

# Основы медицинской биологии и медицинской молекулярной биологии

Биология, изучение живых существ и процессов их жизнедеятельности. Область занимается всеми физико-химическими аспектами жизни. Современная тенденция к междисциплинарным исследованиям и объединению научных знаний и исследований из разных областей привела к значительному пересечению области биологии с другими научными дисциплинами. Концепция гомеостаза, согласно которой живые существа поддерживают постоянство внутренней среды, впервые была предложена в XIX веке французским физиологом Клодом Бернаром, который заявил, что «все жизненные механизмы, какими бы разнообразными они ни были, имеют только одну цель: сохранение постоянными условий». жизни". ОТ-ПЦР можно использовать для диагностики генетического заболевания, такого как синдром Леша-Нихана. Это генетическое заболевание вызвано сбоем в гене HPRT1, что клинически приводит к фатальному мочевому камню из мочевой кислоты и симптомам, подобным подагре. Анализ беременной матери и плода на уровни экспрессии мРНК HPRT1 покажет, является ли мать носителем и может ли у плода развиться синдром Леша-Нихана.



Она доктор философии. Кандидат биотехнологий со специализацией в области микробиологии, генной инженерии, молекулярной генетики и белковой инженерии, исследователь, создатель, изобретатель и автор, преподаватель Университетского колледжа Университетского колледжа Аль-Турат, степень бакалавра микробиологии и степень магистра молекулярной биологии. в микробиологии из Аль-Мустан.



Небрас Рада Мохаммед



## Основы медицинской биологии и медицинской молекулярной биологии

*Клеточная биология и специализированная молекулярная биология*

Небрас Рада Мохаммед

**Небрас Рада Мохаммед**

**Основы медицинской биологии и медицинской молекулярной  
биологии**

FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY

**Небрас Рада Мохаммед**

# **Основы медицинской биологии и медицинской молекулярной биологии**

**Клеточная биология и специализированная  
молекулярная биология**

FOR AUTHOR USE ONLY

**SciencaScripts**

## **Imprint**

Any brand names and product names mentioned in this book are subject to trademark, brand or patent protection and are trademarks or registered trademarks of their respective holders. The use of brand names, product names, common names, trade names, product descriptions etc. even without a particular marking in this work is in no way to be construed to mean that such names may be regarded as unrestricted in respect of trademark and brand protection legislation and could thus be used by anyone.

Cover image: [www.ingimage.com](http://www.ingimage.com)

This book is a translation from the original published under ISBN 978-620-5-50208-2.

Publisher:

Scientia Scripta

is a trademark of

Dodo Books Indian Ocean Ltd. and OmniScriptum S.R.L Publishing group

Str. Armeneasca 28/1, office 1, Chisinau MD-2012, Republic of Moldova,  
Europe

Printed at: see last page

**ISBN: 978-620-5-37120-6**

Copyright © Небрас Рада Мохаммед

Copyright © 2022 Dodo Books Indian Ocean Ltd. and OmniScriptum S.R.L  
Publishing group

FOR AUTHOR USE ONLY

**Основы медицинской биологии и  
медицинской молекулярной биологии**

**Подзаголовок**

**Клеточная биология и  
специализированная молекулярная  
биология**

**На сайте**

**Небрас Рада Мухаммед**

**Колледж университета Аль-Турат**

**Факультет биомедицинской инженерии**

**Ирак**

# Содержание

1-Биология.....	7
1-1 Типы клеток.....	69
А-Эукариотическая клетка.....	88
В-Прокариотическая клетка.....	96
1-2 Компоненты прокариотических клеток.....	100
Стена А-клетки.....	105
В-Nucleus.....	110
Мембрана С-клетки.....	121
D - Органеллы.....	148
E - Нуклеиновые кислоты.....	164
1-3 Ссылки.....	271

## Об авторе



### Небрас Рада Мухаммед

Она является доктором наук в области биотехнологии с микроспециализацией "Генетическая инженерия, молекулярная генетика и белковая инженерия", исследователь, создатель, изобретатель и автор, преподаватель университетского колледжа колледжа университета Аль-Турат, бакалавр по микробиологии и магистр по молекулярной биологии в области микробиологии университета Аль-Мустансирия, арбитр, международный резидент и консультант в медицинских лабораториях, эксперт в медицинских лабораториях, обладатель звания ученого проекта, арбитр, выдающийся издатель, серебряный сторонник научных платформ, председатель комитета в научном обществе, получающий награды от международной интеллектуальной собственности, премию "Лучшая арабская женщина 2020", также премию "Лучшая общественная личность", премию "Лучшие исследования 2019", также премию "Лучшие исследования 2020" и американскую

премию "За изобретение 2020" от американского ГУИДИ  
Всемирной инвестиционной комиссии в Америке.

