Лекция 5. Нуклеотиды, ДНК, репликация.

Сегодня мы с вами займёмся рассмотрением **нуклеотидов** и молекулы **дезоксирибонуклеиновой кислоты** (ДНК), а также познакомимся с процессом **репликации** и понятием **комплементарности**. ДНК несёт генетическую наследственную информацию и передаёт её потомству (репликация ДНК = размножение на молекулярном уровне). *Генетическая информация определяет первичную структуру белков*. **Ген** – это фрагмент ДНК, кодирующий последовательность аминокислот определённого белка. ДНК человека (23 молекулы) содержит около 20 тысяч генов.

РНК (три типа) выполняет вспомогательную функцию, обеспечивает превращение генетической информации в конкретные белки. По сути, само увеличение числа живых организмов немыслимо без копирования структур ДНК. Двойная спираль как бы намекает на *возможность разделения и создания своих копий*. Как это происходит, мы с вами рассмотрим подробнее.

Итак, первая функция ДНК состоит в копировании самой себя (репликации) и, следовательно, в размножении живых организмов. А другая функция завязана на том, что внутри ДНК находятся «инструкции» по сборке белковых молекул. Для того, чтобы возник белок, необходимо, чтобы информация, «записанная» на молекуле ДНК, была передана к **рибосомам** – особым органоидам внутри клетки, занимающимся *синтезом белков*. Саму «инструкцию» по сборке белка мы называем **геном**. Можно сказать, что молекула ДНК состоит из отдельных «страниц текста». Между кодирующими участками, как правило, есть участки, которые управляют активностью генов (включают / выключают).

Каким же образом информация с ДНК поступает на рибосомы для синтеза белков? С помощью синтеза **матричной** (или информационной) **РНК**: создаётся как бы *копия гена, которая переносится к рибосоме*, которая продуцирует белок. В зависимости от того, какой ген пришёл, производится конкретная молекула.



Рисунок 5.1. Общая схема синтеза белка

Общая структура нуклеотидов

И **ДНК** (дезоксирибонуклеиновая кислота), и **РНК** (рибонуклеиновая кислота) являются огромными *полимерными молекулами*, состоящими из *мономеров* – **нуклеотидов**. ДНК и РНК собираются из 4-х типов нуклеотидов (у каждого – свои). Здесь стоит также заметить, что и сам нуклеотид – это сложная молекула. Каждый нуклеотид сформирован из 3-х частей: ***пентозы*** (рибозы либо дезоксирибозы), ***азотистого основания*** (в 1-м положении пентозы) и ***фосфорной кислоты*** (в 5-м положении пентозы). Азотистые основания называются так потому, что внутри кольцевых молекул содержится *большое количество атомов азота*. Именно азотистые основания определяют специфику нуклеотидной молекулы, примерно так же, как радикал определяет специфику аминокислоты. Фосфорная кислота крепится к кольцу, выходящему за пределы кольца. У фосфорной кислоты (H3PO4) целых *три –OH-группы*, и одна из них используется для соединения с пентозой.



Рисунок 5.2. Общая структура нуклеотида

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА
teach-in ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

Соответственно мы имеем структуру, которая называется нуклеотидом. Если в составе нуклеотида **рибоза**, то он будет задействован при *синтезе РНК*, а если **дезоксирибоза** – то при *синтезе ДНК*. На рисунке мы видели как раз дезоксирибозу, потому что *во 2-м положении нет кислорода*. Дезоксирибоза является *более химически устойчивой*. Для синтеза ДНК нужны четыре типа азотистых оснований: **аденин, гуанин, тимин, цитозин**. Для синтеза РНК также нужны четыре типа азотистых оснований: **аденин, гуанин, урацил, цитозин**.

Давайте поближе посмотрим на азотистые основания. Химически мы определяем их как **гетероциклические молекулы**, что указывает нам на то, что внутри цикла присутствуют не только *атомы углерода*, но и *атомы азота*. Также стоит отметить, что те азотистые основания, которые входят в состав нуклеотидов, делятся на две группы: **пурины** и **пиримидины**. К первым относятся ***аденин*** и ***гуанин***, для которых характерно *наличие двух колец* (из 6 и 5 звеньев соответственно), соединённых вместе.

За счёт неравномерного распределения зарядов азотистые основания способны очень эффективно формировать **водородные связи**. Связь с пентозой происходит через 9-й азот. В случае *аденина* азот в 1-м положении и аминогруппа при 6-м углероде дают две водородные связи с тимином (урацилом). У *гуанина* три водородные связи с цитозином образуют 1-й азот, аминогруппа при 2-м углероде и кислород при 6-м углероде.



Рисунок 5.3. Пурины

Аденин входит в состав *АТФ, ФАД, НАД* и *НАДФ, КоА* (на аденин похож кофеин). Гуанин является *отходом азотистого обмена у птиц* («гуано») и *паукообразных* (+ «белый пигмент»). Если сейчас удобрения создаются за счёт средств химической промышленности, то в 19 веке гуано было важнейшим *минеральным удобрением*.

К **пиримидинам** относятся другие азотистые основания, такие как ***тимин, цитозин*** и ***урацил***. Их гетероциклические молекулы содержат *одно кольцо с 2-мя атомами азота*. Связь с пентозой осуществляется через 1-й азот. В случае *урацила* и *тимина* азот в 3-м положении и кислород при 4-м углероде дают две водородные связи

с аденином. А у *цитозина* три водородные связи с гуанином образуют кислород при 2-м углероде, азот в 3-м положении и аминогруппа при 4-м углероде.

Если мы будем анализировать химическую структуру и состав этих азотистых оснований, мы увидим, скажем, что *урацил и тимин достаточно схожи* (тимин = метилированный урацил). *Цитозин* в ДНК *может* самопроизвольно *терять аминогруппу*, превращаясь в урацил (особый фермент устраняет эти мутации). Пара АТ характерна для молекул ДНК, а пара АУ – для молекул РНК. Надо сказать, что ряд аналогов нуклеотидов используется в создании *противораковых и противовирусных препаратов*, поскольку нуклеотиды могут улучшать полимеризацию и структуру ДНК, транскрипцию РНК.



Рисунок 5.4. Пиримидины

Если *гетероцикл крепится к пентозе*, то эта молекулярная конструкция называется **нуклеозид** (например, *дезоксиаденозин фосфат*). И мы видим, как происходит соединение двух нуклеотидов в цепочку (полимеризация): *через фосфорную кислоту* и *–ОН-группу* при 3-м углероде пентозы (3,5-**фосфодиэфирные связи**), при шаге 0,34 нм.

