Тема 13: «Нуклеопротеїни та нуклеотиди. Метаболізм пуринових нуклеотидів. Патологія пуринового обміну»

1. Актуальність теми. Нуклеотиди – це трьохкомпонентні сполуки, які складаються з азотистої основи, пентози та залишку фосфорної кислоти (нуклеозидмонофосфати). Вільні нуклеотиди, їх ди- та трифосфати також виконують важливі регуляторні функції, контролюють біоенергетику клітин та швидкість метаболічних процесів. Структурними компонентами ДНК та РНК є нуклеотиди пуринового і піримідинового ряду. Біосинтез пуринових нуклеотидів є життєво важливим процесом, оскільки забезпечує утворення нуклеїнових кислот, нуклеотидних коферментів, макроергів (АТФ та ін.), необхідних для реалізації всієї сукупності генетичної інформації в клітині. Ключовими проміжними метаболітами синтезу пуринових нуклеотидів є інозитолмонофосфат (ІМФ). Вільні пуринові нуклеотиди, які утворились при гідролізі нуклеїнових кислот (власних або харчових) і не були використані для біосинтетичних процесів, підлягають катаболізму з утворенням кінцевих продуктів – сечової кислоти (катаболізм пуринів). Посилення катаболізму пуринових нуклеотидів призводить до накопичення сечової кислоти в крові (гіперурикемії), відкладання її солей – уратів в суглобах та нирках, розвитку подагри та сечокам'яної хвороби. При спадковому дефіциті ферменту обміну пуринів гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферази (синдром Леша-Ніхана) виникає важка гіперурикемія, вторинна подагра та психоневрологічні розлади (самоагресія, паралічі). В нормі вміст сечової кислоти в сироватці крові – 0,2-0,3 ммоль/л (у чоловіків – 0,25-0,5 ммоль/л, у жінок – 0,15-0,4 ммоль/л).

2. Загальна мета заняття: знати особливості травлення нуклеопротеїнів та їх структурних компонентів – нуклеїнових кислот, нуклеотидів, нуклеозидів; засвоїти закономірності синтезу та розпаду пуринових нуклеотидів в тканинах, трактувати клініко-біохімічні прояви порушень катаболізму пуринових нуклеотидів.

3. Конкретні цілі: знати

- біологічне значення нуклеотидів та їх похідних;
- шляхи поповнення пулу вільних пуринових нуклеотидів в клітині, механізм реутилізації існуючих пуринових азотистих основ та нуклеозидів;
- механізм синтезу пуринових нуклеотидів de novo, ферменти, проміжні метаболіти, регуляція;
- механізм катаболізму пуринових нуклеотидів, ферменти, кінцеві метаболіти, регуляція та патологія.

4. Література:

Основна:

4.1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. – Книга 2. Біологічна хімія: підручник, 3-є видання (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. – ВСВ «Медицина», 2021. – 544 с.
4.2. Biological and bioorganic chemistry: textbook: in 2 books. Book 2. Biological Chemistry / Gubsky Yu. I., Nezenkovska I.V., Korda M.M. Zaichko N.V. et al.; edited by Yu. I. Gubsky, I.V. Nezenkovska. – Kyiv: AUS Medicine Publishing, 2020. – 544 c.
4.3. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підручник / Губський Ю.І., Ніженковська І.В. та ін. – Київ-Вінниця: Нова Книга, 2021. – 648 с.
4.4. Біохімія людини: підручник, 3-е видання, виправлене та доповнене / за ред. Я.І. Гонського, Т.П. Максимчука – Тернопіль: ТДМУ «Укмедкнига», 2020. – 732 с.
4.5. Лекції, що читаються на кафедрі

Додаткова:

4.6. Скляров О.Я. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Скляров, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2020. – 706 с.
4.7. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л. Загайка, проф. К.В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
4.8. Нельсон Д., Кокс М. Основи біохімії за Ленінджером / пер. з англ.: О. Матишевська, наук. ред. перекладу: С. Комісаренко – Львів: БаК, 2015 – 1256 с.
4.9. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry / Denise R. Ferrier – 6th ed., 2014. – 552 p.
4.10. Harper's Illustrated Biochemistry / V.W. Rodwell, D.A. Bender, K.M. Botham et al. – Mc Graw Hill Education, 2015. – 817 p.
4.11. Textbook of Medical Biochemistry/ Chatterjea M.N., Shinde Rana. – New Delphi: Taypee, 2012. – 876 p.

Інформаційні ресурси

4.12. Електронна адреса сайту університету: http://vnmu.edu.ua
4.13. Електронна адреса сайту бібліотеки університету: http://library.vnmu.edu.ua
4.14. Центр тестування https://www.testcentr.org.ua/uk/

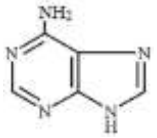
5. Основні питання заняття:

1. Травлення нуклеопротеїнів та всмоктування продуктів їх гідролізу.
2. Біосинтез пуринових нуклеотидів: джерела атомів пуринового ядра, механізм, ферменти, ключові проміжні метаболіти, регуляція (ретроінгібування).
3. Катаболізм пуринових нуклеотидів в тканинах: механізм, ферменти, регуляція.
4. Біохімічна характеристика патології обміну пуринів: гіперурікемія, подагра, синдром Леша-Ніхана, роль інгібіторів ксантиноксидази.

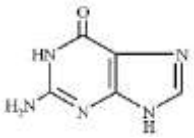
6. Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

6.1. Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

1. Вкажіть назви наведених азотистих основ:

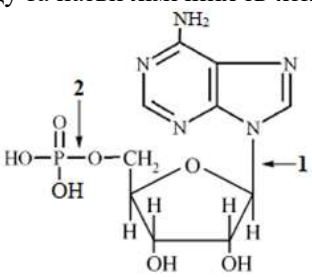


_____



_____

2. Вкажіть назву наведеного нуклеотиду та назви хімічних зв'язків, які позначені цифрами:

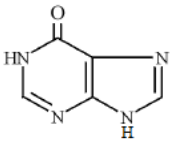


_____

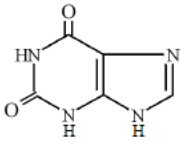
_____

_____

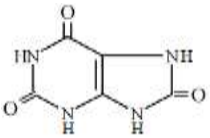
3. Вкажіть назви наведених метаболітів катаболізму пуринових нуклеотидів:



_____



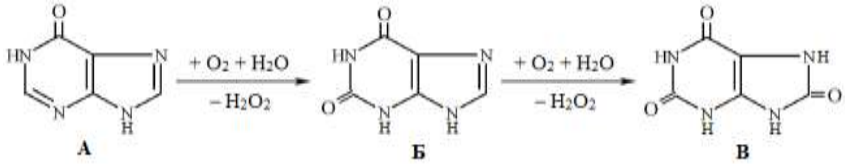
_____



_____

_____

4. На схемі зображено перетворення гіпоксантину на сечову кислоту:



Дайте назви речовинам А, Б, В та вкажіть фермент і кофермент, який каталізує це перетворення.

_____

_____

_____

_____

6.2. Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. Вкажіть фермент, який забезпечує реутилізацію гуаніну та гіпоксантину:
   A. Аденінфосфорибозил-трансфераза
   B. Фосфорибозилпірофосфат-синтетаза
   C. Оротатфосфорибозил-трансфераза

2. Яка амінокислота є джерелом атома N при синтезі пуринових нуклеотидів?
   A. Серин
   B. Лізин
   C. Аспартат
   D. Лейцин
   E. Тирозин

D. Карбамоїлфлсфат-синтетаза
E. Гіпоксантингуанінфосфорибозил-трансфераза

3. З якої сполуки розпочинається синтез пуринових нуклеотидів?
A. Рибозо-5-фосфату
B. Аденозин-5'-монофосфату
C. Гуанозин-5'-монофосфату
D. Інозин-5'-монофосфату
E. Глюкозо-5-фосфату

4. Вкажіть пуриновий нуклеотид, що синтезується de novo першим:
A. АМФ
B. ГМФ
C. ІМФ
D. ЦМФ
E. УМФ

5. Недостатність якого ферменту є причиною синдрому Леша-Ніхана?
A. Аденінфосфорибозил-трансферази
B. Фосфорибозилпірофосфат-синтетази
C. Оротатфосфорибозил-трансферази
D. Карбамоїлфосфат-синтетази
E. Гіпоксантингуанінфосфорибозил-трансферази

6. При синдромі Леша-Ніхана в організмі дітей значно зростає концентрація:
A. Гіпоксантину
B. Аденозину
C. Аденіну
D. Гуаніну
E. Сечової кислоти

7. Вкажіть кінцевий продукт катаболізму пуринових нуклеотидів у людини:
A. Алатоїн
B. Сечова кислота
C. Аміак
D. Сечовина
E. Ксантин

8. Вкажіть конкурентний інгібітор ксантиноксидази:
A. Аденозин
B. Алопуринол
C. Аденін
D. Алантоат
E. Алатоїн

9. Які хвороби виникають на тлі гіперурикемії гіперурикемії?
A. Подагра, жовчнокам'яна хвороба
B. Подагра, сечокам'яна хвороба
C. Синдром Леша-Ніхана, сечокам'яна хвороба
D. Оротатацидурія, подагра
E. Оротатацидурія, сечокам'яна хвороба

10. Вкажіть хворобу, що виникає при відкладанні уратів в суглобах:
A. Бурсит
B. Васкуліт
C. Саркоїдоз
D. Подагра
E. Тендиніт

6.3. Тести для перевірки кінцевого рівня знань та підготовки до ЄДКІ (Крок-1):

1. У синтезі пуринових нуклеотидів беруть участь деякі амінокислоти, похідні вітамінів, фосфорні ефіри рибози. Коферментна форма якого вітаміну є переносником одновуглецевих фрагментів в цьому синтезі?
A. Рибофлавін
B. Нікотинова кислота
C. Пантотенова кислота
D. Фолієва кислота
E. Піридоксин

2. Біосинтез пуринового кільця відбувається на рибозо-5-фосфаті шляхом поступового нарощення атомів азоту і вуглецю та замикання кілець. Джерелом рибозофосфату є наступний процес:
A. Глікогеноліз
B. Гліколіз
C. Глікогенез
D. Глюконеогенез
E. Пентозофосфатний цикл

3. Жінка 40 років звернулась до лікаря зі скаргами на болі в дрібних суглобах ніг і рук. Суглоби збільшені, мають вигляд потовщених вузлів. У сироватці крові виявлено підвищений вміст уратів. Причиною є порушення обміну:
A. Амінокислот
B. Вуглеводів
C. Пуринів

D. Піримідинів
E. Ліпідів

4. На прийом до терапевта прийшов чоловік 37-ми років зі скаргами на періодичні інтенсивні больові напади у суглобах великого пальця стопи та їх припухлість. При аналізі сечі встановлено її різко кислий характер і рожеве забарвлення. З наявністю яких речовин можуть бути пов'язані такі зміни сечі?

A. Амонієвих солей
B. Солей сечової кислоти
C. Сульфату магнію
D. Хлоридів
E. Фосфату кальцію

5. У хворого на подагру виявлено значне підвищення рівня сечової кислоти в крові. Кінцевим продуктом обміну яких речовин є сечова кислота?

A. Пуринових основ
B. Альбумінів
C. Жирних кислот
D. Глобулінів
E. Тригліцеридів

6. У чоловіка 53-х років діагностовано сечокам'яну хворобу з утворенням уратів. Цьому пацієнту призначено алопуринол, який є конкурентним інгібітором ферменту:

A. Уриділтрансферази
B. Ксантиноксидази
C. Дигідроурацилдегідрогенази
D. Уреази
E. Уратоксидази

7. На основі лабораторного аналізу у хворого підтверджено діагноз – подагра. Для встановлення діагнозу було проведено визначення вмісту:

A. Залишкового азоту в крові
B. Сечової кислоти в крові та сечі
C. Креатиніну в сечі
D. Сечовини в крові та сечі
E. Аміаку в сечі

8. Після обстеження хворому на сечокам'яну хворобу призначили алопуринол – конкурентний інгібітор ксантиноксидази. Підставою для цього був хімічний аналіз ниркових каменів, переважною складовою яких є:

A. Моногідрат оксалату кальцію
B. Урат натрію
C. Сульфат кальцію
D. Фосфат кальцію
E. Дигідрат оксалату кальцію

9. Чоловік віком 70 років скаржиться на біль у дрібних суглобах рук і ніг. Суглоби деформовані та болючі. Під час лабораторного дослідження виявлено підвищений рівень солей сечової кислоти в крові та сечі. Порушення обміну яких речовин характеризують ці показники?

