

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО



МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
ЩОДО ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«ОСНОВИ ФІЗИКО-ХІМІЧНОЇ БІОЛОГІЇ»
ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДЕННОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ
ГАЛУЗЬ ЗНАНЬ 10 «ПРИРОДНИЧІ НАУКИ»
СПЕЦІАЛЬНІСТЬ 101 – «ЕКОЛОГІЯ»
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНА ПРОГРАМА
«ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОЕНЕРГЕТИКА»

КРЕМЕНЧУК 2018

Методичні вказівки щодо практичних робіт з навчальної дисципліни
«Основи фізико-хімічної біології» для студентів денної форми навчання
Галузь знань 10 «Природничі науки» спеціальність 101 – «Екологія»
освітньо-професійна програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладачі: старш. викл. О. О. Никифорова

Рецензент д.б.н., проф. В. В. Никифоров,

Кафедра біотехнологій та біоінженерії

Затверджено методичною радою Кременчуцького національного університету
імені Михайла Остроградського

Протокол №__ від_____2018 р.

Голова методичної ради

проф. В. В. Костін

ЗМІСТ

Вступ.....	4
1 Перелік практичних занять.....	6
Практичне заняття № 1 Обмін речовин і енергії.....	6
Практичне заняття № 2 Біохімічні зміни в організмі людини при навантаженні.....	15
Практичне заняття № 3 Біохімічні основи м'язового скорочення.....	23
Практичне заняття № 4 Молекулярні основи спадковості. Будова ДНК та РНК.....	30
Практичне заняття № 5 Зберігання і модифікація генетичного матеріалу.....	39
Практичне заняття № 6 Експресія генетичного матеріалу.....	44
2 Критерії оцінювання знань студентів.....	52
Список літератури.....	54

ВСТУП

Предметом вивчення навчальної дисципліни «Основи фізико-хімічної біології» є питання, які стосуються, молекулярних основ та механізмів спадковості. Крім того, найважливіші питання, такі, як структура білкових молекул, нуклеїнові кислоти, особливості процесів транскрипції і трансляції, структура рибосом, загальні особливості реплікації ДНК тощо.

Метою дисципліни є систематичне уявлення про молекулярні основи життєдіяльності вірусних часток, клітин про- та еукаріот, генетичної ролі нуклеїнових кислот (ДНК та РНК), функціонування та побудови геному та пов'язаних з ним структур та молекул, насамперед білків, які виконують структурну та ферментативну функцію по відношенню до генома, про процеси та механізми реалізації генетичної інформації.

Завдання курсу – розглянути особливості:

- молекулярної структури, фізико-хімічних та біологічних властивостей нуклеїнових кислот – ДНК та РНК;
- молекулярної структури білків, їх конформацій та ролі у підтриманні функціонального стану геному;
- принципів функціонування генетичного коду;
- механізму реплікації ДНК за участю різноманітних ферментних систем;
- улаштування геномів вірусів, про- і еукаріот;
- тонкої структури генів та особливостей їх експресії у еукаріот та прокаріот;
- мобільних елементів геному та їх ролі у еволюції живих істот;
- механізмів біосинтезу білка та його регуляції на транскрипційному й трансляційному рівнях;
- молекулярних механізмів рекомбінації;
- репаративних процесів;
- принципів конструювання рекомбінантних ДНК;
- інформаційно-аналітичних методів, що використовуються в

молекулярній біології;

– сучасних методів визначення первинної структури нуклеїнових кислот та білків.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен **знати:**

– особливості молекулярної структури, фізико-хімічних та біологічних властивостей нуклеїнових кислот і білків;

– особливості будови геномів вірусів, про- і еукаріот;

– механізм реплікації ДНК у організмів різних рівнів організації

– структуру генів та особливості їх експресії

– принципи кодування генетичної інформації

– механізми біосинтезу, структуру та функціонування білків;

– мобільні елементи геному та їх ролі у еволюції живих істот;

– методи дослідження послідовності амінокислот у білках та нуклеотидів у ДНК та РНК;

– методи оперування нуклеїновими кислотами з метою отримання генетично модифікованих істот.

Уміти:

– аналізувати механізми біосинтезу білка та його регуляції;

– визначати молекулярні механізми рекомбінації;

– використовувати інформаційно-аналітичні методи, що застосовуються в молекулярній біології для аналізу геномів та генетичних послідовностей;

– застосовувати сучасні методи визначення первинної структури нуклеїнових кислот та білків;

– здійснювати вибір оптимального методу генетичної трансформації живих істот.

Міждисциплінарні зв'язки: дана дисципліна спирається на знання, здобуті студентами при вивченні біології, хімії, фізики, клітинної біохімії, і є необхідною майбутнім науковцям для успішного виконання своїх професійних завдань.

ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

Практичне заняття № 1

Тема. Обмін речовин і енергії

Мета: ознайомитись із обміном речовин і перетворенням енергії в людському організмі, виявити біохімічні чинники, які порушують обмін речовин.

Навчальні елементи: анаболізм, катаболізм, аеробне та анаеробне окислення, АТФ.

Короткі теоретичні відомості

1. Поживні речовини. Їх роль та добові потреби людини

Білки. Біологічна цінність білків тваринного і рослинного походження визначається складом амінокислот. У білку, який відповідає потребам людського організму, 31,4 % складають незамінні амінокислоти.

Добова доза білків для дорослої людини складає 80–100 грам з яких половина – тваринного походження.

Вуглеводи. Біологічну цінність серед вуглеводів харчів мають полісахариди – крохмаль та глікоген: дисахариди – сахароза, лактоза, мальтоза. Лише невелика доля вуглеводів харчів припадає на моносахариди (глюкоза, фруктоза, пентози і т. д.). Вміст моносахаридів у їжі може зрости після кулінарної чи іншої обробки харчових продуктів. Основна функція вуглеводів – енергетична. Вуглеводи, що мають в-глікозидні зв'язки не розщеплюються, тому вони грають допоміжну роль у травленні, активізуючи механічну діяльність кишечника.

Добова потреба дорослої людини у вуглеводах складає 400–500 г, з них біля 400 г припадає на крохмаль. Вся інша частина – на дисахариди, в основному, на сахарозу.

Ліпіди. Біологічну цінність для організму людини представляють в основному наступні компоненти їжі. Триацилгліцерини, що складають основну частину ліпідів їжі. Різні види фосфоліпідів, що входять до складу мембран

клітин, поступають з продуктами тваринного походження (м'ясні продукти, жовток яєць, масло і т. д.), так само як і холестерин та його ефіри. Фосфоліпіди і холестерин зумовлюють пластичну функцію ліпідів їжі. З ліпідами їжі поступають незаміними для організму жиророзчинні вітаміни та вітаміноподібні зв'язки.

Добова потреба у харчових ліпідах складає 80–100 г.

Вітаміни та вітаміноподібні речовини поступають в організм з рослинними та тваринними продуктами. Вітаміни – абсолютно незамінні компоненти їжі, оскільки вони використовуються для синтезу в клітинах організму коферментів, що являються обов'язковою частиною складних ферментів.

Мінеральні речовини. Головним їх джерелом служать небіологічні компоненти їжі. Частково вони поступають в організм з харчовими продуктами тваринного і рослинного походження.

Мінеральні речовини відносяться до незамінних факторів їжі.

Вода відноситься до незамінних компонентів їжі, хоча невелика кількість води утворюється з білка ліпідів і вуглеводів при обміні їх у тканинах. Вода поступає з продуктами біологічного та небіологічного походження.

Добова потреба для дорослої людини складає 1750–2200 г.

Раціональне харчування повинно повністю задовольняти потреби людини в енергії та пластичних речовинах та сприяти збереженню здоров'я, високої працездатності, а дітям забезпечувати правильний ріст та розвиток.

2. Катаболізм біомолекул

Катаболізм (*katabole* – від грец. руйнація) – сукупність біохімічних процесів розщеплення складних молекул до більш простих, у тому числі до кінцевих продуктів обміну. Катаболічні процеси – це екзергонічні, тобто супроводжуються виділенням енергії, яка акумулюється у високоенергетичних (макроергічних) сполуках (наприклад, АТФ, креатинфосфат тощо); ці сполуки в подальшому використовуються для анаболічних перетворень. Між катаболізмом та анаболізмом існує взаємозв'язок, який реалізується на

енергетичному рівні, а також на рівні субстратів. Катаболічні перетворення постачають енергію для реакцій синтезу (Рис.1.1).

Крім того, в ході катаболізму відбувається утворення простих сполук, які можуть бути використані для синтезу більш складних

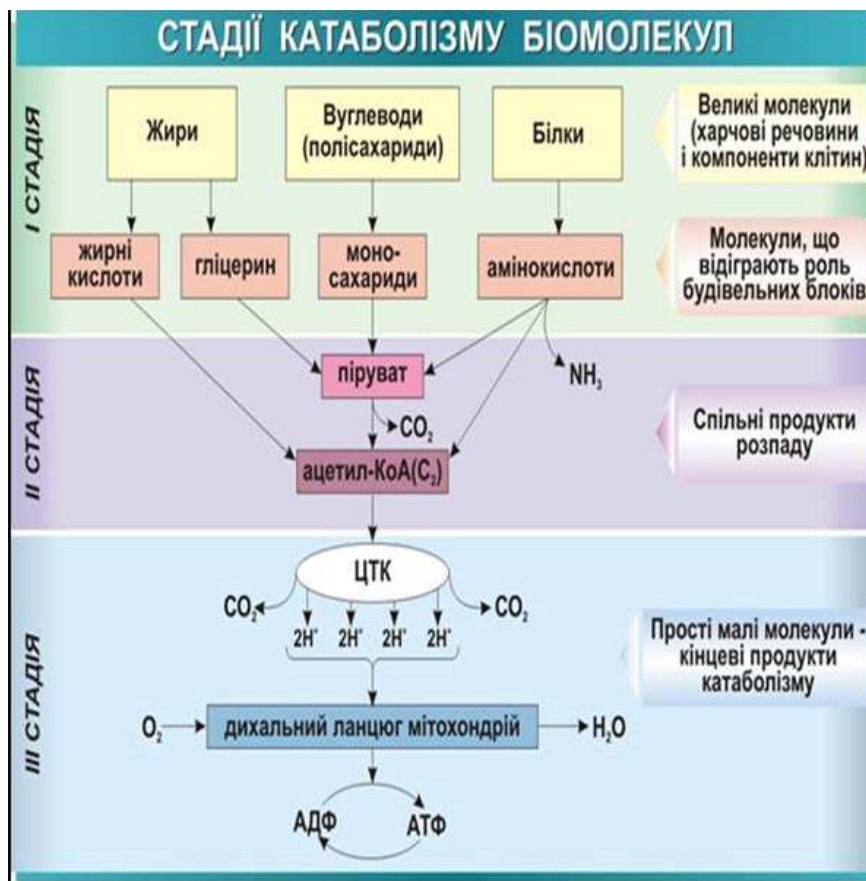


Рисунок 1.1 – Стадії катаболізму біомолекул

3. Харчовий раціон людини

В добовий харчовий раціон людини, що не займається фізичною працею (студенти, лікарі, службовці) повинно входити 91 г білка, 103 г жиру, 378 г вуглеводів. В сумі це складає 2800 Ккал.

Крім того, з їжею повинні поступати мінеральні солі, вітаміни і вода. При різноманітному змішаному харчуванні, що вміщає продукти тваринного (м'ясо, вершкове масло, молоко) та рослинного (овочі, фрукти, олія) походження, не потрібно спеціально турбуватися про доставку вітамінів та неорганічних солей. Всі вони є в їжі в необхідній кількості. Виключення складає поварена сіль, якої потрібно додавати біля 5 г на добу.

При фізичній роботі зростає потреба в енергії і пластичних речовинах, тому потрібно збільшувати вміст у дієті не тільки жиру і вуглеводів, а й білків. Склад компонентів харчових продуктів повинен відповідати обміну речовин і визначатися специфікою тих ферментів організму, від яких залежить засвоюваність поживних речовин.

Відхилення в кількісному та якісному складі поживних речовин призводить до порушення обміну речовин та захворювань. З іншого боку, харчування служить ефективним засобом лікування різних захворювань: лікувальне та парентеральне харчування, під час проведення яких склад харчових речовин відновлює порушення в метаболізмі.

Процес перетворення (засвоєння) поживних речовин відрізняється від розпаду білків, вуглеводів, ліпідів організму. Поживні речовини проходять наступні обов'язкові етапи метаболізму: травлення, всмоктування (або транспорт через стінки кишечника), транспорту від кишечника до інших органів і тканин, проникнення всередину клітини (етап транспорту через клітинну мембрану) і перетворення ферментів певними системами клітин.