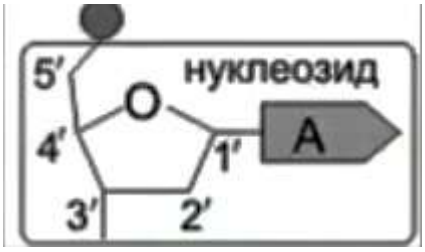


Рисунок 5.5. Нуклеозид

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА
teach-in ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

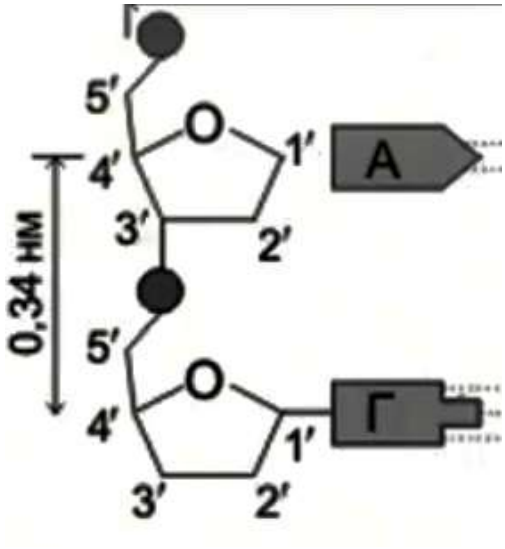


Рисунок 5.6. Полимеризация нуклеотидов

Двойная спираль ДНК

Эти цепочки могут быть достаточно длинными, и, в случае РНК мы видим *одну цепочку*, а в случае ДНК – *двойную цепь*. **Молекула ДНК представляет собой полинуклеотид, состоящий из двух комплементарных цепей** (и напротив аденина А всегда находится тимин Т, а напротив гуанина G – всегда стоит цитозин С). Принцип комплементарности гласит о *взаимном соответствии цепей ДНК*, удерживаемых водородными связями между пуринами и пиримидинами. Подозревать, что так устроены молекулы ДНК, начали ещё в 1940-е годы. В конце концов в 1950-м году *Эрвин Чаргафф* сформулировал экспериментально доказанное правило, согласно которому **число А равно числу Т, а число G равно числу С**. Но как именно это организовано внутри молекулы ДНК, догадались не сразу. В конечном итоге *Уотсон* и *Крик* создали модель **двойной спирали**, о которой мы скажем чуть дальше.

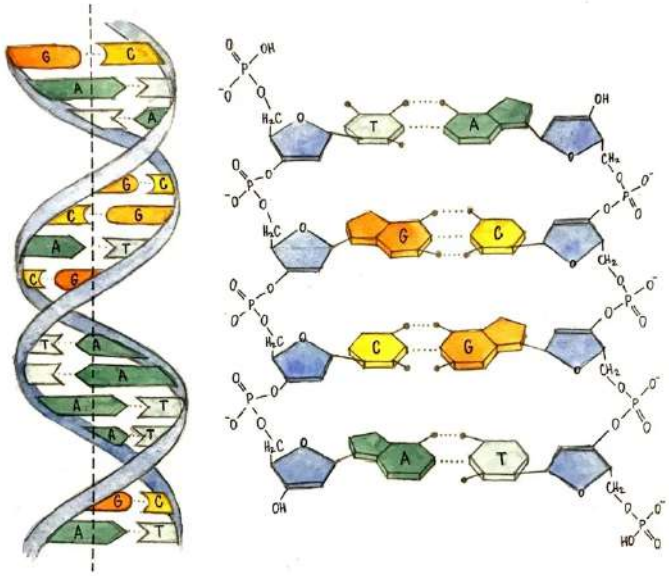


Рисунок 5.7. Двойная цепь ДНК

Это самое «напротив» возникает за счёт наличия водородных связей: *две связи* между аденином и тимином, *три связи* между гуанином и цитозином. Иными словами, напротив основания с *двумя циклами* находится основание с *одним циклом*. Это приводит к тому, что расстояние между цепями является стабильным (2 нм или 20 ангстрем). Давайте рассмотрим простую задачу. В молекуле ДНК 30% молекул аденина. Сколько же в ней остальных нуклеотидов? Мы уже знаем, что напротив аденина всегда располагается тимин, поэтому его в составе также 30%. Оставшиеся 40% - это гуанин и цитозин, которых также поровну (по 20%).

Дальше мы видим, как конкретно *аденин и тимин* формируют свои водородные связи: в частности, аминогруппа соединяется с кислородом (Рис. 5.8.). В случае *гуанина и цитозина* мы соответственно видим 3 водородные связи (Рис. 5.9.). Стоит заметить, что пары нуклеотидов располагаются горизонтально, перпендикулярно оси цепи. Когда мы смотрим на **двойную спираль ДНК**, мы можем говорить уже о третичной структуре нуклеотидов. По поводу конкретных связей вам могут встретиться некоторые задачки: в первой молекуле ДНК аденин составляет 30% нуклеотидов, а во второй – 25%. Какая из этих молекул более устойчива к нагреванию? Надо сказать, что при нагревании разделение цепочки происходит за счёт разрыва водородных связей. Раз аденина во второй молекуле меньше, значит там меньше двойных водородных связей и больше тройных. Поэтому *чем больше пар АТ* в молекуле, тем молекула *менее прочна*, а чем *больше пар GC*, тем *молекула прочнее* (больше водородных связей).

Комплементарные пары нуклеотидов образуют «плоские ступени винтовой лестницы». На одном витке находится 10 пар нуклеотидов. Кроме этого, важно понимать, как организована молекула ДНК. **Две соседние цепи находятся в антипараллельном**

состоянии: если мы смотрим на *пентозы левой цепочки*, то кислороды находятся выше колец, а у *пентоз правой цепочки* – ниже. То есть, проходя по каждой пентозе, мы будем встречать сначала 3-й углерод, а потом 5-й – если мы слева, или сначала 5-й углерод, а потом 3-й – если мы справа (3,5- «текст гена», а 5,3- его комплементарное отображение).