A. Калію
B. Нуклеопротеїдів
C. Кальцію
D. Хромопротеїдів
E. Ліпопротеїдів

10. У хворої суглоби збільшені, болючі. У крові пацієнтки підвищений рівень уратів. Як називається така патологія?

A. Подагра
B. Рахіт
C. Пелагра
D. Карієс
E. Цинга

11. У 19-місячної дитини із затримкою розвитку та проявами самоагресії, вміст сечової кислоти в крові – 1,96 ммоль/л. При якому метаболічному порушенні це спостерігається?

A. Хвороба Іценко-Кушинга
B. Подагра
C. Синдром набутого імунодефіциту
D. Синдром Леша-Ніхана

Е. Хвороба Гірке

6.4. Ситуаційні задачі:

1. У процесі синтезу пуринових нуклеотидів de novo беруть участь CO_2, коферментні форми вітаміну B_9, гліцин, глутамін, аспартат та рибозо-5-фосфат.

а) З якої сполуки розпочинається синтез пуринових нуклеотидів?

б) Який пуриновий нуклеотид синтезується першим?

в) Які ще пуринові нуклеотиди утворюються у цьому процесі?

2. У дитини спостерігається важка форма гіперурикемії, що супроводжується появою тофусів, уратних каменів у сечовивідних шляхах, важкими нервово-психічними порушеннями та проявами самоагресії (із нанесенням самому собі пошкоджень).

а) Яке захворювання у дитини?

б) Дефект якого ферменту є причиною цього захворювання?

в) Збільшення вмісту якої речовини в крові викликає гіперурикемію?

3. У пацієнта вміст сечової кислоти в сироватці крові становить 1,55 ммоль/л.

а) Вкажіть нормативні показники вмісту сечової кислоти в сироватці крові чоловіків.

б) Вкажіть нормативні показники вмісту сечової кислоти в сироватці крові жінок.

в) Які хвороби можуть розвинутись при збільшені вмісту сечової кислоти в крові?

4. У хворого в крові підвищений вміст сечової кислоти, що клінічно проявляється больовим синдромом внаслідок відкладення уратів у суглобах.

а) Яка патологія у пацієнта?

б) Посилення катаболізму яких речовин є причиної цієї патології?

в) Який лікарський препарат використовують для лікування цієї патології?

5. Чоловік, який страждає на подагру, скаржиться на біль в ділянці нирок. При ультразвуковому обстеженні встановлена сечокам'яна хвороба (наявність уратних каменів в нирках). Після обстеження призначили алопуринол.

а) Конкурентним інгібітором якого ферменту є алопуринол?

б) Вміст якої речовини знижує в крові чоловіка алопуринол?

в) Активація якого біохімічного процесу може викликати подагру та сечокам'яну хворобу?

Відповіді до задач

_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

7. Лабораторна робота:

Якісна реакція на сечову кислоту. Кількісне визначення сечової кислоти в сечі

1. Якісна реакція на сечову кислоту

Принцип. Сечова кислота володіє відновними властивостями і при нагріванні відновлює $Cu(OH)_2$ до Cu_2O, який випадає в осад.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Кристали сечової кислоти	Додати пучку кристалів
2	10 % розчин NaOH, мл	2
3	1 % розчин $CuSO_4$, краплі	16-20 (до утворення слабкої каламуті $Cu(OH)_2$

Кип’ятити на водяній бані (100 °С) 2-3 хв	
Реєстрація наявності та забарвлення осаду	

2. Кількісне визначення сечової кислоти в сечі

Принцип. Сечова кислота в лужному середовищі відновлює фосфорновольфрамовий реактив (реактив Фоліна) з утворенням оксидів вольфраму (WO_2, nWO_3) синього кольору. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна кількості сечової кислоти в розчині.

Клініко-діагностичне значення. В нормі у людини виділяється від 1,6 до 3,6 ммоль сечової кислоти за добу. Екскреція сечової кислоти значно зростає при подагрі та синдромі Леша-Ніхана (гіперурикурія). При цьому рівень сечової кислоти також є високим в крові (гіперурикемія).

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		Контрольна (мірна)	Дослідна (мірна)
1	Дистильована вода, мл	1,5	-
2	Сеча (розведена в 50 раз), мл	-	1,5
3	Розчин натрій карбонату, мл	0,7	0,7
4	Реактив Фоліна, мл	0,05	0,05
5	Вода, мл	Додають до 10 мл	Додають до 10 мл
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі λ=590 нм, кювета l = 1,0 см проти контролю			
Екстинція, од.о.щ.		-	E =
Кількість сечової кислоти у пробі, мкмоль (знаходять за калібрувальною таблицею)		-	A =

Калібрувальна таблиця для визначення сечової кислоти

Екстинкція	Кількість сечової кислоти в мкмоль	Екстинкція	Кількість сечової кислоти в мкмоль
0,01	0,012	0,07	0,143
0,02	0,024	0,08	0,167
0,03	0,048	0,09	0,190
0,04	0,071	0,10	0,211
0,05	0,095	0,12	0,238

Розрахунок добової екскреції сечової кислоти (Х) проводять за формулою:

$$X = \frac{A \bullet b \bullet B}{1{,}5 \bullet 1000} = \text{_____} = \text{ммоль/добу}$$

Х – добова екскреція сечової кислоти, ммоль/добу;
А – кількість сечової кислоти в пробі в мкмоль, що знайдена за калібрувальною таблицею;
b – розведення сечі (в даному випадку в 50 разів);
В – кількість сечі в мл, виділеної за добу;
1,5 – кількість розведеної сечі, що взята для дослідження, мл;
1000 – коефіцієнт перерахунку мкмоль в ммоль.

Висновок:_____

_____

_____

Дата: «_____»_____ 20 р. Підпис викладача:

Тема 13а: «Метаболізм піримідинових нуклеотидів. Ензимопатії. Синтез дезоксирибонуклеотидів. Протипухлинні засоби»

1. Актуальність теми. Біосинтез піримідинових нуклеотидів є життєво важливим процесом, оскільки забезпечує утворення нуклеїнових кислот, нуклеотидних коферментів, макроергів (ГТФ та ін.), необхідних для реалізації всієї сукупності генетичної інформації в клітині. Ключовим проміжнимм метаболітом синтезу піримідинових нуклеотидів є оротова кислота. Спадкові ензимопатії синтезу піримідинових нуклеотидів проявляються накопиченням оротової кислоти в крові та сечі (оротатацидурія) і ведуть до розвитку важкої мегалобластної анемії. Інгібітори синтезу

дезоксирибонуклеотидів нуклеотидів є потужними протипухлинними засобами. Вільні піримідинові нуклеотиди, які утворились при гідролізі нуклеїнових кислот (власних або харчових) і не були використані для біосинтетичних процесів, підлягають катаболізму з утворенням кінцевих продуктів – аміаку, β-аланіну та β-аміноізобутирату (катаболізм піримідинів).

2. Загальна мета заняття: засвоїти закономірності синтезу та розпаду піримідинових нуклеотидів і дезоксирибонуклеотидів в тканинах, трактувати клініко-біохімічні прояви порушень синтезу піримідинових нуклеотидів.

3. Конкретні цілі: знати

- шляхи поповнення пулу вільних піримідинових нуклеотидів в клітині, механізм реутилізації готових піримідинових азотистих основ та нуклеозидів;
- механізм синтезу піримідинових нуклеотидів de novo, ферменти, головні інтермедіати, регуляція та патологія;
- механізм синтезу дезоксирибонуклеотидів, ферменти та кофактори;
- механізм катаболізму піримідинових нуклеотидів, ферменти, кінцеві метаболіти та регуляція;

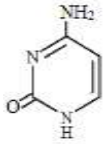
5. Основні питання заняття:

1. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: джерела атомів піримідинового ядра, механізм, ферменти, ключові проміжні метаболіти, регуляція, патологія (оротатацидурія).
2. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Інгібітори синтезу дТМФ як протипухлинні засоби (структурні аналоги дТМФ, похідні птерину).
3. Катаболізм піримідинових нуклеотидів в тканинах: механізм, ферменти, регуляція.

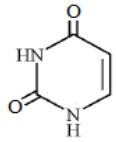
6. Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

6.1. Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

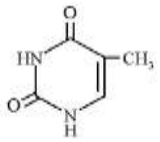
1. Вкажіть назви наведених азотистих основ:



_____

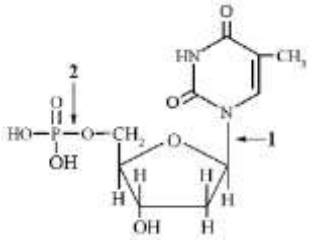


_____



_____

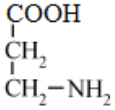
2. Вкажіть назву наведеного нуклеотиду та назви хімічних зв'язків, які позначені цифрами:



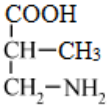
_____

_____

3. Вкажіть назви наведених метаболітів катаболізму піримідинових нуклеотидів:



_____



_____

6.2. Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. З утворення якої сполуки розпочинається синтез піримідинових нуклеотидів?
   A. Карбамоїласпартату
   B. Дигідрооротату
   C. Уреїдосукцинату
   D. Карбамоїлфосфату

2. Яка амінокислота є джерелом атома N при синтезі піримідинових нуклеотидів?
   A. Серин
   B. Лізин
   C. Аспартат
   D. Лейцин

E. Оротату

3. Де в клітині відбувається синтез піримідинових нуклеотидів de novo?
A. Цитоплазма
B. Мітохондрії
C. Рибосоми
D. Мікросоми
E. Лізосоми

4. Вкажіть піримідиновий нуклеотид, що синтезується de novo першим:
A. ЦМФ
B. АМФ
C. ТМФ
D. ІМФ
E. УМФ

5. З недостатністю якого ферменту пов'язана оротатацидурія?
A. Карбамоїлфосфатсинтетаза II
B. Аспартаткарбамоїлтрансфераза
C. Дигідрооротаза
D. Дигідрооротатдегідрогеназа
E. Оротидинмонофосфатдекарбоксилаза

6. Який метаболіт використовують при лікуванні оротатацидурії?
A. Аденозин
B. Оротидин
C. Гуанозин
D. Уридин
E. Інозин

7. Вкажіть кінцеві продукти катаболізму піримідинових нуклеотидів у людини:
A. β-лейцин, β-аланін, CO та NO
B. α-аланін, α-ізолейцин, CO_2 та NH_3
C. β-амінoізобутират, β-аланін, CO_2 та NH_3
D. α-валін, β-ізолейцин, CO та NO
E. β-ізолейцин, β-аланін, CO_2 та NH_3

8. Вкажіть фермент, який каталізує відновлення рибози до дезоксирибози в процесі синтезу дезоксирибонуклеотидів:
A. Тимідилатсинтетаза
B. Рибонуклеотидредуктаза
C. Дигідрооротаза
D. Тіоредоксинредуктаза
E. Дигідрофолатредуктаза

9. Яка речовина є структурним аналогом дТМФ, тому використовується як інгібітор тимідилатсинтетази?
A. 5-фтораденін
B. 5-фторурацил
C. 5-фторцитозин
D. 5-фторгуанін
E. 5-фтороротидин

10. Який низькомолекулярний білок забезпечує відновлення рибози до дезоксирибози в процесі синтезу дезоксирибонуклеотидів?
A. Тіоредоксин
B. Карнозин
C. Глутатіон
D. Ансерин
E. Альбумін

6.3. Тести для перевірки кінцевого рівня знань та підготовки до ЄДКІ (Крок-1):