При обміні внутріклітинних компонентів відсутній етап обробки їх у травному каналі і всмоктування, а в ряді випадків етап міжорганного міжтканевого транспорту.

4. Обмін речовин

Сукупність всіх клінічних перетворень в організмі, тобто процесів асиміляції, дисиміляції, називають **обміном речовин**. Обмін речовин є головною характерною властивістю живого організму. Сутність його полягає у постійному обміні речовинами між організмом і навколишнім середовищем.

В організмі безперервно відбуваються утворення, руйнування і оновлення клітинних структур і міжклітинної речовини. Відновлення, синтез, засвоєння речовин клітинами, перетворення у собі подібного називається процесом **асиміляції**. Одночасно відбувається процес **дисиміляції** – розщеплення, розпад речовин, які входять у склад клітини. При цьому утворюються кінцеві продукти розпаду CO_2 , H_2O , і NH_3 , які виділяються з організму (Рис. 1.2).



Рисунок 1.2 – Схема обміну речовин

5. Порівняння анаболізму та катаболізму

Звичайно процеси метаболізму ділять на процеси катаболізму (від грец. *kata* – вниз) й анаболізму (від грец. *ana* – вгору).

Катаболізм і анаболізм – це пов’язані, взаємодоповнювані процеси, що поєднуються через систему АТФ-АДФ, відновлені й окиснені форми коферментів (НАДН⁺ і НАД⁺), субстрати і продукти:

Катаболізм	Анаболізм
1. Розпад складних органічних молекул до більш простих кінцевих продуктів.	1. Синтез складних органічних молекул із більш простих.
2. Важливі ключові реакції – окиснення метаболітів. Використовуються окиснені коферменти, виникають відновлені.	2. Важливі ключові реакції – відновлення. Використовується відновлені форми коферментів, утворюються окиснені.
3. Виділяється вільна енергія (екзергонічні процеси). Частина її застосовується для утворення АТФ.	3. Затрачається енергія (ендергонічні процеси). Джерело енергії – АТФ, катаболічні процеси.
4. Із різних вихідних речовин утворюються однакові кінцеві продукти.	4. Однакові вихідні речовини утворюють різні кінцеві продукти.
5. Проміжні продукти (метаболіти) і кінцеві продукти катаболізму можуть служити субстратами (вихідними речовинами) анаболізму.	5. Кінцеві продукти анаболізму служать вихідними речовинами катаболізму.

6. Обмін білків

Білки – це високомолекулярні сполуки, які містять, на відміну від жирів і вуглеводів азот. Вони складаються з 20 різних амінокислот.

Амінокислоти поділяються на замінні незамінні. Замінні (глікокол, аланін, цистеїн можуть синтезуватися в організмі. Незамінні амінокислоти не синтезуються в організмі і обов'язково повинні поступати в організм з їжею.

Білки є основним **пластичним** матеріалом, тобто основною частиною клітини. Наприклад, у скелетних м'язах міститься 20 % білка. Білки входять в склад ферментів, каталізуючих всі хімічні реакції в організмі. Вони приймають участь в забезпеченні більшості функцій організму.

У цитоплазмі клітини безперервно відбувається розпад і заміна білків. У людини, яка отримує з їжею білок, виділяється азоту більше, при чому чим більше вводиться білка, тим більше його руйнується. Це пояснюється тим, що білок не може відкладатися про запас. Нормальним вважається такий стан білкового обміну, коли кількість засвоєного білка відповідає масі білка, який розпався в організмі. Такий стан називається азотистою рівновагою.

ЦНС регулює білковий обмін, впливаючи на утворення і виділення в кров гормонів. На білковий обмін впливає соматотропний гормон, гормон щитовидної залози, тироксин і глюкокортикоїди коркової речовини, коркирників.

7. Обмін жирів (ліпідів)

Ліпіди – складні ергамічні сполуки, до яких відносяться нейтральні жири, які складаються з гліцерину і жирних кислот. Крім того, в склад ліпоїдів, крім жирних кислот, входять багатоклітинні спирти, фосфати і азотисті сполуки.

Жир в організмі відіграє **пластичну і енергетичну роль**. Як пластичний матеріал, він входить до складу оболонки і цитоплазми клітин. Частина жирів накопичується в клітинах жирової тканини як затильний жир, кількість якого складає 10–30 % від маси тіла, а при порушенні обміну може досягати великих розмірів. Жир в організмі використовується як енергетичний матеріал. Обмін ліпідів тісно пов'язаний з обміном білків і вуглеводів.

Наприклад, при надмірному поступленні білків і вуглеводів в організм вони можуть перетворюватися в жири. В умовах голодування з жирів утворюються вуглеводи, які використовуються як енергетичний матеріал.

8. Обмін вуглеводів

Вуглеводи поділяються на прості і складні. З їжею, головним чином, поступають складні вуглеводні полісахариди, дисахариди та інші речовини. При їх розщепленні в травному каналі утворюються прості моносахариди: глюкоза, фруктоза, галактоза, які всмоктуються з кишечника в кров. В організм вуглеводи поступають головним чином з рослинною їжею (хліб, овочі, фрукти). При надмірному вживанні вуглеводів, вони можуть перетворюватися в жири і відкладатися в необмежених кількостях в жирове депо.

Моносахариди, які всмокталися у кишечнику з кров'ю через воркотню вену попадають у печінку. Тут частина їх перетворюється у глікоген і відкладається про запас. Крім печінки, глікоген відкладається у скелетних м'язах. Процес утворення і відкладення глікогену регулюється гормоном підшлункової залози. Крім того, в регулюванні вуглеводного обміну приймають участь гормони кори надниркових залоз, передньої долі гіпофізу, а також щитовидної залози.

9. Обмін енергії

Для життєдіяльності організму необхідна енергія. Вона вивільняється в процесі дисиміляції складних органічних сполук: білків, жирів і вуглеводів, потенціальна енергія яких при цьому переходить в кінетичну види енергії, в основному, в теплову, механічну і частково в електричну. Розщеплення проходить шляхом приєднання кисню окислення. При окисленні 1 г жиру в організмі виділяється 9,3 Ккал тепла, 1 г вуглеводів – 4,1 ккал, 1 г білка – 4,1 Ккал. Та кількість тепла, яка виділяється при окисленні в організмі 1 г речовини, називається теплотою згорання.

Частина енергії, що вивільняється, використовується для синтетичних процесів – відновлення і будови нових клітин і тканин, частина використовується в процесі функціонування органів і тканин: скорочення

м'язів, проведення нервових імпульсів, синтезу ферментів і гормонів. Більша частина хімічної енергії переходить у тепло, яке іде на підтримку постійної температури тіла.

10. Фази виділення енергії у поживних речовин

Перша фаза – підготовча. Відбувається ця фаза за допомогою гідролаз у кишечнику або всередині клітини. Гідроліз відбувається з участю ферментів цитоплазми і лізису. Виділяється невелика кількість спермії, яка розсіюється у формі теплоти.

Друга фаза характеризується **частковим виділенням енергії**. Частина енергії акумулюється в АТФ, а частина розсіюється у вигляді теплоти.

Третя фаза. Повне виділення енергії.

11. Основний обмін

Обмін енергії людини складається з основного обміну і робочої надбавки. Якщо людина знаходиться в стані можливого повного м'язового спокою: лежачи з розслабленою мускулатурою, натще (14 годин після останнього прийому їжі), при температурі 18–22° С, то розподіл енергії складає приблизно 1700 Ккал на добу і називається **основним обміном**. В умовах основного обміну енергія витрачається на підтримку життєдіяльності організму, роботу внутрішніх органів, а також на підтримку температури тіла.

Основний обмін характеризує інтенсивність процесів окислення, властивих даному організму. Величина його залежить від статі, віку. Маса тіла і росту. У жінок основний обмін на 10–15 % нижче, ніж у чоловіків тієї ж ваги і росту. У дітей він вище, ніж у дорослих. Ближче до старості основний обмін знижується.

Основний обмін порушується при захворюванні ендокринних залоз. При гіперфункції щитовидної залози він може підвищуватися до 150 %, при цьому людина багато їсть, але сильно худне. При недостатності гіпофізу основний обмін понижується – настає ожиріння.

Підвищення енергетичного обміну зверх основного обміну називають робочою надбавкою факторами, які підвищують розхід енергії є прийом їжі,

низька чи висока зовнішня температура і м'язова робота. Властивість їжі підвищувати енерговитрати називається специфічно-динамічною дією їжі.

Таким чином, загальний розхід енергії залежить від професії людини і характеру його відпочинку. Люди розумової праці витрачають біля 3000 Ккал на добу, а ті, що виконують тяжку м'язову роботу – більше 4000 ккал. При спортивних змаганнях розхід енергії може досягти 7000 ккал.

11. Інтенсивність оновлення АТФ в організмі

Доросла здорова людина масою 70 кг при сидячій роботі повинна споживати за день їжі калорійністю близько 12000 кДж. Харчові продукти роз-щеплю-ються у процесі метаболізму, а вільна енергія, що звільняється при цьому, використовується для синтезу АТФ, який далі витрачається на виконання хімічної, механічної, осмотичної й електричної робіт. Ефективність перетворення енергії харчових продуктів у енергію АТФ дорівнює приблизно 50 %. Враховуючи, що при гідролізі АТФ у фізіологічних умовах звільняється 50 кДж/моль вільної енергії, можна визна-чити кількість АТФ, яка утилізується за добу. Але в організмі людини міститься всього близько 50 г АТФ, тому ця кількість АТФ характеризує не загальну масу АТФ, а швидкість обороту АТФ-АДФ. Розраховано, що кожна молекула АТФ розпадається і знову регенерується 2,5 тисячі разів за добу, так що середня тривалість її життя менша 1 хв. Синтез АТФ із АДФ і ФН здійснюється двома шляхами – окиснювальним фосфорилуванням і субстратним фосфорилуванням. У більшості клітин головним процесом є окиснювальне фосфорилування.

Хід роботи

1. Розв'язання елементарних задач з молекулярної біології

Задача № 1. Вміст Сульфуру в організмі людини становить 0,25 % від маси тіла. Яка маса Сульфуру входить до складу організму людини масою 70 кг?

Задача № 2. У клітинах організму людини масові частки Оксигену, Карбону, Гідрогену складають відповідно 65,18 та 10 %. Кількість речовини якого з названих елементів в організмі людини найбільша?

Задача № 3. Гемоглобін крові людини містить 0,34 % Феруму (Fe).

Визначте відносну молекулярну масу гемоглобіну.

Задача № 4. Скільки різних поліпептидів можна побудувати із 20 амінокислот, якщо в білку 300 амінокислотних ланок?

Завдання до теми

1. Ознайомитись із обміном речовин і перетворенням енергії в людському організмі.

2. Виявити біохімічні чинники, які порушують обмін речовин.

3. Вивчити схему катаболізму біомолекул, а саме білків, жирів, вуглеводів.

4. Визначити фази вивільнення енергії. Сконструйте відповідь у вигляді схеми.

5. Проаналізувати основний обмін та його зміни залежно від віку, статі та фізичної активності.

6. Підготуйте повідомлення на теми: «Вода та її значення для життєдіяльності організму», «Мінеральні речовини та їх значення для життєдіяльності організму», «Основний обмін», «Обмін енергії», «Обмін жирів (ліпідів)», «Обмін вуглеводів», «Обмін білків» та оформіть їх у вигляді комп'ютерної презентації та просвітницьких плакатів. Сконструйте відповідь у вигляді схем.

Контрольні питання

1. Що таке обмін речовин?

2. Як регулюється обмін речовин?

3. Що таке вітаміни та яке їхнє значення в організмі?

4. Як зберегти вітаміни в продуктах харчування?

5. Які продукти харчування ми вживаємо?

6. Що таке нітрати і як вони впливають на організм людини?

7. Чому небезпечно радіаційне забруднення продуктів харчування?

8. Яку воду потрібно пити?

9. Процес припинення життєдіяльності організму через його зневоднення

настає раніше, ніж через відсутність їжі. Втрата води понад 20 % маси тіла для людини смертельна. Чим це пояснити?

Література: [1, с. 67–73; 2, с. 23–29; 3, с. 103–108; 8].

Практична робота № 2

Тема. Біохімічні зміни в організмі людини при навантаженні

Мета: виявити біохімічні чинники стомлення при виконанні короткочасних вправ максимальної і субмаксимальної потужності, концентрацію основних метаболітів енергетичного обміну в працюючих м'язах, зміну АТФ, АДФ, КФ та водневих іонів.

Навчальні елементи: втома, рН середовища, буферні системи, метаболіт, енергетичний обмін, ресинтез, окиснювальне фосфорилування.

