

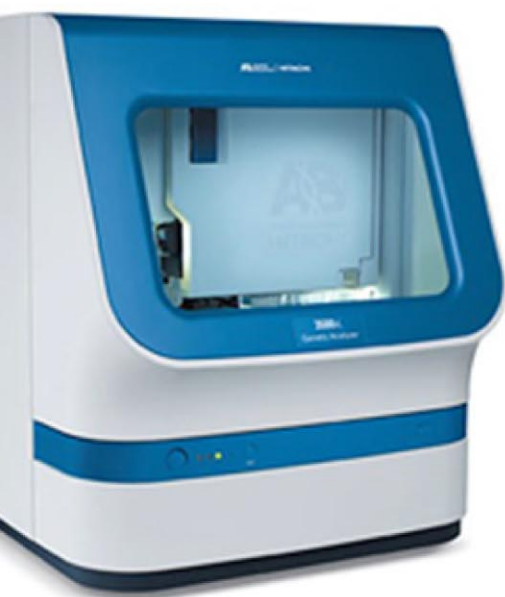


СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
SIBERIAN FEDERAL UNIVERSITY

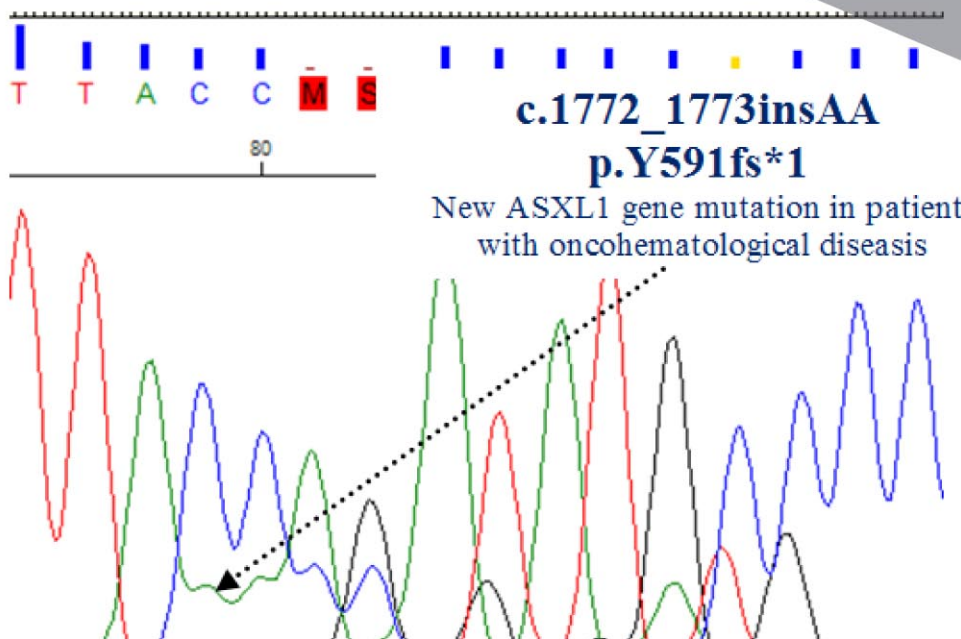
Т.Н. Субботина, П.А. Николаева, А.Е. Харсекина

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

ПРАКТИКУМ



AB 3500



ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ

УДК 577.21(07)
ББК 28.070я73
С890

Р е ц е н з е н т ы:

Т.В. Наседкина, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов ИМБ РАН;

Ю.В. Гуляева, кандидат биологических наук, заведующий онкологическим отделением иммунологии Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова

Субботина, Т.Н.

С890 Молекулярная биология и геновая инженерия : практикум / Т.Н. Субботина, П.А. Николаева, А.Е. Харсекина. – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2018. – 60 с.
ISBN 978-5-7638-3857-2

Приведены практические работы и ситуационные задачи по темам «Мутации и полиморфизмы», «Биологический материал для проведения анализа нуклеиновых кислот», «Молекулярно-генетические методы выявления мутаций и полиморфизмов», «Геновая инженерия».

Предназначен для студентов, обучающихся по направлению 06.04.01 «Биология», магистерская программа 06.04.01.05 «Реконструктивная биоинженерия».