1. У гематологічному відділенні хворому на лейкоз лікар-онколог призначив 5-фторурацил. Який механізм дії цього препарату?
A. Прискорює реплікацію
B. Інгібує трансляцію
C. Інгібує транскрипцію
D. Інгібує синтез ДНК
E. Стимулює ДНК-азу

2. Чоловікові 58-ми років зроблено операцію з приводу раку простати. Через 3 місяці йому проведено курс променевої та хіміотерапії. До комплексу лікарських препаратів входив 5-фтордезоксиуридин – інгібітор тимідилатсинтетази. Синтез якої сполуки блокується цим препаратом?
A. ДНК
B. і-РНК
C. р-РНК
D. т-РНК
E. м-РНК

3. При спадковій оратацидурії виділення оротової кислоти в багато разів перевищує норму. Синтез яких речовин буде порушений при цій патології?
A. Біогенні аміни
B. Пуринові нуклеотиди
C. Сечова кислота
D. Піримідинові нуклеотиди
E. Сечовина

4. Для нормального перебігу процесу реплікації потрібні тимідилові нуклеотиди, синтез яких відбувається за участю тимідилатсинтетази, в якості коферменту використовується:
A. Піридоксальфосфат
B. Тіаміндифосфат
C. Карбоксибіотин

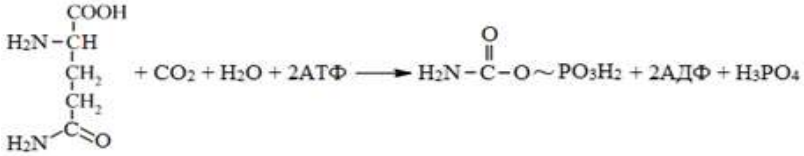
D. Нікотинамідаденіндинуклеотид
E. Метилентетрагідрофолат

5. У пацієнта встановлено гіповітаміноз фолієвої кислоти, що може призвести до порушення синтезу:
A. Пуринових нуклеотидів та холестерину
B. Цитрату та кетонових тіл
C. Тимідилових нуклеотидів та жирних кислот
D. Пуринових та тимідилових нуклеотидів
E. Гема та креатину

6. У хворого відмічається м'язова слабкість та біль в м'язах, що обумовлено порушенням утворення карнозину та ансерину із амінокислоти β-аланіну. В організмі людини утворення вказаної амінокислоти відбувається в процесі катаболізму:
A. ІМФ
B. ГМФ
C. АМФ
D. УМФ
E. цАМФ

6.4. Ситуаційні задачі:

1. На схемі зображену лімітуючу реакцію процесу синтезу піримідинових нуклеотидів de novo, що проходить в цитоплазмі гепатоцитів:



а) Вкажіть фермент, який каталізує цю реакцію.
б) Який продукт цієї реакції використовується для синтезу піримідинових нуклеотидів de novo?
в) Який піримідиновий нуклеотид утворюється в процесі синтезу в реакції декарбоксилування ОМФ?

2. Синтез дезоксирибонуклеотидів відбувається із дифосфатнуклеозидів шляхом відновлення рибози до дезоксирибози.
а) Який фермент каталізує відновлення рибози до дезоксирибози?
б) Який низькомолекулярний білок, що містить дві –SH групи, забезпечує відщеплення атома О від –ОН групи розташованої біля другого атома С рибози?
в) Який фермент та кофермент каталізують відновлення окисненого низькомолекулярного білка?

3. У дитини спостерігається затримка фізичного та психічного розвитку, мегалобластна анемія, лейкопенія, імунодефіцит. У сечі підвищений вміст оротової кислоти. Поставлено діагноз оротатацидурія.
а) Дефект яких ферментів є причиною оротатацидурії?
б) Порушення якого біохімічного процесу є причиною оротатацидурії?
в) Який метаболіт використовують при лікуванні оротатацидурії?

4. Для хіміотерапії злоякісної пухлини легень, лікар-онколог призначив пацієнту 5-фторурацил.
а) Конкурентним інгібітором якого ферменту є 5-фторурацил?
б) Структурним аналогом якого нуклеотиду є 5-фторурацил?
в) Біосинтез якого полімеру пригнічується у клітинах при використанні 5-фторурацилу?

5. У пацієнта відмічається зменшення амплітуди м'язових скорочень та біль в м'язах, що обумовлено порушенням утворення карнозину та ансерину із амінокислоти β-аланіну.
а) В процесі катаболізму яких речовин в організмі людини утворюється β-аланін?
б) Які ще сполуки є кінцевими продуктами катаболізму цих речовин?
в) Збільшення екскреції з сечею якої амінокислоти вказує на посилення катаболізму цих речовин?

Відповіді до задач

7. Лабораторна робота:

Якісний аналіз нуклеопротеїнів дріжджів

Принцип. Якісний аналіз нуклеопротеїнів заснований на визначенні речовин, що входять до їх складу і вивільняються при гідролізі. Компоненти нуклеопротеїнів відкривають такими якісними реакціями: 1) поліпептиди - біуретовою реакцією, 2) пуринові основи - за утворенням осаду солей аргентуму, 3) фосфатну кислоту - за реакцією з амоній молібдатом, 4) пентозу – за реакцією Фелінга.

Схема повного гідролізу нуклеопротеїнів:



Хід роботи:

1 етап. Приготування гідролізату дріжджів (виконують лаборанти). 1 г дріжджів поміщають у плоскодонну колбу на 100 мл, додають 20 мл 10 % розчину сульфатної кислоти та 20 мл дистильованої води. Колбу закривають корком з довгою трубкою, кип'ятять протягом 1 години у витяжній шафі. Потім колбу охолоджують, вміст переносять в мірний циліндр, доводять до 100 мл дистильованою водою, фільтрують для видалення осаду. Для дослідження використовують фільтрат гідролізату дріжджів.

2 етап - виконують студенти *(алгоритм наведений в таблиці):*

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1. Виявлення розчинних пептидів біуретовою реакцією		
1	Гідролізат дріжджів, мл	1
2	10 % розчин NaOH, краплі	5
3	1 % розчин $CuSO_4$, краплі	1-2
Реєстрація забарвлення		
2. Срібна проба на пуринові основи		
1	Гідролізат дріжджів, краплі	5
2	2 % аміачний розчин аргентум нітрату, краплі	5
Реєстрація наявності осаду через 3-5 хв		
3. Проба Фелінга на рибозу чи дезоксирибозу		
1	Гідролізат дріжджів, краплі	5
2	7 % розчин $CuSO_4$, краплі	5
3	Лужний розчин калій, натрій тартрат, краплі	10
Перемішати, кип'ятити на водяній бані (100 °С) 2-3 хв		
Реєстрація наявності осаду		
4. Молібденова проба на фосфатну кислоту		
1	Гідролізат дріжджів, краплі	5
2	Молібденовий реактив, краплі	10
Вміст пробірки кип'ятити на водяній бані (100 °С) 2-3 хв. Охолодити		
Реєстрація наявності осаду		

Висновок: _____

_____

_____

Дата: «_____» _____ 20 р. Підпис викладача:

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ

Тема 14: «Реплікація. Транскрипція. Інгібітори матричних синтезів»

1. Актуальність теми: Нуклеопротеїни – це складні білки, небілковою частиною яких є нуклеїнові кислоти. Нуклеїнові кислоти – це біополімери, мономерами яких є мононуклеотиди. Нуклеопротеїни є основою спадкового апарату клітин – хромосом, що забезпечують збереження та передачу генетичної інформації завдяки нуклеїновим кислотами (ДНК та РНК). З ними пов'язані поділ, мінливість та формування спадкових ознак організму. Унікальна роль ДНК та РНК в організмі тісно пов'язана з особливостями їх будови. Структура двохспіральної молекули ДНК була відкрита у 1953 році Д.Уотсоном та Ф. Кріком. Передумовами для цього відкриття стали правила комплементарності азотистих основ Чаргаффа. Для всіх живих організмів властива біохімічна індивідуальність, що визначається генетично запрограмованим специфічним набором притаманних тільки йому білкових молекул. Першим етапом передачі генетичної інформації є процес реплікації – подвоєння молекули ДНК, який забезпечує рівномірний розподіл спадкової інформації серед дочірніх клітин під час мітозу. Знання механізмів реплікації є важливим для розуміння причин порушень поділу клітин і механізмів дії лікарських засобів, що впливають на розмноження клітин. Транскрипція (синтез РНК на матриці ДНК) є проміжним етапом в реалізації генетичної інформації і першим етапом біосинтезу білка. Проходить в ядрі клітин в будь-який період клітинного циклу. В процесі транскрипції утворюються всі види РНК, але головним вважають синтез мРНК (іРНК) – носіїв інформації про послідовність амінокислот в білках. Цей етап регулюється різними факторами, які визначають активність процесів біосинтезу білків в клітинах в цілому. Важливим етапом транскрипції є процесінг, який забезпечує утворення функціонально «зрілих» молекул мРНК, які в подальшому слугують матрицями для утворення білків на рибосомах. Знання молекулярного механізму транскрипції потрібне для розуміння регуляції біосинтезу білка в клітинах, дії різних токсинів, антибіотиків та протипухлинних препаратів.

2. Загальна мета заняття: засвоїти будову, біологічне значення нуклеопротеїнів та їх структурних компонентів, механізм реплікації, молекулярні механізми та біологічне значення транскрипції та процесінгу; трактувати дію інгібіторів реплікації та транскрипції.

***3. Конкретні цілі*:** знати

- будову нуклеопротеїнів та їх структурних компонентів;
- сутність правил комплементарності Чаргаффа;
- рівні структурної організації ДНК;
- біологічне значення нуклеопротеїнів, нуклеїнових кислот, нуклеотидів та їх похідних;
- визначення, біологічне значення, механізм, етапи та фактори реплікації;
- сутність експерименту М.Мезельсона та Ф.Сталя;
- механізми дії інгібіторів реплікації;
- визначення, біологічну роль, механізм, етапи і фактори транскрипції;
- механізм та біологічне значення процесінгу;
- дію інгібіторів транскрипції.

4. Література:

Основна:

4.1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. – Книга 2. Біологічна хімія: підручник, 3-є видання (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. – ВСВ «Медицина», 2021. – 544 с.
4.2. Biological and bioorganic chemistry: textbook: in 2 books. Book 2. Biological Chemistry / Gubsky Yu. I., Nezenkovska I.V., Korda M.M. … Zaichko N.V. et al.; edited by Yu. I. Gubsky, I.V. Nezenkovska. – Kyiv: AUS Medicine Publishing, 2020. – 544 c.
4.3. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підручник / Губський Ю.І., Ніженковська І.В. та ін. – Київ-Вінниця: Нова Книга, 2021. – 648 с.
4.4. Біохімія людини: підручник, 3-е видання, виправлене та доповнене / за ред. Я.І. Гонського, Т.П. Максимчука – Тернопіль: ТДМУ «Укмедкнига», 2020. – 732 с.
4.5. Лекції, що читаються на кафедрі

Додаткова:

4.6. Скляров О.Я. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Скляров, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2020. – 706 с.
4.7. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л. Загайка, проф. К.В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.

4.8. Нельсон Д., Кокс М. Основи біохімії за Ленінджером / пер. з англ.: О. Матишевська, наук. ред. перекладу: С. Комісаренко – Львів: БаК, 2015 – 1256 с.
4.9. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry / Denise R. Ferrier – 6th ed., 2014. – 552 p.
4.10. Harper's Illustrated Biochemistry / V.W. Rodwell, D.A. Bender, K.M. Botham et al. – Mc Graw Hill Education, 2015. – 817 p.
4.11. Textbook of Medical Biochemistry/ Chatterjea M.N., Shinde Rana. – New Delphi: Taypee, 2012. – 876 p.

