Молекулярная биология

Некоторые параметры молекул ДНК и белка:

- Один шаг это полный виток спирали ДНК-поворот на 360^0
- Один шаг составляют 10 пар нуклеотидов
- Длина одного шага - 3,4 нм
- Расстояние между двумя нуклеотидами - 0,34 нм
- Молекулярная масса одного нуклеотида - 345 г/моль
- Молекулярная масса одной аминокислоты – 100 г/мол
- В молекуле ДНК: А+Г=Т+Ц (Правило Чаргаффа
- Комплементарность нуклеотидов: А=Т; Г=Ц
- Цепи ДНК удерживаются водородными связями, которые образуются между комплементарными азотистыми основаниями: аденин с тимином соединяются 2 водородными связями, а гуанин с цитозином тремя.
- В среднем один белок содержит 400 аминокислот

Задачи

- Последовательность нуклеотидов одной из цепей двух молекул ДНК следующая:

- 1) …А А А Т Ц Т Т Т Т Т Т А Т А А Т Г Т…
- 2) …А Г Г Ц Ц Г Ц Г Ц Т Ц Ц Ц Ц Г А Г Г Г…

- В какой молекуле двойная спираль устойчивее к повышению температуры?

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 6000 нуклеотидов. Определите длину данного фрагмента ДНК.

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 6000 нуклеотидов. Определите длину данного фрагмента ДНК.

- <u>Решение:</u>
- 6000 : 2 = 3000 - длина одной цепи ДНК.

- 0,34 - длина одного нуклеотида
- 3000 * 0,34 нм = 1020 нм

- Ответ: 1020 нм.

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 4500 нуклеотидов. Определите длину данного фрагмента ДНК.

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 3000 нуклеотидов, из них цитидиловых нуклеотидов 650. Определите длину данного фрагмента и количество адениловых, тимидиловых и гуаниловых нуклеотидов.

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 3000 нуклеотидов, из них цитидиловых нуклеотидов 650. Определите длину данного фрагмента и количество адениловых, тимидиловых и гуаниловых нуклеотидов.

- <u>Решение:</u>
- Длина одной пары нуклеотидов 0.34 нм.
- 3000/2×0.34=510нм.
- За закону Чаргафа:
- А=Т
- Г=Ц=650 нуклеотидов
- Г+Ц=1300.
- 3000-1300=1700.
- 1700=А+Т
- А=Т=850 нуклеотидов.

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 5760 нуклеотидов, из них тимидиловых нуклеотидов 1125. Определите длину данного фрагмента и количество адениловых, гуаниловых и цитидиловых нуклеотидов.

Задачи

- Определите количество водородных связей во фрагменте ДНК – ГТЦАТГГАТАГТЦЦТАТ

- <u>Решение:</u>
- Цепи ДНК комплементарны , значит суммы А+Т и Г+Ц равны суммам второй цепи. Между А и Т образуется 2 водородные связи, между Г и Ц – 3 связи.
- А+Т=10·2=20, Г+Ц=7·3=21, 20+21= 41 водородных связей

Задачи

- Определите количество водородных связей во фрагменте ДНК – ТЦГАГТАЦЦТАТГАТЦЦЦ

Задачи

- Молекула ДНК состоит из 4000 нуклеотидов. Определите число полных спиральных витков в данной молекуле

- <u>Решение:</u>
- Полный виток или один шаг в молекуле ДНК составляют 10 пар нуклеотидов. В данной молекуле 4000 нуклеотидов, что составляет 2000 пар, следовательно: 2000:10=200 полных витков.
- Ответ: 200 полных спиральных витков в молекуле ДНК

Задачи

- Молекула ДНК состоит из 3600 нуклеотидов. Определите число полных спиральных витков в данной молекуле.

Задачи

- Длина участка молекулы ДНК составляет 850 нм. Определите количество нуклеотидов в одной цепи ДНК

Задачи

- Длина участка молекулы ДНК составляет 850 нм. Определите количество нуклеотидов в одной цепи ДНК

- Решение:
- Расстояние между двумя нуклеотидами - 0,34 нм
- 850/0,34 = 2500 нуклеотидов

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 1000 нуклеотидов, из них адениловых нуклеотидов 23%. Определите количество гуаниловых, тимидиловых и цитидиловых нуклеотидов.