Короткі теоретичні відомості

1. Визначення показників стану організму в режимі спокою та при інтенсивному фізичному навантаженні.

Будь-яка м'язова діяльність людини потребує певних витрат енергії АТФ, відновлення якої в організмі здійснюється різними шляхами, що залежать від характеру і тривалості виконуваної роботи. Відповідно до класифікації В. С. Фарфеля фізичні вправи можна розділити на чотири типи: *максимальної, субмаксимальної, великої і помірної потужності*.

Граничний час вправ максимальної потужності складає 15–20 с, субмаксимальної – від 20 с до 2–3 хв., великої – до 30 хв. і помірної – до 4–5 годин. При цьому з неоднаковою інтенсивністю використовуються різні сполуки (в основному джерела енергії), що призводить до певних змін біохімічного складу організму. Як відомо, виконання будь-якої фізичної роботи починається в умовах недостатньої забезпеченості організму киснем.

При виконанні вправ *максимальної потужності* (біг на 100–200 м) кисневий запит може складати 7–14 л, а кисневий борг – 6–12 л, що складає 90–95 % кисневого запиту. Це свідчить про те, що організм спортсменів, виконуючи подібні навантаження, засвоює за час роботи кількість кисню, яка

дорівнює 5–10 % загальної його потреби. Решта кисню, якого не вистачає, засвоюється після роботи. Цілком зрозуміло, що відновлення використаної енергії при цьому буде здійснюватися тільки анаеробним шляхом (за рахунок креатинфосфату і частково реакцій гліколізу).

Тому при інтенсивному м'язовому навантаженні в м'язах, крім аміни співвідношення АТФ/АДФ на користь АДФ, спостерігається різке підвищення вмісту креатину, креатиніну (продукту розпаду креатину). При виконанні таких вправ швидкість гліколізу ще не досягає своїх найвищих значень, тому вміст молочної кислоти в м'язах незначний, а отже, мало змінюється і кількість глюкози, не відбувається мобілізація глікогену.

Інтенсивне використання АТФ у процесі виконання вправ призводить до пригнічення пластичних процесів. При виконанні більш **короткочасних фізичних вправ** (стрибки, штанга, гімнастичні вправи й ін.) ресинтез енергії здійснюється в основному креатинфосфатним шляхом, тому помітного підвищення рівня молочної кислоти в м'язах не спостерігається.

При виконанні **вправ субмаксимальної потужності** (біг на 400, 800 м) енергетичне забезпечення відбувається в основному за рахунок гліколізу. Кисневий борг у цьому разі найбільший і складає біля 90 % кисневого запиту, який за такої роботи може досягати від 20 до 40 л. У м'язах у результаті високої інтенсивності гліколізу у великій кількості накопичується молочна кислота, збільшується вміст продуктів обміну білків, значно знижується рівень глюкози і глікогену.

Більш **тривале виконання фізичних вправ субмаксимальної потужності** (біг на 1500 м) характеризується активним підключенням аеробного шляху відновлення енергії. При цьому організм спортсменів задовольняє свою потребу в кисні майже наполовину.

З включенням аеробного ресинтезу АТФ у м'язовій тканині підвищується **активність ферментів** окиснювального фосфорилування, збільшується вміст проміжних сполук циклу Кребса і кінцевих продуктів повного окиснення вуглеводів. При виконанні **фізичних вправ максимальної і субмаксимальної**

потужності внаслідок нестачі АТФ може спостерігатися переважний розпад фосфоліпідів мітохондріальних мембран, набрякання мітохондрій, яке призводить до роз'єднання процесів окиснювального фосфорилування, що різко знижує його продуктивність.

Вправи **великої потужності** (біг 3000, 5000 мит. п.) забезпечуються енергією в основному за рахунок реакцій аеробного процесу, але ще при достатньо високому рівні розвитку гліколізу. Частка анаеробних процесів у енергозабезпеченні роботи швидко знижується в міру її тривалості. При такій роботі кисневий запит може досягати 90–150 л, а кисневий борг – 8–12 л, що складає біля 7–13 %. Вміст молочної кислоти в м'язах у цьому разі буде незначним.

Найбільш **інтенсивні вправи помірної потужності** (біг на наддовгі дистанції) відбуваються практично повністю в аеробних умовах. При цьому встановлюється відповідність між потребою організму в кисні і його надходженням. Кисневий запит може досягати 500–1500 л, а кисневий борг не перевищує 3–5 л (1 % кисневого запиту) (Табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Зміна показників стану організму в режимі спокою та при інтенсивному фізичному навантаженні.

Параметр	Показники	
	В покою	При інтенсивному фізичному навантаженні
Частота серцевих скорочень	50–75 уд/хв	160–210 уд/хв
Систолічний артеріальний тиск	100–200 мм.рт.ст.	200–250 мм.рт.ст.
Частота дихання	15 раз/хв	60–70 раз/хв
Об'єм дихання	5–6 л/хв	120–150 л/хв

2. Розпад поживних речовин та вивільнення енергії

Анаеробний ресинтез АТФ використовується організмом тільки на початку роботи, а також при підвищенні її потужності на дистанції (біг на підйом, прискорення, фініш). Тому при тривалих помірних навантаженнях вміст молочної кислоти в м'язах буде мінімальним. У працюючих м'язах використовуються всі запаси вуглеводів, різко зменшується кількість

резервного жиру, відбувається розпад м'язових білків. При фізичній діяльності особливо великі навантаження припадають на **серце**, яке здатне збільшувати свою працездатність до крайніх меж – 230–240 скорочень за хвилину. Серцевий м'яз пронизаний густою сіткою кровоносних капілярів, через які надходить кров, збагачена киснем, тому окиснення речовин у міокарді відбувається тільки аеробним шляхом (Рис. 2.1).

У **стані спокою** основними джерелами енергії для серцевого м'яза є **жирні кислоти, кетонові тіла і глюкоза**, які переносяться кров'ю. При фізичному навантаженні міокард починає посилено поглинати з крові й окиснювати молочну кислоту. При використанні для роботи міокарду його енергетичних джерел (АТФ, креатинфосфату, глікогену) їх вміст у серці майже не змінюється, що свідчить про миттєве відновлення цих сполук.

Печінка – другий головний орган організму людини, у якому синтезуються ферменти, макроергічні джерела енергії, фосфоліпіди і розщеплюється основна кількість глікогену і жирних кислот відповідно до глюкози і кетонових тіл, якими постачаються всі тканини. При тривалій діяльності м'язів (марафонський біг) у печінці підвищується утворення сечовини з аміаку – кінцевого продукту обміну білків (процес детоксикації), а також спостерігається тимчасове відкладення жиру (ожиріння печінки), що перешкоджає накопиченню глікогену. Його можна попередити включенням у дієту спортсменів харчових продуктів, які містять ліпотропні речовини – **холін, метіонін** і ін.

Рухова активність людини супроводжується значними біохімічними змінами в **головному мозку**, основна частина яких відбувається за рахунок енергетичного обміну. На початку роботи, а також короткочасних дуже потужних вправ підвищується в крові концентрація глюкози. Це відбувається завдяки високій швидкості мобілізації глікогену і меншому використанню глюкози м'язами. При роботі в умовах стійкого стану вміст її в крові майже такий, як і в стані спокою, тому що швидкість надходження в кров і швидкість використання глюкози м'язами практично однакові.

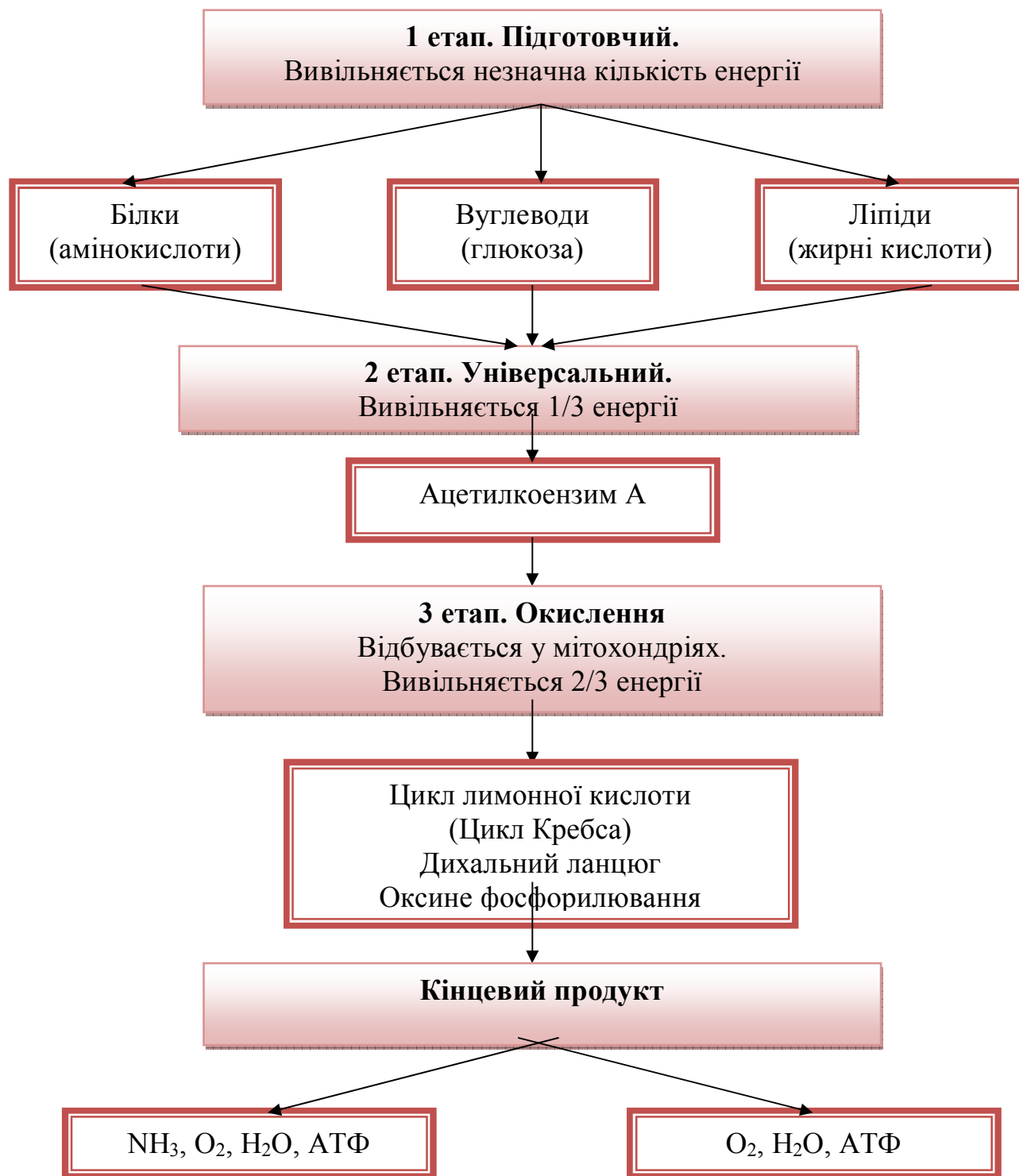


Рисунок 2.1 – Схема етапів розпаду поживних речовин та вивільнення енергії

При тривалій роботі концентрація глюкози в крові часто зменшується нижче рівня спокою, через те що запас глікогену печінки і швидкість його мобілізації знижуються, а потреба м'язів у глюкозі продовжує залишатися високою. Вміст глюкози в крові залежить також від **емоційного стану організму**. Сильне емоційне збудження, як правило, викликає різке посилення

надходження глюкози в кров, що пов'язано з певною регулюючою дією нервової системи і підвищеним виділенням гормонів адреналіну і норадреналіну. Одним з основних біохімічних показників крові, які віддзеркалюють інтенсивність гліколітичного процесу в м'язах, є концентрація молочної кислоти. Вона має здатність швидко дифундувати з працюючих м'язів у кров, але подальше доокиснення її під час напруженої роботи відбувається повільно. Тому вміст молочної кислоти в крові залежить від швидкості її утворення в м'язах. Остання ж обставина безпосередньо пов'язана з потужністю виконуваної роботи. У стані спокою концентрація молочної кислоти в крові складає 0,1–0,2 г/л. З початком виконання вправ утворення молочної кислоти в м'язах і надходження її у кров різко зростає. Хоча помітне збільшення її концентрації в крові виявляється не відразу, а через кілька хвилин після початку виконання вправ.