Інформаційні ресурси

4.12. Електронна адреса сайту університету: http://vnmu.edu.ua
4.13. Електронна адреса сайту бібліотеки університету: http://library.vnmu.edu.ua
4.14. Центр тестування https://www.testcentr.org.ua/uk/

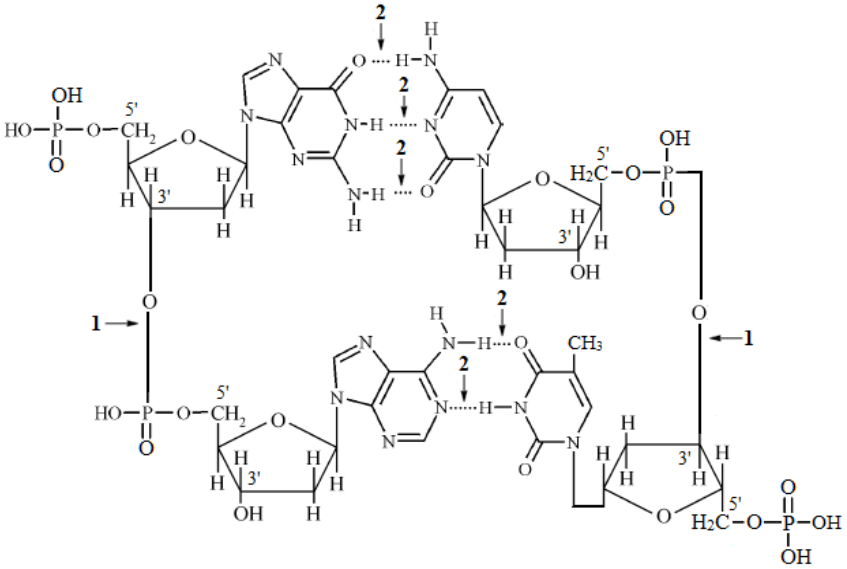
5. Основні питання теми:

1. Нуклеїнові кислоти: визначення, види, біологічне значення. Рівні структурної організації ДНК, правила Чаргаффа, модель Уотсона та Кріка.
2. Особливості будови та функцій різних видів РНК.
3. Реплікація ДНК: визначення, загальні закономірності, біологічне значення. Ферменти і фактори реплікації.
4. Етапи реплікації. Утворення реплікативної вилки, «точки ori», механізм синтезу антипаралельних ланцюгів ДНК, фрагменти Оказакі. Інгібітори реплікації.
5. Фактори та ферменти транскрипції. Характеристика РНК-полімерази прокаріот та еукаріот. Сигнали транскрипції – промотори та паліндроми.
6. Механізм та етапи транскрипції.
7. Посттранскрипційна модифікація РНК (процесинг). Особливості транскрипції у еукаріот.
8. Інгібітори транскрипції: токсини, антибіотики, протипухлинні алкалоїди.

6. Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

6.1. Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

1. На схемі зображено динуклеотидний фрагмент ДНК:



З яких нуклеотидів складається 3'→5' ланцюг фрагмента ДНК?

_____

З яких нуклеотидів складається 5'→3' ланцюг фрагмента ДНК?

_____

Якими зв'язками з'єднуються нуклеотиди в ланцюгах ДНК (цифра 1)?

_____

Якими зв'язками з'єднуються ланцюги ДНК (цифра 2)?

_____

2. Фрагмент молекули ДНК містить 22 % тимідилових нуклеотидів. Визначте (у відсотках) вміст інших нуклеотидів у наведеному фрагменті молекули ДНК.

3. Дослідження показали, що в і-РНК міститься 34 % гуаніну, 18 % урацилу, 28 % цитозину, 20 % аденіну. Визначте відсотковий склад азотистих основ у кодуючому та матричному ланцюгах структурного гена ДНК, з якого відбулась транскрипція і-РНК.

6.2. Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. Нуклеїнові кислоти (ДНК та РНК) – це біополімери, мономерами яких є:
   A. Амінокислоти
   B. Моносахариди
   C. Гліцерол
   D. Мононуклеотиди
   E. Холестерол

2. Як називається матричний процес, що забезпечує синтез ДНК на матриці ДНК?
   A. Реплікація
   B. Репарація
   C. Транслокація
   D. Трансляція
   E. Транскрипція

3. Назвіть фермент, який беруть участь у реплікації, відщеплює праймер і заповнює пустоти заново синтезованими дезоксирибонуклеотидами?
   A. ДНК-полімераза α
   B. ДНК-полімераза β
   C. ДНК-полімераза γ
   D. ДНК-полімераза δ
   E. ДНК-полімераза σ

4. Хворому для лікування онкопатології призначено протипухлинний антибіотик афідиколін. Активність яких ферментів при цьому пригнічується?
   A. ДНК-полімерази α, δ, γ
   B. ДНК-полімерази α, β, γ
   C. ДНК-полімерази α, β, δ
   D. ДНК-полімерази β, δ, γ
   E. ДНК-полімерази α, δ, ε

5. Як називається матричний процес, що забезпечує синтез РНК на матриці ДНК?
   A. Реплікація
   B. Репарація
   C. Транслокація
   D. Трансляція
   E. Транскрипція

6. Як називається елементарна структурна одиниця транскрипції?
   A. Промотор
   B. Транскриптон
   C. Оператор
   D. Термінатор
   E. ТАТА-сайт

7. Особливістю первинної структури усіх молекул мРНК еукаріотів та деяких вірусів є наявність на 5'-кінці ділянки кепу, яка представлена:
   A. 1-метиладенозином
   B. 2-метилцитозином
   C. 3-метилурацилом
   D. 5-метилтимідином
   E. 7-метилгуанозином

8. Особливістю первинної структури молекул мРНК еукаріотів є наявність на 3'-кінці послідовностей 20-250 нуклеотидів:
   A. Полі (А)
   B. Полі (Г)
   C. Полі (Т)
   D. Полі (Ц)
   E. Полі (У)

9. Яку стадію транскрипції інгібують алкалоїди вінкристин та вінбластин?
   A. Активацію
   B. Ініціацію
   C. Елонгацію
   D. Термінацію
   E. Процесинг

10. Отрута блідої поганки – α-аманітин інгібує РНК-полімеразу II. Яка РНК не синтезується в еукаріотичній клітині?
   A. Пре-рРНК
   B. Пре-тРНК
   C. Пре-іРНК
   D. Пре-мяРНК
   E. Пре-гяРНК

6.3. Тести для перевірки кінцевого рівня знань та підготовки до ЄДКІ (Крок-1):

1. Під час реплікації ДНК один із її ланцюгів синтезується із запізненням. Що визначає дану особливість синтезу?
A. Компліментарність ланцюгів
B. Необхідність репарації
C. Антипаралельність ланцюгів
D. Відсутність трифосфонуклеотидів
E. Великі розмірами ДНК-полімерази

2. Прокаріотичні та еукаріотичні клітини характеризуються здатністю до поділу. Поділ прокаріотичних клітин відрізняється від поділу еукаріотичних, але існує молекулярний процес, який лежить в основі цих поділів. Який це процес?
A. Транскрипція
B. Трансляція
C. Ампліфікація генів
D. Реплікація ДНК
E. Репарація

3. Для лікування урогенітальних інфекцій використовують хінолони – інгібітори ферменту ДНК-гірази. Який процес порушується під дією хінолонів у першу чергу?
A. Репарація ДНК
B. Рекомбінація генів
C. Ампліфікація генів
D. Реплікація ДНК
E. Зворотна транскрипція

4. В ході регенерації епітелію слизової оболонки порожнини рота (розмноження клітин) відбулася реплікація (авторепродукція) ДНК за напівконсервативним механізмом. При цьому нуклеотиди нової нитки ДНК є комплементарними до:
A. Інтронних ділянок гену
B. Материнської нитки
C. Ферменту РНК-полімеразі
D. Змістовних кодонів
E. Ферменту ДНК-полімеразі

5. Серед органічних речовин клітини знайдено полімер, який складається з десятків, сотень і тисяч мономерів. Молекула здатна самовідтворюватися та бути носієм інформації. За допомогою рентгеноструктурного аналізу виявлено, що молекула складається з двох спірально закручених ниток. Вкажіть цю сполуку.
A. РНК
B. Вуглевод
C. ДНК
D. Гормон
E. Целюлоза

6. Однією з реакцій матричного синтезу є реплікація. Яка нова молекула утворюється внаслідок цього з молекули ДНК?
A. рРНК
B. Про-іРНК
C. іРНК
D. ДНК
E. тРНК

7. Під час пресинтетичного періоду мітотичного циклу у клітині було порушено синтез ферменту ДНК-залежної-ДНК-полімерази. До яких наслідків це може призвести?
A. Порушення транскрипції ДНК
B. Порушення цитокінезу
C. Скорочення тривалості мітозу
D. Порушення реплікації ДНК
E. Порушення формування веретена поділу

8. Молекула зрілої іРНК у клітині є носієм генетичної інформації про послідовність з'єднання між собою певних амінокислот. Це означає, що в молекулах іРНК закодована:
A. Первинна структура білка
B. Вторинна структура вуглеводів
C. Первинна структура вуглеводів
D. Первинна структура ліпідів
E. Первинна структура полінуклеотидів

9. В ядрі клітини з молекули незрілої і-РНК утворилася молекула зрілої і-РНК, яка має менший розмір, ніж незріла і-РНК. Сукупність етапів цього перетворення має назву:
A. Трансляція
B. Процесинг
C. Реплікація
D. Термінація
E. Рекогніція

10. Молекула зрілої інформаційної РНК має меншу довжину, ніж відповідний ген молекули ДНК. Неінформативні послідовності нуклеотидів пре-іРНК видаляються під час процесингу. Яку назву мають ці ділянки?
A. Кластери
B. Інтрони
C. Трапскриптони
D. Мутони
E. Екзони

11. Лікування туберкульозу здійснюється за допомогою комбінованої хіміотерапії, що поєднує речовини різного механізму дії. Який з протитуберкульозних засобів пригнічує транскрипцію ДНК в РНК мікобактерій?
A. Ізоніазид
B. Етіонамід
C. Рифампіцин
D. ПАСК
E. Стрептоміцин

12. Синтез і-РНК проходить на матриці ДНК з урахуванням принципу комплементарності. Якщо триплети у ДНК наступні – АТГ-ЦГТ, то відповідні кодони і-РНК будуть:
A. УАГ-ЦГУ
B. АУГ-ЦГУ
C. АТГ-ЦГТ
D. УАЦ-ГЦА
E. ТАГ-УГУ

13. Лікарі-інфекціоністи широко застосовують антибіотики, які інгібують синтез нуклеїнових кислот. Який етап біосинтезу гальмує рифампіцин?
A. Ініціація транскрипції в прокаріотах
B. Реплікація в прокаріотах
C. Термінація транскрипції в прокаріотах і еукаріотах
D. Транскрипція в прокаріотах і еукаріотах
E. Сплайсинг у прокаріотах і еукаріотах

14. Хворому на туберкульоз легень призначено рифампіцин, який пригнічує фермент РНК-полімеразу на стадії ініціації такого процесу як:
A. Транскрипція
B. Термінація
C. Елонгація
D. Трансляція
E. Реплікація

15. У пацієнта діагностований первинний туберкульоз легень. Призначення якого протитуберкульозного засобу з групи антибіотиків, що порушують синтез РНК мікобактерій, є бажаним?
A. Канаміцину сульфат
B. ПАСК
C. Рифампіцин
D. Піразинаміду
E. Етамбутолу

16. У клітині людини відбувається транскрипція. Фермент РНК-полімераза, пересуваючись вздовж молекули ДНК, досяг певної послідовності нуклеотидів. Після цього транскрипція припинилась. Ця ділянка ДНК має назву:
A. Термінатор
B. Промотор
C. Репресор
D. Оператор
E. Регулятор

17. Встановлено, що деякі сполуки, наприклад, токсини грибів та окремі антибіотики, можуть пригнічувати активність РНК-полімерази. Порушення якого процесу відбувається в клітині у випадку пригнічення даного ферменту?

A. Транскрипція
B. Процесінг
C. Реплікація
D. Трансляція
E. Репарація

6.4. Ситуаційні задачі:

1. Хворому для лікування онкопатології призначено протипухлинний антибіотик афідиколін, який є інгібітором реплікації, адже пригнічує активність ДНК-полімераз α, δ та ε.

а) Синтез якого ланцюга під час реплікації відбувається за участю ДНК-полімерази δ?
б) Синтез якого ланцюга під час реплікації відбувається за участю ДНК-полімераз α та ε?
в) Який фермент під час реплікації еукаріотичної клітини відщеплює праймер і заповнює пустоти заново синтезованими дезоксирибонуклеотидами?