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 1000 нуклеотидов, из них адениловых нуклеотидов 23%. Определите количество гуаниловых, тимидиловых и цитидиловых нуклеотидов.

- Решение:
- 1000 нуклеотидов это 100%, определим, сколько нуклеотидов составляет 23% адениловых: 23·1000:100=230 нуклеотидов,
- А=Т=230, 1000-460(А+Т)=540(Г+Ц); Г=Ц=270(540:2)
- Ответ: Г-270, Т-230, Ц-270 нуклеотидов в фрагменте ДНК

Задачи

- Фрагмент молекулы ДНК состоит из 2000 нуклеотидов, из них гуаниловых нуклеотидов 18%. Определите количество адениловых, тимидиловых и цитидиловых нуклеотидов.

Задачи

- Определите молекулярную массу фрагмента ДНК если он состоит из 900 нуклеотидов.

Задачи

- Определите молекулярную массу фрагмента ДНК если он состоит из 900 нуклеотидов.

- Решение:
- Молекулярная масса одного нуклеотида составляет 345 г/моль, следовательно молекулярная масса фрагмента ДНК: 900·345=310500 г/моль
- Ответ: молекулярная масса фрагмента ДНК- 310500 г/моль

Задачи

- Определите молекулярную массу фрагмента ДНК если он состоит из 1400 нуклеотидов.

Задачи

- Молекулярная масса молекулы ДНК составляет 17250 г/моль Определите количество нуклеотидов в молекуле и её длину.

Задачи

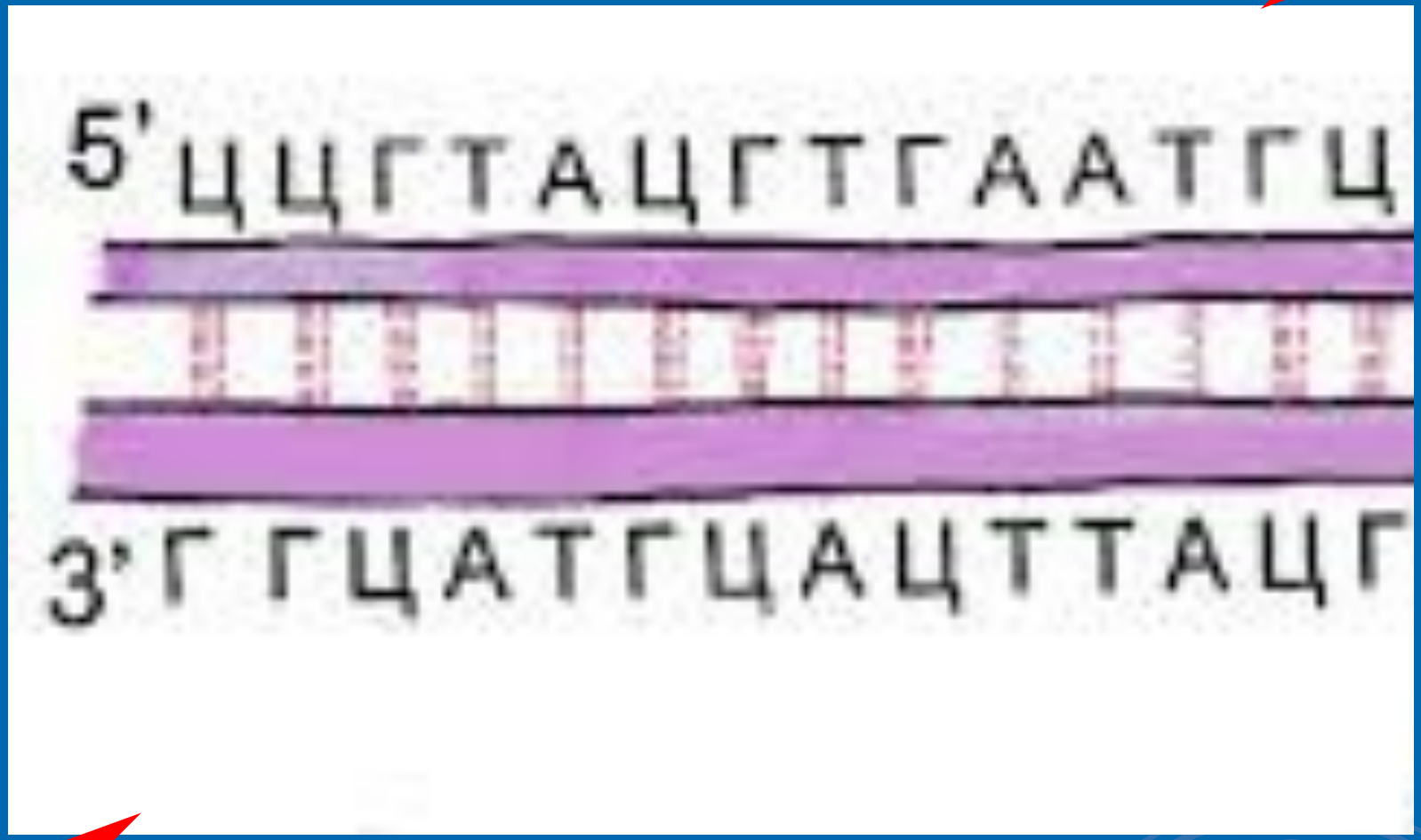
- Молекулярная масса молекулы ДНК составляет 17250 г/моль Определите количество нуклеотидов в молекуле и её длину.