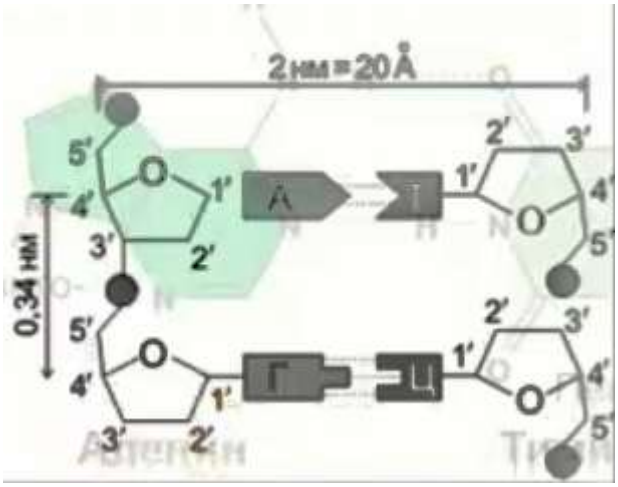


Рисунок 5.8. Антипараллельность

Почему это значимо? Прежде всего, это важно с точки зрения того, как передаётся генетическая информация. Потому что внутри молекулы ДНК каждый конкретный триплет кодирует аминокислоту в белке. Получается, что правая и левая цепочки содержат разные нуклеотиды с точки зрения генетического кода. Иными словами, если мы говорим про двойную спираль, то *только одна цепочка из пары несёт истинную генетическую информацию* (в то время как вторая цепочка представляет её «зеркальный» перевод). Если мы хотим считывать генетический код, мы должны знать, на какой из двух цепей она записана => **Во время транскрипции считывание происходит именно в направлении от 3 к 5**. Впоследствии оказалось, что каждый *конкретный ген в пределах одной спирали может оказаться на одной цепи или на другой*. Соответственно, если мы пойдём сверху, то 3 – 5 направление будет у противоположной цепи.

Когда в школе рассказывают о ДНК, то приходится значительно упрощать картину. Мы видим рисунки, где что-то изображено верно, а что-то не совсем верно с точки зрения конкретной детали ДНК (Рис. 5.9.). Слева мы не видим, что комплементарные пары имеют одинаковую длину (не показано, что пурин длиннее пиримидина). Если мы смотрим на правое изображение, то там не указана ориентация пентоз (зато хорошо видна разница в длине азотистых оснований). Далее мы видим ещё несколько изображений: слева отмечены только «перила» (сахар и фосфат), а справа синим обозначена цепочка из дезоксирибоз и фосфатов, а жёлтым – нуклеотидные пары, плотно упакованные внутри молекулы ДНК (Рис. 5.10.). В каждом конкретном случае

важно понимать ключевые моменты, которые отмечены на рисунке, но также отдавать себе отчёт в том, что это всё-таки значительное упрощение исходной структуры.

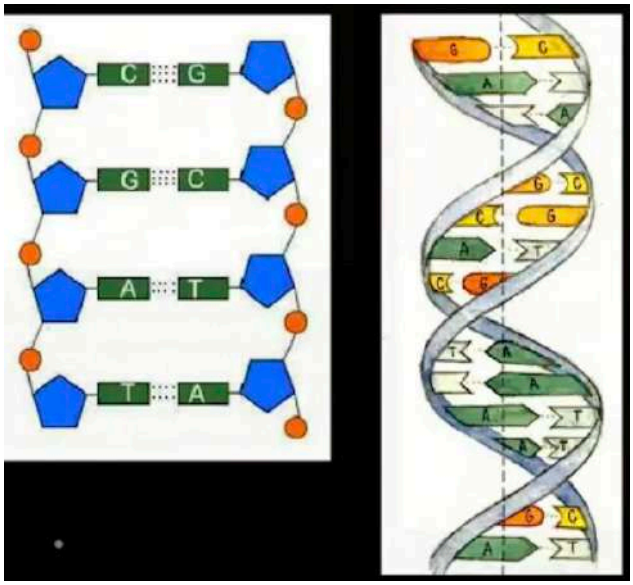


Рисунок 5.9. Изображения двойной цепи ДНК (1)

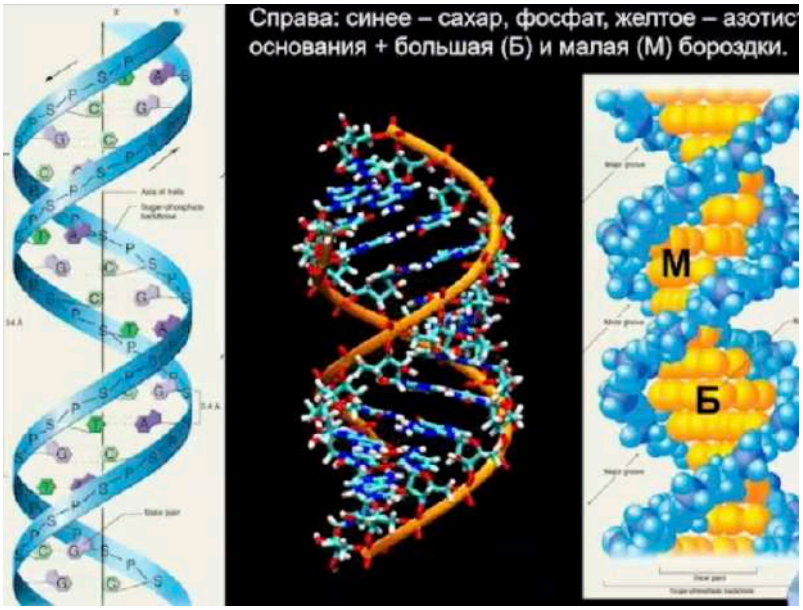


Рисунок 5.10. Изображения двойной цепи ДНК (2)

Далее мы обратимся к истории открытия двойной спирали ДНК. Как мы помним, *Чаргафф* сформулировал правило, после чего потребовалось внести принцип комплементарности в саму молекулярную структуру. Подсказкой в этом деле стал **рентгеноструктурный анализ** *Мориса Уилкинса* и *Розалинды Франклин*, который уже высветил очертания спиралевидной структуры. Гениальное обобщение этой схемы было

представлено *Фрэнсисом Криком* и *Джеймсом Уотсоном* в 1953 году на основании имеющихся сведений. Они создали модель двойной спирали ДНК, с учётом принципа комплементарности и пространственного расположения элементов. За это открытие Уотсон и Крик были удостоены *Нобелевской премии*.