## **Предисловие**

FOR AUTHOR USE ONLY

Биология, изучение живых существ и процессов их жизнедеятельности. Эта область занимается всеми физико-химическими аспектами жизни. Современная тенденция к междисциплинарным исследованиям и объединению научных знаний и исследований из различных областей привела к значительному пересечению области биологии с другими научными дисциплинами.

Концепция гомеостаза, согласно которой живые существа поддерживают постоянство внутренней среды, была впервые предложена в 19 веке французским физиологом Клодом Бернаром, который заявил, что "все жизненные механизмы, какими бы разнообразными они ни были, имеют только одну цель: сохранение постоянства условий жизни".

RT-PCR может быть использован для диагностики генетического заболевания, такого как синдром Леша-Нихана. Это генетическое заболевание вызвано нарушением работы гена HPRT1, что клинически приводит к образованию смертельного мочекишечного камня в моче и симптомам, похожим на подагру. Анализ беременной матери и плода на уровень экспрессии мРНК HPRT1 позволяет определить, является ли мать носителем и есть ли вероятность развития синдрома Леша-Нихана у плода. Обнаружение рака Ученые

работают над тем, как использовать RT-PCR для обнаружения рака, чтобы улучшить прогноз и контролировать ответ на терапию. Циркулирующие опухолевые клетки производят уникальные транскрипты мРНК в зависимости от типа рака. Цель состоит в том, чтобы определить, какие транскрипты мРНК служат наилучшими биомаркерами для определенного типа раковых клеток, а затем проанализировать уровень их экспрессии с помощью RT-PCR.

FOR AUTHOR USE ONLY

# Добро пожаловать в биологию

## 1-Биология

Биология, изучение живых существ и процессов их жизнедеятельности. Эта область рассматривает все физико-химические аспекты жизни. Современная тенденция к междисциплинарным исследованиям и объединению научных знаний и исследований из различных областей привела к значительному пересечению области биологии с другими научными дисциплинами. Современные принципы других областей - химии, медицины и физики, например, интегрируются с принципами биологии в таких областях, как биохимия, биомедицина и биофизика.

Биология подразделяется на отдельные отрасли для удобства изучения, хотя все подразделения взаимосвязаны по основным принципам. Так, хотя принято разделять изучение растений (ботаника) и животных (зоология), а также изучение строения организмов (морфология) и их функций (физиология), все живые существа имеют общие биологические явления, например, различные способы размножения, деления клеток и передачи генетического материала.

Биология - это научное изучение жизни. Это естественная наука с широким охватом, но у нее есть несколько объединяющих тем, которые связывают ее в единую, целостную область. Например, все организмы состоят из клеток, которые обрабатывают наследственную информацию, закодированную в генах, которая может передаваться будущим поколениям. Другая важная тема - эволюция, которая объясняет единство и разнообразие жизни. Наконец, всем организмам требуется энергия для движения, роста и размножения, а также для регулирования своей внутренней среды.

Биологи могут изучать жизнь на разных уровнях организации. От молекулярной биологии клетки до анатомии и физиологии растений и животных и эволюции популяций. Таким образом, в рамках биологии существует множество субдисциплин, каждая из которых определяется характером исследовательских вопросов и инструментами, которые они используют. Как и другие ученые, биологи используют научный метод для проведения наблюдений, постановки вопросов, выдвижения гипотез, проведения экспериментов и формирования выводов об окружающем мире.

Жизнь на Земле, возникшей более 3,7 миллиарда лет назад, отличается огромным разнообразием. Биологи пытались изучить и классифицировать различные формы жизни, от

прокариотических организмов, таких как археи и бактерии, до эукариотических организмов, таких как протисты, грибы, растения и животные. Эти различные организмы вносят свой вклад в биоразнообразие экосистемы, где они играют специализированные роли в круговороте питательных веществ и энергии.