- <u>Решение:</u>
- Молекулярная масса одного нуклеотида - 345 г/моль
- 17250 / 345 = 50 нуклеотидов
- Всего в молекуле ДНК 50 / 2 = 25 пар нуклеотидов
- Расстояние между двумя нуклеотидами - 0,34 нм
- 25 х 0,34 = 8,5 нм

Задачи

- Молекулярная масса молекулы ДНК составляет 27600 г/моль Определите количество нуклеотидов в молекуле и её длину.

F (Forward)



R (Reverse)

Вторичная структура ДНК

Правила расположения нуклеотидов в ДНК:

5’ CATGTA 3’
3’ GTACAT 5’

CATGTA

Homo sapiens insulin (INS), transcript variant 3, mRNA

NCBI Reference Sequence: NM_001185098.2

GenBank Graphics

```
>NM_001185098.2 Homo sapiens insulin (INS), transcript variant 3, mRNA
AGCCCTCCAGGACAGGCTGCATCAGAAGAGGCCATCAAGCAGGTCTGTTCCAAGGGCCTTTGCGTCAGGT
GGGCTCAGGATTCCAGGGTGGCTGGACCCCAGGCCCCAGCTCTGCAGCAGGGAGGACGTGGCTGGGCTCG
TGAAGCATGTGGGGGTGAGCCCAGGGGCCCCAAGGCAGGGCACCTGGCCTTCAGCCTGCCTCAGCCCTGC
CTGTCTCCCAGATCACTGTCCTTCTGCCATGGCCCTGTGGATGCGCCTCCTGCCCCTGCTGGCGCTGCTG
GCCCTCTGGGGACCTGACCCAGCCGCAGCCTTTGTGAACCAACACCTGTGCGGCTCACACCTGGTGGAAG
CTCTCTACCTAGTGTGCGGGGAACGAGGCTTCTTCTACACACCCAAGACCCGCCGGGAGGCAGAGGACCT
GCAGGTGGGGCAGGTGGAGCTGGGCGGGGGCCCTGGTGCAGGCAGCCTGCAGCCCTTGGCCCTGGAGGGG
TCCCTGCAGAAGCGTGGCATTGTGGAACAATGCTGTACCAGCATCTGCTCCCTCTACCAGCTGGAGAACT
ACTGCAACTAGACGCAGCCCGCAGGCAGCCCCACACCCGCCGCCTCCTGCACCGAGAGAGATGGAATAAA
GCCCTTGAACCAGC
```

F (Forward)

- 5’ CCGTACGTGAATGC 3’

- 5’ GCATTCACGTACGG 3’

R (Reverse)

R (Reverse)

- 5’ GCATTCACGTACGG 3’

C (Complement)

CGTAAGTGCATTGCC

RC (Reverse-Complement)

CCGTACGTGAATGC

Выравнивание генетических последовательностей

- В эволюции генетических последовательностей происходят как замены, так и вставки и делеции. Первым этапом филогенетического анализа является идентификация вставок и делеций, имевших место в эволюционной истории анализируемой группы последовательностей. Эту процедуру называют выравниванием (to align, alighment) последовательностей.