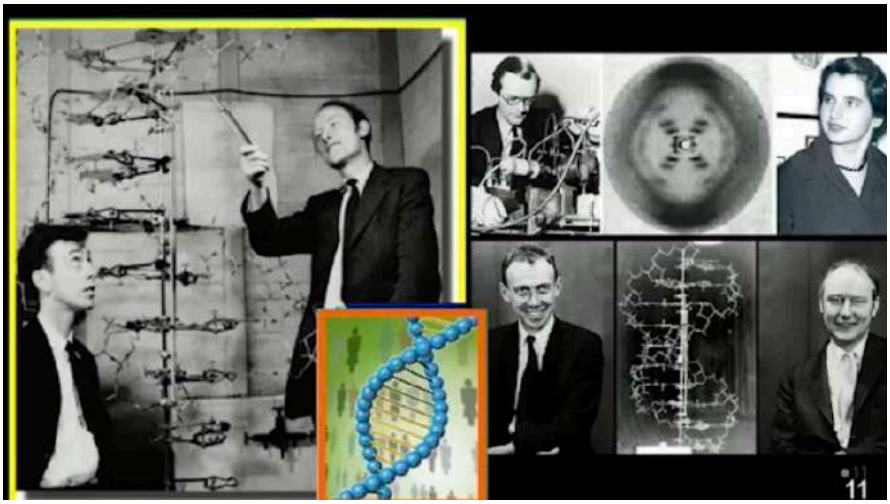


Рисунок 5.11. История открытия двойной спирали

Репликация ДНК

Важнейшей задачей молекулы ДНК является **репликация** (самокопирование). В основе этой функции лежит *способность самоудваиваться с использованием принципа комплементарности* (размножение на молекулярном уровне). Мы видим упрощённый вариант описания данного процесса (Рис. 5.12.), когда к молекуле ДНК с края подходит специальный фермент **хеликаза**, который начинает *расплетать цепочки молекул* ДНК. И далее на каждую цепочку садится другой фермент **РНК-полимераза**, который начинает *достраивать комплементарные цепочки* на копиях. В итоге получится две одинаковых молекулы, совпадающих с исходной молекулой ДНК (материнской ДНК). Такой способ репликации называется ***полуконсервативным путём репликации*** (в образованных спиралях 1 старая и 2 новая цепочка).

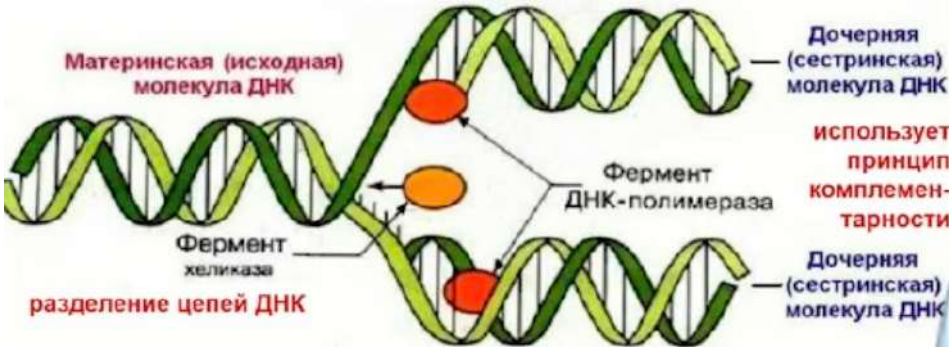


Рисунок 5.12. Схема репликации ДНК

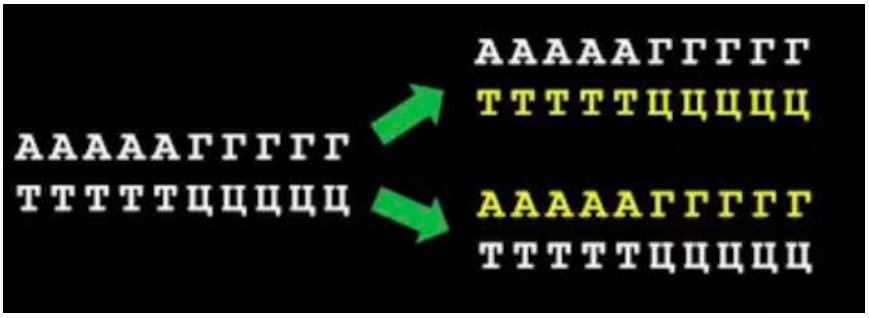


Рисунок 5.13. Достраивание дочерних цепочек ДНК

Здесь очень важным моментом является то, что ДНК-полимеразы могут работать только в 3 – 5 направлении (фермент не может копировать цепочку, находящуюся в 5 – 3 направлении). Поэтому, когда хеликаза разъединяет две цепи, то одна цепь (лидирующая) копируется непрерывно, а во второй цепи (отстающей) фермент ждёт, что освободится большой фрагмент ДНК, чтобы «сесть» в начало этого фрагмента и запустить копирование в правильном направлении (Рис. 5.14.). По мере копирования, хеликаза проходит дальше, и возникает место для посадки новой ДНК-полимеразы. В итоге получается, что *вторая цепь копируется фрагментами*, которые называются **фрагментами Оказаки**. Затем приходит другой специальный фермент **ДНК-лигаза**, который *сшивает имеющиеся фрагменты*.

Кроме указанных ферментов, здесь присутствуют также другие важные детали. Например, фермент **топоизомераза**, который помогает расплетать ДНК перед хеликазой, или **SSB-белки**, которые прикрывают одноцепочечную ДНК от обратного слипания. Ещё можно отметить наличие **РНК-праймеров** и особых ферментов **праймаз**. Дело в том, что ДНК-полимераза не может начать синтезировать цепочки с пустого места. Ей обязательно нужно, чтобы в начале цепи стояли маленькие фрагменты РНК. Поэтому синтез каждой комплементарной цепочки начинается с того, что на её кончик садится праймаза, которая создаёт небольшой кусочек РНК, от которого отрастает цепь ДНК. Затем праймер замещается специальными ферментами.