2. Хворому з пневмонією призначено препарат із групи фторхінолонів – гатіфлоксацин.

а) Активність якого матричного процес пригнічує в мікроорганізмах гатіфлоксацин?
б) Інгібітором якого ферменту є гатіфлоксацин?
в) У який період клітинного циклу відбувається цей матричний процес?

3. Елементарною структурною одиницею транскрипції в прокаріотів та еукаріотів є транскриптон.

а) Як називається ініціююча ділянка транскриптону в прокаріотів та еукаріотів?
б) Як називається регуляторна ділянка транскриптону в еукаріотів?
в) Як називається термінуюча ділянка транскриптону в прокаріотів та еукаріотів?

4. Лікар призначив пацієнту із злоякісною пухлиною антибіотик антиміцин D.

а) Активність якого матричного процесу пригнічує актиноміцин D?
б) На якому етапі цього матричного процесу реалізується дія актиноміцину D?
в) З якою азотистою основою ДНК зв'язується антиміцин D?

5. У пацієнта діагностовано отруєння токсином блідої поганки – α-аманітином.

а) Який матричний процес гальмується α-аманітином?
б) Інгібітором якого ферменту є α-аманітин?
в) Яка РНК не синтезується в клітині при потраплянні α-аманітину?

Відповіді до задач

7. Лабораторна робота:

Визначення вмісту ДНК в біологічному матеріалі за методом Діше. Визначення вмісту РНК в біологічному матеріалі за методом Мейбаума

1. Визначення вмісту ДНК в біологічному матеріалі за методом Діше.

Принцип. Вміст ДНК в біологічному матеріалі визначається за кількістю дезоксирибози, яка вивільняється при повному кислотному гідролізі дезоксирибонуклеотидів. Кількість утвореної дезоксирибози оцінюють за її реакцією з дифеніламіном (реактивом Діше), в якій утворюється барвник

синього кольору. В якості біологічного матеріалу в роботі використаний гідролізат щитоподібної залози. Вміст ДНК в тканинах збільшується при посиленні процесів проліферації клітин, що буває при регенерації органів та пухлинному рості.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		Контрольна	Дослідна
1	Дистильована вода, мл	2	-
2	Гідролізат щитовидної залози, мл	-	2
3	Реактив Діше, мл	2	2
Інкубація при кімнатній температурі упродовж 10 хв			
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі λ = 670 нм, кювета l = 1,0 см проти контролю			
Екстинція, од.о.щ.		-	E =
Кількість ДНК, мкг (за калібрувальним графіком)		-	A =

Розрахунок вмісту ДНК (Х) у гідролізаті щитоподібної залози проводять за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 4}{0{,}25 \cdot 2 \cdot 1000} = \text{_____} = \quad \text{мг/г}$$

Х – вмісту ДНК у гідролізаті щитоподібної залози, мг/г;
А – кількість ДНК в мкг, знайдена за калібрувальним графіком;
4 – об'єм розчину, мл;
0,25 – наважка щитоподібної залози, г;
2 – об'єм гідролізату, взятого для дослідження, мл;
1000 – перерахунок мг в г.

Висновок:_____

_____

_____

2. Визначення вмісту РНК в біологічному матеріалі за методом Мейбаума

Принцип. Вміст РНК в біологічному матеріалі визначають за кількістю рибози, яка вивільняється при повному кислотному гідролізі рибонуклеотидів. При нагріванні рибози з хлоридною кислотою утворюється фурфурол, який реагує з орцином з утворенням барвника синьо-зеленого кольору (метод Мейбаума). Вміст РНК в тканинах збільшується при посиленні процесів проліферації клітин, що буває при регенерації органів та пухлинному рості. В якості джерела РНК в цій роботі використаний гідролізат дріжджів.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		Контрольна	Дослідна
1	Дистильована вода, мл	2	-
2	Гідролізат дріжджів, мл	-	2
Вміст пробірок нагріти на водяній бані (60 ºС) протягом 5 хв			
3	Розчин орцину, мл	2	2
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі λ = 670 нм, кювета l = 1,0 см проти контролю			
Екстинція, од.о.щ.		-	E =
Кількість РНК, мкг (за калібрувальним графіком)		-	A =

Розрахунок вмісту РНК (Х) в гідролізаті дріжджів проводять за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 4}{0{,}25 \cdot 2 \cdot 1000} = \text{_____} = \quad \text{мг/г}$$

Х – вмісту РНК у гідролізаті дріждів, мг/г;
А – кількість РНК в мкг, знайдена за калібрувальним графіком;
4 – об'єм розчину, мл;
0,25 – наважка дріждів, г;
2 – об'єм гідролізату, взятого для дослідження, мл;
1000 – перерахунок мг в г.

Висновок:_____

_____

_____

Дата: «_____»_____ 20 р. Підпис викладача:

Тема 15: «Генетичний код. Трансляція. Інгібітори трансляції»

1. Актуальність теми: Ділянка молекули ДНК, що несе цілісну інформацію про будову однієї молекули білка, називається геном. Інформація про структуру індивідуальних білків організму закодована в ДНК за допомогою генетичного коду і передається наступним поколінням. Генетичний (біологічний) код – це спосіб запису інформації про послідовність амінокислот в білку за допомогою послідовності нуклеотидів ДНК (або РНК). Він являє собою комбінацію з трьох нуклеотидів, що відповідає за включення певної амінокислоти в білок, і є універсальним для всіх живих організмів. Біосинтез білків – це кінцевий етап реалізації генетичної інформації, який включає п'ять стадій – активацію амінокислот, власне трансляцію (біосинтез білка на рибосомах на матриці мРНК) та посттрансляційну модифікацію. На етапі активації амінокислот утворюються аміноацил-тРНК, завдяки чому амінокислоти під час трансляції включаються у поліпептидний ланцюг відповідно генетичному коду за допомогою антикодону тРНК. Власне трансляція здійснюється молекулярними машинами – рибосомами, матрицею для синтезу поліпептиду слугує мРНК. Новоутворені поліпептиди далі підлягають посттрансляційній модифікації, в результаті якої формується повноцінна молекула білка. Активність усіх етапів синтезу білка є регульованою і залежить від різних чинників. Так, деякі противірусні, антибактеріальні та протипухлинні препарати реалізують свою лікувальну дію через вплив на певні етапи трансляції.

2. Загальна мета заняття: знати молекулярні основи генетичного коду та етапи передачі генетичної інформації; знати механізм та біологічне значення основних стадій біосинтезу білків, трактувати молекулярні механізми дії інгібіторів трансляції;

***3. Конкретні цілі*:** знати

- визначення, властивості та біологічне значення генетичного коду;
- напрямки та етапи передачі генетичної інформації;
- основні фактори трансляції та їх роль в процесі синтезу білків;
- суть реакцій активації амінокислот та значення ферменту аміноацил-тРНК-синтетази у цьому процесі;
- механізми основних стадій трансляції (ініціації, елонгації та термінації);
- процеси, які лежать в основі посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів;
- біохімічні механізми дії антибіотиків, противірусного препарату інтерферону та дифтерійного токсину.

4. Література:

Основна:

4.1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. – Книга 2. Біологічна хімія: підручник, 3-є видання (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. – ВСВ «Медицина», 2021. – 544 с.
4.2. Biological and bioorganic chemistry: textbook: in 2 books. Book 2. Biological Chemistry / Gubsky Yu. I., Nezenkovska I.V., Korda M.M. … Zaichko N.V. et al.; edited by Yu. I. Gubsky, I.V. Nezenkovska. – Kyiv: AUS Medicine Publishing, 2020. – 544 c.
4.3. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підручник / Губський Ю.І., Ніженковська І.В. та ін. – Київ-Вінниця: Нова Книга, 2021. – 648 с.
4.4. Біохімія людини: підручник, 3-е видання, виправлене та доповнене / за ред. Я.І. Гонського, Т.П. Максимчука – Тернопіль: ТДМУ «Укмедкнига», 2020. – 732 с.
4.5. Лекції, що читаються на кафедрі

Додаткова:

4.6. Скляров О.Я. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Скляров, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2020. – 706 с.
4.7. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л. Загайка, проф. К.В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
4.8. Нельсон Д., Кокс М. Основи біохімії за Ленінджером / пер. з англ.: О. Матишевська, наук. ред. перекладу: С. Комісаренко – Львів: БаК, 2015 – 1256 с.
4.9. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry / Denise R. Ferrier – 6th ed., 2014. – 552 p.

4.10. Harper's Illustrated Biochemistry / V.W. Rodwell, D.A. Bender, K.M. Botham et al. – Mc Graw Hill Education, 2015. – 817 p.
4.11. Textbook of Medical Biochemistry/ Chatterjea M.N., Shinde Rana. – New Delphi: Taypee, 2012. – 876 p.

Інформаційні ресурси

4.12. Електронна адреса сайту університету: http://vnmu.edu.ua
4.13. Електронна адреса сайту бібліотеки університету: http://library.vnmu.edu.ua
4.14. Центр тестування https://www.testcentr.org.ua/uk/

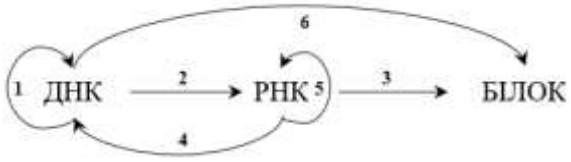
5. Основні питання теми:

1. Генетичний код: визначення, властивості, біологічне значення. Напрямки та основні етапи передачі генетичної інформації.
2. Трансляція: визначення, фактори, біологічне значення. Особливості будови рибосом.
3. Активація амінокислот: локалізація, реакції, роль аміноацил-тРНК-синтетази.
4. Стадії трансляції та їх механізми. Поняття про ініціюючі та термінуючі кодони.
5. Посттрансляційна модифікація поліпептидів: хімічна модифікація, обмежений протеоліз, фолдінг білків. Приклади нематричного синтезу поліпептидів.
6. Інгібітори трансляції: механізм дії антибіотиків, інтерферону та дифтерійного токсину.

6. Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

6.1. Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

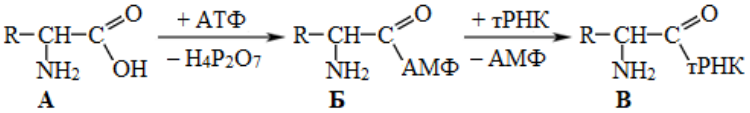
1. На схемі зображено напрямок передачі генетичної інформація:



Вкажіть, які матричні процеси позначені цифрами 1, 2, 3, 4, 5 та 6.

_____
_____
_____
_____

2. На схемі зображено активація амінокислот:



Дайте назви речовинам А, Б, В та вкажіть фермент, який каталізує це перетворення.

_____
_____
_____
_____
_____

3. Ланцюг іРНК має будову: УГГ–УЦГ–ААА–ГАА–УГЦ. Визначіть амінокислотний склад кодованого білка цією іРНК.

4. Яку довжину має ген, який кодує інсулін, якщо відомо, що молекула інсуліну має 51 амінокислоту, а відстань між нуклеотидами в ДНК складає 0,34 нм?