3. Процес впливу молочної кислоти та відновлення організму

Під час виконання *легкої і помірно важкої роботи* з рівнем кисневого запиту біля 50 % від максимального споживання кисню підвищення кількості *молочної кислоти* в крові невелике (до 0,4–0,5 г/л). При виконанні вправ з рівнем кисневого запиту 50–85 % приріст її досягає вже 1–1,5 г/л. Порівняно швидко збільшується концентрація молочної кислоти в перші 2–10 хв. роботи, а потім залишається на тому ж рівні або знижується. Таким чином, максимальна кількість молочної кислоти в крові виявляється на початку роботи. Після інтенсифікації діяльності органів дихання і кровообігу швидкість утворення молочної кислоти дорівнює швидкості її усунення шляхом доокиснення.

Великі кількості молочної кислоти здійснюють несприятливий вплив, тому подальше посилення гліколізу не відбувається. Молочна кислота при дисоціації утворює значну кількість іонів H^+ , частина яких зв'язується буферними системами м'язових клітин і крові. Як тільки буферна ємність систем вичерпається, відбувається зсув реакції середовища в кислу сторону. У цьому процесі беруть участь і інші кислоти, такі, як карбонатна, фосфатна, піровиноградна, проте найбільший внесок в утворенні іонів H^+ і закисленні

середовища належить молочній кислоті. Виявлено, що між концентрацією молочної кислоти і рН крові існує обернено пропорційна залежність.

Зменшення рН викликає серйозні зміни в організмі. Так, при зниженні рН більш ніж на 0,2 одиниці порівняно з рівнем спокою зменшується активність багатьох ферментів клітин і крові. У першу чергу знижується активність ключового ферменту гліколізу фосфофруктокінази, у результаті чого знижується загальна швидкість цього процесу. Зменшення рН призводить також до порушення діяльності нервових клітин і розвитку в них охоронного гальмування. При цьому погіршується передача збудження з нерва на м'яз, знижується АТФ-азна активність міозину, унаслідок чого падає швидкість розщеплення АТФ. У стані спокою рН крові складає 7,35–7,40. За умови м'язової роботи він може знижуватися до 7,0. Треновані спортсмени витримують зниження рН до 6,8, проте при цьому може спостерігатися нудота, запаморочення і сильні болі в м'язах.

Молочна кислота, або лактат, утворюється в м'язах як продукт обміну в ході анаеробного гліколізу і викликає характерне відчуття печіння в працюючих м'язах за рахунок зниження рН. Особливо сильно концентрація молочної кислоти зростає при виконанні вправ на пампінг, суперсетів, форсованих повторень і ін. Існують наукові докази, що лактат стимулює гіпертрофію м'язових клітин і відіграє позитивну роль у бодібілдингу.

Хід роботи

1. Назвіть основні біохімічні фактори втоми при виконанні короткочасних інтенсивних вправ.
2. Дайте характеристику трьом фазам процесу відновлення.
3. Назвіть шляхи усунення лактату в період відпочинку.

Завдання до теми

1. Описати біохімічні зміни в організмі при втомі: порушення балансу АТФ/АДФ, зниження енергетичних речовин, ферментативної активності, порушення пластичного обміну, зміна рН-середовища, водно-сольового обміну.
2. Виявити біохімічні чинники стомлення при виконанні вправ різних зон

потужності

3. Визначити біохімічні зміни в організмі при втомі і в період відпочинку після м'язової роботи.

4. Особливості протікання біохімічних процесів в період відпочинку після м'язової роботи, їх направленість.

5. Гетерохронність. Процеси, пов'язані з «оплатою» кисневого боргу. Явище суперкомпенсації. Регуляція біохімічних процесів в фазі надвідновлення.

Контрольні питання

1. Чим визначається характер біохімічних процесів енергозабезпечення під час м'язової діяльності?

2. Яка послідовність включення біохімічних систем енергозабезпечення організму під час роботи різної потужності та тривалості?

3. Які енергетичні ресурси забезпечують м'язову роботу різної потужності та тривалості?

4. Яка роль гемоглобіну і міоглобіну у забезпеченні організму киснем?

5. Які біохімічні зміни відбуваються в крові при виконанні фізичних навантажень у різних зонах потужності?

6. Що розуміють під станом втоми? Яка її роль у побудові системи спортивного тренування?

7. Які біохімічні зміни в організмі призводять до розвитку втоми?

8. Які основні причини втоми при тривалій м'язовій роботі?

9. Як впливає на розвиток втоми вихідний рівень енергетичних субстратів (КрФ, глікогену) у працюючих м'язах?

10. Що входить у поняття «відновлення»?

11. Яка спрямованість біохімічних процесів у період відпочинку після роботи м'язів?

12. Як використовуються особливості протікання відновлюваних процесів при побудові спортивного тренування?

Література: [1, с. 56–58; 2, с. 43–45; 3, с. 87–90; 9].

Практична робота № 3

Тема. Біохімічні основи м'язового скорочення

Мета: ознайомитись з біохімією м'язів і м'язового скорочення, визначити хімічний склад м'язової тканини.

Навчальні елементи: м'язова тканина, гемоглобін, креатинфосфокіназний механізм ресинтезу АТФ, гліколітичний (анаеробний), міокіназний і аеробний метаболізм.

Короткі теоретичні відомості

1. Будова м'яза та розподілення м'язових білків

М'язи завдяки функції скорочення забезпечують процеси руху. При скороченні м'язів використовується хімічна енергія АТФ, яку вони перетворюють у кінетичну (механічну) енергію.

Рухливі якості людини, особливо сила та швидкість, залежить від морфологічної будови м'язів, особливостей перебігу в них біохімічних процесів. Тому для розуміння біохімічних процесів, що забезпечують функцію скорочення м'язів, необхідно розглянути структурну організацію та хімічний склад м'язових волокон, при цьому особливо цікаве функціонування скелетних м'язів.

М'язи складаються з клітин довжиною до 10 см і близько 0,1 мм у діаметрі. Через велику довжину їх часто називають волокнами. Кожний структурний компонент волокна виконує свою певну функцію.

М'язові білки розподілені таким чином:

40 % знаходиться в міофібрилах,

30 % – у саркоплазмі,

14 % – у мітохондріях,

15 % у сарколемі (оболонка м'язової клітини), незначна частина в ядрах і інших клітинних органелах.

У мітохондріях зосереджені структурні білки, а також білки-ферменти циклу трикарбонових кислот. Нерозчинний залишок білків складає м'язову строму. В основному це колаген і еластин сарколеми і міостромін, який

зв'язаний із двома пластинами міофібрил. М'язова строма має високу еластичність і бере участь у розслабленні м'язів.

З водорозчинних азотистих сполук найбільш важливими для роботи м'язів є АТФ і креатинфосфат. Це – енергетичні джерела м'язового скорочення. Продукти їх розпаду – АДФ, АМФ, креатин – здійснюють регулюючу дію на обмін речовин у м'язах. З інших азотистих сполук є амінокислоти (переважно глютамінова кислота), пуринові основи, аміак, сечовина.

До найважливіших безазотистих сполук м'язів належать глікоген і продукти його обміну, жири, холестерин, кетонові тіла, мінеральні солі. Глікоген знаходиться як у вільному, так і зв'язаному з білками стані. Залежно від харчового раціону і ступеня тренуваності м'язів кількість його коливається від 0,2 до 3 %. За умов тренування збільшується переважно кількість вільного глікогену.

З мінеральних речовин у м'язах є іони K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} (1–1,5 % маси м'язів). Мінеральні іони виконують важливу роль у регуляції біохімічних процесів при скороченні м'язів.

Головна відмінність м'язових волокон від інших клітин організму полягає в тому, що в саркоплазмі їх знаходиться до тисячі і більше забраних у пучки довгих ниток – **міофібрил**, їх довжина може досягати довжини м'язового волокна.

У нетренованих м'язах міофібрили розсіяні по всій клітині, а в тренуваних – зібрані в пучки. Кожна міофібрила складається з товстих і тонких ниток – **протофібрил**, які як і вся міофібрила, мають поперечно-смугастий вигляд (Рис. 3.1).

Товсті нитки – це білок **міозин**, який складається з двох ідентичних найбільш довгих із відомих на цей час ланцюгів. Кожний ланцюг молекули міозину закручений у вигляді α -спіралі, причому обидва ланцюги утворюють суперспіраль, тобто закручені один навколо одного, створюючи двоспіральну структуру. На одному кінці молекули міозину обидва ланцюги утворюють глобулярну структуру.

Молекула міозину містить значну кількість глутамінової кислоти і тому має досить значний негативний заряд. Поперечні містки товстих ниток – це глобулярні голівки білку міозину.

Тонкі протофібрили – це білок **актин**. Існує три форми актину:

- мономерний (глобулярний) (*G*);
- димерний (глобулярний);
- полімерний (фібрилярний) (*F*).

Фібрилярний актин є продуктом полімеризації глобулярного актину. Окремі ланцюги, утворені глобулярною формою актину, утворюють подвійну спіраль, або суперспіраль.

З димерів побудована подвійна спіраль полімерного фібрилярного актину.

У міофібрилах міститься також **тропоміозин** – білок, що утворює комплекс з білком **тропоніном** – глобулярним білком.

Тропонін має значний негативний заряд. У розслабленому м'язі тропоміозин блокує нитки актину, а тропонін інгібує ферментативну активність міозину, запобігаючи розщепленню АТФ і звільненню енергії, необхідної для м'язового скорочення. Блокада знімається іонами Ca^{2+} , які зв'язуються з комплексом тропонін-тропоміозин і інактивують його.

Між фібрилами розміщуються мітохондрії – «енергетичні станції» м'язових волокон. Кількість мітохондрій у тренуваних м'язах порівняно з нетренованими збільшується.

Кожну міофібрилу оточує система подовжніх і поперечних трубочок, пухирців, мембран, яка називається **саркоплазматичною мережею** або **саркоплазматичним ретикулом**. Він являє собою великі емності-цистерни. У них зберігаються іони Ca^{2+} . Через систему трубочок відбувається обмін речовинами між клітинними органелами і міжклітинною рідиною. Через трубочки поширюється хвиля збудження від сарколеми волокна до внутрішніх її зон.

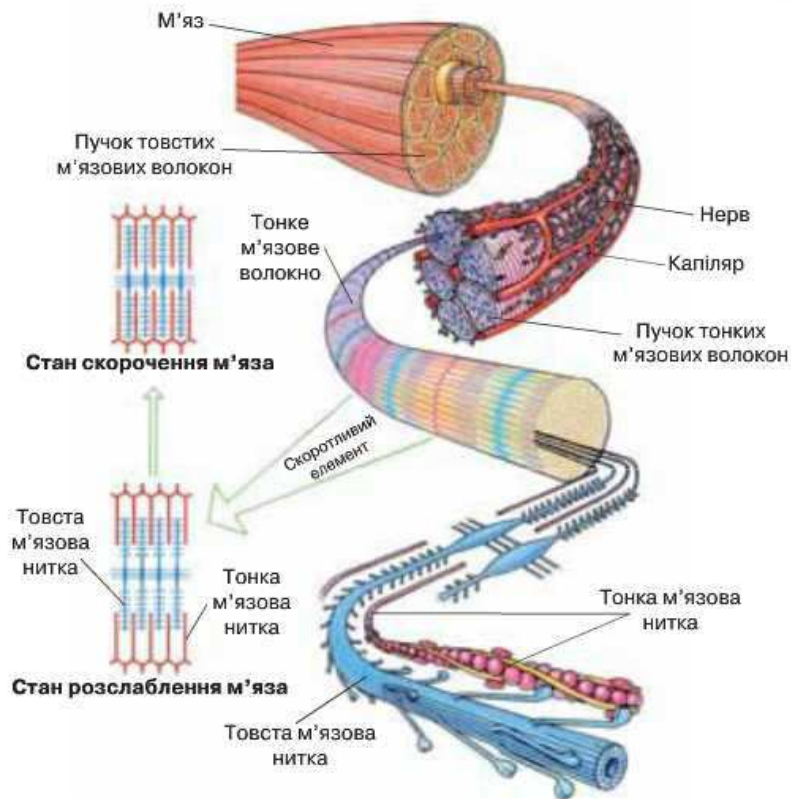


Рисунок 3.1 – Будова та скорочення м'яза

3. Синапс

Синапс складається з двох мембран – на закінченнях нерва (пресинаптична мембрана) і м'язового волокна (постсинаптична мембрана). Між ними – синаптична щілина (Рис. 3.2).