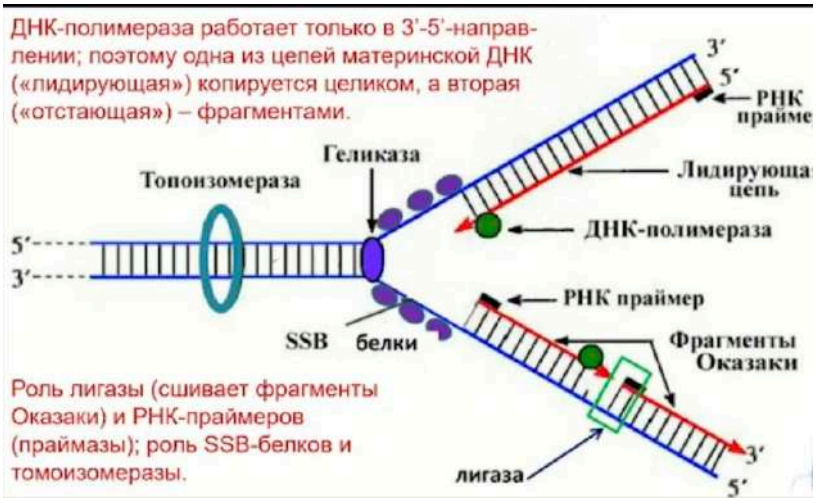


Рисунок 5.14. Подробная схема копирования цепей ДНК

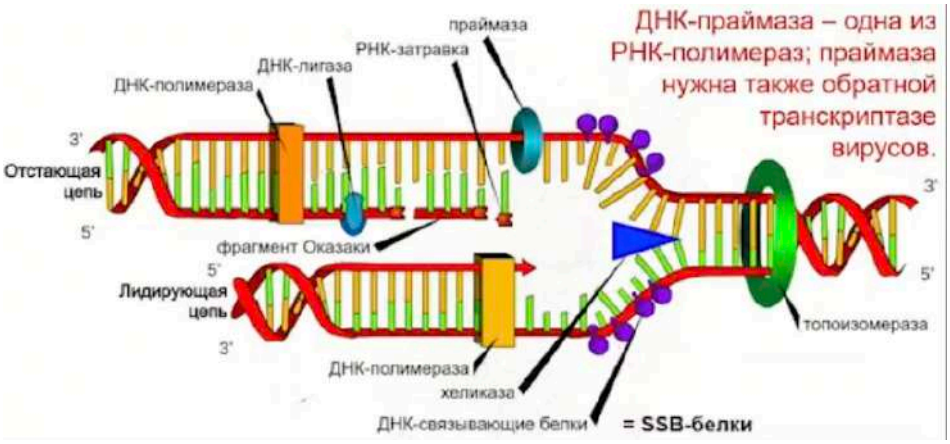


Рисунок 5.15. Основные ферменты, участвующие в репликации

Размер праймеров составляет 10-12 нуклеотидов. Но после завершения репликации они аккуратно удаляются. Есть и ещё одна схема, которая ближе к реальности демонстрирует, что на отстающей цепи работают не несколько ДНК-полимераз, а всего одна (Рис. 5.16.). ДНК-праймаза представляет собой по сути одну из РНК-полимераз. Надо сказать, что скорость репликации для *бактерий* – 1-2 тысячи нуклеотидов в секунду, для *эукариотов* – 100-200 нуклеотидов в секунду. Но у бактерий лишь одна точка начала репликации, а у последних – несколько (повышение скорости копирования). Опять-таки, одним из упрощений школьных схем, связанных с описанием процесса репликации, является указание на то, что она начинается с конца молекулы. На самом деле *репликация начинается из внутренней зоны, где есть специальные последовательности нуклеотидов* (метка начала репликации), откуда происходит одновременное копирование цепей в разные стороны.

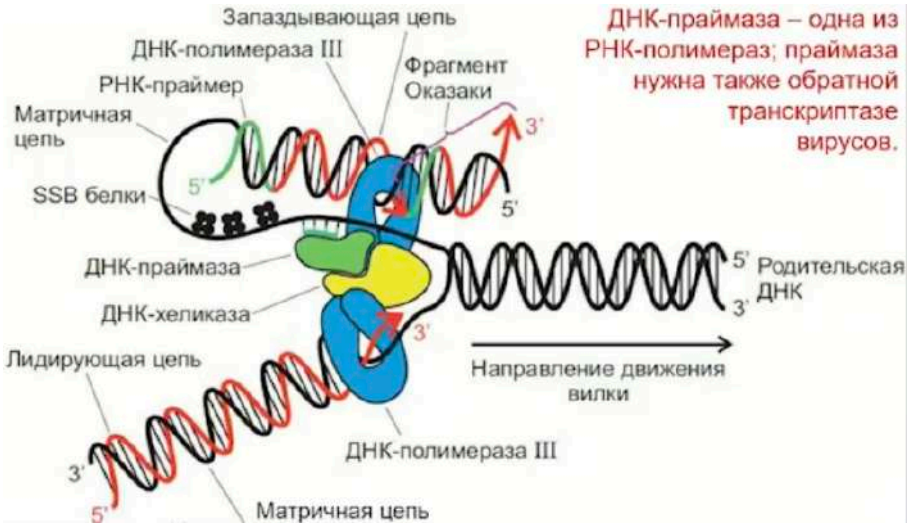


Рисунок 5.16. Увеличенное изображение репликации

Далее мы видим копирование ДНК у бактерий (Рис. 5.17.). Есть ***одна точка начала репликации***, куда присоединяются хеликазы, которые начинают расплетать молекулу ДНК. И в правой, и в левой части создаются *комплементарные цепочки*. При замыкании получаются *две копии исходной материнской молекулы*. В случае бактерий эти молекулы крепятся к клеточной стенке, после чего происходит **процесс клеточного деления**. А у эукариотов существует ***несколько точек***, с которых начинается копирование (Рис. 5.18.). Соответственно, молекула ДНК раскрывается, и двустороннее копирование идёт из нескольких мест сразу. Правда у эукариотов с этим связана проблема. Если у бактерий репликация идёт на кольцевой хромосоме, то здесь молекулы имеют концевые участки, и в ходе реплицирования происходит потеря праймера последнего фрагмента Оказаки (и области до него). В итоге сама особенность репликации приводит к **укорачиванию хромосом**, что может грозить потерей генетической информации.

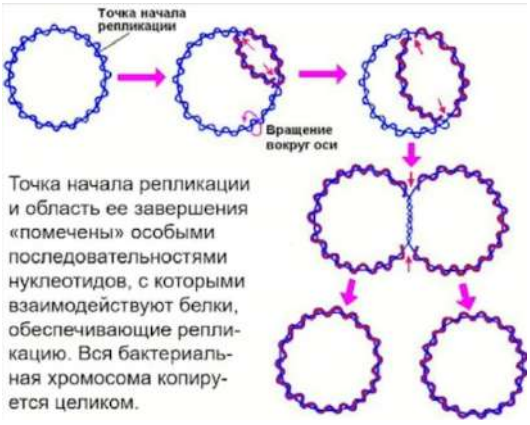


Рисунок 5.17. Репликация у бактерий

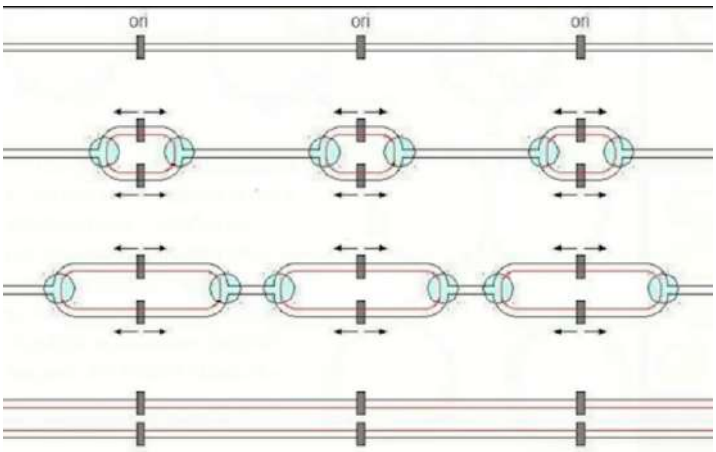


Рисунок 5.18. репликация у эукариотов

Упрощая, можно сказать, что ДНК-полимеразы эукариотов не могут копировать концы цепей ДНК, и при каждой репликации теряется 50-100 нуклеотидов. Чтобы это не привело к повреждению генетического материала, используется так называемый **эффект теломер**. На концах цепей ДНК находятся особые *множественные повторы одной и той же последовательности* TTAGGG – теломеры. Именно они теряются при репликации, и это обеспечивает среднее количество клеточных делений в районе 50 раз (**предел Хейфлика**). *Стволовые клетки* и *раковые клетки* используют механизм удлинения теломер за счёт работы фермента **теломеразы**, и потому они могут делиться очень много раз.

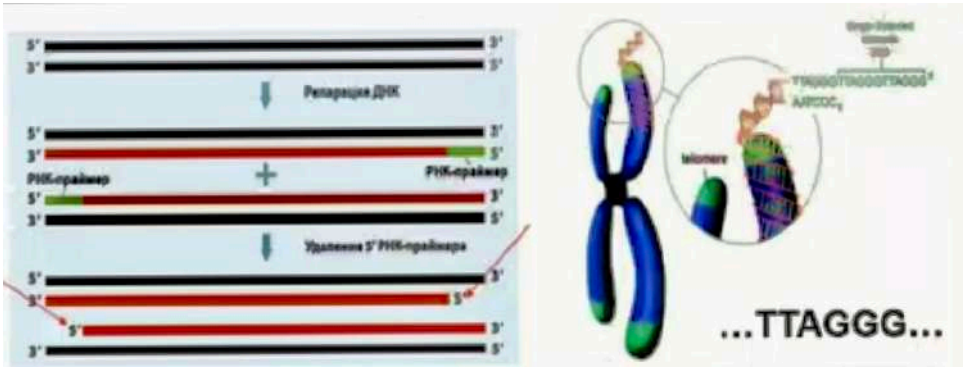


Рисунок 5.19. Эффект теломер

Стоит упомянуть, что ДНК укладывается внутри ядра в хромосомы (Рис. 5.20.). Особенно эта укладка важна *перед делением клетки*, когда нужно создать *компактные* хроматиды. На первом структурном уровне спираль ДНК наматывается на особые **белки-гистоны** со щелочными свойствами (много *аргинина* и *лизина*): 8 молекул гистона + ДНК = **нуклеосома**. У фосфорной кислоты в составе ДНК остаётся 3-я –ОН-группа, поэтому данная молекула обладает *кислыми свойствами* и хорошо *связывается с щелочами*.

Между нуклеосомами образуется гибкий участок, позволяющий затем укладывать их в спиральную структуру под названием **соленоид**. Далее много соленоидов формируют сначала **волокна**, потом **петли**, а потом и **нити**, которые в итоге собираются в **хромосому** (Х). Стадии этой компоновки можно посмотреть на отдельной схеме (Рис. 5.21.).

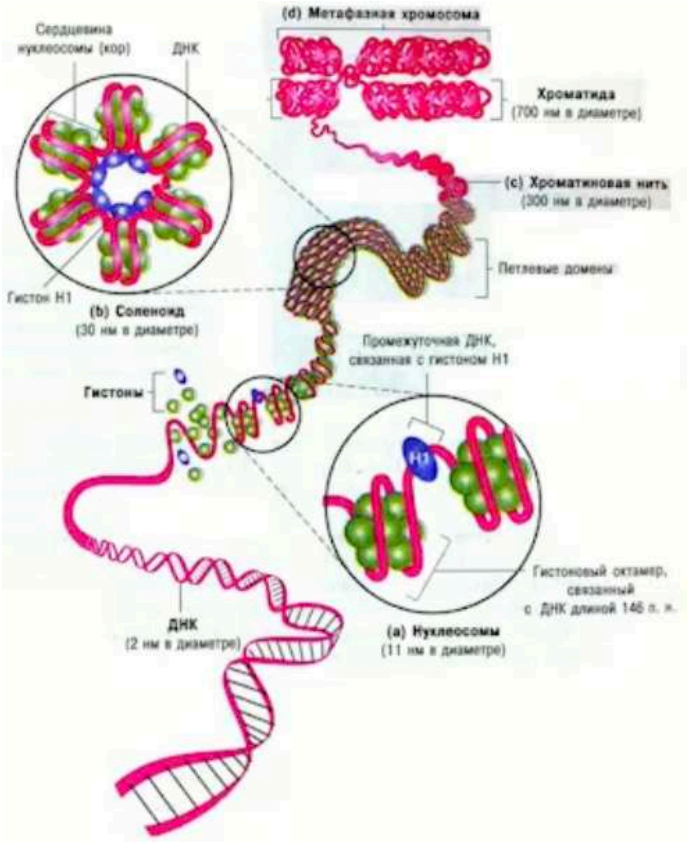


Рисунок 5.20. Укладка ДНК в хромосомы (1)

Так соленоидный уровень позволяет *скручивать нуклеосомную нить в фибриллы*. Петлевой уровень означает *упаковку фибрилл петлями*, которые фиксируются особым белковым матриксом (скэффолд). Доменный уровень подразумевает *образование петельных доменов*, которые крепятся к белковому матриксу областями с высоким содержанием АТ пар нуклеотидов. В итоге мы получаем хромосомный уровень. Все эти стадии позволяют обеспечить очень **плотную упаковку генетической информации**. Понятно, что после деления клетки ДНК разматывается, чтобы отдельные молекулы стали доступны для копирования.

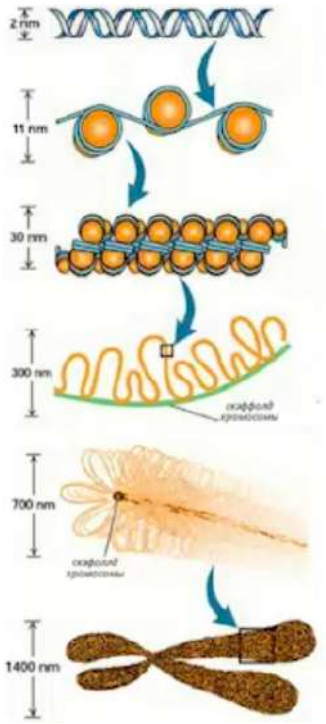


Рисунок 5.21. Укладка ДНК в хромосомы (2)

ДНК – это по сути инструкция по сборке белковых молекул или молекул РНК. Для выполнения репликации последовательность нуклеотидов часто не так уж важна. Однако эта последовательность реально очень значима, поскольку кодирует первичную структуру белков и РНК (гены). **Ген** – это *участок ДНК, задающий последовательность аминокислот в белке* (триплетный код), либо *последовательность нуклеотидов в функциональной РНК* (тРНК, рРНК, рибозимы). Между генами же находятся *участки, управляющие активностью генов* с учётом определённых сигналов. К этим участкам могут присоединяться, например, гормоны вместе с белковыми рецепторами. Наконец, нужно отметить, что молекулы ДНК находятся не только в *ядре*, но также в *митохондриях и пластидах* (у растений).

Повреждение ДНК – это **мутации**, которые происходят достаточно часто:

- ***Ошибки при копировании*** (замены нуклеотидов из-за нарушения принципа комплементарности; замена аминокислот в белках)
- ***Повреждение нуклеотидов*** (химические изменения: окисление, дезаминирование цитозина и так далее)
- ***Разрывы одной или двух цепей нуклеотидов*** (роль ДНК-лигаз)

Поэтому существуют мощные системы репарации ДНК. В частности, **полимеразы** могут заменять неправильно поставленные нуклеотиды. А **лигазы** сшивают разорванные фрагменты в соответствии с принципом комплементарности.

Отдельными вариантами изменения строения ДНК являются метилирование ДНК и ацетилирование гистонов:

- Пути регуляции активности генов: *изменения сохраняются при делении клеток и даже при образовании половых клеток* (**эпигенетика**)
- **Метилизование цитозина** (в 5-м положении) снижает активность генов
- **Ацетилирование** делает более слабой связь гистонов с ДНК и увеличивает активность генов

Как было сказано в самом начале, некоторые азотистые основания (в частности, в составе нуклеотидов) могут выполнять дополнительные функции. Наиболее известна история про **АТФ**. *Макроэргические связи* между мини-полимерами фосфатов в данной молекуле позволяют запасать, а потом передавать энергию, превращая её в деятельность тех или иных белков. Если оставить одну фосфорную кислоту и повторно соединить её с пентозой, возникнет **цАМФ** (циклическая аденозинмонофосфорная кислота) – важный *внутриклеточный передатчик сигналов*. И когда некий нейромедиатор действует на рецептор, это может приводить к синтезу цАМФ, которая будет влиять на работу тех или иных генов.

Сам **аденозин** возникает, если АТФ теряет все фосфаты (сигнал об утомлении). В организме есть специальные рецепторы к аденозину, которые создают *ощущение усталости*. Работе именно этих рецепторов мешает такое вещество, как **кофеин**, которое *блокирует аденозиновые рецепторы* (иллюзия бодрости). На кофеин также похожа **мочевая кислота**, которая является *продуктом азотистого обмена*. Если у человека много мочевой кислоты, возникает риск *подагры* (отложения мочевой кислоты в суставах), с одновременным эффектом усиления ощущения бодрости.

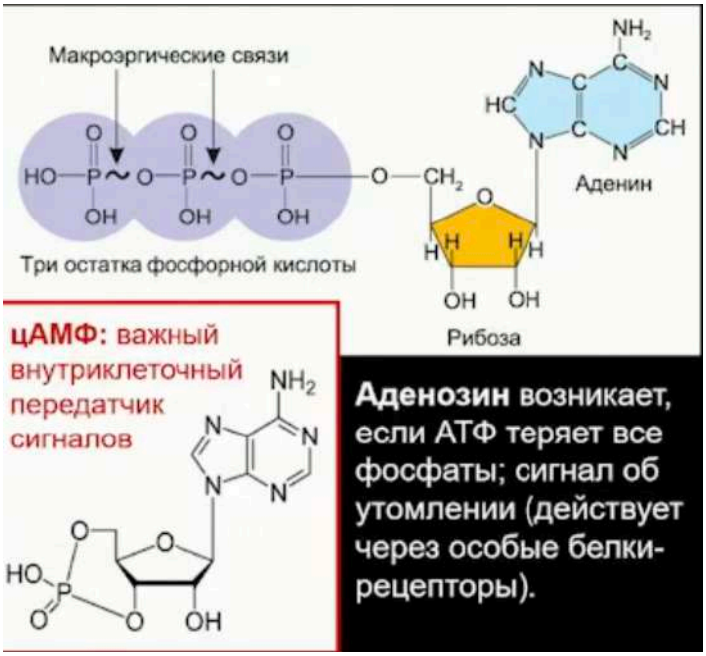


Рисунок 5.22. Энергетическая функция азотистых оснований

Некоторые нуклеотиды являются **противовирусными препаратами**. Например, вы создаёте некоторый аналог *гуанозина*, который *блокирует ДНК-полимеразу вируса герпеса*. Так работает ацикловир. В случае ВИЧ огромную роль играет фермент **обратная транскриптаза**, который на РНК создаёт ДНК. Если ей подсунуть аналог тимина, то происходит заклинивание его работы. Наконец, коронавирус и грипп – это *РНК-вирусы*, и для лечения этих заболеваний часто используют аналоги нуклеотидов (например, аналог *цитозина* – **молнупиравир**). Гуанозин по строению ближе к *пуринам*, а два других примера – к *пиримидинам*.

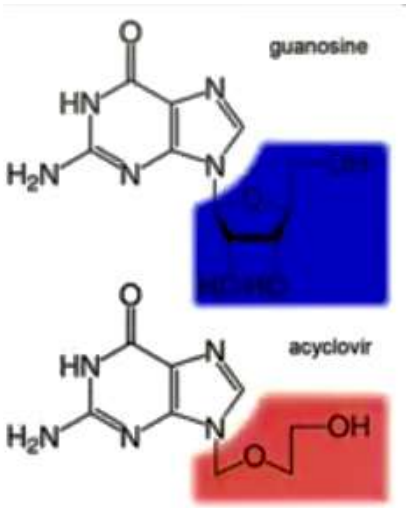


Рисунок 5.23. Гуанозин

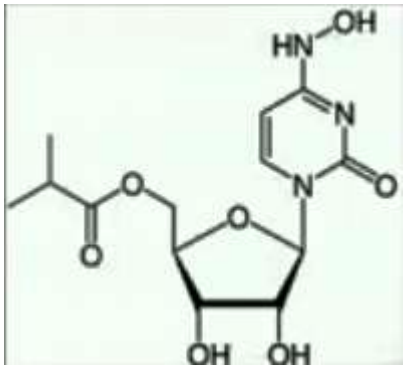


Рисунок 5.24. Молнупиравир

Упомянутая **обратная транскриптаза** – интереснейший фермент, характерный для так называемых **ретровирусов** (в том числе ВИЧ) и который на основе РНК создаёт вирусную ДНК. Обратная транскриптаза ВИЧ сначала проходит вдоль РНК вируса, синтезируя на основе РНК первую цепь ДНК. Затем фермент возвращается обратно, разрушая «материнскую» РНК и создавая вторую (комплементарную первой) цепь ДНК. Сходным образом работают теломеразы.

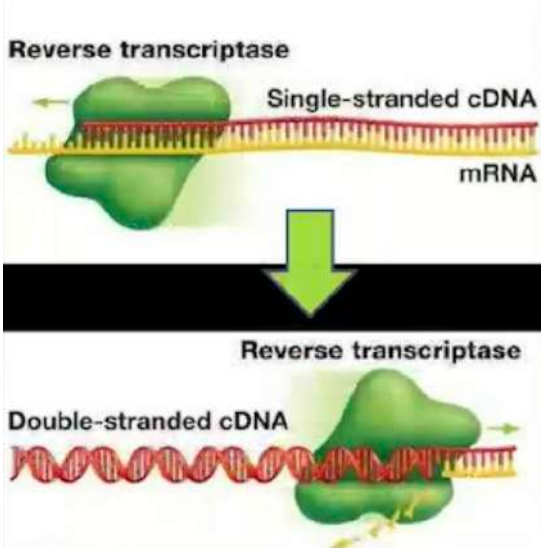


Рисунок 5.25. Обратная транскриптаза

Наконец, скажем пару слов о **ПЦР** – полимеразной цепной реакции (Рис. 5.26.). Это биотехнологическая процедура, которая позволяет *многократно скопировать некий фрагмент ДНК*. И есть аппараты-*амплификаторы*, которые производят эту процедуру. Например, у нас есть известный кусочек ДНК вируса, на который нужно проверить человека. Берётся множество фрагментов этого вируса, запускается в аппарат, где они нагреваются выше 90%. При такой температуре водородные связи разрушаются. После этого важно подобрать комплементарные фрагменты ДНК, которые присоединятся к 3-концам соответствующих цепочек (при t = <70 градусов). А потом в растворе с

помеченными кусочками начинает работать ДНК-полимераза, которая создаёт целые участки цепочек. И можно повторить цикл десятки раз, что позволяет накопить достаточное количество молекул, которые можно детектировать, используя антитела.

Если же нам нужно детектировать РНК (например, РНК коронавируса), перед основной процедурой используется **обратная транскриптаза**: на основе РНК создаётся ДНК, которая уже подвергается полимеразной цепной реакции. Самая тонкая проблема здесь состоит в том, что *раствор* то *нагревается* (почти до 100 градусов), то *охлаждается*, что усложняет поиск такой ДНК-полимеразы, которая способна выдержать такой перепад температур. Она была найдена в *термостабильных бактериях*, которые живут в вулканах. Но ей обязательно нужны *ионы магния*, *праймеры* и *нуклеотиды*, которые вбрасываются в форме **дезоксинуклеотид трифосфатов**.

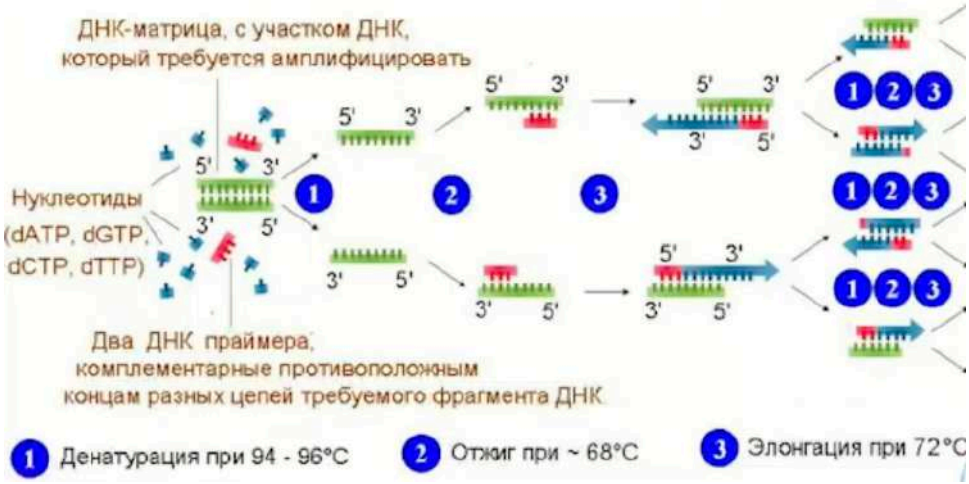


Рисунок 5.26. Полимеразная цепная реакция