Электронный вариант издания см.:
<http://catalog.sfu-kras.ru>

УДК 577.21(07)
ББК 28.070я73

ISBN 978-5-7638-3857-2

© Сибирский федеральный университет, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
Т е м а 1. МУТАЦИИ И ПОЛИМОРФИЗМЫ. РАБОТА С ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	7
1.1. Поиск нуклеотидной последовательности гена (на примере гена CALR).....	7
1.2. Поиск мРНК гена (на примере гена CALR)	10
1.3. Определение количества экзонов и интронов в составе гена (на примере гена CALR) и поиск нуклеотидной последовательности какого-либо экзона или интрона (например, 9-го экзона гена CALR)	13
1.4. Просмотр мРНК гена с выделением подсвечиванием отдельно каждого экзона (например, выделение 9-го экзона гена CALR).....	18
1.5. Поиск того нуклеотида в составе геномной ДНК и мРНК, после которого расположены полиморфизм (SNP) или мутация с определенным rs (например, мутация с.1154_1155insTTGTC в гене CALR).....	21
1.6. Поиск последовательности аминокислот белка, транслированного с интересующего гена (например, CALR).....	28
1.7. Поиск информации о какой-либо мутации или полиморфизме в базе NCBI	35
1.8. Определение частоты встречаемости какого-либо полиморфизма или мутации в различных популяциях (на примере полиморфизма в гене F5 (фактор Лейдена) rs6025)	46
Т е м а 2. БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	49
Тема 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ И ПОЛИМОРФИЗМОВ: РЕШЕНИЕ СИТУАЦИОННЫХ ЗАДАЧ ПО ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ СЕКВЕНИРОВАНИЕМ ПО МЕТОДУ СЕНГЕРА	52
Тема 4. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ РЕСТРИКТАЗ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ И МУТАЦИЙ, ПЦР/ПДРФ-АНАЛИЗ	56
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	58

Т е м а 1

МУТАЦИИ И ПОЛИМОРФИЗМЫ. РАБОТА С ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

1.1. Поиск нуклеотидной последовательности гена (на примере гена CALR)

Теоретические сведения

В конце прошлого и начале текущего столетия геном человека был расшифрован и для большинства хромосом были составлены цитогенетические карты. Вся полученную информацию можно получить при обращении к соответствующим базам данных. Ген – структурная и функциональная единица наследственности живых организмов. На сегодняшний день известно примерно 25 тыс. генов, которые кодируют информацию о структуре белков и РНК в геноме человека. Ген состоит из последовательности нуклеотидов: аденина (А), тимина (Т), гуанина (G) и цитозина (С). Поиск нуклеотидной последовательности гена – необходимый этап работы любого специалиста, работающего в области молекулярной биологии. Умение работы с последовательностью гена нужно, например, при подборе праймеров с целью дальнейшей оценки интересующего фрагмента ДНК на предмет наличия мутаций или каких-либо специфических последовательностей в гене (промоторы, стоп- и старт-кодоны, полиА-последовательности и др.).

Ниже приведен пример тех действий, с помощью которых можно найти последовательность интересующего нас гена.

Ход работы

Зайти на сайт базы NCBI. В левом окне выбрать «Gene», в правом окне написать общепринятое название нужного гена на английском языке (например, CALR) и кликнуть «Search» (рис. 1.1).

В окне будут показаны ссылки на данный ген для разных организмов и их ID. Также здесь указаны номер хромосомы, на которой локализован данный ген и номера нуклеотидов, соответствующих расположению гена на этой хромосоме. В частности, выбираем вариант гена CALR для человека (*Homo sapiens (human)*). ID этого гена в геноме человека – 811. Номер хромосомы, на которой расположен ген, – 19. Номера нуклеотидов гена в хромосоме: 12938600–12944490. Но при работе с этой нумерацией обязательно нужно учитывать, что она соответствует определенному номеру сиквенса данной хромосомы (NC). Так, в приведенном примере вариант сиквенса – это NC_000019.10.