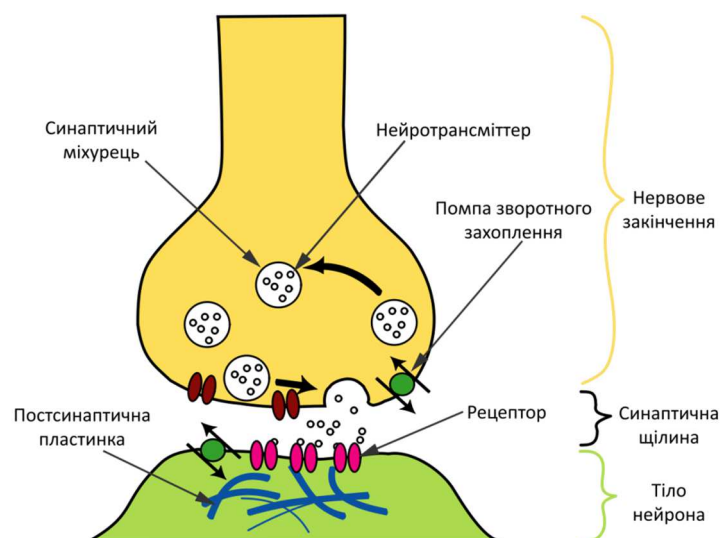


Рисунок 3.2 – Будова синапсу

У пресинаптичній мембрані заховані сотні тисяч пухирців з ацетилхоліном, який служить медіатором – хімічним передавачем сигналу. Під дією електричного імпульсу частина їх потрапляє в синаптичну щілину і досягає постсинаптичної мембрани. Цей медіатор і передає сигнал м'язовому волокну. Діючи на постсинаптичну мембрану (сарколему), ацетилхолін викликає її депольоризацію, з якої і починається ланцюг подій, що приводить до скорочення мязового волокна (Рис. 3.3).

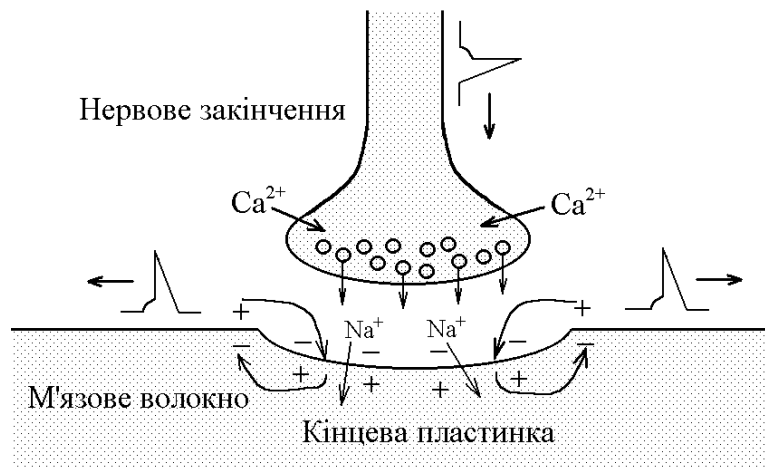


Рисунок 3.3 – Схема синапсу м'язових волокон

Депольоризація підвищує проникність клітинних мембран, мембран внутрішньоклітинних каналів, цистерн, в яких концентрація іонів Ca^{2+} у 10000 разів вища, ніж у саркоплазмі. Збільшення проникності призводить до того, що іони Ca^{2+} «випливають» із цистерн і концентрація їх у саркоплазмі зростає.

4. Скорочення м'язового волокна

Іони Ca^{2+} зв'язуються з комплексом тропонін-тропоміозин і інактивують його. У результаті звільняються заблоковані реакційнодатні ділянки актину і голівки молекул міозину. Маючи АТФ-азну активність, голівки міозину розщеплюють молекули АТФ, які в них знаходяться.

У результаті звільненої енергії глобулярні голівки згинаються, прикріплюються до актинових молекул. При цьому утворюються поперечні міозинові містки, які, як гумки, тягнуть на себе молекули актину. Актинові нитки сковзають уздовж міозину, втягуються в щілини між міозиновими молекулами. М'язове волокно скорочується.

У міру використання енергетичних запасів кожної молекули АТФ зв'язок міозину з актином розривається, а на голівці утворюється нова молекула АТФ, гідроліз якої знову «заряджає» поперечний місток енергією. Цей процес повторюється багаторазово, приводячи до все більш глибокого просування актинових ниток між міозиновими молекулами. Так відбувається перетворення хімічної енергії безпосередньо в механічну.

Доки в щілині є ацетилхолін, деполяризація м'язового волокна триває і воно не реагує на нові сигнали центральної нервової системи. Для нового скорочення необхідно зруйнувати медіатор. Робить це *ацетилхолінестераза* – фермент, який виділяє пресинаптична мембрана. За допомогою так званого кальцієвого насоса іони Ca^{2+} закачуються в цистерни проти дифузного градієнту з витратою енергії АТФ. Зникнення іонів Ca^{2+} із саркоплазми звільняє тропонін, який інгібує АТФ-азну активність міозину і відповідно утворення енергії. Актин і міозин повертаються на свої місця. М'яз розслаблюється. Всі ці складні хімічні реакції мають високу швидкість. Через деякі синапси за 1 секунду може проходити до 300 команд-імпульсів, тобто стільки разів виходить і руйнується ацетилхолін.

У відповідь на одиночний імпульс відбувається одиночне скорочення, яке супроводжується *деполяризацією і реполяризацією м'язових волокон*. Причому реполяризація відбувається до того, як м'яз повністю розслабиться. Якщо в цей момент надходить новий імпульс, скорочення ніби сумуються, саркомер (рухова одиниця) скорочується сильніше, ніж у випадку одиночного імпульсу.

Відповідно росте і сила, яку розвиває м'яз. При частоті імпульсів 20–35 с^{-1} відбувається скорочення, яке у 2–3 рази переважає за силою одиночне.

При подальшому збільшенні частоти імпульсів може настати такий стан, коли кожний новий сигнал буде припадати на майже повністю скорочений попереднім імпульсом м'яз. Тоді всі одиночні скорочення зливаються в одне. У цей момент м'язи розвивають найбільшу силу тяги, майже в 4 рази вищу, ніж при одиночному скороченні.

У тому випадку, коли частота нервових імпульсів значно вища, ніж потрібно, тоді через високу частоту виділення ацетилхоліну в синапсах і збільшення його концентрації холінестераза не встигає руйнувати його. М'язові волокна втрачають здатність сприймати нові імпульси, і сила рухових одиниць різко падає. Це спостерігається в стресових ситуаціях, у стані стомлення, при зусиллях, які перевищують фізіологічні можливості організму.

Хід роботи

1. Біохімія м'язів і м'язового скорочення.
2. Найважливіші білки м'язової тканини: міозин, актин, тропоміозин, тропонін, білки-ферменти, їх вміст і властивості.
3. Макроергічні речовини м'язів, їх концентрація і локалізація в м'язовому волокні. Нервово-м'язовий синапс, його участь в передачі збудження.
4. Енергетика м'язової діяльності. Біохімічні процеси в двофазній м'язовій діяльності.
5. Енергетика м'язової діяльності. Біохімічні процеси в двофазній м'язовій діяльності.
6. Шляхи ресинтеза АТФ.
7. Поняття про потужності, ємності, ефективності, швидкості розгортання.
8. Зміни ступеня спряження окислення і фосфорилування при фізичних навантаженнях різного характеру.

Завдання до теми

1. Ознайомитись з біохімією м'язів і м'язового скорочення.
2. Визначити хімічний склад м'язової тканини.
3. Розглянути механізм дії скорочення м'язових волокон та деполяризацію й реполяризацію м'язових волокон.
4. Представити схему структури і функцій м'язового волокна.
5. Зарисувати нервово-м'язовий синапс, його участь в передачі збудження.

Контрольні питання

1. Який хімічний склад м'язової тканини?
2. Яка роль ацетилхоліна в передачі збудження з нерва на м'яз?
3. Чим відрізняються білі та червоні м'язові волокна? Їх адаптаційні можливості.

Література: [1, с. 167–168; 2, с. 56–58; 3, с. 47–51; 5, с. 12–13; 9].

Практичне заняття № 4

Тема. Молекулярні основи спадковості. Будова ДНК та РНК

Мета: вивчити будову і функції нуклеїнових кислот як одиниці генетичного коду, що забезпечує організацію потоку біологічної інформації в клітині.

Навчальні елементи: нуклеотид, полімераза, компліментарність, реплікаційна вилка, праймер, транскриптон, кодон, антикодон, ініціація.

Короткі теоретичні відомості

I. Нуклеїнові кислоти, їх будова та функції.

1. Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) – матеріальний субстрат спадковості та мінливості. ДНК – це макромолекули, полімери, що утворені нуклеотидами такої будови: пентоза (дезоксирибоза), ортофосфорна кислота і азотиста основа (пуринова чи піримідинова). Види азотистих основ, що входять до складу нуклеотидів ДНК: аденін (А), гуанін (Г), цитозин (Ц), тимін (Т).

Сполучення нуклеотидів у макромолекулу ДНК відбувається шляхом взаємодії ортофосфорної кислоти між ОН⁻ групою в положенні 5' дезоксирибози одного нуклеотиду з гідроксилем в положенні 3' пентози наступного з утворенням фосфодієфірного зв'язку. Збирання полінуклеотидного ланцюга здійснюється за участю фермента полімерази.

Особливістю структурної організації ДНК є те, що її молекули утворені двома полінуклеотидними ланцюгами. Відповідно до трьохвимірної моделі ДНК, запропонованої в 1953 р. американським біофізиком Дж. Уотсоном і англійським біофізиком і генетиком Ф. Кріком, ці ланцюги з'єднуються один з

одним водневими зв'язками між азотистими основами за принципом компліментарності: А з'єднується з Т двома водневими зв'язками, а між Г і Ц різних ланцюгів утворюються три водневі зв'язки. Таке сполучення азотистих основ забезпечує тривкий зв'язок двох ланцюгів і збереження однакової відстані між ними на всьому проміжку.

Інша важлива особливість об'єднання двох полінуклеотидних ланцюгів у молекулу ДНК – антипаралельність: 5'-кінець одного ланцюга сполучається з 3'-кінцем іншого і навпаки.

Дані рентгеноструктурного аналізу засвідчили, що дволанцюгова молекула ДНК утворює право закручену спіраль, закручену навколо власної осі; діаметр спіралі – 2 нм, довжина кроку – 3,4 нм, до кожного закруту входить 10 пар нуклеотидів.

У живій клітині подвійна спіраль, що становить вторинну структуру ДНК, не має вигляду розгорнутої молекули, а додатково згорнута в просторі, утворюючи третинні структури – суперспіралі. У суперспіралізованому стані молекула ДНК у комплексі з певними клітинними білками входить до складу нуклеоїду прокаріотів та ядерного хроматину еукаріотів. Завдяки суперспіралізації довгі молекули ДНК формують компактні утворення, зокрема хромосоми ядра. Таким чином, в структурній організації молекули ДНК розрізняють первинну будову – полінуклеотидний ланцюг, вторинну – два комплементарні один до одного та антипаралельні полінуклеотидні ланцюги, з'єднані водневими зв'язками, і третинну – трьохвимірну спіраль з певними просторовими характеристиками.

Основними біологічними функціями ДНК є:

1. Збереження спадкової інформації. Кількість ДНК у соматичних і статевих клітинах організму людини є сталою величиною, яку ці клітини отримують у процесі запліднення батьківських гамет і подальшого поділу зиготи.

2. Передавання спадкової інформації нащадкам шляхом подвоєння молекул ДНК під час реплікації. Процес реплікації напівконсервативний, в

розплітанні подвійної спіралі ДНК бере участь фермент гелікази. Утворені при цьому ділянки зв'язуються спеціальними дестабілізуючими білками. В місцях розходження полінуклеотидних ланцюгів (в зонах реплікації) утворюються реплікаційні вилки. В кожній з цих ділянок за участю фермента ДНК-полімерази синтезується ДНК двох нових дочірніх молекул. В процесі синтезу реплікаційна вилка рухається вздовж материнської спіралі і захоплює нові зони.

Особливість ДНК-полімерази – її нездатність почати синтез нового полінуклеотидного ланцюга шляхом звичайного зв'язування двох нуклеозидтрифосфатів: необхідний 3'-ОН-кінець полінуклеотидного ланцюга, що спарений з матричним ланцюгом ДНК, до якого ДНК-полімераза може лише додавати нові нуклеотиди. Такий полінуклеотидний ланцюг називається праймером («затравка»).

Функцію праймера для синтезу полінуклеотидних ланцюгів ДНК в процесі реплікації виконують короткі послідовності РНК, що утворюються за участю фермента РНК-праймази. Вказана особливість ДНК-полімерази є свідченням того, що матрицею при реплікації може бути лише той ланцюг ДНК, котрий несе спарений з ним праймер, що має вільний 3'-ОН-кінець. Механізм реплікації відзначається надзвичайно високою точністю відтворення структури ДНК, і в її підтриманні важлива роль належить, перш за все, ДНК-полімеразі.