5. Заповніть таблицю «Хімічна модифікація амінокислотних залишків при дозріванні білків утворених під час трансляції»

Вид хімічної модифікації амінокислотних залишків в білку	Приклад білка, який дозріває відповідним видом хімічної модифікації
Карбоксилування (за участі вітаміну К)	
Фосфорилування	
Йодування	
Гідроксилування (за участі вітаміну С)	
Глікозилування (за участі вітаміну А)	
Приєднання ліпідів	
Приєднання металів	

6.2. Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. Скільки кодонів міститься в генетичному коді?
   A. 1
   B. 3
   C. 5
   D. 61
   E. 64

2. Яка властивість генетичного коду стверджує, що кожний кодон кодує тільки певну амінокислоту?
   A. Універсальність
   B. Виродженість
   C. Колінеарність
   D. Специфічність
   E. Безперервність

3. Як називається матричний процес біосинтезу білка у рибосомах?
   A. Реплікація
   B. Репарація
   C. Транслокація
   D. Трансляція
   E. Транскрипція

4. Яка кількість α-амінокислот потрібна для того, щоб відбулась трансляція?
   A. 8
   B. 20
   C. 22
   D. 61
   E. 64

5. Вкажіть вид РНК, що забезпечує транспорт амінокислот з цитоплазми у рибосоми:
   A. тРНК
   B. рРНК
   C. іРНК
   D. мРНК
   E. гяРНК

6. Який фермент каталізує утворення пептидного зв'язку між α-амінокислотами під час трансляції?
   A. Фолдаза
   B. Транслоказа
   C. Глікозилтрансфераза
   D. Пептидилтрансфераза
   E. Аміноацил-тРНК-синтетаза

7. Вкажіть ініціаторну α-амінокислоту та її кодон, що ініціюють трансляцію в еукаріотів:

8. Вкажіть термінуючий триплет мРНК:
   A. ЦЦГ

A. Триптофан, УГГ
B. Метіонін, АУГ
C. Треонін, АЦУ
D. Гістидин, ЦАУ
E. Ізолейцин АУЦ
B. ААУ
C. ГГЦ
D. УАА
E. ЦЦУ

9. Як називається процес посттрансляційної модифікації поліпептиду, що забезпечує формування нормальної вторинної, третинної і четвертинної структур?
A. Карбоксилування
B. Гідроксилування
C. Фолдінг
D. Ацилування
E. Глікозилування

10. Вкажіть пептид, що утворюється шляхом нематричного синтезу за участі мультиферментних комплексів:
A. Ендорфін
B. Ангіотензин
C. Брадикінін
D. Енкефалін
E. Глутатіон

6.3. Тести для перевірки кінцевого рівня знань та підготовки до ЄДКІ (Крок-1):

1. Встановлено ураження вірусом ВІЛ Т-лімфоцитів. При цьому фермент вірусу зворотня траскриптаза (РНК-залежна ДНК-полімераза) каталізує синтез:
A. і-РНК на матриці вірусного білка
B. Вірусної і-РНК на матриці ДНК
C. Вірусної ДНК на матриці ДНК
D. ДНК на вірусній р-РНК
E. ДНК на матриці вірусної і-РНК

2. Лімфоцит уражений ретровірусом ВІЛ (СНІД). В цьому випадку напрямок потоку інформації в клітині буде:
A. РНК → ДНК → і-РНК → поліпептид
B. ДНК → і-РНК → поліпептид → ДНК
C. Поліпептид → РНК → ДНК → і-РНК
D. і-РНК → поліпептид → ДНК
E. ДНК → поліпептид → і-РНК

3. Яка амінокислота із нижченаведених кодується одним триплетом?
A. Лейцин
B. Лізин
C. Аланін
D. Метіонін
E. Серин

4. У хворого на СНІД в клітинах, уражених ВІЛ-інфекцією, виявлено активність ферменту ревертази. Яка нуклеїнова кислота синтезується за участю цього ферменту?
A. пре-мРНК
B. рРНК
C. ДНК
D. мРНК
E. тРНК

5. Відомо, що інформацію про послідовність амінокислот у молекулі білка записано у вигляді послідовності чотирьох видів нуклеотидів у молекулі ДНК, причому різні амінокислоти кодуються різною кількістю триплетів – від одного до шести. Як називається така особливість генетичного коду?
A. Виродженість
B. Універсальність
C. Неперекривність
D. Триплетність
E. Специфічність

6. У клітину проник вірус грипу. Трансляція під час біосинтезу вірусного білка в клітині буде здійснюватися:
A. На каналах гладенької ендоплазматичної сітки
B. На полірибосомах
C. У лізосомах
D. У ядрі
E. У клітинному центрі

7. Фолдинг – посттрансляційна модифікація білку. Який механізм фолдингу пепсину головних клітин слизової оболонки шлунку?

A. Дистилювання
B. Частковий протеоліз
C. Ковалентна модифікація
D. Фосфорилювання
E. Метилювання

8. За умов тривалої інтоксикації тварин тетрахлорметаном було визначено суттєве зниження активності аміноацил-тРНК-синтетази в гепатоцитах. Який метаболічний процес порушується в цьому випадку?
A. Транскрипція РНК
B. Біосинтез білків
C. Реплікація ДНК
D. Посттранскрипційна модифікація РНК
E. Посттрансляційна модифікація пептидів

9. Тривалий вплив на організм людини токсичних речовин призвів до руйнування органел, які забезпечують синтез білків у гепатоцитах хворого. Які органели беруть участь синтезі білків у гепатоцитах?
A. Пероксисоми
B. Рибосоми
C. Мітохондрії
D. Агранулярна ендоплазматична сітка
E. Лізосоми

10. Процес біосинтезу білка є енергозалежним. Вкажіть, який макроергічний субстрат безпосередньо використовується в цьому процесі на стадії елонгації:
A. УТФ
B. ГТФ
C. АДФ
D. АТФ
E. ЦТФ

11. Хворому призначили антибіотик хлорамфенікол (левоміцетин), який порушує у мікроорганізмів синтез білку шляхом гальмування процесу:
A. Транскрипція
B. Процесінг
C. Елонгація трансляції
D. Утворення полірибосом
E. Ампліфікація генів

12. Для утворення транспортної форми амінокислот для синтезу білка необхідно:
A. Ревертаза
B. м-РНК
C. Аміноацил-тРНК-синтетаза
D. Рибосома
E. ГТФ

13. У клітині в гранулярній ЕПС відбувається етап трансляції, при якому спостерігається просування і-РНК щодо рибосоми. Амінокислоти з'єднуються пептидними зв'язками в певній послідовності – відбувається біосинтез поліпептиду. Послідовність амінокислот у поліпептиді буде відповідати послідовності:
A. Антикодонів р-РНК
B. Нуклеотидів р-РНК
C. Нуклеотидів т-РНК
D. Кодонів і-РНК
E. Антикодонів т-РНК

14. Деякі триплети іРНК (УАА, УАГ, УГА) не кодують амінокислоти, а є термінаторами в процесі зчитування інформації, тобто здатні припинити трансляцію. Ці триплети мають назву:
A. Оператори
B. Екзони
C. Антикодони
D. Інтрони
E. Стоп-кодони

15. Біохімічний аналіз амінокислотного складу щойно синтезованих поліпептидів показав, що в процесі трансляції перша амінокислота в кожному білку одна і та ж. Назвіть її:
A. Ізолейцин
B. Фенілаланін

C. Метіонін
D. Гістидин
E. Серин

16. Під час дослідження клітин було встановлено в їх цитоплазмі високий вміст ферменту аміноацил-тРНК-синтетази. Він забезпечує в клітині такий процес як:
A. Елонгація
B. Реплікація
C. Активація амінокислот
D. Репарація
E. Транскрипція

17. При цитологічних дослідженнях було виявлено велику кількість різних молекул т-РНК, які доставляють амінокислоти до рибосоми. Кількість різних типів т-РНК у клітині буде дорівнювати кількості:
A. Нуклеотидів
B. Триплетів, що кодують амінокислоти
C. Амінокислот
D. Різних типів і-РНК
E. Білків, синтезованих у клітині

18. Хворому на бактеріальну пневмонію, 28-ми років, призначили курс лікування еритроміцином. Відомо, що його антибактеріальні властивості зумовлені здатністю цієї речовини сполучатися з вільною 50 S-субодиницею рибосоми. Синтез яких речовин блокує цей антибіотик у бактеріальних клітинах?
A. Білків
B. Полісахаридів
C. Жирів
D. ДНК
E. РНК

19. В клітині відбувається процес трансляції. Коли рибосома доходить до кодонів УАА, УАГ або УГА, синтез поліпептидного ланцюга закінчується. Ці кодони у процесі біосинтезу поліпептиду не розпізнаються жодною т-РНК і тому є сигналом:
A. Посттрансляційної модифікації
B. Ініціації
C. Початку транскрипції
D. Елонгації
E. Термінації

6.4. Ситуаційні задачі:

1. Відомо, що SARS-CoV-2 (новий коронавірус 2019 р.) є РНК-вмісним та пошкоджує альвеолярні клітини, інтегруючись в їх геном, що спричиняє розвиток респіраторних захворювань у людей (зокрема гострої респіраторної хвороби COVID-19).

а) Який фермент SARS-CoV-2 бере участь у інтеграції в геном альвеолярних клітин?

б) Який напрямок буде мати потік генетичної інформації у SARS-CoV-2-інфікованих альвеолярних клітинах?

в) Який напрямок передачі генетичної інформації є універсальним для всіх еукаріотичних клітин?

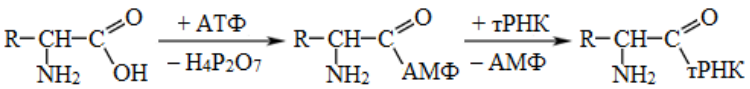
2. Генетичний код (біологічний код) – це спосіб запису інформації про амінокислотну послідовність білків за допомогою послідовності нуклеотидів в ДНК (або РНК). Він являє собою комбінацію 3 мононуклеотидів ДНК (або РНК), що відповідає за включення певної амінокислоти в поліпептидний ланцюг.

а) Скільки кодонів міститься в генетичному коді?

б) Скільки змістовних кодонів міститься в генетичному коді?

в) Скільки беззмістовних кодонів міститься в генетичному коді?

3. На схемі зображено процес активації α-амінокислот, який відбувається перед трансляцією:



а) Яка активна форма α-амінокислот утворюється в цьому процесі?

б) Вкажіть фермент, який каталізує цей процес.

в) Де в клітині відбувається цей процес?

4. Тетрацикліни (тетрациклін, доксіциклін) та аміноглікозиди (стрептоміцин, канаміцин, гентаміцин) є інгібіторами трансляції в прокаріотів оскільки запобігають приєднанню формілметіоніл-тРНК до рибосом.

а) З якою субодиницею рибосоми зв'язуються тетрацикліни та аміноглікозиди?

б) Вкажіть константи седиментації Сведберга цієї субодиниці рибосоми прокаріотів.

в) Який етап трансляції блокують тетрацикліни та аміноглікозиди?

5. Сімейний лікар для профілактики грипу порекомендував пацієнту приймати інтерферон.

а) Активність якого матричного процесу пригнічує інтерферон?

б) Який білковий фактор інактивує інтерферон?

в) Яким шляхом інтерферон інактивує цей білковий фактор?

Відповіді до задач

7. Лабораторна робота:

Виділення казеїну з молока та якісні реакції на білковий компонент

Принцип. Казеїноген є складним білком – фосфопротеїном, який після синтезу на рибосомах піддається посттрансляційній модифікації – фосфорилуванню. Завдяки фосфатним групам казеїноген у складі в молока перебуває в розчиненому стані – у вигляді казеїнату кальцію. При підкисленні молока (pH = 4,7) казеїноген переходить в ізоелектричний стан і випадає в осад у вигляді казеїну («згурдження молока»). Білкову природу казеїну можна підтвердити якісними реакціями на білки.

Хід роботи

До 2 мл молока додають 2 мл дистильованої води та 2 краплі 10 % розчину ацетатної кислоти. Утворену суміш фільтрують, осад казеїну з фільтру знімають скляною паличкою та поміщають його у пробірки. Для доказу білкової природи казеїну з осадом проводять якісні реакції на білки та амінокислоти (біуретову, нінгідринову та Фоля).

