залишків глутаміну, тоді як білки, кодовані пов'язаними з хворобою алелями, мають 30 або більше суміжних глутамінів. Довгий тракт глутаміну робить аномальні білки надзвичайно нестабільними. Головним клінічним проявом тринуклеотидних розладів є нейродегенерація специфічних нейронів

4.2

Vitreous humor is formed from which type of collagen?

- A. Type I
- B. Type II
- C. Type III
- D. Type IV

The answer: Colagens present in the vitreous humor are types II, V, XI, VI and IX.

Який тип колагену є у складі склоподібного тіла ока?

- A. Тип I
- B. Тип II
- C. Тип III
- D. Тип IV

Правильна відповідь: Склоподібне тіло є прозорою, безбарвною, желатиною масою, яка заповнює простір в оці між лінзою і сітківкою. Воно оточене шаром колагену, який називається склоподібною мембраною, що відокремлює його від решти ока. Ця мембрана складає чотири п'ятих обсягу очного яблука. Фібрили колагену прикріплюють склоподібне тіло до диску зорового нерва. Колагени, присутні в склоподібному тілі, є типами II, V, XI, VI і IX

4.3

In the genetic code of human nuclear DNA, one of the codons specifying the amino acid tyrosine is UAC. Another codon specifying this same amino acid is

- A. AAC
- B. UAG
- C. UCC
- D. AUG
- E. UAU

The answer: Because of wobble codons for the same amino acid often differ in the third base. Option B would be acceptable, except that it is a stop-codon.

У складі людської ядерної ДНК один з кодонів, що відповідає за генетичним кодом амінокислоті тирозин, є UAC. Іншим кодоном, що відповідає цій же амінокислоті є

- A. AAC
- B. UAG
- C. UCC
- D. AUG
- E. UAU

Правильна відповідь: Однією з властивостей генетичного коду є виродженість - одна амінокислота може кодуватися кількома триплетами (амінокислот - 20, можливих смислових триплетів - 61), Правило виродженості генетичного коду: якщо два кодони мають два однакових перших нуклеотиди, а їх третій нуклеотид належить до однієї групи азотистих основ (пуринів чи піримідинів), то вони кодують одну і ту ж амінокислоту. Саме UAU має такий склад. (З цього правила є два виключення: кодон AUA відповідає не метіоніну, а ізолейцину та UGA, який відповідає не триптофану, а є термінуючим)

4.4

Accumulation of heme in reticulocytes can regulate globin synthesis by indirectly inactivating eIF-2. Which of the following steps is most directly affected by this mechanism?

- A. Attachment of spliceosomes to pre-mRNA
- B. Attachment of the ribosome to the endoplasmic reticulum
- C. Met-tRNA^{Met} binding to the P-site
- D. Translocation of mRNA on the ribosome
- E. Attachment of RNA polymerase II to the promoter

The answer: eIF-2 designates a protein factor of the initiation phase in eukaryotic translation. The only event listed that would occur during this phase is placement of initiator tRNA in the P-site.

Накопичення гему в ретикулоцитах може регулювати синтез глобіну шляхом непрямой інактивації eIF-2. Який з наступних етапів синтезу білка безпосередньо порушується за цим механізмом?

- A. Приєднання сплайсосом до пре-мРНК
- B. Прикріплення рибосоми до ендоплазматичного ретикулуму
- C. Зв'язування Met-tRNA^{Met} з Р-сайтом
- D. Транслокація мРНК на рибосомі
- E. Приєднання РНК-полімерази II до промотору

Правильна відповідь: eIF-2 позначає білковий фактор фази ініціації трансляції еукаріотів. Функцією цього фактора є розміщення у Р-сайті рибосоми ініціаторної метіоніл-тРНК, яка позначається Met-tRNA^{Met}

4.5

A nasopharyngeal swab obtained from a 4-month-old infant with rhinitis and paroxysmal coughing tested positive upon culture for *Bordetella pertussis*. He was admitted to the hospital for therapy with an antibiotic that inhibits the translocation of the 70S ribosomes on the mRNA. This patient was most likely treated with

- A. Erythromycin

- B. Tetracycline
- C. Chloramphenicol
- D. Rifamycin
- E. Levofloxacin

The answer: Erythromycin is the antibiotic of choice for pertussis. It inhibits translocation.

Назофарингіальний мазок, отриманий від 4-місячного немовляти з ринітом і пароксизмальним кашлем виявився позитивним на культуру *Bordetellapertussis* (коклюш). Він був госпіталізований і йому призначено антибіотик, що пригнічує транслокацію 70S рибосоми на мРНК. Для лікування цього пацієнта, найбільш вірогідно, буде використано

- A. Еритроміцин
- B. Тетрациклін
- C. Хлорамфенікол
- D. Рифаміцин
- E. Левофлоксацин

Правильна відповідь: Еритроміцин є антибіотиком, який вибирають для лікування коклюшу. Він гальмує транслокацію рибосом на мРНК у прокаріотів

4.6

A 25-month-old Caucasian girl has coarse facial features and gingival hyperplasia and, at 2 months of age, began developing multiple, progressive symptoms of mental retardation, joint contractures, hepatomegaly, and cardiomegaly. Levels of lysosomal enzymes are elevated in her serum, and fibroblasts show phase-dense inclusions in the cytoplasm. Which of the following enzyme deficiencies is most consistent with these observations?

- A. Golgi-associated phosphotransferase
- B. Lysosomal α -1,4-glucosidase
- C. Endoplasmic reticulum-associated signal peptidase
- D. Cytoplasmic α -1,4-phosphorylase

E. Lysosomal hexosaminidase A

The answer: Characteristic symptoms of I-cell disease. Note release of lysosomal enzymes into serum, which would not be seen in the other deficiencies.

25-місячна кавказька дівчинка має грубі риси обличчя та гінгівальну гіперплазію. У 2-місячному віці почали розвиватися множинні прогресивні симптоми розумової відсталості, суглобові контрактури, гепатомегалія та кардіомегалія. Рівень лізосомальних ферментів у сироватці крові підвищений, у фібробластах виявляються щільні включення в цитоплазмі. Прояви недостатності якого з ферментів найбільш узгоджуються з цими спостереженнями?

- A. Гольджі-асоційована фосфотрансфераза
- B. Лізосомальна α -1,4-глюкозидаза
- C. Сигнальна пептидаза, пов'язана з ендоплазматичним ретикулулом
- D. Цитоплазматична α -1,4-фосфорилаза
- E. Лізосомальна гексозамінідаза A

Правильна відповідь: Описано характерні симптоми І-клітинної хвороби (муколіпідоз II) - спадкового захворювання, що відноситься до лізосомних хвороб накопичення. Клінічна картина розвивається в результаті дефекту фосфотрансферази - ферменту апарату Гольджі. Метаболічна роль цього ферменту полягає в приєднанні специфічної мітки до катаболітних ферментів лізосом, що розщеплюють олігосахариди, ліпіди і глікозаміноглікани всередині клітини. Без цієї мітки лізосомальні ферменти замість того, щоб бути направленими у лізосоми, потрапляють у міжклітинний простір і кров. Недостатність ферментів в лізосомах призводить до накопичення нерозщеплених макромолекул. В результаті накопичення цих речовин в лізосомах формуються характерні внутрішньоклітинні включення - «І-клітини»

4.7

Parahemophilia is an autosomal recessive bleeding disorder characterized by a reduced plasma concentration of the Factor V blood coagulation protein. Deficiency

arises from a 12 base-pair deletion in the Factor V gene that impairs the secretion of Factor V by hepatocytes and results in an abnormal accumulation of immunoreactive Factor V antigen in the cytoplasm. In which region of the Factor V gene would this mutation most likely be located?

- A. 5' Untranslated region
- B. First exon
- C. Middle intron
- D. Last exon
- E. 3' Untranslated region

The answer: Decreased factor V secretion and a corresponding accumulation of cytoplasmic antigen suggest a defect in the translocation of the nascent protein to the endoplasmic reticulum. This implies a mutation in the N-terminal amino acid signal sequence required for targeting to the ER and encoded by the first exon of the gene.

Парагемофілія - хвороба Оврена, геморагічний діатез, характеризується дефіцитом фактора V згортання крові (проакцелерин); успадковується за аутосомно-рецесивним типом. Дефіцит виникає внаслідок делеції 12 нуклеотидів у гені фактора V, що погіршує секрецію фактора V гепатоцитами і призводить до аномального накопичення імунореактивного антигену фактора V в цитоплазмі. У якій ділянці гена фактора V найбільш імовірно розташована ця мутація?

- A. 5'- Нетрансльована ділянка
- B. Перший екзон
- C. Середній інтрон
- D. Останній екзон
- E. 3'-Нетрансльована ділянка

Правильна відповідь: Зниження секреції фактора V і відповідно його накопичення як цитоплазматичного антигену відбувається у результаті порушення транслокації зростаючого поліпептиду у ендоплазматичний ретикулум. Це вказує на мутацію в ділянці, що кодує N-кінцеву сигнальну

послідовність білка, яка забезпечує посттрансляційний транспорт поліпептиду у ендоплазматичний ретикулум. Вона є складовою першого екзону гена

4.8

Collagen, the most abundant protein in the human body, is present in varying amounts in many tissues. If one wished to compare the collagen content of several tissues, one could measure their content of

- A. Glycine
- B. Proline
- C. Hydroxyproline
- D. Cysteine
- E. Lysine

The answer: Hydroxyproline is found uniquely in collagen. Although collagen is also rich in glycine, many other proteins contain significant amounts of glycine.

Колаген, найпоширеніший білок в організмі людини, присутній у різних тканинах. Для порівняння вмісту колагену у різних тканинах доцільним буде визначати вміст амінокислоти

- A. Гліцин
- B. Пролін
- C. Гідроксипролін
- D. Цистеїн
- E. Лізин

Правильна відповідь: Гідроксипролін є специфічним маркером колагену. Хоча особливістю первинної структури колагену є дуже високий вміст гліцину (33%), проте багато інших білків містять також значні кількості цієї амінокислоти

4.9

A 6-month-old infant is seen in the emergency room with a fractured rib and subdural hematoma. The child's hair is thin, colorless, and tangled. His serum copper level is

5.5 nM (normal for age, 11–12 nM). Developmental delay is prominent. A deficiency of which enzyme activity most closely relates to these symptoms?