3. Реалізація генетичної інформації. Ця біологічна функція здійснюється за рахунок передачі закодованої в ДНК інформації молекулам інформаційних (матричних) РНК (транскрипції) та подальшої розшифровки цієї інформації при синтезі білків (трансляції). Сукупність зазначених біологічних функцій ДНК та механізмів їх реалізації отримав назву – центральна догма молекулярної біології.

2. Рибонуклеїнові кислоти (РНК) – посередники в перекодуванні і реалізації біологічної інформації.

РНК представлені одним полінуклеотидним ланцюгом, який складається з чотирьох різновидів нуклеотидів, що містять пентозу (рибозу), ортофосфорну

кислоту і одну з наступних азотистих основ: А, Г, Ц, У (урацил). РНК синтезується на молекулі ДНК за допомогою ферментів РНК-полімераз з дотриманням принципу комплементарності та антипаралельності, зокрема, аденіну ДНК комплементарний урацил РНК.

а) Матричні (інформаційні) РНК (м-РНК, або і-РНК).

Це клас РНК, що складають 2–5 % загальної кількості клітинної РНК. м-РНК виконують функцію переносників генетичної інформації від геному (ядерної ДНК) до білоксинтезуючої системи клітини. Вони є інформаційними матрицями, які визначають амінокислотні послідовності в молекулах поліпептидів, що синтезуються в рибосомах. м-РНК синтезується на відповідних ділянках ДНК.

Процес синтезу м-РНК – **транскрипція** – починається з виявлення РНК-полімеразою особливої ділянки в молекулі ДНК – **промотора**. Після приєднання до промотора РНК-полімераза розплітає закрут спіралі ДНК, що розташований поруч. Два ланцюги ДНК у цьому місці розкручуються, і на одному з них фермент здійснює синтез м-РНК. Збирання рибонуклеотидів у ланцюг відбувається з дотриманням їх компліментарності нуклеотидам ДНК, а також антипаралельно відносно матричного ланцюга ДНК.

РНК-полімераза здатна збирати полінуклеотид лише від 5'-кінця, і тому матрицею для транскрипції може бути лише один з двох ланцюгів ДНК, а саме той, котрий обернений до фермента своїм 3'-кінцем. Такий ланцюг називається кодогенним. Просуваючись вздовж кодогенного ланцюга ДНК, РНК-полімераза здійснює поступове точне переписування інформації до того часу, поки не зустріне специфічної нуклеотидної послідовності – термінатора транскрипції. В цій ділянці РНК-полімераза від'єднується і від матриці ДНК, і від синтезованої м-РНК.

Таким чином, м-РНК містить точну копію інформації, записаної у відповідній ділянці ДНК. Фрагмент молекули ДНК, що включає промотор, структурні гени (цистриони) і термінатор, утворює одиницю **транскрипції** – **транскриптон**. Триплети нуклеотидів м-РНК, що розташовані поряд – це

кодони. Послідовність кодонів м-РНК шифрує послідовність амінокислот в поліпептидному ланцюгу.

б) Транспортні РНК (т-РНК)

На т-РНК припадає 10–20 % клітинної РНК. Їх молекули – це полірибонуклеотидні ланцюги, довжина яких – 70–90 нуклеотидів. Т-РНК постачає необхідні амінокислоти до місця збирання поліпептидних ланцюгів і, таким чином, виконує функцію трансляційного посередника. Первинна структура т-РНК, що визначається послідовністю нуклеотидів, формує вторинну структуру т-РНК, що має форму листка конюшини. Остання зумовлює трьохвимірну третинну структуру, для якої характерне утворення двох перпендикулярно розташованих подвійних ланцюгів. Один з них утворений **акцепторною зоною**, другий – **антикодоною**. До акцепторної зони приєднується амінокислота, а на антикодоновій розміщений **антикодон** (триплет нуклеотидів, що комплементарний кодону м-РНК). Ці ділянки максимально віддалені одна від одної.

Стабільність третинної структури т-РНК підтримується завдяки виникненню додаткових водневих зв'язків між основами полінуклеотидного ланцюга, що локалізуються в різних її ділянках, але просторово наближені в третинній структурі.

Одна з особливостей т-РНК – наявність нетипових основ, що виникають внаслідок хімічної модифікації вже після включення нормальної основи в полінуклеотидний ланцюг. Ці змінені основи зумовлюють структурну різноманітність т-РНК при спільному плані їх будови. На особливу увагу заслуговують модифікації основ, що формують антикодон, які впливають на специфічність його взаємодії з кодоном. Наприклад, нетипова основа інозин, що інколи стоїть в першому положенні антикодону т-РНК, здатна помилково сполучатись з трьома різними третіми основами м-РНК – У, Ц, А.

Оскільки одна з властивостей генетичного коду є його виродженість, більшість амінокислот шифрується кількома кодонами, які відрізняються переважно третьою основою. Завдяки неспецифічному зв'язуванню

модифікованої основи антикодоном одна т-РНК впізнає кілька кодонів-синонімів. Встановлено також існування кількох видів т-РНК, що здатні сполучатись з одним і тим самим кодоном. В результаті в цитоплазмі зустрічається біля 40 різних молекул тРНК, і цієї кількості достатньо, щоб транспортувати 20 різних амінокислот до місця синтезу білка. Поряд з функцією точного впізнавання визначеного кодону в м-РНК молекула т-РНК постачає до місця синтезу поліпептидного ланцюга строго визначену амінокислоту, зашифровану за допомогою даного кодону.

в) Рибосомні РНК (р-РНК) – це клас клітинних РНК, що входять до складу рибосом прокариотичних і еукаріотичних клітин. На р-РНК припадає до 90 % загальної кількості клітинних РНК. р-РНК разом із специфічними білками становлять основу структури та функції рибосом, в яких відбувається процес **трансляції – біосинтез** поліпептидних ланцюгів на основі коду, що доставляється м-РНК.

В рибосомі є дві борозенки: одна утримує поліпептидний ланцюг, який нарощується в процесі трансляції, а інша – м-РНК. Окрім цього, в рибосомі розрізняють дві ділянки, які зв'язують т-РНК. В аміноацильній розташована аміноацил-т-РНК, в пептидильній – т-РНК, що навантажена ланцюжком амінокислот. В кожний момент рибосома екранує сегмент м-РНК завдовжки біля 30 нуклеотидів. В ході трансляції виділяють три фази:

1) **фаза ініціації** (початок синтезу поліпептиду) – починається з утворення ініціюючого комплексу до якого входять 30S-субодиниця, м-РНК, формілметіоніл – т-РНК та три специфічні фактори ініціації білкової природи. На наступному етапі цей комплекс взаємодіє з 50S-субодиницею з утворенням активної 70S-рибосоми. В утвореному 70S-рибосомальному функціональному комплексі існують дві ділянки зв'язування тРНК (аміноацильна та пептидна).

2) **фаза елонгації** (продовження пептиду) включає всі реакції від моменту утворення першого пептидного зв'язку до приєднання останньої амінокислоти.

3) **фаза термінації** (завершення синтезу поліпептиду) пов'язана з впізнаванням специфічним рибосомним білком одного з термінуючих кодонів

(УАА, УАГ, УГА). При цьому до останньої амінокислоти в поліпептидному ланцюгу приєднується H_2O і її карбоксильний кінець від'єднується від т-РНК. В результаті завершений поліпептидний ланцюг втрачає зв'язок з рибосомою і вона розпадається на дві субчастки.

Хід роботи

1. Розв'язання елементарних задач з молекулярної біології

Задача1. В молекулі ДНК визначена така кількість гуанілових нуклеотидів (Г) – 880, які складають 22 % від загальної кількості нуклеотидів цієї ДНК. Визначте: а) які масові частки нуклеотидів (окремо) в цій молекулі ДНК; б) яка довжина ДНК?

Задача2. Дано фрагменти одного ланцюга ДНК:

- ТАТЦГГГГААЦ,
- ГЦГАТААГЦЦГАТ,
- АГЦЦПТААПА,
- ЦАААТТГГАЦГГГ.

Знайдіть у кожній задачі: а) масові частки нуклеотидів; б) довжину ДНК; в) структуру другого ланцюга.

Задача3. Довжина фрагмента ДНК – 680 нм. Визначити число азотистих основ даного фрагмента.

Задача4. Фрагмент ланцюга ДНК має такий нуклеотидний склад: ПТЦАТААЦГЦТ. Визначте: а) послідовність нуклеотиду фрагмента другого ланцюга молекули ДНК; б) довжину та молекулярну масу цієї ділянки ДНК.

Задача5. ДНК сперматозоїда людини містить 10^9 пар азотистих основ. Визначити довжину ДНК.

Задача6. Фрагмент молекули ДНК містить 560 тимідинових нуклеотидів, що становить 28 % від загального числа нуклеотидів. Визначити число інших нуклеотидів у даному фрагменті молекули ДНК і довжину фрагмента.

Задача7. У молекулі ДНК з відносною масою 96000 містяться аденілові нуклеотиди загальною масою 8625. Визначити число нуклеотидів кожного виду, якщо молекулярна маса одного нуклеотида 345.

Задача8. Яка довжина фрагменту ДНК, що складається з 30 нуклеотидів ?

Задача9. Скільки і яких видів вільних нуклеотидів необхідно для редуплікації молекули ДНК, в якій $A = 600$, а $G = 2400$?

Задача10. Фрагмент молекули ДНК містить 440 гуанілових нуклеотидів, що становить 22 % від загальної кількості нуклеотидів. Визначте довжину даного фрагмента ДНК, якщо довжина одного нуклеотиду – 0,34 нм.

Завдання до теми

1. Намалюйте схеми будови ДНК та РНК і опишіть їх функції.
2. Вивчіть правила комплементарності азотистих основ Чаргаффа.
3. Зобразіть схему хімічної будови ДНК.
4. Зобразіть схему хімічної будови РНК.
5. Зобразіть схему молекулярної структури різних форм ДНК.
6. Заповніть таблицю. Вкажіть властивості різних форм ДНК, заповнивши таблицю 4.1.
7. Зобразіть схему будови т-РНК, позначте її основні частини.
8. Нарисуйте схему нуклеотидів, що входять до складу ДНК.

Таблиця 4.1 – Властивості різних форм ДНК

Властивості	Форма			
	A	B	C	Z
Спіраль				
Число пар основ в одному витку спіралі				
Кут між сусідніми парами основ				
Відстань між сусідніми парами основ				
Діаметр спіралі				

9. Зробіть висновки про відмінності в будові та функціях між ДНК та РНК. Заповніть таблицю 4.2

10. Опишіть типи РНК, вкажіть їх роль у передачі і реалізації спадкової інформації (Табл. 4.3).

Таблиця 4.2 – Особливості ДНК та РНК

Особливості	ДНК	РНК
Склад нуклеотидів		
Одно- чи дволанцюгова		
Функції		
Місце розташування в еукаріотичній клітині		
Здатність до деградації		

Таблиця 4.3 – Типи і роль РНК

Тип РНК	Функція	Локалізація

Контрольні питання

1. Назвіть типи рибонуклеїнових кислот.
2. Які компоненти входять до складу нуклеотиду?
3. Які нітратні основи входять до складу ДНК?
4. Які нітратні основи входять до складу РНК?
5. Що визначає послідовність нуклеотидів у молекулі і-РНК?
7. Якому нуклеотидові ДНК комплементарний нуклеотид урацил?
8. Порівняйте будову молекул ДНК і РНК

Література: [1, с. 211–216; 3, с. 188–193; 6, с. 76–79; 7, с. 34–36; 8; 9].

Практична робота № 5

Тема. Зберігання і модифікація генетичного матеріалу

Мета: ознайомитись з основними етапами реплікації; навчитися моделювати процеси реплікації та репарації.

Навчальні елементи: реплікація, реплікативна вилка, праймер, лідучий ланцюг, відстаючий ланцюг, точка Орі, фрагмент Оказаки, ДНК-полімераза, компліментарність, антипаралельність.

Короткі теоретичні відомості

1. Реплікація ДНК

Живі організми протягом S-фази клітинного циклу, яка передує поділу клітини, подвоюють вміст ДНК таким чином, що кожна дочірня клітина після поділу отримує набір хромосом, ідентичний батьківській клітині. Процес подвоєння хромосом носить назву **реплікації (редуплікації)**.

Реплікація представляє собою синтез ДНК.