1. Біуретова реакція

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Осад казеїну	помістити частинку осаду
2	10 % розчин NaOH	5 крапель
3	1 % розчин $CuSO_4$	1-2 краплі
Реєстрація забарвлення		
Вказати, що відкриває ця реакція в казеїні		

2. Нінгідринова реакція

№	Реактиви, послідовність додавання	Фільтрувальний папір
1	Осад казеїну	помістити частинку осаду
Висушують над електроплиткою		
2	0,1 % розчин нінгідрину	1 крапля
Висушують над електроплиткою		
Реєстрація забарвлення		

Вказати, що відкриває ця реакція в казеїні	

3. Реакція Фоля

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
Виявлення сірковмісних амінокислот		
1	5 % розчин плюмбум (II) ацетат	2 краплі
2	30 % розчин NaOH	по краплям до повного розчинення осаду
3	Осад казеїну	помістити частинку осаду
Кип’ятіння на водяній бані (100 ºС) 2-3 хв		
Реєстрація забарвлення		
Вказати, що відкриває ця реакція в казеїні		

Висновок:_____

_____

_____

Дата: «_____» _____ 20 р. Підпис викладача:

ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ГЕНЕТИКИ

Тема 16: «Регуляція експресії генів у прокаріот та еукаріот Репарація ДНК. Мутації. Генна інженерія»

1. Актуальність теми: Регуляція експресії генів у прокаріот здійснюється на рівні транскрипції, тоді як у еукаріот регуляція є значно складнішою і відбувається на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції. Знання молекулярних механізмів, які лежать в основі регуляції експресії генів, дозволяють впливати на процеси синтезу білків у еукаріот та прокаріот, що є досить важливим для створення нових фармацевтичних препаратів, лікування інфекційних, спадкових хвороб, онкологічних захворювань та ін. Мутації – це кількісні або якісні зміни генотипу організму. Вони є джерелом генетичної мінливості без якої неможливі природній відбір та біологічна еволюція. Також мутації можуть викликати розвиток різноманітних спадкових хвороб за умов неефективного проходження процесів репарації ДНК. Останнім часом в медицині широко користуються методами генної інженерії, які дозволяють переносити генетичний матеріал від одного організму до іншого, що використовується з метою діагностики, лікування деяких спадкових захворювань та отримання біомедичних препаратів.

2. Загальна мета заняття: знати механізми регуляції експресії генів у прокаріот на рівні транскрипції та у еукаріот – на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції

3. Конкретні цілі: уміти

- пояснювати будову прокаріотичного оперону та трактувати механізми регуляції експресії генів по типу індукції (на прикладі Lac-оперону) та репресії (на прикладі гістидинового оперону);
- аналізувати механізми регуляції експресії генів у еукаріотів на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції;
- розкривати суть та біомедичне значення процесу ампліфікації.

4. Література:

Основна:

4.1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. – Книга 2. Біологічна хімія: підручник, 3-є видання (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. – ВСВ «Медицина», 2021. – 544 с.
4.2. Biological and bioorganic chemistry: textbook: in 2 books. Book 2. Biological Chemistry / Gubsky Yu. I., Nezenkovska I.V., Korda M.M., Zaichko N.V. et al.; edited by Yu. I. Gubsky, I.V. Nezenkovska. – Kyiv: AUS Medicine Publishing, 2020. – 544 c.
4.3. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підручник / Губський Ю.І., Ніженковська І.В. та ін. – Київ-Вінниця: Нова Книга, 2021. – 648 с.
4.4. Біохімія людини: підручник, 3-е видання, виправлене та доповнене / за ред. Я.І. Гонського, Т.П. Максимчука – Тернопіль: ТДМУ «Укмедкнига», 2020. – 732 с.
4.5. Лекції, що читаються на кафедрі

Додаткова:

4.6. Скляров О.Я. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Скляров, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2020. – 706 с.
4.7. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л. Загайка, проф. К.В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
4.8. Нельсон Д., Кокс М. Основи біохімії за Ленінджером / пер. з англ.: О. Матишевська, наук. ред. перекладу: С. Комісаренко – Львів: БаК, 2015 – 1256 с.
4.9. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry / Denise R. Ferrier – 6th ed., 2014. – 552 p.
4.10. Harper's Illustrated Biochemistry / V.W. Rodwell, D.A. Bender, K.M. Botham et al. – Mc Graw Hill Education, 2015. – 817 p.
4.11. Textbook of Medical Biochemistry/ Chatterjea M.N., Shinde Rana. – New Delphi: Taypee, 2012. – 876 p.

Інформаційні ресурси

4.12. Електронна адреса сайту університету: http://vnmu.edu.ua
4.13. Електронна адреса сайту бібліотеки університету: http://library.vnmu.edu.ua
4.14. Центр тестування https://www.testcentr.org.ua/uk/

5. Основні питання теми:

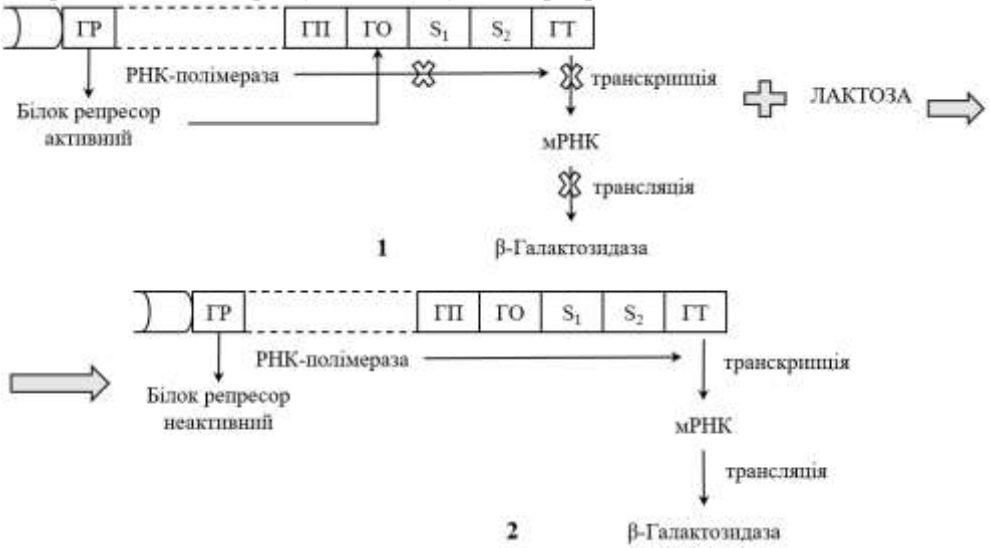
1. Регуляція експресії генів у прокаріот по типу індукції (функціонування Lac-оперону E.Coli за Ф.Жакоб та Ж.Моно).

2. Регуляція експресії генів у прокаріот по типу репресії (функціонування гістидинового оперону).
3. Регуляція експресії генів у еукаріот на рівні структурної організації геному.
4. Регуляція експресії генів у еукаріот на рівні транскрипції та трансляції.
5. Особливості біосинтезу білків у людини.
6. Репарація ДНК: визначення, етапи, біологічне значення, патологія репарації (пігментна ксеродерма).
7. Мутації та їх роль у виникненні ензимопатій та спадкових хвороб. Мутагени.
8. Поняття про полімеразну ланцюгову реакцію.
9. Генна інженерія: визначення, значення, основні принципи.

6. Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

6.1. Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

1. На схемі зображений Lac-оперон у станах індукції та репресії:



Вкажіть, якою цифрою (1 чи 2) позначений Lac-оперон у стані індукції, а якою цифрою (1 чи 2) позначений Lac-оперон у стані репресії. Зазначте функціональне призначення всіх складових Lac-оперону.

6.2. Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. Як називається процес реалізації інформації, закодованої в генах, що складається з двох основних стадій – транскрипції та трансляції?
   A. Реплікація генів
   B. Ампліфікація генів
   C. Рекомбінація генів
   D. Репарація генів
   E. Експресія генів

2. Як називається процес збільшення кількості копій певних генів внаслідок вибухової (що часто повторюється) реплікації?
   A. Модифікація
   B. Рекомбінація
   C. Трансформація
   D. Ампліфікація
   E. Трансдукція

3. Вкажіть ділянку акцепторної зони транскриптону, зв'язування регуляторних речовин з якою послаблює транскрипцію:
   A. Енхансери
   B. Атенюатори
   C. Сайленсери
   D. Інсулятори

4. На якому рівні регулюється експресія генів глобіну?
   A. Претранскрипційному
   B. Транскрипційному
   C. Посттранскрипційному
   D. Трансляційному
   E. Посттрансляційному

E. Ефектори

5. Вкажіть речовину, що взаємодіє з акцепторними ділянками транскриптону:
A. Кальцитонін
B. Кальцитріол
C. Паратгормон
D. Тиреотропін
E. Кортикотропін

6. Вкажіть процес, що відноситься до рекомбінації генів у еукаріот:
A. Трансформація
B. Ампліфікація
C. Кросинговер
D. Трансдукція
E. Кон'югація

7. Регуляція експресії генів у прокаріот здійснюється на рівні:
A. Реплікації
B. Транскрипції
C. Трансляції
D. Репарації
E. Транслокації

8. Метилування залишків якої азотистою основи у спеціальних ділянках ДНК викликає тимчасову інактивацію генів та блокування транскрипції?
A. Аденіну
B. Гуаніну
C. Тиміну
D. Цитозину
E. Урацилу

9. В якому стані находиться Lac-оперон E. Coli за наявності лактози в поживному середовищі?
A. Індукції
B. Трансформації
C. Репарації
D. Кон'югації
E. Репресії

10. Вкажіть ділянку акцепторної зони транскриптону, зв'язування регуляторних речовин з якою посилює транскрипцію:
A. Енхансери
B. Атенюатори
C. Сайленсери
D. Інсулятори
E. Ефектори

6.3. Тести для перевірки кінцевого рівня знань та підготовки до ЄДКІ (Крок-1):

1. В ході експерименту було продемонстровано підвищення активності β-галактозидази після внесення лактози до культурального середовища з E.Coli. Яка ділянка лактозного оперону стає розблокованою від репресору за цих умов?
A. Промотор
B. Структурний ген
C. Регуляторний ген
D. Праймер
E. Оператор

2. Генетичний апарат людини містить біля 30 тисяч генів, а кількість варіантів білків сягає мільйонів. Для утворення нових генів, що відповідають за синтез такої кількості білків відповідає:
A. Репарація ДНК
B. Реплікація ДНК
C. Рекомбінація генів
D. Утворення фрагментів Оказакі
E. Ампліфікація генів

3. У бактерій встановлений процес кон'югації, при якому між бактеріями утворюється цитоплазматичний місток, по якому з клітини-донора до клітини-реціпієнта надходять плазміди і фрагменти молекули ДНК. Яке значення цього процесу?
A. Забезпечує обмін генетичного матеріалу
B. Підвищує гетерозиготність
C. Ліквідує небажані мутації
D. Сприяє активізації мутаційного процесу
E. Забезпечує обмін речовинами між клітинами

4. Формування великої кількості імуноглобулінів з різною антигенною специфічністю з невеликої кількості генів відбувається внаслідок:
A. Реплікації
B. Транскрипції
C. Рекомбінації генів
D. Транслокації
E. Делеції

6.4. Ситуаційні задачі:

1. В поживне середовище, де знаходяться бактерії кишкової палички, доданий гістидин.

а) В якому стані (активному чи неактивному) знаходиться білок-репресор гістидинового оперону?

б) Як змінюється транскрипція структурних генів гістидинсинтетази?

в) Який тип регуляції експресії генів відмічається при цьому в бактерій кишкової палички?

2. В поживне середовище, де знаходяться бактерії кишкової палички, додана лактоза.

а) В якому стані (активному чи неактивному) знаходиться білок-репресор Lac-оперону?

б) Як змінюється транскрипція структурних генів β-галактозидази?

в) Який тип регуляції експресії генів відмічається при цьому в бактерій кишкової палички?

3. У хворого, який тривалий час приймає метотрексат, відмічається поступове зменшення ефективності протипухлинної дії цього цитостатика.

а) Який процес лежить в основі розвитку резистентності до дії метотрексату?

б) Експресія якого гену активується при прийомі метотрексату?

в) На якому рівні (претранскрипційному, транскрипційному чи трансляційному) здійснюється регуляторний вплив метотрексату на експресію цього гену?

4. При довготривалому прийомі глюкокортикоїдів виникає стероїдний діабет. Гіперглікемічна дія цих гормонів переважно реалізується через стимуляцію синтезу ферментів глюконеогенезу. Глюкокортикоїди проникають у ядро клітини і зв'язуються з певною ділянкою ДНК, внаслідок чого активується експресія генів ферментів глюконеогенезу.

а) На якому рівні (претранскрипційному, транскрипційному чи трансляційному) регулюється біосинтез ферментів глюконеогенезу глюкокортикоїдами?