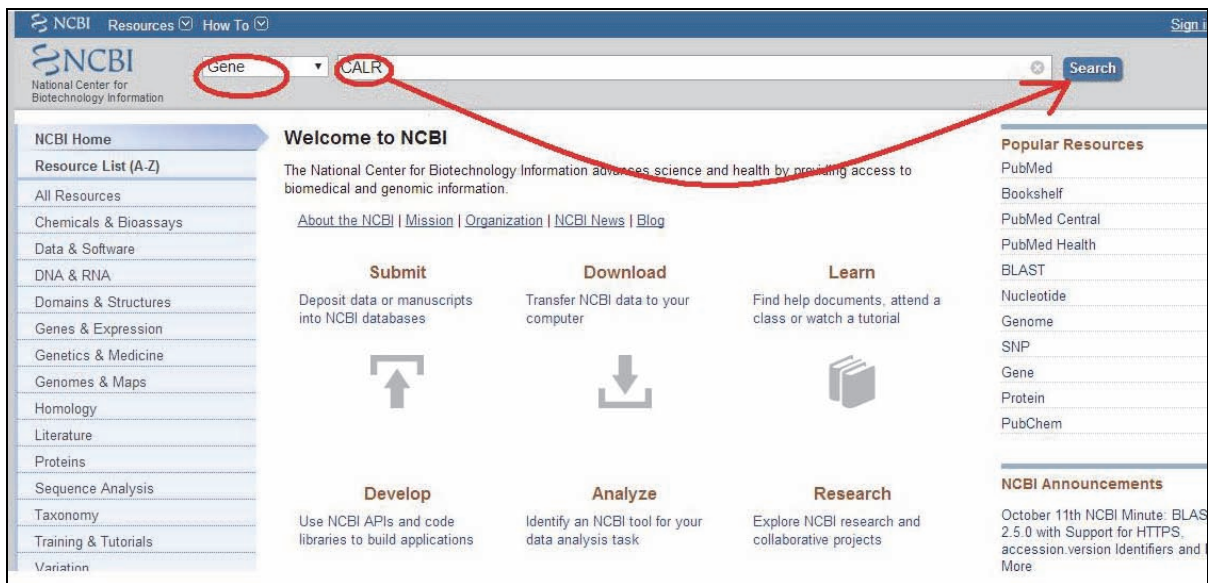


Рис. 1.1

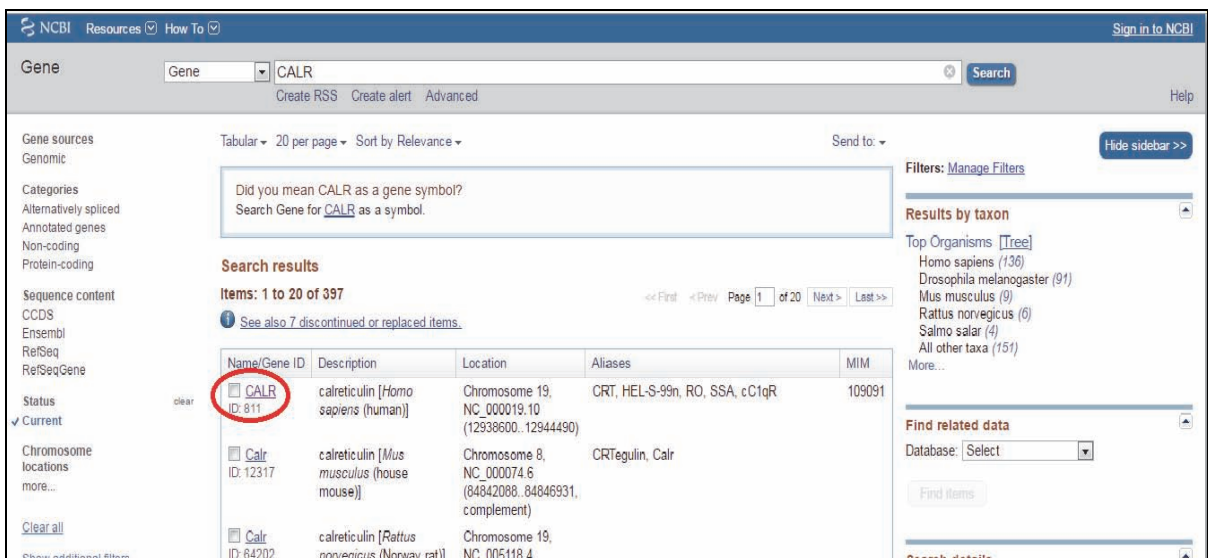


Рис. 1.2



Рис. 1.3

Далее нужно кликнуть на вариант гена CALR для человека (*Homo sapiens* (human)) – см. рис. 1.2.

В появившемся окне кликнуть на «Full Report» и выбрать «Gene Table» (рис. 1.3).

Далее кликнуть закладку «GenBank» (рис. 1.4).

В появившемся окне представлена последовательность гена CALR (рис. 1.5).

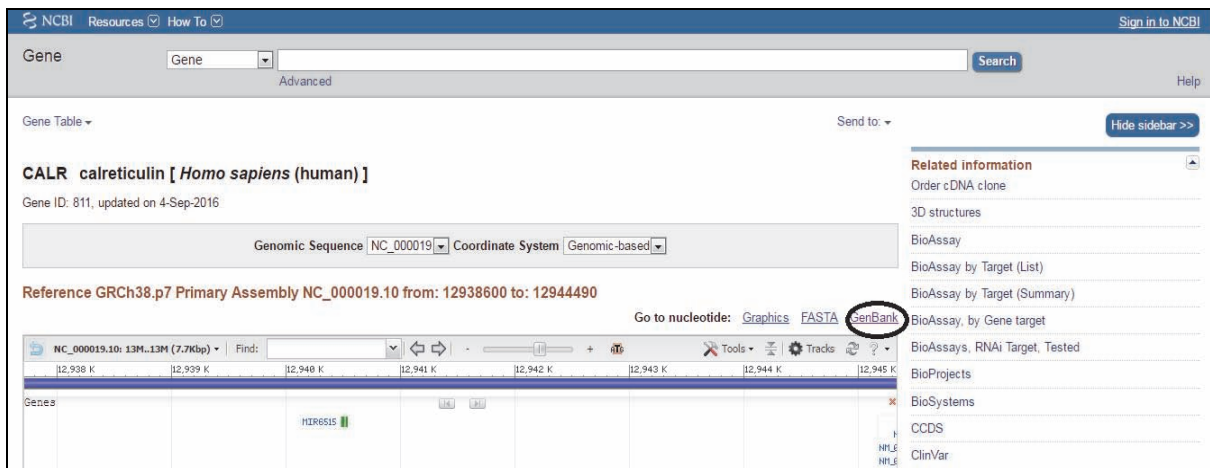


Рис. 1.4



Рис. 1.5

Последовательность искомого гена дана в виде перечня нуклеотидов только одной цепи ДНК в направлении 5'→3'. Нуклеотиды представлены по 10 шт. в каждом столбце и по 6 столбцов в каждой строке. Нумерация нуклеотидов сквозная, независимо от места расположения стартового кодона и начала экзонов и интронов.