Хромосома містить одну безперервну двохланцюгову молекулу ДНК. При реплікації кожне коло вихідної (батьківської) двохланцюгової ДНК служить матрицею для синтезу нового (дочірнього) комплементарного ланцюга. Новостворена подвійна спіраль має один вихідний (батьківський) і один знову синтезований (дочірній) ланцюг. Такий механізм подвоєння ДНК отримав назву полуконсервативної реплікації.

Механізм поуконсервативної реплікації був розшифрований у 1967 р. Рейджі Оказакі. Первинна структура нового ланцюга визначається первинною структурою вихідного ланцюга, тому що в основі його утворення лежить принцип комплементарності підстав ($G=C$ і $A=T$). Ферменти і білки, що приймають участь у реплікації, повинні працювати швидко і точно. Ці умови виконуються за допомогою особливого мультиферментного комплексу.

Реплікацію можна поділити на 4 етапи:

- **ініціацію** – утворення реплікативної вилки;
- **елонгацію** – синтез нових ланцюгів;
- **виключення праймерів**;
- **термінацію** – завершення синтезу двох дочірніх ланцюгів ДНК.

Ініціація реплікації. Синтез ДНК у еукаріотів відбувається в S-фазу клітинного циклу. Ініціацію реплікації регулюють специфічні сигнальні білкові молекули – фактори росту. Фактори росту зв'язуються з рецепторами мембран клітин, які передають сигнал, що спонукає клітину до початку реплікації.

Синтез нових одноланцюгових молекул ДНК може відбутися тільки при розбіжності батьківських ланцюгів. У певному сайті (точка початку реплікації,

або оріджин) відбувається локальна денатурація ДНК, ланцюги розходяться і утворюються дві реплікативні вилки (назву отримана за характерну Y-подібну форму), що рухаються в протилежних напрямках. В утворенні реплікативної вилки приймає участь ряд білків і ферментів.

В кожній реплікативній вилці йде одночасно синтез двох нових ланцюгів. Напрямок синтезу ланцюга ДНК збігається з напрямком руху реплікативної вилки лише для одного зі знову синтезованих ланцюгів (лідуючий ланцюг). На іншому матричному ланцюзеві синтез дочірньої ДНК здійснюється двома ферментами: ДНК-полімеразою α і ДНК-полімеразою ϵ в напрямку $5' \rightarrow 3'$, але проти руху реплікативної вилки. Тому інший ланцюг синтезується преривисто, короткими фрагментами, які називають «фрагментами Оказакі» (були описані Рейджі Оказакі у 1968р.

Дочірній ланцюг ДНК, синтез якого відбувається фрагментами, носить назву відстаючого ланцюга. Кожен фрагмент Оказакі (приблизно 100 н. з.), містить праймер. Праймери видаляє ДНК-полімераза β , поступово відщеплюючи з 5'-кінця фрагменту по одному рибонуклеотиду. До ОН-групи на 3'-кінці попереднього фрагменту ДНК-полімераза β приєднує дезоксирибонуклеотиди в кількості, що дорівнює вирізаному праймеру і таким чином заповнює пролом, що виникає при видаленні рибонуклеотидів.

Фермент ДНК-лігаза каталізує утворення фосфодієфірного зв'язку між 3-ОН-групою дезоксирибози одного фрагменту ланцюга ДНК і 5-фосфатом наступного фрагменту. Реакція протікає з витратою енергії АТФ. Таким чином, з безлічі фрагментів Оказакі утворюється безперервний ланцюг ДНК.

2. Репарація ДНК

Процес, що дозволяє живим організмам відновлювати пошкодження, що виникають в ДНК, називають **репарацією**. Всі репараційні механізми засновані на тому, що ДНК – дволанцюгова молекула, тобто в клітині є дві копії генетичної інформації. Якщо нуклеотидна послідовність одного з двох ланцюгів виявляється пошкодженою (зміненою), дані можна відновити, так як другий (комплементарний) ланцюг збережений.

Процес репарації відбувається в кілька етапів. На **першому етапі** виявляється порушення комплементарності ланцюгів ДНК. У ході **другого етапу** некомплементарний нуклеотид або тільки підстава усувається, на третьому і четвертому етапах йде відновлення цілісності ланцюга за принципом комплементарності. Однак у залежності від типу пошкодження кількість етапів і ферментів, які беруть участь у його усуненні, може бути різною.

Дуже рідко відбуваються ушкодження, які зачіпають обидва ланцюга ДНК, тобто порушення структури нуклеотидів комплементарної пари. Такі пошкодження в статевих клітинах не рапаруються, так як для здійснення складної репарації за участю гомологічної рекомбінації потрібна наявність диплоїдного набору хромосом.

Усі пошкодження ДНК поділяються на два типи:

- *спонтанні пошкодження;*
- *індукуємі пошкодження.*

Спонтанні пошкодження ДНК. Порушення комплементарності ланцюгів ДНК можуть відбуватися спонтанно, тобто без участі будь-яких пошкоджуючих факторів, наприклад в результаті помилок реплікації, депуринізації, дезамінування нуклеотидів.

Хід роботи

1. Розв'язання елементарних задач із реплікації.

Задача 1. Один із ланцюгів ДНК має такий вигляд:

ГЦГ ГГТ ГГА ТАА ЦТА ГЦЦ.

Який вигляд матиме другий ланцюг цієї молекули ДНК, синтезований під час її реплікації.

Задача 2. Молекула іРНК складається з такої послідовності нуклеотидів: УУЦ ГАА ЦГА УУГ УЦГ ЦЦГ ГАУ. Якою буде будова молекули ДНК, на одному із ланцюгів якої була синтезована дана молекула і-РНК?

Задача 3. Дослідження показали, що 24 % загальної кількості нуклеотидів даної молекули і-РНК припадає на гуанін, 38 % – на урацил, 22 % – на цитозин, 16 % – на аденін. Визначте відсотковий вміст нітратних основ молекули ДНК,

на якій була синтезована молекула і-РНК

Задача 4. Ланцюг молекули ДНК містить 34 % гуаніну , 26 % цитозину, 25 % тиміну та 15 % аденіну. Яким буде відсотковий вміст нуклеотидів молекули і-РНК, що була синтезована на цьому ланцюзі молекули ДНК?

2. Розв'язання елементарних задач із репарації.

Задача 1. Унаслідок дії шкідливого чинника зазнав змін один із ланцюгів молекули ДНК. Виявіть ділянку, яка зазнала змін, якщо неушкоджений ланцюг молекули ДНК має такий вигляд: ААТ АГЦ ТТА ЦЦТ АГТ, а молекула і-РНК, якби вона була синтезована на ланцюзі ДНК, що зазнав змін мала б такий вигляд: УУА ГГЦ УАЦ ГГА УЦГ. Встановіть вигляд молекули ДНК після репарації.

Задача 2. Унаслідок дії шкідливого чинника зазнав змін один із ланцюгів молекули ДНК. Після цього молекула набула такого вигляду (першим наведено ланцюг, який не зазнав змін): АТТ ЦАТ ГГТ ЦГА ТАЦ ТГГ ЦАА ГЦТ. Встановіть ділянку молекули ДНК, що зазнала змін. Встановіть відсотковий вміст нуклеотидів у молекулі ДНК після порушення структури та репарації.

Завдання до теми

1. Розгляньте основні закономірності й етапи реплікації.
2. Замалуйте схему реплікації.
3. Позначте на реплікативній вилці напрями синтезу ДНК, фрагменти Оказаки, праймери, вкажіть відстаючий, ведучий ланцюг.
4. Зобразіть схему реплікації ДНК, позначивши її основні етапи
5. Зобразіть схему реплікативної вилки. Позначте на реплікативній вилці напрями синтезу ДНК, фрагменти Оказаки, праймери, вкажіть відстаючий, ведучий ланцюги.
6. Зобразіть схему реплікативної вилки. Вкажіть основні ферменти, що беруть участь в реплікації.
7. Покажіть, якою буде доповнююча ділянка гена після його реплікації з такою послідовністю нуклеотидів (індивідуального завдання)

Контрольні питання

1. У чому полягає процес реплікації ДНК?
 2. На скільки етапів поділяється реплікація? Перерахуйте ці етапи.
 3. Що відбувається під час ініціації реплікації?
 4. Які зміни відбуваються під час елонгації реплікації.
 5. Що таке оріджини реплікації?
 9. Яку назву носить процес, що дозволяє живим організмам відновлювати пошкодження, що виникають в ДНК?
 10. На які типи поділяються пошкодження ДНК. Що це за типи?
 11. У чому полягають помилки реплікації і як вони усуваються?
 15. Які типи рекомбінації виділяють?
 19. Як відбувається внутрішньомолекулярна рекомбінація?
- Література:** [1, с. 207–208; 4, с. 156–160; 6, с. 77–81; 7, с. 87–91; 8; 9].

Практична робота № 6

Тема. Експресія генетичного матеріалу

Мета: ознайомитись з основними етапами трансляції; вивчити поняття генетичного коду; провести моделювання синтезу первинного білка.

Навчальні елементи: транскрипція, процесинг, сплайсинг, кепування, поліаденілювання, інтрон, екзон, трансляція.

Короткі теоретичні відомості

1. Експресія генів – це процес, в ході якого спадкова інформація від гена перетворюється на функціональний продукт – РНК або білок.

Біосинтез білка – складний багатостадійний процес синтезу поліпептидного ланцюга з амінокислотних залишків, що відбувається на рибосомах клітин живих організмів за участю молекул м- і т-РНК. Біосинтез білка можна розділити на стадії транскрипції, процесингу та трансляції.

Транскрипція – це процес синтезу РНК з використанням ДНК в якості матриці. Транскрипція є першою стадією реалізації генетичної інформації в клітині. У ході процесу транскрипції утворюються молекули м-РНК, які служать

матрицею для синтезу білків, а також транспортні, рибосомальні та інші види молекул РНК, що виконують структурні, адапторні та каталітичні функції.

Синтез молекул РНК починається в визначених послідовностях (сайтах) ДНК, які називають промотори, і завершується у термінуючих ділянках (сайти термінації). Ділянка ДНК, обмежена промотором і сайтом термінації, являє собою одиницю транскрипції – **транскриптон**. У еукаріотів до складу транскриптону, як правило, входить один ген, а у прокаріотів декілька.

Транскрипційні фактори.

Транскрипційні фактори або фактори транскрипції (ТФ) – це білки або білкові комплекси, які взаємодіють з певними регуляторними сайтами і прискорюють або сповільнюють процес транскрипції.

Стадії транскрипції. В процесі транскрипції розрізняють 3 стадії: *ініціацію, елонгацію і термінацію.*

Процесінг.

Посттранскрипційна модифікація або процесінг РНК – це сукупність процесів, які призводять до перетворення пре-м-РНК в зрілу м-РНК. Первинні транскрипти м-РНК, перш ніж будуть використані в ході синтезу білка, піддаються ряду ковалентних модифікацій. Ці модифікації необхідні для функціонування м-РНК в якості матриці.

Сплайсинг.

Послідовності нуклеотидів, які присутні в ДНК, але не входять до складу зрілої м-РНК, були названі некодуючими, або інтронами, а послідовності, присутні в м-РНК – кодуючими, або екзонами.

Первинний транскрипт – це суворо комплементарна матриці нуклеїнова кислота (пре-мРНК), що містить як екзони, так і інтрони. Довжина інтронів становить від 80 до 1000 нуклеотидів. Послідовності інтронів «вирізаються» з первинного транскрипту, а кінці екзонів з'єднуються один з одним.

Таку модифікацію РНК називають **сплайсингом** (англ. **to splice** – **зрощувати**). Сплайсинг відбувається в ядрі, а до цитоплазми надходить вже «зріла» м-РНК.

Процесінг т- і р-РНК. Гени, що кодуєть більшу частину структурних РНК, транскрибуютьс я РНК-полімеразами I і III. Нуклеїнові кислоти – попередники т-РНК і р-РНК – піддаютьс я в ядрі розщепленню і хімічній модифікації (процесінгу).

Трансляцією називають здійснюємий рибосоною синтез білка з амінокислот на матриці м-РНК. Переклад інформації, укладеної в полінуклеотидній послідовності м-РНК, в амінокислотну послідовність білка потребує певного способу кодування або шифрування, тобто існування виразного закону, за яким чергування чотирьох нуклеотидів в м-РНК задає специфічну послідовність амінокислот у білку.

2. Генетичний код, його властивості

Генетичний код – це сукупність знаків, символів та система правил, згідно з якими структурна інформація, що міститься в нуклеїнових кислотах, може бути трансформованою в специфічну первинну структуру поліпептидів, яка, в свою чергу, визначає всі біологічні властивості білкових молекул.

Властивості генетичного коду:

1. Код є універсальним для всіх біологічних систем – вірусів, бактерій, вищих організмів.
2. Код є однонаправленим, тобто інформативним лише в тому випадку, коли зчитується «зліва направо».
3. Код є безперервним, тобто має лінійний безперервний порядок зчитування – між кодонами немає «розділових знаків».
4. Код є таким, що не перекривається – після зчитування інформації з одного триплета рамка зчитування переміщується вправо відразу на три нуклеотиди.
5. Код є виродженим, тобто кожна амінокислота кодується не одним, а декількома кодонами.
6. Код є однозначним – певний триплет кодує лише одну амінокислоту.

Сенс кодонів став зрозумілий в 60-х р. XX ст., коли, використовуючи безклітинну систему синтезу білків (табл. 6.1) і синтетичні полірибонуклеотиди

із заданою послідовністю нуклеотидів в якості матриці, Маршал Ніренберг і Дж. Маттеї синтезували поліпептиди певної будови.

Таблиця 6.1 – Основні компоненти білковосинтезуючої системи

№ з/п	Необхідні компоненти	Функції
1	Амінокислоти	Субстрати для синтезу білків
2	т-РНК	Адаптори. Взаємодіють акцепторним кінцем з амінокислотами, а антикодоном з кодоном м-РНК
3	aa-т-РНК-синтетази	Кожна aa-т-РНК-синтетаза каталізує реакцію специфічного зв'язування однієї з 20 амінокислот з відповідною т-РНК
4	м-РНК	Матриця містить лінійну послідовність кодонів, визначаючи первинну структуру білків
5	Рибосоми	Місця синтезу білків
6	АТФ і ГТФ	Джерела енергії
7	Білкові фактори ініціації, елонгації і термінації	Забезпечують процес трансляції
8	Іони магнію	Кофактор, стабілізуючий структуру рибосом

3. Центральна догма молекулярної біології

Центральна догма молекулярної біології – це узагальнююче правило реалізації генетичної інформації: інформація передається від нуклеїнових кислот до білка, але не в зворотному напрямку.

Правило було сформульовано Френсісом Криком у 1958 р. і приведено у відповідність з накопиченими на той час даними в 1970 р. Згідно йому, перехід генетичної інформації від ДНК до РНК і від РНК до білка є універсальним для всіх без винятку клітинних організмів.

Даний перехід лежить в основі біосинтезу макромолекул. Реплікації генома відповідає інформаційний перехід ДНК→ДНК, транскрипції – ДНК→РНК, а трансляції РНК→білок.

У природі зустрічаються також переходи РНК→РНК (реплікація у вірусів), РНК→ДНК (зворотня транскрипція у вірусів), ДНК→білок (пряма

трансляція у *E. coli*), а також зміна конформації пріонів (білків, що існують у двох формах) що передається від молекули до молекули (табл. 6.2).

Таблиця 6.2 – Способи передачі інформації згідно Центральної догми молекулярної біології

Процес	Загальні	Спеціальні	Невідомі
Реплікація	ДНК→ДНК	РНК→РНК	Білок→ДНК
Транскрипція	ДНК→РНК	РНК→ДНК	Білок→РНК
Трансляція	РНК→білок	ДНК→білок	Білок→білок

Основний генетичний постулат матричної теорії спадковості схематично має такий вигляд:

(реплікація) → ДНК – (транскрипція) → РНК – (трансляція) → білок

Хід роботи

1. Розв'язання елементарних задач з молекулярної біології

Задача 1. Визначте первинну структуру білка, закодованого в лівому ланцюзі гена, якщо його правий ланцюг має таку послідовність нуклеотидів:

- ГАТАТТТАЦГЦА;
- ТГТТАТЦААЦЦТ;
- ЦАЦТТЦААААГТГТ.

Задача 2. Знайдіть первинну структуру білка, щ синтезується, якщо ділянка ланцюга ДНК має таку структуру:

- ЦГТ ГАТ ТТТ ТГТ ТТГ;
- АЦА АТА ААА ЦТТ;
- ТАА ЦГТ ЦТА ЦТА АТГ.

Задача 3. Визначить антикодони т-РНК, які беруть участь у синтезі білків:

- асп – ала – іле – гли;
- про – цис – асп – гис – про.

Задача 4. Один із ланцюгів фрагмента ДНК має таку послідовність нуклеотидів: 3' АГТ АЦЦ ГАТ ЦЦТ ЦГА ТТТ АЦГ 5'. Визначте послідовність нуклеотидів і-РНК, закодованої в даному фрагменті ДНК.

Задача 5. Початок ланцюга однієї із фракцій гістону H₃, виділеного з тимуса теляти, має таку послідовність амінокислот: ала – арг – тре – ліз. Визначте можливу будову кодуєчих фрагментів і-РНК і дволанцюгової ДНК.

Задача 6. Поліпептид складається з 10 амінокислот, розміщених у такій послідовності: глн – про – ада – сер – мет – три – асп – глі – асн – гіс. Визначте структуру і-РНК, яка кодує даний поліпептид.

Задача 7. Фрагмент ланцюга і-РНК складається з послідовно розміщених кодонів: АУЦ ГУГ АУГ УГЦ УУУ АУА ЦАА АУЦ УАА. Які амінокислоти повинні перенести т-РНК до місця синтезу білка, закодованого цією ділянкою і-РНК, і які антикодони повинні мати ці т-РНК ?

Задача 8. Визначте амінокислотний склад поліпептиду, який кодується і-РНК такого складу: ЦЦГЦАЦЦУАЦГУ.

Задача 9. Фрагмент молекули білка міоглобіну містить амінокислоти у такому порядку: ала – глу – тир – сер – глн. Визначте структуру ділянки ДНК, яка кодує цю послідовність амінокислотних залишків.

Задача 10. Дано такий фрагмент молекули ДНК: перший ланцюг – 5' АЦЦГАТТАТЦЦААЦЦТГЦ 3', другий ланцюг – 3' ТГГЦТААТАГГТТГГАЦГ 5' відповідно. Визначте послідовності амінокислот, закодованих в обох полінуклеотидних ланцюгах даного фрагмента ДНК.

Задача 11. Ділянка молекули білка має таку будову: іле – асн – ала – сер – три – ала. Визначте кількісне співвідношення нуклеотидів у ланцюзі ДНК, який кодує цей фрагмент білка.

Задача 12. Визначте молекулярну масу і довжину гена, який містить інформацію про білок з молекулярною масою 28 0000 а. о. м.

Задача 13. Відносна молекулярна маса білка – 100 000, а молекулярна маса однієї амінокислоти – 100 а.о.м. Визначте довжину відповідного гена, який кодує цей білок, якщо довжина одного нуклеотиду становить 0,34 нм.

Задача 14. Відносна молекулярна маса білка -100 000, а молекулярна маса однієї амінокислоти – 100 а.о.м. Визначте масу відповідного гена, який кодує цей білок, якщо маса одного нуклеотиду становить 345 а. о. м.

Задача 15. Фрагмент молекули ДНК містить 440 гуанілових нуклеотидів, що становить 22 % загальної кількості нуклеотидів. Визначте довжину даного фрагмента ДНК, якщо довжина одного нуклеотиду – 0,34 нм,

Задача 16. Фрагмент молекули ДНК містить 440 гуанілових нуклеотидів, що становить 22 % загальної кількості нуклеотидів. Визначте масу даного фрагмента ДНК, якщо маса одного нуклеотиду – 345 а. о. м.

Завдання до теми

1. Зарисувати в альбом схему біосинтезу білка.
2. Опишіть властивості генетичного коду.
3. Вміти застосовувати знання генетичного коду для пояснення виникнення патологічних змін на молекулярному рівні.

Контрольні питання

1. Що означає термін «генетичний код»?
2. Генетичний код є триплетним і виродженим. Зміна якого нуклеотиду в кодуючому триплеті переважно не порушує його змісту?
3. При зміні одного нуклеотида в ДНК замінюється лише одна амінокислота в пептиді. Яку властивість генетичного коду це доводить?
4. Що відбувається в процесі транскрипції?
5. Назвіть сполуку, яка передає спадкову інформацію з ядра до місця синтезу білків.
6. Яка кількість амінокислот бере участь у синтезі білків?
7. Укажіть назву процесу відновлення природної структури білка після її порушення.
8. Як амінокислотні залишки сполучаються в поліпептидний ланцюг?
9. Який вигляд має вторинна структура білків?
10. Назвіть сполуку, яка передає спадкову інформацію з ядра до місця синтезу білків.
11. Що залежить від порядку розміщення нуклеотидів у молекулі ДНК?
12. На мембранах яких органел відбувається синтез білка?

Література: [1, с. 312–317; 3, с. 208–210; 6, с. 123–127; 7, с. 57–62; 8; 9].

2 КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

Контроль знань і умінь студентів (поточний і підсумковий) з навчальної дисципліни «Основи фізико-хімічної біології» здійснюють згідно з кредитно-модульною системою організації навчального процесу. Рейтинг студента з засвоєння навчальної дисципліни визначається за 100 бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої відводиться 70 балів, і рейтингу з атестації (іспиту) –30 балів. На практичних заняттях кожен студент з кожної теми виконує індивідуальні завдання. Рівень знань оцінюється:

«Відмінно»

Студент дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично правильні відповіді не менш ніж на 90 % запитань, розв'язання задач та практичні справи правильні, демонструє знання підручників, посібників, інструкцій, проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем навчального курсу.

«Добре»

Студент володіє знаннями матеріалу, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, проте за допомогою викладача швидко орієнтується і знаходить правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем навчального курсу.

«Задовільно»

Студент дає правильну відповідь не менше ніж на 60 % питань, або на всі запитання дає недостатньо обґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які виправляє за допомогою викладача. При цьому враховується наявність конспекту за темою завдань і самостійність.

«Незадовільно з можливістю повторного складання»

Студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35 % питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки. Має неповний конспект лекцій.

Підсумкова (загальна оцінка) курсу навчальної дисципліни.

Є сумою рейтингових оцінок (балів), одержаних за окремі оцінювані форми навчальної діяльності: поточне та підсумкове тестування рівня засвоєності теоретичного матеріалу під час аудиторних занять і самостійної роботи (модульний контроль); оцінка (бали) за виконання лабораторних досліджень.

Підсумкова оцінка виставляється після повного вивчення навчальної дисципліни, що виводиться як сума проміжних оцінок за змістовні модулі.

Остаточна оцінка рівня знань складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої відводиться 70 балів, і рейтингу з атестації (іспиту) – 30 балів.

Сума балів за всі види навчальної діяльності	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою для іспиту
90–100	A	Відмінно
82–89	B	Добре
74–81	C	
64–73	D	Задовільно
60–63	E	
35–59	FX	Незадовільно з можливістю повторного складання
0–34	F	Незадовільно з обов'язковим повторним вивченням навчальної дисципліни

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна

1. Сиволоб, А. В. Молекулярна біологія / А. В. Сиволоб. – Київ : Видавничо- поліграфічний центр «Київський університет», 2008. – 384 с.
2. Великов В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство. – Саратов : Саратовский источник, 2013. – 84 с.
3. Молекулярная біологія : структура и биосинтез нуклеиновых кислот. / Под ред. акад. А. С. Спирина. / Москва : Высшая школа, 1990, – 350 с.
4. Тоцький В. М. Генетика. / В. М. Тоцький – Одеса : Астропринт, 1998. – 476 с.

Додаткова

5. Ушакова Г.О. Сучасні методи клінічної діагностики (ПЛР). / Г. О. Ушакова, М. І. Долженко – ДНУ, 2003.– С. 1–35.
6. Стент Г. Молекулярная генетика. / Г. Стент, Р. Кэлиндар – Москва : Мир, 1981, – 380 с.
7. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. / Дж. Миллер – Москва : Мир, 1976. – 400 с.

Інформаційні ресурси

8. Бібліотека ДНУ ім. О.Гончара.
9. Internet мережа: www.ncbi.nlm.nih.gov, www.highwire.edu

Методичні вказівки щодо практичних робіт з навчальної дисципліни
«Основи фізико-хімічної біології» для студентів денної форми навчання

Галузь знань 10 «природничі науки» спеціальність 101 – «Екологія»
освітньо-професійна програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладачі: старш. викл. О. О. Никифорова

Відповідальний за випуск заст. зав. кафедри біотехнологій та біоінженерії
к. х. н., доц. Т. Ф. Козловська

Підп. до др. _____ 2018 р. Формат 60x84 1/16. Папір тип. Друк ризографія.
Ум. друк. арк. _____. Наклад _____ прим. Зам. № _____. Безкоштовно.

Видавничий відділ
Кременчуцького національного університету
імені Михайла Остроградського
вул. Першотравнева 20, м. Кременчук, 39600