б) З якою ділянкою акцепторної зони транскриптону генів цих ферментів зв'язуються глюкокортикоїди?

в) Які матричні процеси об'єднуються терміном «експресія генів»?

5. У хворого з низьким вмістом гему в організмі відмічається зниження експресії гену, який відповідає за синтез глобіну.

а) На якому рівні (претранскрипційному, транскрипційному чи трансляційному) здійснюється регуляторний вплив гему на експресію гену-глобіну?

б) Який білковий фактор бере участь в регуляції експресії гену-глобіну на цьому рівні?

в) Яким шляхом регулюється активність цього білкового фактору?

Відповіді до задач

7. Лабораторна робота:

Якісне визначення фенілпіровиноградної кислоти в сечі

Принцип. Фенілпіруват з Fe^{3+} утворює комплексну сполуку забарвлену в синьо-фіолетовий колір. Високий вміст фенілпірувату в сечі виявляється при спадковій патології фенілкетонурії.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		№1	№2
1	Сеча здорової дитини, мл	2,0	-
2	Сеча хворої дитини, мл	-	2,0

3	10 % розчин $FeCl_3$, краплі	2	2
Реєстрація забарвлення (вказати колір)			

Висновок:_____

_____

_____

7.1. Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. Після опромінення організму в зонах радіоактивного ураження в тканинах починають синтезуватися аномальні білки. Який процес дозволяє уникнути виникнення аномалій в первинній структурі білка?
   A. Реплікація
   B. Транскрипція
   C. Репарація
   D. Трансляція
   E. Мутація

2. Яка основна умова для проходження репарації?
   A. Пошкоджено один ланцюг мРНК
   B. Пошкоджено два ланцюги ДНК
   C. Пошкоджено один ланцюг рРНК
   D. Пошкоджено один ланцюг тРНК
   E. Пошкоджено один ланцюг ДНК

3. Вкажіть тип хромосомної мутації, що виникає коли ділянка однієї хромосоми передається іншій?
   A. Делеція
   B. Транслокація
   C. Інверсія
   D. Дуплікація
   E. Трансверзія

4. Вкажіть хімічні мутагени, які за структурою схожі на азотисті основи ДНК?
   A. Дезамінуючі агенти
   B. Алкілуючі агенти
   C. Аналоги азотистих основ
   D. Трансамінуючі агенти
   E. Аналоги дезоксирибози

5. В еукаріотичній клітині відбулась мутація в другому екзоні структурного гену. Внаслідок мутації в ньому зменшилась кількість пар нуклеотидів – замість 330 пар стало 300. Вкажіть тип мутації.
   A. Дуплікація
   B. Транзиція
   C. Делеція
   D. Інверсія
   E. Трансверзія

6. Як називається тип генної мутації при заміні пуринового нуклеотиду на піримідиновий нуклеотид?
   A. Транзиція
   B. Трансверзія
   C. Інверсія
   D. Дуплікація
   E. Транслокація

7. Внаслідок тривалого споживання нітритів в організмі людини виникла мутація внаслідок дезамінування азотистих основ у ДНК. Однак дана мутація не призвела до зміни змісту кодону. Як називається мутація яка не позначається на структурі білка?
   A. Місенс-мутація
   B. Нонсенс-мутація
   C. Сайленс-мутація
   D. Сплайс-мутація
   E. Інверс-мутація

8. Вкажіть кількість праймерів, яка входить до складу реакційної суміші для ПЛР:
   A. 1
   B. 2
   C. 3
   D. 4
   E. 5

9. Який фермент каталізує процес ПЛР?
   A. ДНК-лігаза
   B. ДНК-гіраза
   C. ДНК-хеліказа
   D. ДНК-топоізомераза
   E. ДНК-полімераза

10. Вкажіть праймери, що використовуються в ПЛР:
   A. Олігодезоксирибонуклеотиди
   B. Олігорибонуклеотиди
   C. Мінорні азотисті основи
   D. Пуринові нуклеозиди
   E. Пуринові азотисті основи

7.2. Тести для перевірки кінцевого рівня знань та підготовки до ЄДКІ (Крок-1):1. Під час дослідження каріотипу п'ятирічного хлопчика виявлено 46 хромосом. Одна з хромосом 15-ї пари довша від звичайної, тому що до неї приєднана ділянка хромосоми з 21-ї пари. Укажіть вид мутації, що має місце в цього хлопчика:

A. Делеція

B. Поліплоїдія
C. Транслокація
D. Інверсія
E. Дуплікація

2. Останніми роками застосовується метод геноіндикації збудників, що дає можливість виявити в досліджуваних зразках фрагменти нуклеїнових кислот патогенів. Виберіть із наведених реакцій ту, яка підходить для цього:
A. Реакція наростання титру фага
B. Реакція преципітації
C. Імуноферментний аналіз
D. Радіоімунний аналіз
E. Полімеразна ланцюгова реакція

3. В ділянці хромосоми гени розташовані в такій послідовності: ABCDEFG. В результаті дії радіоактивного випромінювання відбулася перебудова, після чого ділянка хромосоми має наступний вигляд: ABDEFG. Яка мутація відбулася?
A. Інверсія
B. Дуплікація
C. Інсерція
D. Мутація
E. Делеція

4. Під дією УФ-опромінення та інших факторів можуть відбуватися зміни в структурі ДНК. Репарація молекули ДНК досягається узгодженою дією всіх наступних ферментів, за винятком:
A. ДНК-лігаза
B. ДНК-полімераза
C. ДНК-глікозидаза
D. Ендонуклеаза
E. Аміноацил-тРНК-синтетаза

5. Унаслідок дефіциту УФО-ендонуклеази порушується репарація ДНК і виникає таке захворювання:
A. Альбінізм
B. Подагра
C. Фенілкетонурія
D. Серпоподібноклітинна анемія
E. Пігментна ксеродермія

6. У хворого шкіра чутлива до сонячного світла. Назвіть це спадкове захворювання, зумовлене дефектами ферментів системи репарації ДНК:
A. Вітіліго
B. Альбінізм
C. Пігментна ксеродермія
D. Порфірія
E. Хвороба Леша-Ніхана

7. Юнак 15-ти років скаржиться на загальну слабкість, запаморочення, швидку стомлюваність. При обстеженні виявлено еритроцити зміненої форми, кількість їх знижена. Попередній діагноз: серпоподібно-клітинна анемія. Який тип мутації зумовлює розвиток цього патологічного стану?
A. Хромосомна аберація
B. Мутація зсуву рамки зчитування
C. Інверсія
D. Точкова мутація
E. Делеція

8. Відбулося пошкодження структурного гена – ділянки молекули ДНК. Але це не призвело до заміни амінокислот у білку, тому що через деякий час пошкодження було ліквідовано. Це прояв такої властивості ДНК, як здатність до:
A. Реплікації
B. Репарації
C. Мутації
D. Транскрипції
E. Зворотної транскрипції

9. На заняттях з молекулярної біології йде розгляд мутацій, які призводять до утворення аномального гемоглобіну. Яка заміна амінокислот відбувається при утворенні S-гемоглобіну, що спричиняє виникнення серпоподібно-клітинної анемії?
A. Глутамінова кислота валіном

B. Треонін лізином
C. Гліцин аспарагіном
D. Лізин глутаміном
E. Гістидін аргініном

10. Серпоподібно-клітинна анемія у людини супроводжується появою в крові аномального гемоглобіну, зміною форми еритроцитів, розвитком анемії. Дане захворювання є результатом:
A. Мітохондріальної мутації
B. Політенії
C. Поліплоїдії
D. Генної мутації
E. Хромосомної аберації

11. При лікуванні хворого на спадкову форму імунодефіциту було застосовано метод генотерапії: ген ферменту був внесений у клітини пацієнта за допомогою ретровірусу. Яка властивість генетичного коду дозволяє використовувати ретровіруси у якості векторів функціональних генів?
A. Універсальність
B. Колінеарність
C. Надмірність
D. Безперервність
E. Специфічність

12. У районах Південної Африки у людей розповсюджена серпоподібно-клітинна анемія, при якій еритроцити мають форму серпа внаслідок зміни в молекулі гемоглобіну амінокислоти глутамату на валін. Причиною цієї хвороби є:
A. Порушення механізмів реалізації генетичної інформації
B. Трансдукція
C. Генна мутація
D. Кросинговер
E. Геномна мутація

13. Відомо, що ген, відповідальний за розвиток груп крові системи MN, має два алельних стани. Якщо ген M вважати вихідним, то поява алельного йому гена N відбулася внаслідок:
A. Реплікації ДНК
B. Мутації
C. Комбінації генів
D. Кросинговеру
E. Репарації ДНК

7.3. Ситуаційні задачі:

1. Хворі на пігментну ксеродерму характеризуються аномально високою чутливістю до ультрафіолетових променів, результатом чого є рак шкіри внаслідок нездатності ферментних систем відновлювати ушкодження спадкового апарату клітин.

а) З порушенням якого процесу пов'язана ця патологія?
б) Дефект якого ферменту найчастіше є причиною пігментної ксеродерми?
в) Яка основна умова для проходження цього процесу?

2. Внаслідок тривалого споживання нітритів в організмі людини виникла мутація внаслідок дезамінування азотистих основ ДНК.

а) Який тип мутації за зміною генетичного апарату викликають нітрити?
б) Чи буде відмічатись зсув рамки зчитування за цих умов?
в) Як називається мутація яка не позначається на первинній структурі білка?

3. В еукаріотичній клітині відбулась мутація в структурному гені. Внаслідок мутації в ньому зменшилась кількість пар нуклеотидів – замість 300 пар стало 280.

а) Вкажіть вид мутації за характером змін в генетичному апараті?
б) Вкажіть тип цієї мутації?
в) Як називається мутація при якій відбувається заміна однієї амінокислоти на іншу в первинній структурі білка?

4. З метою діагностики гострої респіраторної хвороби COVID-19 у пацієнта було взято біоматеріал для генетичного дослідження.

а) Аналіз якої речовини буде здійснено для встановлення діагнозу COVID-19?
б) Яким методом буде проводитись цей генетичний аналіз?
в) Який процес регуляції експресії генів лежить в основі цього методу генетичного аналізу?

5. При лікуванні пацієнта на спадкову генетичну хворобу було застосовано метод генотерапії: ген ферменту був внесений у клітини пацієнта за допомогою ретровірусу.

а) Яка властивість генетичного коду дозволяє використовувати ретровіруси у якості векторів функціональних генів?

б) Яким ферментом обробляють вектор та необхідний ген для утворення липких комплементарних кінців?

в) Який фермент зшиває липкі кінці вектору та гену з утворенням рекомбінантної ДНК?

Відповіді до задач

8. Лабораторна робота:

Кількісне визначення гомогентизинової кислоти в сечі

Принцип. При окисненні гомогентизинової кислоти фосфорно-молібденовим реактивом утворюється сполука зеленого кольору. При цьому інтенсивність забарвлення прямо пропорційна кількості гомогентизинової кислоти в пробі. В нормі вміст гомогентизинової кислоти в сечі не перевищує 28 мкг/мл. Збільшення її вмісту виявляється при спадковій хворобі алкаптонурії, а також ревматизмі та тонзилітах.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		№1 (контроль)	№2 (дослід)
1	Сеча, мл	-	1,0
2	Дистильована вода, мл	1,0	-
3	0,5М розчин KH_2PO_4, мл	1,0	1,0
4	5,0% розчин молібдату амонію, мл	1,0	1,0
5	5н. розчин H_2SO_4, мл	1,0	1,0
Інкубація при кімнатній температурі на протязі 20 хв.			
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі λ = 670 нм, кювета l = 1,0 см проти контролю			
Екстинція, од.о.щ.		-	E =

Розрахунок концентрації гомогентизинової кислоти (С) в сечі проводять за формулою:

C = 41,8 • E = _____ мкг/мл

С – концентрація гомогентизинової кислоти в сечі, мкг/мл;

$E_{проби}$ – екстинція досліджуваного розчину сечі;

41,8 – коефіцієнт перерахунку.

Висновок: _____

Дата: «_____»_____ 20 р. Підпис викладача: