Департамент образования города Москвы

Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города Москвы «Школа №1505 «Преображенская»»

**ДИПЛОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

на тему

**Секвенирование ДНК**

Выполнила:

Пашинцева Анастасия Валерьевна

Руководитель:

Воробьева Екатерина Андреевна

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ (подпись руководителя)

Рецензент:

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ (подпись рецензента)

Москва

2018/2019 уч.г.

|  |  |
| --- | --- |
| ОГЛАВЛЕНИЕ | |
| Введение…………………………………………. |  |
| Основная часть…………………………………… |  |
| 2.1 Параграф 1…………………………………… |  |
| 2.2 Параграф 2…………………………………… |  |
| Заключение…………………………………….…. |  |
| Список литературных источников……………... |  |
| Приложения……………………………………….. |  |

Введение.

Во всех живых организмах есть органические вещества: белки, липиды, углеводы и нуклеиновые кислоты. Все они выполняют разные функции.

Главная функция белков – строительная. Строение организма определяется белками. Белки отвечают и за транспорт веществ в высших многоклеточных организмах, регулируют обмен веществ, защищают организмы от чужеродных агентов. У многоклеточных животных есть сократительные белки актин и миозин, обеспечивающие сокращение мышц. Молекулы белков, встроенные в поверхностные мембраны клетки, обеспечивают сигнальную функцию. Белки могут выступать и в качестве запасного вещества. Однако в организме животных белки, как правило, не запасаются. Есть и исключения: альбумин яиц, казеин молока. Другая сторона этой функции белков заключается в том, что благодаря белкам в организме могут откладываться в запас некоторые вещества. Например, при распаде гемоглобина железо не выводится из организма, а сохраняется, образуя комплекс с белком – ферритином. Белки – ферменты ускоряют в клетках биохимические реакции. Когда другие источники энергии, то есть жиры и углеводы, израсходованы в качестве источника энергии организмом могут использоваться белки. При распаде 1 грамма белка до воды, углекислого газа и аммиака выделяется 17,6 кДж.

Выполнение этих функций обеспечивается разнообразным строением белков. Разнообразие в строении белков обеспечивается аминокислотным составом первичной структуры белка. В белках встречаются 20 аминокислот, их последовательность определяет структуру и свойства белков. Последовательность аминокислот в белке записана в ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоте).

Нуклеиновые кислоты отвечают за хранение и передачу наследственной информации, ее реализацию. В ДНК также записана информация о строении нуклеиновых кислот - РНК (рибонуклеиновых кислот).

Соединение из азотистого основания, пентозы и остатка фосфорной кислоты называется нуклеотидом. В качестве пентозы в ДНК выступает дезоксирибоза, в РНК – рибоза. Азотистое основание – гетероцикл, циклическая структура, в которой присутствуют атомы углерода, водорода, азота и функциональные группы. Азотистые основания представлены в природе разнообразными вариантами. Но в состав нуклеиновых кислот входит только пять. В состав ДНК входят аденин, тимин, гуанин и цитозин. В состав РНК входят аденин, урацил, гуанин и цитозин.

Ген - это единица наследственной информации. Кроме того, ген – это участок ДНК, кодирующий информацию о первичной структуре одной полипептидной цепи. Также ген – это участок ДНК, кодирующий активную молекулу РНК (рибонуклеиновой кислоты) и отвечающий за синтез этой активной молекулы РНК.

Совокупность наследственного материала организма, называется геномом.

Правила перевода нуклеотидной последовательности в нуклеиновой кислоте в аминокислотную последовательность белка называют генетическим кодом. Он был расшифрован в 60-х годах XX века в результате ряда экспериментов и математических расчетов. Сначала в 50-60х годах XX века Георгий Гамов предположил, что кодоны состоят из трех нуклеотидов. Таким образом, можно получить 64 кодона, этого достаточно для 20 аминокислот, встречающихся в природе. Позже, в 1961 году удалось подтвердить гипотезу Гамова экспериментально. Маршалл Ниренберг и Дж. Генрих Маттеи определили, что триплет UUU кодирует аминокислоту фенилаланин. После Хар Гобинд Корана доказал, что последовательность UCUCUCUCUCUC кодирует набор аминокислот серин-лейцин-серин-лейцин. К 1965 году генетический код был разгадан полностью. Если прочитать этот код, можно понять индивидуальные особенности организма. Если прочитать его у разных организмов, можно понять насколько близки разные этнические группы, как люди расселялись по планете, причины наследственных заболеваний.

Секвенирование – это общее название методов, которые позволяют установить последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК. Первое секвенирование человеческого генома продолжалась в течении 10 лет, в 2003 году эта задача была решена. С совершенствованием технологии секвенирования, этот процесс пошел быстрее.

**Актуальность моего исследования:** С генетической точки зрения все люди одинаковы более чем на 99%, разница в 1% делает людей уникальными. Этим числом определяются наши физические возможности, предрасположенность к болезням и реакции на лекарства и т.д. Из-за этой разницы одно лекарство подходит одним пациентам, а другим – нет. Поэтому в будущем будет развиваться персональная медицина, основанная на данных генома пациента.

Нобелевский лауреат Дан Шехтман в интервью заявил: «Еслибышкольник или совсем юный студент, избравший стезю учёного, спросил меня, какой наукой заниматься, я бы посоветовал молекулярную биологию. Именно её методы помогут решить большую часть наших проблем, избавить от самых тяжёлых заболеваний. Лекарства от рака — это то, что действительно нужно. Как и персонализированная медицина — лекарственные препараты, подобранные для каждого конкретного человека. Я думаю, что в этой области неизбежно случится взрыв технологий».

Однако, чтобы узнать, как работает весь организм в целом знаний о геноме недостаточно. Геном у всех клеток одинаковый, есть небольшая разница из-за мутаций, также у половых клеток 23 хромосомы, но все клетки организма разные. Они различаются, потому что в каждой клетке активны, то есть экспрессируются, разные гены. Чтобы понять какие именно в том или ином органе или ткани, нужно изучить транскриптом – набор присутствующих там РНК. Экспрессия генов зависит от набора РНК в органе или ткани. Обычно исследуют транскриптом именно органа или клеток определенного типа, потому что транскриптом характеризует протекание конкретных процессов и меняется со временем, в отличие от генома, чьи данные относительно постоянная характеристика. Но нас не спасет даже совокупность знаний о геноме и транскриптоме. Более полную картину происходящего в нашем организме дает изучение протеома – набора белков, синтезируемых тканью, органом или отдельной клеткой. Синтез белков – результат работы кодирующих их генов, но дальше судьба каждого белка складывается по-разному: кто-то распадется, даже не выполнив свои функции, кто-то накопится в клетке, кто-то модифицируется и т.д. Поэтому, чтобы понять, что происходит в нашем организме в целом изучают протеом. Сейчас протеомика, как наука, находится в начальной фазе развития. Однако уже существует проект «Протеом человека». Инициаторы проекта Россия, США, Южная Корея, Швеция, Канада и Иран. По масштабам это проект можно сравнить с проектом «Геном человека». Цель проекта – систематизация всех производимых нашим организмом белков.

Зато благодаря секвенированию можно выяснить происхождение новых и уже известных видов организмов. Это помогает систематизировать знания о живых организмах, населяющих землю и проследить их происхождение.

В 2015 году были открыты локиархеи. Все их свойства, родственные связи и само их существование удалось вычислить на основе маленьких фрагментов ДНК, выделенных из донных осадков глубоководного гидротермального поля «замок Локи» в Северной Атлантике. Из проб воды, взятых у курильщика, донных остатков были выделены геномы. Новые методы метагеномики позволили собрать из этих фрагментов большие участки геномов и даже почти полные геномы. Отсеквенировав, их геном, выяснили, что у этой группы архей много белков, ранее считавшимися характерными только для эукариот. Геномные данные указывают на более сложную организацию их клеток по сравнению с обычными прокариотами. Предки эукариот скорее всего были асгардархеямивозможно, близкими к хеймдалльархеям. Открытие показало, что движение в сторону усложнения организации было сделано предками эукариот задолго до приобретения митохондриального симбионта.

Метагеномика – это раздел молекулярной генетики, изучающий генетический материал, полученный из образцов окружающей среды. Метагеномика изучает набор генов всех микроорганизмов, находящихся в образце среды, — метагеном. С помощью методов метагеномики можно определить видовое разнообразие исследуемого образца без необходимости выделения и культивирования микроорганизмов. Это позволяет исследовать и некультивируемые организмы. Развитие метагеномики обусловлено развитием методов секвенирования нового поколения. Они позволяют получить последовательности практически всех генов каждого микроорганизма сообщества.

Сдав ДНК-тест и получив анализ результатов секвенирования своего экзома от врача-генетика можно выявить риски наследственных заболеваний, выбрать безопасные и эффективные для себя лекарства, разработать систему питания и тренировок. Генеалогический ДНК-тест позволяет выяснить происхождение ваших далеких предков и определить, какие национальности оставили след в вашем геноме. Можно отследить как расселялись по планете предки ваших родителей.

Самки комаров Aedes aegypti заражают более 400 миллионов человек опасными вирусными инфекциями, такими как лихорадка денге, желтая лихорадка, Зика и чикунгунья. Изучение биологии комаров существенно затруднено из-за недостаточных знаний об их геноме и отсутствия его полной сборки. В Квинслендском институте медицинских исследований имени Клайва Бергофера под руководством специалиста по популяционной генетике Горданы Рашич недавно создали наиболее полную на текущий момент карту генома этих комаров AaegL5. Она позволит разработать новые биологические методы и стратегии вмешательства для борьбы с этим переносчиком смертельных заболеваний.

Сейчас в России идет работа проекта «Российские геномы». Миссия проекта: «создание открытой компьютерной базы данных, содержащей анонимную информацию о полногеномных последовательностях по меньшей мере от 3000 мужчин и женщин из разных регионов России, чьи предки являются коренными жителями данного региона в нескольких поколениях, а также описание вариаций в геноме у этих групп, определение особенностей, влияющих на распространение заболеваний и создание информационной базы медицински-значимых геномных вариантов, характерных для населения России, что станет основой для разработки принципов медицины будущего».

По инициативе биологов из разных стран был запущен проект «Earth BioGenome». Проект нацелен отсеквенировать геномы всех живых организмов и нахождение и классификацию новых животных организмов. На данный момент, классификационная биология объединяет 0,2% всех эукариот, населяющих Землю. Считается, что новых организмов 15 миллионов видов.

**Проблема моего исследования:** В школьный курс не входит информация о секвенировании. Секвенирование – сложный процесс, требующий много знаний и умений, и школьнику сложно найти информацию по этой теме и в ней разобраться. В то же время секвенирование, как часть биоинженерии и персонализированной медицины, становится все более распространенным и необходимым.

**Цель моего исследования:** познакомиться с методами секвенирования ДНК, посетить лаборатории компаний, специализирующихся в секвенировании и узнать какие у школьников могут быть перспективы в этом направлении.

**Задачи моего исследования:**

* сбор научной литературы по теме диплома;
* обобщение, анализ собранного материала с выделением наиболее значимой информации;
* посещение лабораторий компаний, специализирующихся в секвенировании ДНК;
* выбор параметров для сравнения методик выделения ДНК и сравнение;
* проведение эксперимента по выделению ДНК.