- Выравнивание последовательностей направлено на выявление гомологичных (имеющих общее эволюционное происхождение) позиций анализируемых последовательностей, установление наиболее вероятного, т.е. требующего наименьшего числа эволюционных событий, сценария эволюции анализируемой группы.

Выравнивание генетических последовательностей

```
                 111111111122
        123456789012345678901
1       ATACCTGCGATAGCTTCTGAT
        ||||||||||**********
2       ATACCTGCGAAGCTTCTGAT.
```

Выравнивание генетических последовательностей

```
                    111111111122
          123456789012345678901
1         ATACCTGCGATAGCTTCTGAT
          ||||||||||| ||||||||||
2         ATACCTGCGA.AGCTTCTGAT
```

Выравнивание генетических последовательностей

- **Clustal - это одна из самых широко используемых компьютерных программ для множественного выравнивания нуклеотидных и аминокислотных последовательностей (multiple sequence alignment).**

- **https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/**

BLAST

- BLAST (англ. Basic Local Alignment Search Tool — средство поиска основного локального выравнивания) — семейство компьютерных программ, служащих для поиска гомологов белков или нуклеиновых кислот, для которых известна первичная структура (последовательность) или её фрагмент.
- Используя BLAST, исследователь может сравнить имеющуюся у него последовательность с последовательностями из базы данных и найти последовательности предполагаемых гомологов.
- Является важнейшим инструментом для молекулярных биологов, биоинформатиков и систематиков.

Классификация программ серии BLAST
Нуклеотидные

- предназначены для сравнения изучаемой нуклеотидной последовательности с базой данных секвенированных нуклеиновых кислот и их участков:

- blastn — медленное сравнение с целью поиска всех сходных последовательностей и др.
- megablast — быстрое сравнение с целью поиска высоко сходных последовательностей,
- dmegablast — быстрое сравнение с целью поиска дивергировавших последовательностей, обладающих незначительным сходством,

Классификация программ серии BLAST

Белковые

- предназначены для сравнения изучаемой аминокислотной последовательности белка с имеющейся базой данных белков и их участков.

- blastp — медленное сравнение с целью поиска всех сходных последовательностей,
- cdart — сравнение с целью поиска гомологичных белков по доменной архитектуре,
- rpsblast — сравнение с базой данных консервативных доменов,
- psi-blast — сравнение с целью поиска последовательностей, обладающих незначительным сходством,
- phi-blast — поиск белков, содержащих определённый пользователем паттерн и др.

Классификация программ серии BLAST

Транслирующие

- способны транслировать нуклеотидные последовательности в аминокислотные:
- blastx — переводит изучаемую нуклеотидную последовательность в кодируемые аминокислоты, а затем сравнивает её с имеющейся базой данных аминокислотных последовательностей белков,
- tblastn — изучаемая аминокислотная последовательность сравнивается с транслированными последовательностями базы данных секвенированных нуклеиновых кислот,
- tblastx — переводит изучаемую нуклеотидную последовательность в аминокислотную, а затем сравнивает её с транслированными последовательностями базы данных секвенированных нуклеиновых кислот.

Классификация программ серии BLAST

Геномные

- предназначены для сравнения изучаемой нуклеотидной последовательности с базой данных секвенированного генома какого-либо организма (человека, мыши и др.)

- magicblast — картирует прочтения (риды) на полный геном или транскриптом.

Задачи

1. Найти в ГенБанке нуклеотидную последовательность гена (части гена) инсулина человека https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/
2. С помощью программы blastn найти в нуклеотидном виде гомологи этой последовательности https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
3. Создать новый файл с расширением .fasta в программе UltraEdit
4. Выбрать среди найденных гомологов несколько от пяти разных видов организмов
5. Открыть их нуклеотидную последовательность в формате FASTA

Задачи

6. Копировать последовательности в созданный файл
7. Открыть файл с помощью программы MEGA5
8. Выровнять последовательности в программе MEGA5
9. Найти наилучшую модель построения филогенетического дерева
10. Построить филогенетическое дерево для выбранных нуклеотидных последовательностей