- A. Lysyl oxidase
- B. Prolyl hydroxylase
- C. γ -Glutamyl carboxylase
- D. Phosphotransferase in Golgi
- E. α -1,4-glucosidase

The answer: The child has Menkes disease, in which cellular copper transport is abnormal and produces a functional copper deficiency. Lysyl oxidase in collagen metabolism requires copper. His fragile bones and blood vessels result from weak, poorly crosslinked connective tissue.

6-місячне немовля доставлено у відділення невідкладної допомоги з переломом ребра та субдуральною гематомою. Волосся дитини тонке, безбарвне і запутане. Концентрація іонів міді в сироватці крові складає 5,5 нМ (норма для цього віку - 11–12 нМ). Відзначається затримка розвитку. Дефіцит активності якого ферменту найбільш вірогідно призводить до цих симптомів?

- A. Лізілоксидаза
- B. Пролілгідроксилаза
- C. γ -глутамілкарбоксилаза
- D. Фосфотрансфераза апарату Гольджі
- E. α -1,4-глюкозидаза

Правильна відповідь: У дитини хвороба Менкеса - порушення клітинного транспорту міді, при якому спостерігається уповільнення росту, патології нервової системи, а також характерне закручування волосся, за що цей стан також називають «хворобою кучерявого волосся». Виникає функціональний дефіцит міді. Лізілоксидаза приймає участь у посттрансляційному «дозріванні» колагену. Цей фермент містить у якості кофактору іони міді. Крихкі кістки і кровоточивість судин дитини є наслідком порушення формування міцного, жорстко фіксованого завдяки функції лізілоксидази колагену - важливої складової сполучної тканини

4.10

Respiratory tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* are associated with the secretion of exotoxin A by this organism. What effect will this toxin most likely have on eukaryotic cells?

- A. Stimulation of nitric oxide (NO) synthesis
- B. ADP-ribosylation of a Gs protein
- C. ADP-ribosylation of eEF-2
- D. ADP-ribosylation of a Gi protein
- E. Stimulation of histamine release

The answer: *Pseudomonas* and diphtheria toxins inhibit eEF-2, the translocation factor in eukaryotic translation.

Інфекції дихальних шляхів, викликані *Pseudomonas aeruginosa*, асоційовані з секрецією екзотоксину А цим організмом. Який вплив буде здійснювати вказаний токсин на еукаріотичні клітини?

- A. Стимуляція синтезу оксиду азоту (NO)
- B. ADP-рибозилування білку Gs
- C. ADP-рибозилування eEF-2
- D. ADP-рибозилування білку Gi
- E. Стимуляція вивільнення гістаміну

Правильна відповідь: Екзотоксин А псевдомонад і дифтерійний токсин пригнічують активність eEF-2 – білкового фактору стадії елонгації трансляції еукаріотів. Функцією цього фактору є транслокація рибосоми на мРНК

4.11

A 4-year-old toddler with cystic fibrosis (CF) is seen by his physician for an upper respiratory infection with *Pseudomonas aeruginosa*. He is started on oral ciprofloxacin and is referred to a CF center as a potential candidate for gene therapy. Prior genetic testing of the patient identified the mutation causing CF as a 3-base-pair deletion in exon 10 of the CF gene. The nucleotide sequences of codons 506–511 in this region of the normal and mutant alleles are compared below.

Codon Number 506 507 508 509 510 511
Normal Gene ATC ATC TTT GGT GTT TCC
Mutant Gene ATC AT• ••T GGT GTT TCC

3-base deletion

What effect will this patient's mutation have on the amino acid sequence of the protein encoded by the CF gene?

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

- A. Deletion of a phenylalanine residue with no change in C-terminal sequence
- B. Deletion of a leucine residue causing a change in the C-terminal sequence
- C. Deletion of a phenylalanine residue causing a change in the C-terminal sequence
- D. Deletion of a leucine residue with no change in C-terminal sequence

The answer: Deletion of CTT results only in the loss of Phe 508; Ile 507 and the C-terminal sequence are unaltered because ATC and ATT both code for Ile (the coding sequence is unchanged).

4-річний малюк з кістозним фіброзом (КФ) - інша назва муковісцидоз - оглядається лікарем з приводу інфекції верхніх дихальних шляхів, викликаной *Pseudomonasaeruginosa*. Пацієнту спочатку було призначено перорально ципрофлоксацин і направлено у діагностичний центр КФ як потенційного кандидата на генну терапію. Попереднє генетичне тестування пацієнта ідентифікувало мутацію, що викликає КФ, як делецію 3 нуклеотидів у 10

екзоні гена КФ. Нуклеотидні послідовності кодонів ділянки ДНК 506-511 нормальних і мутантних алелей порівнюються нижче, де крапками позначено делецію 3 нуклеотидів

Номер кодону 506 507 508 509 510 511

Нормальний ген АТС АТС ТТТ GGT GTT ТСС

Мутантний ген АТС АТ• ••Т GGT GTT ТСС

Який вплив матиме мутація цього пацієнта на амінокислотну послідовність білка, що кодується геном КФ?

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

- A. Відсутність залишку фенілаланіну без зміни С-кінцевої послідовності
- B. Відсутність залишку лейцину, що призводить до зміни С-кінцевої послідовності
- C. Відсутність залишку фенілаланіну, що призводить до зміни С-кінцевої послідовності
- D. Відсутність залишку лейцину без зміни С-кінцевої послідовності

Правильна відповідь: Видалення СТТ призводить тільки до втрати Phe 508; Ile 507 та С-кінцева послідовність не змінені, тому що обидва триплети АТС та АТТ кодують Іле

4.12

A 10-year-old boy with severe progressive skin ulceration, decreased resistance to infection, and impaired cognitive ability has been diagnosed with a genetic deficiency

of the enzyme prolidase. Mutation analysis has identified a single base substitution at the 3' end of intron 6 of the mutant allele as well as deletion of a 45-base exon (exon 7) in the prolidase cDNA. Which type of gene mutation was most likely inherited by this boy?

- A. Frameshift mutation
- B. In-frame mutation
- C. Missense mutation
- D. Nonsense mutation
- E. Splice site mutation

The answer: A base substitution at an intron-exon junction, which leads to the deletion of an entire exon is indicative of a splice site mutation

У 10-річного хлопчика з тяжкою прогресуючою виразкою шкіри, зниженою стійкістю до інфекцій і порушенням когнітивних здібностей було діагностовано генетичний дефіцит ферменту пролідази. Генетичний аналіз мутацій виявив одиночну заміну азотистої основи на 3'-кінці 6 інтрону мутантного алеля, а також делецію 7 екзону, який складається з 45 нуклеотидів. Такі зміни відбулися у структурі гену пролідази. Який тип генної мутації найбільш імовірно успадкував цей хлопчик?

- A. Мутація, що призвела до зсуву рамки зчитування
- B. Дуплікація
- C. Місенс мутація
- D. Нонсенс мутація
- E. Мутація сайту сплайсинга

Правильна відповідь: Заміна азотистої основи у з'єднанні інтрон-екзон, яка призводить до видалення всього екзона, свідчить про мутацію сайту сплайсинга

Glossary

Anticipation is a phenomenon in which the mutant alleles in certain diseases differ from their normal counterparts only in number of tandem copies of a trinucleotide. In these diseases, the number of repeats often increases with successive generations and correlates with increasing severity and decreasing age of onset.

Huntington's disease is an inherited disease that causes the progressive degeneration of nerve cells in the brain. It has a broad impact on a person's functional abilities and usually results in movement, cognitive and psychiatric disorders. There are 5 tandem repeats of CAG in the coding region in the normal Huntington allele. Affected family members may have 30-60 of these CAG repeats. The normal protein contains 5 adjacent glutamine residues, whereas the proteins encoded by the disease-associated alleles have 30 or more adjacent glutamines. The long glutamine tract makes the abnormal proteins extremely unstable.

Fragile X syndrome is an inherited intellectual disability caused by a mutation in the fragile X mental retardation 1 (FMR1) gene on the X chromosome, most commonly an increase in the number of CGG trinucleotide repeats in the 5' untranslated region of FMR1. Fragile X syndrome is a hereditary disorder affecting mostly males.

Myotonic dystrophy is a long-term genetic disorder that affects muscle function. Symptoms include gradually worsening muscle loss and weakness. Muscles often contract and are unable to relax. Other symptoms may include cataracts, intellectual disability and heart conduction problems. Myotonic dystrophy is one of several known trinucleotide repeat disorders. The affected gene is called DMPK, which codes for myotonic dystrophy protein kinase, a protein expressed predominantly in skeletal muscle. In myotonic dystrophy, there is an expansion of the cytosine-thymine-guanine (CTG) triplet repeat in the DMPK gene. Between 5 and 37 repeats is considered normal, while individuals with between 38 and 49 repeats are considered to have a pre-mutation and are at risk of having children with further expanded repeats and, therefore, symptomatic disease. Individuals with greater than 50 repeats are almost invariably symptomatic, with some noted exceptions. Longer repeats are usually associated with earlier onset and more severe disease, a process known as anticipation.

Gene is a fundamental physical and functional unit of heredity. A gene is an ordered sequence of nucleotides located in a particular position within the genome that encodes a specific functional product (a protein or RNA).

Genome is all the genetic material of a particular organism, its size is generally given as its total number of base pairs or as its total number of genes.

Genetic code is the term we use for the way that the four bases of DNA--the A, C, G, and Ts--are strung together in a way that the cellular machinery, the ribosome, can read them and turn them into a protein. In the genetic code, each three nucleotides in a row count as a triplet and code for a single amino acid. So each sequence of three nucleotids is code for an amino acid. And proteins are made up of sometimes hundreds of amino acids. So the code that would make one protein could have hundreds, sometimes even thousands, of triplets contained in it.

Properties of the genetic code:

- tripletness - a significant unit of code is a combination of three nucleotides (triplet or codon);
- continuity - there are no punctuation marks between triplets, that is, information is read continuously;
- non-overlapping - the same nucleotide cannot be included simultaneously in two or more triplets (an exception is for some overlapping genes of viruses, bacteria and mitochondria that encode several proteins read with a frame shift);
- specificity - a particular codon corresponds to only one amino acid;
- degeneracy - several codons can correspond to the same amino acid;
- collinearity - the codon sequence corresponds to the amino acid sequence in the encoded protein;
- universality - the genetic code is the same for the vast majority of biological systems (there are exceptions: ciliates, mitochondria - that's why the genetic code is called quasi-universal).

Codon is a specific sequence of three consecutive nucleotides that is part of the genetic code (in DNA or mRNA) and codes for a specific amino acid.

Anticodon is a specific sequence of three consecutive nucleotides that is part of a tRNA molecule that is complementary to an mRNA codon.

Codon-anticodon interactions occur between triplet (codon) of mRNA (which serves as an instruction on the order of the amino acids during the formation of the amino acid chain) and triplet (anticodon) of tRNA with attached amino acid (corresponding to the codon). tRNAs act as "adapters" for the recognition of amino acids in the translation process. Thus, the specificity of the translation is determined by the codon-anticodon interaction between codon of the mRNA and anticodon of tRNA, as well as the specificity of the aminoacyl-tRNA synthetase that attach the amino acids strictly to their respective tRNAs (for example, GGU codon corresponds to anticodon CCA in tRNA, but this tRNA will only be attached to the amino acid glycine).

mRNA is a molecule that can move from the nucleus to the cytoplasm of cells that serves as the crucial connecting message between information contained in the gene and protein synthesis. The structure of RNA is similar to that of DNA. The mRNA molecule serves as a template for the specific amino acid sequence of a protein.

tRNA is the key adaptor molecule needed for translation.

Gene mutation is a permanent alteration in the DNA sequence that makes up a gene. Mutations can result from DNA copying mistakes made during cell division, exposure to ionizing radiation, exposure to chemicals called mutagens, or infection by viruses.

Frameshift mutation is a type of mutation involving the insertion or deletion of a nucleotide in which the number of deleted base pairs is not divisible by three.

Point mutation is when a single base pair is altered.

Missense mutation is when the change of a single base pair causes the substitution of a different amino acid in the resulting protein. The code gets misinterpreted.

Nonsense mutation is the substitution of a single base pair that leads to the appearance of a stop codon where previously there was a codon specifying an amino acid. It is a genetic mutation in a DNA sequence that results in a shorter unfinished protein product.

Deletion is a type of mutation involving the loss of genetic material. It is when a pair of the nucleotide gets deleted in the DNA sequence.

Duplication is a type of mutation that involves the production of one or more copies of a gene or region of a chromosome.

Substitution is a type of mutation where one base pair is replaced by a different base pair.

Insertion is a type of mutation involving the addition of genetic material. It is an addition of one or more nucleotide base pairs into a DNA sequence.

Translation is the process of polypeptide chain of protein synthesis from amino acids on the messenger RNA (iRNA, mRNA) as a template.

Translation protein factors are a group of proteins that directly participate in the translation process, but are not embedded in the structure of the ribosome, in contrast to the multiple ribosomal proteins. They have a variety of functions, are easily associated with the mRNA-ribosomal complex and, after performing a certain action, dissociate from the complex. Translation factors are necessary for all stages of the translation: initiation, elongation, termination. They are divided into: initiation factors (IF or eIF for eukaryotes), elongation factors (EF or eEF), termination factors (RF or eRF).

Initiation factors IF3 (eIF3) binds to the 30S (small) subunit of ribosome and in this way prevents the association with the 50S large subunit. It also recognizes the special mRNA sequences: 1) the initiation codon 5'-AUG-3'; 2) Shine-Dalgarno sequence that is complementary to the sequence in ribosomal 16S RNA. Thus mRNA is fixed on the ribosome.

Initiation factor IF2 (eIF2) interacts with fMet-tRNA (Met-tRNA), fixes it in the P site (splitting GTP), completes the assembly of the complex: ribosome + mRNA + formylmethionyl-tRNA (Met-tRNA).

Elongation factor EF-Tu (analogue in eukaryotes is eEF1 α) - binding of aminoacyl-tRNA to the ribosome by hydrolysis of GTP.

Elongation factor EF-Ts (analogue in eukaryotes is eEF1 β) - help in releasing of GDP from EF-Tu-GDP (eEF1 α).

Elongation factor EF-G (analogue in eukaryotes eEF2) - translocation of ribosome (hydrolysis of GTP used).

Termination factors RF1 and RF2 recognize stop codons; RF3 hydrolyzes peptidyl-tRNA, as a result is releasing of the synthesized peptide. GTP is used. Termination factor in eukaryotes is single. It is eRF.

Ribosomes are an important organoid of the living cell. By chemical nature, it is a ribonucleoprotein. Ribosome collects all the components of the protein synthesis system. It works as a tape-long mechanism: the protrusion of the mRNA within the ribosome allows it to read from its genetic information and translate it into the primary protein structure. The ribosome effectively has two kinds of tRNA binding sites. Only tRNA^{Met} can bind to the P (peptidyl - for peptidyl-tRNA) site, and this only occurs during the initial formation of the functional ribosome (initiation). All other aminoacyl-tRNAs enter at the A (aminoacyl - for aminoacyl-tRNA) binding site. After formation of the peptide bond (this doesn't require GTP hydrolysis), the tRNA with the growing peptide attached is moved (translocated) to the other site (this does require GTP hydrolysis).

Peptidyltransferase is a ribozyme integrated into the peptidyltransferase center of the 50S (60S) subunit of ribosome, which catalyzes the transpeptidation reaction. Result is in an extension of the growing polypeptide chain to one amino acid. The activity of peptidyltransferase is associated with the 23S (28S) rRNA of a large ribosomal subunit.

Translocase or elongation factor G (EF G) is enzyme that moves the mRNA molecule along the ribosome in the translation process: peptidyl-tRNA is moved from A-site to P-site in the ribosome. This action is provided by energy of GTP hydrolysis. Next aminoacyl-tRNA can be attached to the free A-site to continue the build-up of the polypeptide chain.

Antibiotics are chemicals that are produced by microorganisms and can inhibit growth and cause the death of bacteria and other organisms. The antimicrobial action of antibiotics has a selective nature: they act stronger on some organisms, others are weaker or not at all.

Rifampicin binds to the β -subunit of prokaryotic RNA polymerase and suppresses it. Due to such selectivity, rifampicin acts only on bacteria and is a drug for the treatment of tuberculosis. The rifamycin produced by *Streptomyces bacteria* and its

semi-synthetic derivative rifampicin inhibit specifically the initiation of transcription. These antibiotics do not prevent the binding of RNA polymerase to the DNA template. Rifampicin interferes with the formation of the first phosphodiester bond in the RNA chain. In this case, the antibiotic practically does not affect the elongation of the chain. It should be noted that the recently discovered antiviral effect of rifamycin allows it to be used in the treatment of trachoma, which is caused by a DNA-containing virus.

Tetracyclines block the A-site of the ribosome and deprive it of the ability to bind to aminoacyl-tRNA. The mechanism of antimicrobial action of tetracyclines is related to inhibition of protein synthesis by bacterial ribosomes and is carried out as follows: tetracyclines interrupt the binding of aminoacyl tRNA to the acceptor site of the mRNA-ribosome complex. This blocks the inclusion of the following amino acids in the polypeptide chain and inhibits the synthesis of the protein. Thus, the bacteriostatic effect is carried out. In addition, tetracyclines bind ions of bivalent metal Ca^{2+} and Mg^{2+} . This leads to the inhibition of metal-dependent enzyme systems of organisms.

Chloramphenicol (levomycetin) has a similar action: it violates the attachment of the aminoacyl-tRNA to peptidyltransferase site located in the 50S-subunit of the ribosome. The interaction of tRNA anticodon with codon of 30S-subunit mRNA is not disturbed. As a result, peptidyltransferase does not interact with its substrate - aminoacyl-tRNA, and the peptide bond is not formed. In this way, the activity of peptidyltransferase is decreased.

Erythromycin binds to the 50S-subunit of the ribosome and inhibits the translocation.

Toxins - poisonous substances produced by living cells or organisms. They differ in structure and mechanism of action, they have the ability to interact with biological macromolecules (such as enzymes or receptors) of the organism in which they penetrated. Toxins have the ability to change the functioning of their target molecules: either decrease or, conversely, increase their activity

Pseudomonas and diphtheria toxins inhibit the synthesis of proteins in the mucosal cells of throat and larynx. Some strains of this pathogenic microorganism receive a toxin gene from a bacterial virus called β -phage, which infects a bacterium and

induces the synthesis of toxic for human single-stranded protein. The toxin is cleaved into 2 fragments, one of which is enzyme ADP-ribosyltransferase, in the cytoplasm of host cells under the influence of proteolytic enzymes. Enzyme ADP-ribosyltransferase catalyzes the transfer of ADP-ribose residue from NAD^+ to OH-group of serine residue in the eEF2 (elongation factor) molecule. Inactivation of the factor suppresses the promotion of the ribosome along the mRNA at the translocation stage. As a result, the growing polypeptide chain remains in the aminoacyl center of the ribosome. Thus, the biosynthesis of proteins in infected cells of the mucosal cells of throat and larynx is stopped.

Глосарій

«Передбачувані» захворювання - таким терміном позначаються клінічні випадки, коли мутантні алелі у хворих з такими патологіями відрізняються від своїх нормальних аналогів тільки кількістю тандемів копій тринуклеотиду. При цих захворюваннях кількість повторів частіше збільшується у кожному наступному поколінні та корелює із збільшенням ступеня тяжкості і зменшенням віку початку прояву симптомів

Хвороба Хантінгтона є спадковим захворюванням, яке викликає прогресуючу дегенерацію нервових клітин у мозку. При цьому захворюванні відбуваються глибокі порушення функціональних здібностей людини і зазвичай це призводить до рухових, когнітивних і психічних розладів. Існує 5 тандемних повторів CAG в кодуючій послідовності нормального алеля Хантінгтона. Постраждалі члени сім'ї можуть мати 30-60 таких повторів CAG. Нормальний білок містить 5 суміжних глутамінових залишків, тоді як білки, які кодуються алелями, асоційованими з захворюванням, мають 30 або більше суміжних глутамінів. Довгий глутаміновий тракт робить аномальні білки вкрай нестабільними.

Синдром крихкої X хромосоми є спадковим порушенням, викликаним мутацією в гені розумової відсталості 1 крихкої X хромосоми (FMR1). Найчастіше це відбувається через збільшення кількості тринуклеотидних повторів CGG в 5'-нетрансльованій ділянці гена FMR1. Синдром крихкої X-

хромосоми є спадковим захворюванням, що проявляється здебільшого у чоловіків.

Міотонічна дистрофія - це генетичне захворювання, при якому спостерігаються порушення структури та функціонування м'язів. Симптоми включають поступове зменшення м'язової маси і слабкість. М'язи часто скорочуються, але не можуть розслабитися. Інші симптоми можуть включати катаракту, розумову відсталість і проблеми із серцевою провідністю. Міотонічна дистрофія є одним з декількох відомих порушень тринуклеотидних повторів. Уражений ген називається DMPK. Він кодує білок міотонічної дистрофії, який експресується переважно в скелетних м'язах. При міотонічній дистрофії відбувається подовження послідовності триплетного повтору цитозин-тимін-гуанін (CTG) в гені DMPK. Від 5 до 37 повторів вважається нормальним, у той час як люди з 38-49 повторами мають пре-мутацію і ризикують мати дітей з додатковими подовженими повторами і, отже, симптоматичним захворюванням. Особи з більш ніж 50 повторами цих триплетів майже завжди є симптоматичними, за деякими винятками. Довші повтори зазвичай пов'язані з більш раннім початком і більш важким захворюванням, яке називають передбачуваним.

Ген є фундаментальною фізичною і функціональною одиницею спадковості. Ген являє собою впорядковану послідовність нуклеотидів, розташованих в певному положенні в геномі, який кодує конкретний функціональний продукт (білок або РНК).

Геном - це весь генетичний матеріал конкретного організму, його розмір зазвичай задається як загальна кількість пар нуклеотидів або як загальна кількість генів. Наприклад, геном людини може бути охарактеризовано так: двадцять дві аутосоми, дві статеві хромосоми X і Y, а також мітохондріальна ДНК містять разом приблизно 3,1 млрд пар нуклеотидів, які складають 20-25 тисяч активних генів.

Генетичний код - це спосіб запису генетичної інформації в послідовності нуклеїнових кислот (ДНК або РНК) про структуру поліпептидів (білків). У конкретному сенсі генетичний код - це відповідність між триплетними

кодонами матричної РНК (м-РНК) і амінокислотами кодованого білка, що задається кодовою таблицею. Чотири типи нуклеотидів ДНК - А, С, G і Т пов'язані один з одним таким чином, що клітинний белоксинтезуючий апарат може їх прочитати і зібрати поліпептидний ланцюг білка з амінокислот. У генетичному коді кожні три нуклеотиду поспіль вважаються кодоном і кодують одну амінокислоту. Білки складаються як правило з сотень амінокислот. Таким чином, послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує один білок, містить сотні, іноді навіть тисячі триплетів.

Властивості генетичного коду:

- триплетність - значущою одиницею коду є поєднання трьох нуклеотидів (триплет або кодон);
- безперервність - між триплетами немає розділових знаків, інформація зчитується безперервно;
- дискретність - один і той же нуклеотид не може входити одночасно до складу двох або більше триплетів (виняток - для деяких генів вірусів, бактерій і мітохондрій, у яких гени можуть перекриватися таким чином кодується декілька білків, зчитування здійснюється зі зсувом рамки);
- специфічність (однозначність) - певний кодон відповідає тільки одній амінокислоті;
- виродженість (надмірність) - одній і тій же амінокислоті може відповідати декілька кодонів;
- колінеарність - послідовність кодонів відповідає послідовності амінокислот в кодованому білку.
- універсальність - генетичний код єдиний для переважної більшості біологічних систем (є винятки: інфузорії, мітохондрії – тому більш точно буде називати генетичний код квазіуніверсальним).

Кодон - специфічна послідовність з трьох нуклеотидів, яка є частиною генетичного коду (в ДНК або мРНК) і кодує конкретну амінокислоту.

Антикодон – специфічна послідовність з трьох нуклеотидів, яка є частиною молекули тРНК, та комплементарною кодону мРНК.

Кодон-антикодонові взаємодії відбуваються між триплетами (кодонами) мРНК (яка служить інструкцією про порядок амінокислот при складанні амінокислотного ланцюга) татриплетами (антикодонами) аміноацил-тРНК (тРНК з приєднаними до них ковалентними зв'язками амінокислотами, відповідними кодону). тРНК діють як «адаптери» для розпізнавання амінокислот в процесі трансляції. Таким чином, специфічність трансляції визначається кодон-антикодоновими взаємодіями між кодонами мРНК та антикодонами аміноацил-тРНК, а також специфічністю аміноацил-тРНК-синтеаз, які з високою точністю пов'язують амінокислоти з відповідними їм тРНК (наприклад, так як кодон GGU відповідає антикодону CCA в тРНК, до цієї тРНК має бути приєднана тільки амінокислота гліцин).

мРНК (матрична РНК) - це молекула, яка може переміщуватися з ядра в цитоплазму клітини, служить найважливішою сполучною ланкою при передачі інформації, що міститься в генах ДНК та використовується у синтезі поліпептиду білка. Структура мРНК схожа на структуру ДНК. Можна розглядати використання молекули мРНК у якості матриці для формування певної амінокислотної послідовності білка.

тРНК (транспортна РНК) є ключовою молекулою-адаптером, необхідною для декодування під час трансляції. Вона є полімером рибонуклеозидмонофосфатів, з'єднаних фосфодієфірними зв'язками, містить найбільшу кількість мінорних азотистих основ (у порівнянні з іншими нуклеїновими кислотами), транспортує і презентує відповідний їй за генетичним кодом амінокислотний залишок.

Генна мутація є постійною, закріпленою зміною в послідовності ДНК, яка становить ген. Мутації можуть виникнути в результаті помилок копіювання ДНК, допущених під час поділу клітин, впливу іонізуючого випромінювання, впливу хімічних речовин (мутагенів) або зараження вірусами.

Мутація зсуву рамки зчитування - це тип мутації, що включає вставку або втрату (делецію) нуклеотиду, при якій число видалених або доданих пар нуклеотидів не ділиться на три.

Точкова мутація - це той випадок, коли змінюється одна пара азотистих основ нуклеотидів ДНК.

Міссенс-мутація виникає, коли заміна однієї пари азотистих основ ДНК призводить до заміни однієї амінокислоти на іншу в поліпептиді, щосинтезується. Утворюється дефектний поліпептид.

Нонсенс-мутація - це заміна однієї пари азотистих основ, яка призводить до появи стоп-кодону в тому місці, де раніше був кодон, який визначає амінокислоту. Це генетична мутація в послідовності ДНК, яка призводить до більш короткого незакінченого поліпептидного ланцюга.

Делеція - тип мутації, пов'язаний з втратою генетичного матеріалу. При цьому пара комплементарних нуклеотидів видаляється з послідовності ДНК.

Дуплікація - це тип мутації, при якому збільшується кількість копій гена або навіть цілого фрагмента хромосоми. Дуплікації можуть відбуватися в межах однієї і тієї ж хромосоми або виникати в результаті перенесення копії ділянки хромосоми на іншу хромосому (транспозиції). Повтори, що виникли в одній хромосомі, можуть розташовуватися у вигляді прямих або інвертованих тандемних повторів. Випадки багаторазових повторень ділянки хромосоми утворюються завдяки ампліфікації – синтезу декількох копій гену і вбудовування їх у послідовність ДНК. В результаті дуплікацій утворюються повторювані нуклеотидних послідовностей, кластери генів та мультигенні сімейства.

Заміна нуклеотиду – може бути простою (пурин на пурин або піримідин на піримідин), і називається транзицією або складною (заміна пурин на піримідин або навпаки) і називається трансверсією.

Інсерція (вставка) - це тип мутації, що включає додавання генетичного матеріалу. Це додавання однієї або декількох нуклеотидних пар в послідовність ДНК.

Трансляція являє собою процес синтезу поліпептидного ланцюга білка з амінокислот на матричній РНК (мРНК)

Білкові фактори трансляції представляють собою групу білків, які безпосередньо беруть участь в процесі трансляції, але не вбудовуються в структуру рибосоми, на відміну від безлічі рибосомних білків. Вони виконують різноманітні функції, легко асоціюються з мРНК-рибосомним комплексом і

після виконання певної дії дисоціюють від комплексу. Фактори трансляції необхідні для всіх етапів цього процесу: ініціації, елонгації, термінації. Вони поділяються на: фактори ініціації (IF або eIF для еукаріот), фактори елонгації (EF або eEF) та фактори термінації (RF або eRF).

Фактор ініціації IF3 (eIF3) зв'язується з малою субодиницею рибосоми і таким чином запобігає її асоціації з великою субодиницею. Він також розпізнає спеціальні послідовності мРНК: 1) кодон ініціації 5'-AUG-3'; 2) послідовність Шайна-Далгарно, яка комплементарна послідовності рибосомальної 16S РНК. Таким чином мРНК фіксується на рибосомі.

Фактор ініціації IF2 (eIF2) взаємодіє з fMet-тРНК (Met-тРНК), фіксує його в Р-сайті (розщеплюючи GTP), завершує збірку комплексу: рибосома + мРНК + формілметіоніл-тРНК (Met-тРНК).

Фактор елонгації EF-Tu (аналогом у еукаріотів є eEF1 α) забезпечує зв'язування аміноацил-тРНК з рибосомою, забезпечується енергією гідролізу GTP.

Фактор елонгації EF-Ts (аналог у еукаріотів - eEF1 β) сприяє звільненню GDP з активного центру EF-Tu (eEF1 α).

Фактор елонгації EF-G (аналог у еукаріотів eEF2) здійснює транслокацію (переміщення) рибосоми на три нуклеотиду мРНК, використовуючи для цього енергію гідролізу GTP.

Фактори термінації RF1 і RF2 розпізнають стоп-кодони; RF3 гідролізує пептидил-тРНК, в результаті чого вивільняється синтезований поліпептид. Використовується GTP. Фактор термінації у еукаріот один – eRF, він поєднує усі функції окремих прокариотичних факторів термінації і не потребує енергії нуклеозидтрифосфатів.

Рибосома - важливий органоїд живої клітини. За хімічною природою це рибонуклепротеїн. Рибосома об'єднує всі компоненти системи синтезу білка. Вона працює як стрічковий механізм: протягування мРНК всередині рибосоми дозволяє зчитувати з неї генетичну інформацію і переводити її в первинну структуру білка. Рибосома має два сайти зв'язування ацил-тРНК. Тільки tRNA-Met може зв'язуватися з сайтом Р (пептидильний центр - для пептидил-тРНК), і

це відбувається тільки під час початкової стадії формування функціональної рибосоми - ініціації. Інші аміноацил-тРНК входять в сайт зв'язування А(аміноацильний центр - для аміноацил-тРНК). Після утворення пептидного зв'язку (це не вимагає гідролізу GTP), тРНК з прикріпленим зростаючим пептидом переміщується (транслокується) до іншого сайту (для цього використовується енергія GTP).

Пептидилтрансфераза є рибозимом, інтегрованим пептидилтрансферазний центр 50S (60S) субодиниці рибосоми, який каталізує реакцію транспептидації. Результатом є подовження зростаючого поліпептидного ланцюга на одну амінокислоту. Активність пептидилтрансферази пов'язана з 23S (28S) рРНК великої рибосомальної субодиниці.

Транслоказа або фактор елонгації G (EFG) - це фермент, який переміщує молекулу мРНК вздовж рибосоми в процесі трансляції: пептидил-тРНК переміщується разом з мРНК з А-сайту в Р-сайт в рибосомі. Ця дія забезпечується енергією гідролізу ГТФ. Наступна аміноацил-тРНК може бути приєднана до вільного А-сайту для продовження нарощування поліпептидного ланцюга.

Антибіотики - це хімічні речовини, які виробляються мікроорганізмами і можуть пригнічувати ріст і викликати загибель бактерій і інших організмів. Антимікробна дія антибіотиків має вибірковий характер: на одних організмів вони діють сильніше, на інших - слабше або не діють зовсім.

Рифампіцин зв'язується з β -субодиницею прокариотичної РНК-полімерази і пригнічує її. Завдяки такій селективності рифампіцин діє тільки на бактерії і використовується для лікування туберкульозу. Рифаміцин, що продукується бактеріями *Streptomyces*, і його напівсинтетичне похідне рифампіцин специфічно інгібують ініціацію транскрипції. Ці антибіотики не запобігають зв'язування РНК-полімерази з ДНК-матрицею. Рифампіцин перешкоджає утворенню першого фосфодієфірного зв'язку в ланцюзі РНК. В цьому випадку антибіотик практично не впливає на подовження ланцюга. Слід зазначити, що недавно виявлений протівірусний ефект рифаміцину дозволяє використовувати його для лікування трахоми.

Тетрацикліни блокують А-сайт рибосоми і позбавляють його здатності зв'язуватися з аміноацил-тРНК. Механізм антимікробної дії тетрацикліну пов'язаний з пригніченням синтезу білка бактеріальними рибосомами і здійснюється наступним чином: тетрацикліни перекривають зв'язування аміноацил-тРНК з А-сайтом комплексу мРНК-рибосома. Це блокує включення наступних амінокислот в поліпептидний ланцюг і пригнічує синтез білка. Таким чином здійснюється бактеріостатичний ефект. Крім того, тетрацикліни зв'язують іони двовалентних металів Ca^{2+} та Mg^{2+} . Це призводить до пригнічення метало-залежних ферментних систем організмів.

Хлорамфенікол (левоміцетин) порушує прикріплення аміноацил-тРНК до сайту пептидилтрансферази, розташованому в 50S-субодиниці рибосоми. Взаємодія антикодону аміноацил-тРНК з кодоном 30S-субодиниці мРНК не порушується. В результаті пептидилтрансфераза не взаємодіє з її субстратом - аміноацил-тРНК, і пептидний зв'язок не утворюється. Таким чином, активність пептидилтрансферази знижується.

Еритроміцин зв'язується з 50S-субодиницею рибосоми і пригнічує транслокацію.

Токсини - отруйні речовини, що виробляються живими клітинами або організмами. Вони розрізняються за структурою і механізмом дії, мають здатність взаємодіяти з біологічними макромолекулами (такими як ферменти або рецептори) організму, в який вони проникли. Токсини мають здатність змінювати функціонування молекул-мішеней: або зменшувати, або, навпаки, збільшувати їх активність.

Pseudomonas і дифтерійні токсини пригнічують синтез білків в клітинах слизової оболонки горла і гортані. Деякі штами цих патогенних мікроорганізмів отримують ген токсину від бактеріального вірусу, званого β -фагом, який заражає бактерії і індукує синтез токсичного для людини одноланцюгового білка. В цитоплазмі клітин-господарів під дією протеолітичних ферментів токсин розщеплюється на 2 фрагмента, одним з яких є фермент АДФ-рибозилтрансфераза. Фермент АДФ-рибозилтрансфераза каталізує перенесення залишку АДФ-рибози від НАД^+ до ОН-групі залишку серину в молекулі eEF2

(фактор елонгації). Інактивація фактора пригнічує просування рибосоми уздовж мРНК на стадії транслокації. В результаті зростаючий поліпептидний ланцюг залишається в аміноацильному центрі рибосоми. Таким чином, біосинтез білків в інфікованих клітинах слизової оболонки горла і гортані припиняється.

Chapter 5

BIOCHEMISTRY OF HORMONES

Розділ 5

БІОХІМІЯ ГОРМОНІВ

5.1

A patient with manic depressive disorder is treated with lithium, which slows the turnover of inositol phosphates and the phosphatidyl inositol derivatives in cells. Which of the following protein kinases is most directly affected by this drug?

- A. Protein kinase C
- B. Receptor tyrosine kinase
- C. Protein kinase G
- D. Protein kinase A
- E. Protein kinase M

The answer: The description best fits the PIP₂ system in which protein kinase C is activated.

Пацієнта з маніакальним депресивним розладом лікують літієм, що уповільнює перетворення фосфатів інозитулу і похідних фосфатидил-інозитулу в клітинах. На яку з наступних протеїнкіназ найбільш безпосередньо впливає цей препарат?

- A. Протеїнкіназа C
- B. Рецептор тирозинкінази
- C. Протеїнкіназа G
- D. Протеїнкіназа A
- E. Протеїнкіназа M

Правильна відповідь: Протеїнкіназа C стимулюється диацилгліцеролом, який утворюється з фосфатидил-інозитол-4,5-дифосфату при дії фосфоліпази C, тому цей фермент найкраще відповідає фосфатидилінозитолдифосфатній(ФІФ₂) системі.

5.2

Tumor cells from a person with leukemia have been analyzed to determine which oncogene is involved in the transformation. After partial sequencing of the gene, the predicted gene product is identified as a tyrosine kinase. Which of the following

proteins would most likely be encoded by an oncogene and exhibit tyrosine kinase activity?

- A. Nuclear transcriptional activator
- B. Epidermal growth factor
- C. Membrane-associated G protein
- D. Platelet-derived growth factor
- E. Growth factor receptor

The answer: Although any of the listed options might be encoded by an oncogene, the “tyrosine kinase” description suggests it is likely to be a growth factor receptor.

Клітини пухлини людини з лейкемією були проаналізовані для визначення того, який онкоген бере участь у трансформації. Після часткового секвенування гена, визначили, що передбаченим продуктом гена є тирозинкіназа. Який з наступних білків, ймовірно, буде закодований онкогеном і його функція буде пов'язана з активністю тирозинкінази?

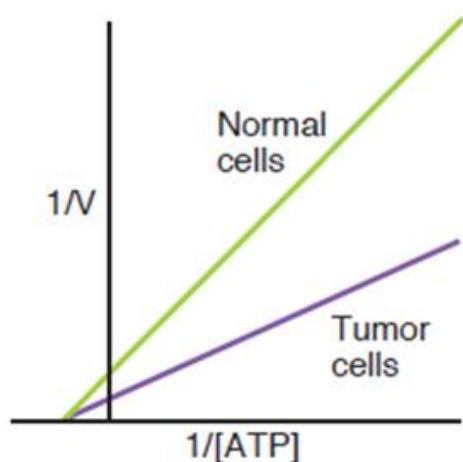
- A. Ядерний транскрипційний активатор
- B. Епідермальний фактор росту
- C. Мембрано-асоційований G білок
- D. Тромбоцитарний фактор росту
- E. Рецептор фактора росту

Правильна відповідь: Хоча будь-який з перерахованих варіантів може бути закодований за допомогою онкогену, слово "тирозинкіназа" наводить на думку, що це, ймовірно, рецептор фактора росту, тому що при контакті цього рецептору з фактором росту він починає фосфорилувати залишки тирозину інших білків клітини, тобто виконує функцію тирозинкінази.

5.3

Tumor cells from a person with leukemia have been analyzed to determine which oncogene is involved in the transformation. After partial sequencing of the gene, the predicted gene product is identified as a tyrosine kinase. A kinetic analysis of the

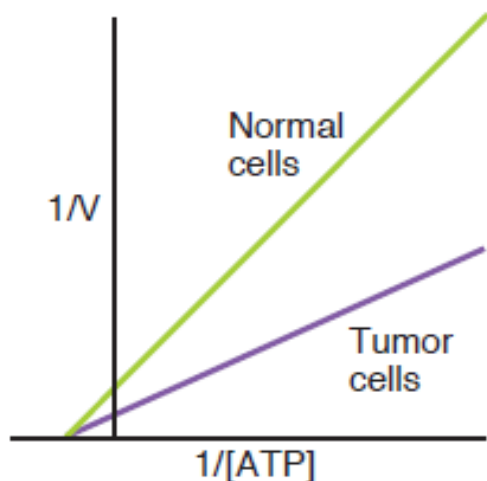
tyrosine kinase activities in normal and transformed cells is shown below. Which of the following conclusions is best supported by these results?



- A. The tumor cell kinase has a higher-than-normal affinity for ATP
- B. A kinase gene has been deleted from the tumor cell genome
- C. A noncompetitive inhibitor has been synthesized in the tumor cells
- D. A kinase gene has been amplified in the tumor cell genome
- E. The tumor cell kinase has a lower-than-normal affinity for ATP

The answer: Because the y-axis is $1/V$, a smaller value for the $1/V$ means an increase in V_{max} . An increase in V_{max} (with no change in K_m) means an increase in the number of enzymes (a kinase in this problem). Gene amplification (insertion of additional copies of the gene in the chromosome) is a well-known mechanism by which oncogenes are overexpressed and by which resistance to certain drugs is developed. For instance, amplification of the dihydrofolate reductase gene can confer resistance to methotrexate.

Клітини пухлини людини з лейкемією були проаналізовані для визначення того, який онкоген бере участь у трансформації. Після часткового секвенування гена, визначили, що передбаченим продуктом гена після трансляції є тирозинкіназа. Кінетичний аналіз активності тирозинкінази в нормальних і трансформованих клітинах показаний нижче. Які з наступних висновків



найкраще підтверджуються цими результатами?

- A. Кіназа пухлинних клітин має вищу за норму спорідненість до АТФ

- B. Ген кінази був видалений з геному пухлинних клітин
- C. В пухлинних клітинах утворюється неконкурентний інгібітор
- D. Ген кінази ампліфікується в геномі пухлинних клітин
- E. Кіназа пухлинних клітин має афінність до АТФ, яка є нижчою за нормальну

Правильна відповідь: Оскільки вісь «у» позначена $1/V$, менше значення $1/V_{\max}$ в клітинах пухлини означає збільшення V_{\max} . Збільшення V_{\max} (без зміни K_m) означає збільшення кількості ферментів (кінази в цій задачі). Ампліфікація гена (вставка додаткових копій гена в хромосому) є добре відомим механізмом, за яким онкогени надмірно експресуються, і за допомогою яких розвивається стійкість до деяких лікарських засобів. Наприклад, ампліфікація гена дигідрофолатредуктази може надавати стійкість до метотрексату.

5.4

In a DNA sequencing project, an openreadingframe (ORF) has been identified. The nucleotide sequence includes a coding region for an SH₂ domain in the protein product. This potential protein is most likely to...:

- A. Bind to an enhancer region in DNA
- B. Be a transmembrane hormone receptor
- C. Transmit signals from a tyrosine kinase receptor
- D. Bind to an upstream promoter element
- E. Activate a soluble guanylate cyclase enzyme in vascular smooth muscle

The answer: Proteins with SH₂ domains might bind to the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) to transmit signals from the insulin receptor, a tyrosine kinase type of receptor. PI-3 kinase is an example of an SH₂ domain protein. SH₂ domains are not involved in DNA binding (choices A and D). Examples of protein domains that bind DNA include zinc fingers (steroid receptors), leucine zippers (CREB protein), and helix-turn-helix proteins (homeodomain proteins).

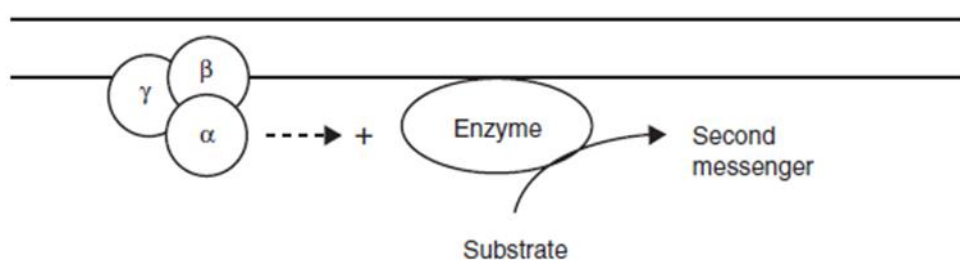
У проєкті секвенування ДНК було визначено відкриту рамку зчитування (ВРЗ). Нуклеотидна послідовність включає кодуєчу область для домену SH₂ в білковому продукті. Цей потенційний білок, швидше за все...:

- A. Зв'язується з енансерною ділянкою в ДНК
- B. Є рецептором трансмембранного гормону
- C. Передає сигнали від рецептора з тирозинкіназною активністю
- D. Зв'язується з “upstream” промотором
- E. Активує цитозольний фермент гуанілатциклазу в гладеньких м'язах судин

Правильна відповідь: Білки з SH₂ доменами можуть зв'язуватися з субстратом-1 рецептора інсуліну (IRS-1 – білком, який кодується однойменним геном, розташованим у людей на короткому плечі 2-ї хромосоми) для передачі сигналів від рецептора інсуліну, який є рецептором з тирозинкіназною активністю. Фосфатидилінозитол-3-кіназа (PI-3) є прикладом SH₂ домену білку. Домени SH₂ не беруть участь у зв'язуванні ДНК. Приклади білкових доменів, які зв'язують ДНК, включають «цинкові пальці» (стероїдні рецептори), лейцинові застібки (білок CREB) і протеїни «спіраль-поворот-спіраль» (гомеодоменні білки).

5.5

The diagram below represents a signal transduction pathway associated with hormone X.

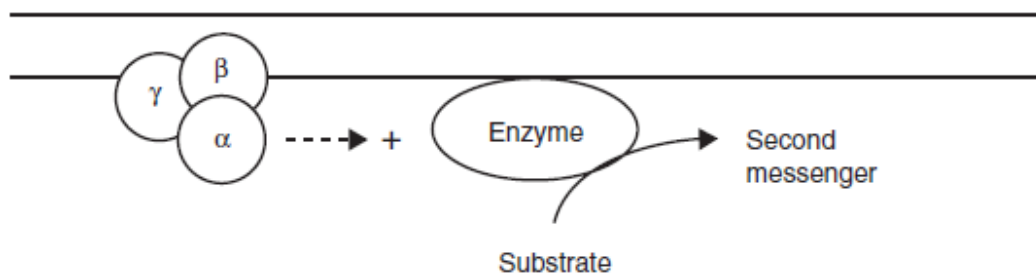


The receptor for hormone X is most likely to be characterized as a(n)...:

- A. Seven-helix transmembrane domain receptor
- B. Intracellular receptor with a zinc-finger domain
- C. Helix-turn-helix transmembrane domain receptor
- D. Transmembrane receptor with a guanylate cyclase domain
- E. Tyrosine kinase domain receptor

The answer: The diagram indicates that the receptor activates a trimeric G-protein associated with the inner face of the membrane and that the G-protein subsequently signals an enzyme catalyzing a reaction producing a secondary messenger. Receptors that activate trimeric G-proteins have a characteristic seven-helix transmembrane domain. The other categories of receptors do not transmit signals through trimeric G-proteins.

Наведена нище схема являє собою шлях проведення сигналу, пов'язаний з гормоном X.



Рецептор гормону X, швидше за все, характеризується як:

- A. Трансмембранний рецептор, що містить сімспіральних доменів
- B. Внутрішньоклітинний рецептор з цинково-пальцевим доменом
- C. Трансмембранний рецептор з доменом «спіраль-поворот-спіраль»
- D. Трансмембранний рецептор з доменом гуанілатциклази
- E. Рецептор з доменом тирозинкіназної активності

Правильна відповідь: Діаграма показує, що рецептор активує тримерний G-білок, пов'язаний з внутрішньою поверхнею клітинної мембрани, і що G-білок згодом передає сигнал ферменту, що каталізує реакцію утворення вторинного месенджера. Трансмембранні рецептори, які активують тримерні G-білки, мають характерні сім спіральних доменів. Інші категорії рецепторів не передають сигнали через тривимірні G-білки.

5.6

A 58-year-old man with a history of angina for which he occasionally takes isosorbide dinitrate is having erectile dysfunction. He confides in a colleague, who

suggests that sildenafil might help and gives him 3 tablets from his own prescription.

The potentially lethal combination of these drugs relates to:

- A. Isosorbide Dinitrate: activates nitric oxide synthase in vascular endothelium.
Sildenafil: inhibits guanylate cyclase in vascular smooth muscle.
- B. Isosorbide Dinitrate: activates nitric oxide synthase in vascular endothelium.
Sildenafil: inhibits guanylate cyclase in corpora cavernosa smooth muscle.
- C. Isosorbide Dinitrate: releases cyanide as a byproduct. Sildenafil: inhibits cGMP phosphodiesterase in corpora cavernosa smooth muscle.
- D. Isosorbide Dinitrate: activates guanylate cyclase in vascular smooth muscle.
Sildenafil: inhibits cGMP phosphodiesterase in vascular smooth muscle.
- E. Isosorbide Dinitrate: activates the ANF receptor in vascular smooth muscle.
Sildenafil: inhibits protein kinase G in vascular smooth muscle.

The answer: Isosorbide Dinitrate: activates guanylate cyclase in vascular smooth muscle. Sildenafil: inhibits cGMP phosphodiesterase in vascular smooth muscle.

Nitrates may be metabolized to nitric oxide (NO) that activates a soluble guanylate cyclase in vascular smooth muscle. The increase in cGMP activates protein kinase G and subsequently leads to vasodilation. Sildenafil inhibits cGMP phosphodiesterase (PDE), potentiating vasodilation that can lead to shock and sudden death. Although sildenafil has much higher potency for the cGMP PDE isozyme in the corpora cavernosa, it can also inhibit the cGMP PDE in vascular smooth muscle. Nitric oxide synthase (choices A and B) is the physiologic source of nitric oxide in response to vasodilators such as acetylcholine, bradykinin, histamine, and serotonin.

У 58-річного чоловіка з анамнезом стенокардії, для лікування якої він іноді приймає ізосорбїду динїтрат, спостерігається еректильна дисфункція. Він розповідає це колезі, який припускає, що препарат силденафіл може допомогти і дає 3 таблетки з його власного призначення цьому чоловіку. Потенційно летальна комбінація цих препаратів пов'язана з наступним:

- A. Ізосорбїду динїтрат активує синтазу оксиду азоту в судинному ендотелії.
Силденафіл: інгібує гуанїлатциклазу в гладких м'язах судин

- В. Ізосорбїду динїтрат активує синтазу оксиду азоту в судинному ендотелїї.
Силденафїл: інгїбує гуанїлатциклазу в кавернозних тїлах гладких м'язів
- С. Ізосорбїду динїтрат видїляє ціанїд як побїчний продукт. Силденафїл: інгїбує фосфодїестеразу цГМФ у гладких м'язах кавернозних тїл
- Д. Ізосорбїду динїтрат активує гуанїлатциклазу в гладких м'язах судин.
Силденафїл: інгїбує цГМФ-фосфодїестеразу у гладких судинних м'язах
- Е. Ізосорбїду динїтрат: активує рецептор ANF в гладких м'язах судин.
Силденафїл: інгїбує протеїнкаїназу G в гладких м'язах судин.

Правильна відповідь: Ізосорбїду динїтрат активує гуанїлатциклазу в гладких м'язах судин. Силденафїл: інгїбує цГМФ-фосфодїестеразу у гладких судинних м'язах. Нїтрати можуть метаболїзуватися до оксиду нїтрогену NO, що активує розчинну гуанїлатциклазу в гладких м'язах судин. Збїльшення цГМФ активує протеїнкаїназу G і згодом призводить до вазодилатацїї. Силденафїл пригнїчує цГМФ-фосфодїестеразу (ФДЕ), потенціюючи вазодилатацїю, що може призвести до шоку і раптової смертї. Хоча силденафїл набагато бїльше потенціює активнїсть ізоензиму цГМФ-ФДЕ в *corpora cavernosa*, він також може інгїбувати цГМФ-ФДЕ у гладких м'язах судин. Синтаза оксиду азоту є фізіологїчним джерелом оксиду азоту у відповідь на дїю вазодилататорїч, таких як ацетилхолїн, брадикїнїн, гїстамїн і серотонїн.

Glossary

Adenylate cyclase– is a key enzyme in the adenylate cyclase system that contains 12 transmembrane domains. It catalyzes cleavage of ATP to cAMP and pyrophosphate.

Amplification –is the process of making additional copies of chromosomal DNA sections containing specific genes or segments of structural heterochromatin. Amplification may be as a response of cells to a selective effect of some medicines (for example, when the cell exposed to methotrexate). Amplification is one of the mechanisms of activation of oncogenes in the process of tumor development, for example, oncogene N-myc in the development of neuroblastoma.

Angina –is a clinical syndrome characterized by chest pain due to myocardial ischemia, usually caused by physical exertion or stress (pain, however, may also occur spontaneously) and not associated with cardiomyocyte necrosis. It is a manifestation of insufficient oxygen supply regarding myocardial needs.

An oncogene –is a gene whose product can stimulate the formation of a malignant tumor. Mutations that cause the activation of oncogenes increase the chance that the cell will turn into a cancer cell. It is believed that tumor suppressor genes protect cells from cancer degeneration, and thus the cancer occurs either in the case of tumor suppressor genes or in oncogenes.

A receptor– is one or a group of protein molecules (glycoproteins) that is highly specific for the corresponding hormone.

DNA (deoxyribonucleic acid) –is a macromolecule that provides storage, transmission from generation to generation and implementation of a genetic program for the development and functioning of living organisms. The DNA molecule stores biological information in the form of a genetic code consisting of a nucleotide sequence. DNA contains information about the structure of different types of RNA and proteins.

DNA sequencing –is the determination of the nucleotide sequence in a DNA strand. It is used to decipher genes and enter this information into the data bank and further interpret it by bioinformatics methods.

Guanylate cyclase. Two major classes of guanylate cyclase (GC) are known: membrane-bound and soluble. The membrane-bound forms *GC-A*, *GC-B* and *GC-C* contain extracellular receptor domains that recognize specific peptide ligands, atrial natriuretic factor (*ANF*) and related peptides: GC-A binds ANF and brain natriuretic peptide (*BNP*) and GC-B binds C-type natriuretic peptide (*CNP*). GC-C binds the endogenous peptide guanylin, as well as a heat-stable bacterial enterotoxin (*STa*). The membrane-bound receptors contain an intracellular kinase-like domain that binds ATP and a catalytic domain that synthesizes cGMP from GTP. The soluble forms contain the catalytic domains only, α and β subunits, and are activated by nitric oxide (*NO*). Catalytic activity of soluble guanylate cyclase is dependent on the presence of both α and β subunits. Primary messengers lead to activation of NO synthesis by increasing cellular levels of Ca^{2+} , which in conjunction with calmodulin activates NO synthase. Primary messengers increase cellular Ca^{2+} levels in most cases by depolarizing neuronal membranes and thereby activating voltage-dependent Ca^{2+} channels and increasing the flux of Ca^{2+} into the cell via nerve impulses, glutamate, acetylcholine or substance P. In some cases, Ca^{2+} can enter the cell directly via ligand-gated ion channels, as with NMDA glutamate receptors. Primary messengers also can regulate cellular Ca^{2+} by stimulating Ca^{2+} release from intracellular stores.

Hormones –are biologically active substances that are produced by specialized cells of the endocrine glands, enter the blood or lymph, regulate the metabolism and physiological functions of the body.

Ionotropic receptors –membrane-bound receptor proteins that respond to ligand binding by opening an ion channel and allowing ions to flow into the cell, either increasing or decreasing the likelihood that an action potential will fire.

Leukemia –is an oncological malignant disease of blood cells that affects the bone marrow and other blood-forming organs of both humans and animals. The main symptom of leukemia is a large proportion of leukocytes. These cells, which have degenerated and lost the protective functions of normal leukocytes, destroy healthy cells, after which the victim becomes defenseless from any infection. Treatment is performed by irradiation and cytotoxic drugs to suppress the degeneration of

degenerated cells or bone marrow transplantation. The concept of leukemia is synonymous with the concept of leukemia.

Metabotropic receptor is a type of membrane receptor of eukaryotic cells that is coupled with the function of G-proteins to form some secondary messengers. It may be located at the surface of the cell or in vesicles.

Phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3, phosphoinositide-3-kinase) –is an enzyme that catalyzes the transfer of a phosphate group from an adenosine triphosphate molecule to the 3-D position of the phosphatidylinositol inositol ring. The resulting lipid products, the most important of which is phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP₃), are a secondary mediator and provide signal transmission from the membrane inside the cell. There are three classes (I, II and III) of phosphatidylinositol-3-kinases, which differ in substrate specificity and products. The most well-studied class I kinases, they are heterodimers of regulatory and catalytic subunits. These enzymes can be activated by G-protein-associated receptors and receptor tyrosine kinases. After ligand binding, receptor tyrosine kinases autophosphorylate tyrosine residues in their cytoplasmic domains. The phosphoinositide-3-kinase regulatory subunits contain the SH₂ domain, which allows them to recognize and bind phosphorylation of receptor tyrosine kinases. As a result, kinases are found in the immediate vicinity of the membrane, and therefore their substrates, so begins the synthesis of phosphatidylinositol-3-phosphates.

Phospholipase C (PLC) –is an enzyme involved in the inositol phosphate (phosphoinositide) signaling cascade. It catalyzes the hydrolysis reaction of a minor structural membrane phospholipid phosphatidylinositol-4,5-diphosphate. In this reaction, two of the three secondary messengers of this cascade are formed, inositol-1,4,5-triphosphate and diacylglycerol.

Protein kinase C –is a family of protein kinase enzymes that are involved in controlling the function of other proteins through the phosphorylation of hydroxyl groups of serine and threonine amino acid residues in these proteins, or a member of this family. PKC enzymes in turn are activated by signals such as increases in the concentration of diacylglycerol (DAG) or calcium ions (Ca²⁺). Hence PKC enzymes play important roles in several signal transduction cascades. The PKC family consists

of fifteen isozymes in humans. They are divided into three subfamilies, based on their second messenger requirements: conventional (or classical), novel, and atypical. Conventional (c)PKCs contain the isoforms α , β I, β II, and γ . These require Ca^{2+} , DAG, and a phospholipid such as phosphatidylserine for activation. Novel (n)PKCs include the δ , ϵ , η , and θ isoforms, and require DAG, but do not require Ca^{2+} for activation. Thus, conventional and novel PKCs are activated through the same signal transduction pathway as phospholipase C. On the other hand, atypical (a)PKCs (including protein kinase $\text{M}\zeta$ and ν/λ isoforms) require neither Ca^{2+} nor diacylglycerol for activation. The term "protein kinase C" usually refers to the entire family of isoforms.

Secondary mediators (messengers) –are biomolecules that transfer information from the hormone (primary messenger) to the effector systems of the cell.

Target cells –are cells that have a receptor for the corresponding hormone and that specifically interact with them through specific receptor proteins.

The insulin receptor –it is tetramer consisting of four subunits of two types and is designed as $\alpha_2\beta_2$. Alpha-subunits contain insulin binding site. Beta-subunits contain domains with tyrosine kinase activity to phosphorylate proteins in the tyrosine -OH groups.

The target tissue –is a tissue in which the hormone causes a specific biochemical (physiological) reaction.

Transducer proteins (G proteins or N proteins) – are intra-membrane proteins that receive a chemical signal from a receptor modified by interaction with a hormone or mediator and cause changes in the functional activity of cell effector systems across secondary messengers mostly.

Tyrosine kinase –is an enzyme of a subclass of protein kinases, a group of kinases (phosphotransferase). Tyrosine kinases catalyze the transfer of phosphate residue from ATP to the tyrosine residue of specific target cell proteins. Tyrosine kinases are one of the most important links in the cell signaling system. In addition to its need for healthy cells, this enzyme also promotes tumor growth.

Глосарій

Аденілатциклаза – ключовий фермент аденілатциклазної системи, який містить 12 трансмембранних доменів. Він каталізує розщеплення АТФ на цАМФ та пірофосфату.

Ампліфікація – процес утворення додаткових копій ділянок хромосомної ДНК, які містять певні гени або сегменти структурного гетерохроматину. Ампліфікація може бути відповіддю клітин на селективну дію деяких ліків (наприклад, при дії метотрексату). Ампліфікація – один з механізмів активації онкогенів в процесі розвитку пухлини, наприклад, онкогена N-мус при розвитку нейробластоми.

Білки-трансдуктори (G-білки або N-білки) – внутрішньомембранні білки, які сприймають хімічний сигнал від гормон-рецепторного комплексу, та спричиняють зміни функціональної активності ферментативних систем клітини крізь вплив на них вторинних месенджерів.

Вторинні посередники (месенджери) – біомолекули, що передають інформацію від гормону (первинного месенджера) на ефекторні системи клітини.

Гуанілатциклаза. Відомі два основні класи гуанілатциклази (GC): мембранно пов'язана та розчинна. Мембранозв'язані форми GC-A, GC-B і GC-C) містять позаклітинні домени рецепторів, які розпізнають специфічні пептидні ліганди: передсердний натрійуретичний фактор (ANF) та споріднені пептиди: GC-A зв'язує ANF та натрійуретичний пептид мозку (BNP) та GC-B пов'язує натрійуретичний пептид С-типу (CNP). GC-C пов'язує ендогенний пептид гуанілін, а також термостійкий бактеріальний ентеротоксин (STa). Мембранозв'язані GC-A, GC-B і GC-C містять внутрішньоклітинний домен, подібний до кінази, який зв'язує АТФ та каталітичний домен, який синтезує cGMP з GTP. Розчинні форми містять лише каталітичні домени, субодиниці α і β і активуються оксидом азоту (NO). Каталітична активність розчинної гуанілатциклази залежить від наявності як α , так і β субодиниць. Первинні месенджери призводять до активації синтезу NO за рахунок підвищення клітинного рівня Ca^{2+} , що в поєднанні з кальмодуліном активує NO-синтазу.

Первинні месенджери збільшують клітинний рівень Ca^{2+} у більшості випадків за рахунок деполяризації нейронних мембран і тим самим активують Ca^{2+} -канали та збільшують потік Ca^{2+} в клітину за допомогою нервових імпульсів, глутамату, ацетилхоліну або субстанції Р. У деяких випадках Ca^{2+} може потрапляти в клітину безпосередньо через іонні канали які пов'язані функцією з рецепторів NMDA для глутамату. Первинні месенджери також можуть регулювати клітинний Ca^{2+} , стимулюючи вивільнення Ca^{2+} з внутрішньоклітинних сховищ.

Гормони – це біологічно активні речовини, що виробляються спеціалізованими клітинами залоз внутрішньої секреції, поступають у кров або лімфу, регулюють обмін речовин і фізіологічні функції організму.

ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота)– макромолекула, що забезпечує зберігання, передачу з покоління в покоління і реалізацію генетичної програми розвитку і функціонування живих організмів. Молекула ДНК зберігає біологічну інформацію у вигляді генетичного коду, що складається з послідовності нуклеотидів. ДНК містить інформацію про структуру різних видів РНК і білків.

Інсуліновий рецептор –це тетрамер, що складається з чотирьох субодиниць двох типів і наведений як $\alpha_2\beta_2$. Альфа-субодиниці містять сайт зв'язування інсуліну. Бета-субодиниці містять домени з тирозинкіназною активністю до фосфорилування білків у групах -ОН тирозинових залишків.

Іонотропні рецептори – це мембранні рецепторні білки, які реагують на зв'язування ліганду (гормону, або нейромедіатору), відкриваючи іонний канал і дозволяючи іонам надходити в клітину, збільшуючи, або зменшуючи ймовірність формування потенціалу дії.

Клітини-мішені – це клітини, які мають білки-рецептори до відповідних гормонів та специфічно взаємодіють з ними.

Лейкемія– онкологічне злоякісне захворювання клітин крові, що уражає кістковий мозок та інші кровотворні органи як людей, так і тварин. Основною ознакою лейкемії є велика пропорція лейкоцитів, що дегенерували і втратили захисні функції нормальних лейкоцитів. Вони знищують здорові клітини, після

чого організм стає беззахисним перед будь-якою інфекцією. Лікування проводиться за допомогою опромінення і цитотоксичних препаратів для придушення розмноження клітин, що дегенерували, або трансплантацією кісткового мозку. Синонімом поняття лейкемія вважають поняття лейкоз.

Метаботропний рецептор - це тип мембранного рецептора еукаріотичних клітин, який поєднується з функцією G-білків утворювати деякі вторинні месенджери. Він може розташовуватися на поверхні клітини або у клітинних везикулах.

Онкоген – ген, продукт експресії якого може стимулювати утворення злоякісної пухлини. Мутації, що викликають активацію онкогенів, підвищують шанс того, що клітка перетвориться в ракову клітину. Вважається, що гени-супресори пухлин оберігають клітини від ракового переродження, і, таким чином, рак виникає або в разі порушення роботи генів-супресорів пухлин, або при появі онкогенів.

Протеїнкіназа C – сімейство протеїнкіназ, ферментів, які здійснюють фосфорилування амінокислотних залишків серину та треоніну в молекулах білків, і, таким чином, беруть участь у сигнальних каскадах клітин. Протеїнкінази C активуються такими сигналами, як зростання концентрації диацилгліцеролу або іонів кальцію (Ca^{2+}). Відомо більше 10-ти ізоформ протеїнкінази C. Їх підрозділяють на три підгрупи за типом активації: класичні протеїнкінази C – для активації потрібні диацилгліцерол, іони кальцію і фосфоліпід фосфатидилсерин; нові протеїнкінази C – для активації потрібні диацилгліцерол, але не потрібні іони Ca^{2+} ; атипові протеїнкінази C – потрібен фосфатидилсерин, але не потрібні ні диацилгліцерол, ні іони кальцію.

Рецептор – це одна або група білкових молекул (глікопротеїнів), які є специфічними стосовно контакту до відповідного гормону.

ДНК секвенування – метод визначення послідовності нуклеотидів у ланцюгу ДНК. Він використовується для дослідження послідовностей генів і занесення цієї інформації до банку даних та її подальшої інтерпретації методами біологічної інформатики.

Стенокардія– це клінічний синдром, що характеризується болем у грудній клітці внаслідок ішемії міокарда, викликаного зазвичай фізичним навантаженням або стресом (біль, однак, може також виникати спонтанно) і не бути пов'язаною з некрозом кардіоміоцитів. Стенокардія є наслідком недостатнього постачання кисню у міокард відносно потреби.

Тирозинкіназа– фермент підкласу протеїнкіназ, групи фосфотрансфераз. Тирозинкінази каталізують перенесення фосфатного залишку від АТФ на тирозиновий залишок специфічних клітинних білків-мішеней. Дія тирозинкіназ – одне з найважливіших ланок у системі передачі сигналів в клітині.

Тканина-мішень – це така тканина, в якій гормон викликає специфічну біохімічну (фізіологічну) реакцію.

Фосфоліпаза С (PLC)– фермент, який залучений у інозитолфосфатний (фосфоінозитидний) сигнальний каскад. Він каталізує реакцію гідролізу мінорного структурного мембранного фосфоліпиду фосфатидилінозитол-4,5-дифосфату. У цій реакції утворюються два із трьох вторинних месенджерів даного каскаду – інозитол-1,4,5-трифосфат та диацилгліцерол.

Фосфатидилінозитол-3-кіназа (PI-3, фосфоінозитид-3-кіназа)– фермент, який каталізує перенесення фосфатної групи з молекули аденозинтрифосфату на 3D-положення інозитольного кільця фосфатидилінозитулу. Утворені в результаті ліпідні продукти, найважливішим з яких є фосфатидилінозитол-3,4,5-трифосфат (PIP₃), він є вторинним посередником і забезпечує передачу сигналу від мембрани всередину клітини. Виділяють три класи (I, II і III) фосфатидилінозитол-3-кіназ, які розрізняються за субстратною специфічністю і продуктами. Найбільш добре вивчені PI-3-кінази I класу, вони представляють собою гетеродимери регуляторних і каталітичних субодиниць. Ці ферменти можуть активуватися рецепторами, асоційованими з G-білками, і рецепторними тирозинкіназами. Регуляторні субодиниці фосфоінозитидів-3-кіназ містять SH₂-домени, які дозволяють їм дізнаватися і пов'язувати залишки фосфотирозину рецепторних тирозинкіназ. В результаті ці кінази виявляються в безпосередній

близькості від мембрани, а значить і своїх субстратів, так починається синтез фосфатидилінозитол-3,4,5-фосфату.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. нац. підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський [та ін.] ; за ред.: Ю. І. Губського, І. В. Ніженковської ; рец.: Л. І. Остапченко, О. Г. Резніков, В. О. Калібабчук. - 3-є вид. - Київ : Медицина, 2021. - 544 с.
2. Біологічна хімія: нац. підруч. для студ. вищ. мед. освіти / Ю. І. Губський [та ін.] ; за ред.: І. В. Ніженковської ; рец.: М. М. Великий, Н. В. Заїчко. - Вінниця : Нова книга, 2021. - 648 с.
3. Скоробогатова, З. М. Біохімія. Короткий курс : навч. посіб. Ч. 1 / З. М. Скоробогатова, М. А. Сташкевич, А. Г. Матвієнко ; рец.: М. М. Великий, К. С. Непорада ; НАН України, Ін-т фізико-орган. хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка. - Київ : Біокомпозит, 2019. - 148 с.
4. Скоробогатова, З. М. Біохімія. Короткий курс : навч. посіб. Ч. 2 / З. М. Скоробогатова, М. А. Сташкевич, А. Г. Матвієнко ; рец.: М. М. Великий, К. С. Непорада ; НАН України, Ін-т фізико-орган. хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка. - Київ : Біокомпозит, 2021. - 148 с.
5. Biological and bioorganic chemistry : national textbook : in 2 books. Book 2. Biological chemistry / Yu. I. Gubsky [et al.] ; ed. by: Yu. I. Gubsky, I. V. Nizhenkovska. - 2nd ed. - Kyiv : AUS Medicine Publishing, 2021. - 544 p.
6. Skorobogatova, Z. M. Biochemistry. Short course : study guide. Pt. 2 / Z. M. Skorobogatova ; ed. by of the English version: O. V. Matviyenko ; reviewed by.: A. L. Zagaiko, D. A. Novikov. - Kyiv : Biocomposite, 2019. - 127 p.

Додаткова

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : базовий підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. Кн. 1. Біоорганічна хімія / Б. С. Зіменковський [та ін.] ; за ред.: Б.С Зіменковського, І. В. Ніженковської ; рец.: В. П. Новіков, В. П. Черних, В. О. Калібабчук. - 2-ге вид., випр. - Київ : Медицина, 2017. - 272 с.
2. Біохімія : підруч. для студ. фармац. спец. / А. Л. Загайко [та ін.] ; за ред.: А. Л. Загайка, К. В. Александрової ; МОЗ України. - Харків : Форт, 2014. - 728 с.
4. Скоробогатова, З. М. Атлас метаболічних шляхів : навч. посіб. / З. М. Скоробогатова ; рец.: А. Ф. Попов, К. С. Непорада ; НАН України, Ін-т фіз.-орган. хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка. - Київ : Біокомпозит, 2017. - 76 с.
5. Biological and bioorganic chemistry : national textbook : in 2 books. Book 1. Bioorganic chemistry / B. S. Zimenkovsky [et al.] ; ed. by.: B. S. Zimenkovsky, I. V. Nizhenkovska ; reviewers: V. P. Chernykh, V. O. Kalibabchuk, V. P. Novikov. - 3rd ed. - Kyiv : AUS Medicine Publishing, 2020. - 288 p.
6. Gubsky, Yu. I. Biological chemistry : textbook for students of medical and pharmaceutical faculties / Yu. I. Gubsky ; ed. by.: Yu. I. Gubsky. - 2nd ed. - Vynnytsya : Nova Knyha, 2018. - 488 p.
7. Skorobogatova, Z. M. Biochemistry. Short course : study guide. Pt. 1 / Z. M. Skorobogatova ; ed. of the English version: O. V. Matviyenko ; reviewed by.: A. L. Zagaiko, D. A. Novikov. - Kyiv : Biocomposite, 2018. - 108 p.

8. Skorobogatova, Z. M. Metabolic pathways atlas : study guide / Z. M. Skorobogatova. - Kyiv : Biocomposite, 2018. - 76 p.
9. USMLE. Step 1. 2018. Biochemistry and Medical Genetics : lecture notes / ed. by.: S. Turco ; contributor: R. Lane, R. M. Harden. - New York : Kaplan Medical USMLE, 2018. - 423 p.

Інформаційні ресурси:

1. Електронний каталог бібліотеки ЗДМФУ. URL : <http://www.library.mphu.edu.ua>
2. Сайт кафедри біологічної хімії ЗДМФУ. URL : <https://biochem.zsmu.zp.ua>
3. Навчальні курси Запорізького державного медичного університету. URL: <https://courses20.zsmu.edu.ua>
4. Канал кафедри біологічної хімії ЗДМФУ на YouTube. URL : <https://www.youtube.com/channel/UCUzG8k3l7BKA61F8LDeomvA/>