Биология часто рассматривается на основе уровней, которые имеют дело с фундаментальными единицами жизни. На уровне молекулярной биологии, например, жизнь рассматривается как проявление химических и энергетических преобразований, происходящих среди множества химических компонентов, составляющих организм. В результате развития все более мощных и точных лабораторных приборов и методов стало возможным с высокой точностью и достоверностью понять и определить не только конечную физико-химическую организацию (ультраструктуру) молекул в живой материи, но и способ воспроизводства живой материи на молекулярном уровне. Особенно решающее значение для этих достижений имело развитие геномики в конце 20-го и начале 21-го веков.

Клеточная биология - это изучение клеток, фундаментальных единиц структуры и функции живых организмов. Впервые клетки стали наблюдать в 17 веке, когда был изобретен составной микроскоп. До этого времени

отдельные организмы изучались как единое целое в области, известной как организменная биология; эта область исследований остается важным компонентом биологических наук. Популяционная биология занимается изучением групп или популяций организмов, населяющих определенную территорию или регион. На этом уровне изучаются роли, которые играют конкретные виды растений и животных в сложных и самоподдерживающихся взаимосвязях, существующих между живым и неживым миром, а также изучаются встроенные элементы управления, которые поддерживают эти отношения естественным образом. Эти широко основанные уровни - молекулы, клетки, целые организмы и популяции - могут быть далее разделены для изучения, порождая такие специализации, как морфология, таксономия, биофизика, биохимия, генетика, эпигенетика и экология. Область биологии может быть особенно заинтересована в изучении одного вида живых существ, например, изучение птиц в орнитологии, изучение рыб в ихтиологии или изучение микроорганизмов в микробиологии.

## **Этимология**

Биология происходит от древнегреческих слов βίος (лат. *bíos* - "жизнь") и -λογία (лат. *logía* - "логия"), означающих "отрасль исследования" или "говорить". В сочетании эти слова

образуют греческое слово βιολογία с латиницей biologia, означающее "биология". Несмотря на это, термин βιολογία в целом не существовал в древнегреческом языке. Первыми его заимствовали англичане и французы (biologie). Исторически в английском языке существовал еще один термин для обозначения биологии - lifelore; сегодня он используется редко.

Латиноязычная форма термина впервые появилась в 1736 году, когда шведский ученый Карл Линней (Карл фон Линне) использовал термин *biologi* в своей "Ботанической библиотеке". Вновь он был использован в 1766 году в работе под названием "*Philosophiae naturalis sive physicae: tomus III, continens geologian, biologian, phytologian generalis*" Михаила Кристофа Ханова, ученика Кристиана Вольфа. Первое немецкое употребление "*Biologie*" было в 1771 году в переводе работы Линнея. В 1797 году Теодор Георг Август Руз использовал этот термин в предисловии к книге "*Grundzüge der Lehre van der Lebenskraft*". Карл Фридрих Бурдах использовал этот термин в 1800 году в более ограниченном смысле изучения человека с точки зрения морфологии, физиологии и психологии (*Propädeutik zum Studien der gesammten Heilkunst*). Термин вошел в современное употребление благодаря шеститомному трактату "Биология,

или философия лебенденской природы" (1802-22) Готфрида Рейнхольда Тревирануса, который объявил.

## **История**

Самые ранние истоки науки, включавшей медицину, можно проследить в Древнем Египте и Месопотамии примерно в 3000-1200 годах до нашей эры. Их вклад позднее вошел в греческую натурфилософию классической древности и сформировал ее. Древнегреческие философы, такие как Аристотель (384-322 гг. до н.э.), внесли значительный вклад в развитие биологических знаний. Его работы, такие как "История животных", были особенно важны, поскольку в них проявились его натуралистические наклонности, а позднее - более эмпирические работы, в которых основное внимание уделялось биологической причинности и разнообразию жизни. Преемник Аристотеля в Ликее, Теофраст, написал серию книг по ботанике, которые сохранились как наиболее важный вклад античности в науки о растениях даже в Средние века. Среди ученых средневекового исламского мира, писавших по биологии, были аль-Джахиз (781-869), аль-Динавари (828-896), писавший по ботанике, и Разес (865-925), писавший по анатомии и физиологии. Медицина была особенно хорошо изучена исламскими учеными, работавшими в традициях греческих философов, в то время как естественная история в значительной степени опиралась на

аристотелевскую мысль, особенно в отстаивании фиксированной иерархии жизни.

Биология начала быстро развиваться и расти после того, как Антон ван Левенгук резко усовершенствовал микроскоп. Именно тогда ученые открыли сперматозоиды, бактерии, инфузории и все многообразие микроскопической жизни. Исследования Яна Сваммердама привели к новому интересу к энтомологии и помогли разработать основные методы микроскопического препарирования и окрашивания.

Достижения в области микроскопии также оказали глубокое влияние на биологическое мышление. В начале 19 века ряд биологов указывали на центральное значение клетки. Затем, в 1838 году, Шлейден и Шванн начали продвигать ставшие универсальными идеи, которые включают:

- (1) Основной единицей организмов является клетка.
- (2) Что отдельные клетки обладают всеми характеристиками жизни, хотя они выступали против этой идеи.
- (3) Все клетки возникают в результате деления других клеток. Однако благодаря работам Роберта Ремака и Рудольфа Вирхова к 1860-м годам большинство биологов приняли все три постулата того, что стало известно как клеточная теория.

Тем временем таксономия и классификация стали предметом внимания естествоиспытателей. Карл Линней в

1735 году опубликовал базовую таксономию мира природы (ее разновидности используются с тех пор), а в 1750-х годах ввел научные названия для всех видов. Жорж-Луи Леклерк, граф де Бюффон, рассматривал виды как искусственные категории, а живые формы как податливые - даже предполагал возможность общего происхождения. Хотя он выступал против эволюции, Бюффон является ключевой фигурой в истории эволюционной мысли; его работы повлияли на эволюционные теории Ламарка и Дарвина.



**Рисунок (1): В 1842 году Чарльз Дарвин написал свой первый набросок книги "О происхождении видов".**

Серьезное эволюционное мышление зародилось в работах Жана-Батиста Ламарка, который первым представил последовательную теорию эволюции. Он утверждал, что эволюция является результатом воздействия окружающей среды на свойства животных, то есть чем чаще и интенсивнее

используется какой-либо орган, тем более сложным и эффективным он становится, тем самым приспособлявая животное к окружающей среде. Ламарк считал, что эти приобретенные черты могут передаваться потомству животного, которое будет их развивать и совершенствовать. Однако именно британский натуралист Чарльз Дарвин, объединив биогеографический подход Гумбольдта, униформистскую геологию Лайелла, труды Мальтуса о росте численности населения, а также собственные морфологические знания и обширные наблюдения за природой, создал более успешную эволюционную теорию, основанную на естественном отборе; аналогичные рассуждения и доказательства привели Альфреда Рассела Уоллеса к независимым выводам. Дарвиновская теория эволюции путем естественного отбора быстро распространилась в научном сообществе и вскоре стала центральной аксиомой быстро развивающейся науки биологии.

Основой современной генетики стали работы Грегора Менделя, который в 1865 году представил свою работу "Versuche über Pflanzenhybriden" ("Опыты по гибридизации растений"),<sup>[30]</sup> в которой были изложены принципы биологической наследственности, послужившие основой для современной генетики. Однако значение его работы было

осознано лишь в начале XX века, когда эволюция стала единой теорией, поскольку современный синтез примирил дарвиновскую эволюцию с классической генетикой. В 1940-х и начале 1950-х годов серия экспериментов Альфреда Херши и Марты Чейз указала на ДНК как на компонент хромосом, содержащий единицы, несущие признаки, которые стали называть генами. Фокус на новых видах модельных организмов, таких как вирусы и бактерии, а также открытие Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком в 1953 году двухспиральной структуры ДНК ознаменовали переход к эре молекулярной генетики. С 1950-х годов по настоящее время биология получила огромное развитие в молекулярной области. Генетический код был взломан Хар Гобиндом Хораной, Робертом У. Холли и Маршаллом Уорреном Ниренбергом после того, как стало ясно, что ДНК содержит кодоны. Наконец, в 1990 году был запущен проект "Геном человека", целью которого было составление карты общего генома человека. Этот проект был в основном завершен в 2003 году, и до сих пор публикуются результаты дальнейшего анализа. Проект "Геном человека" стал первым шагом в глобальных усилиях по включению накопленных знаний биологии в функциональное, молекулярное определение человеческого тела и тел других организмов.

## **Основные понятия биологии**

### **Биологические принципы**

#### **Гомеостаз**

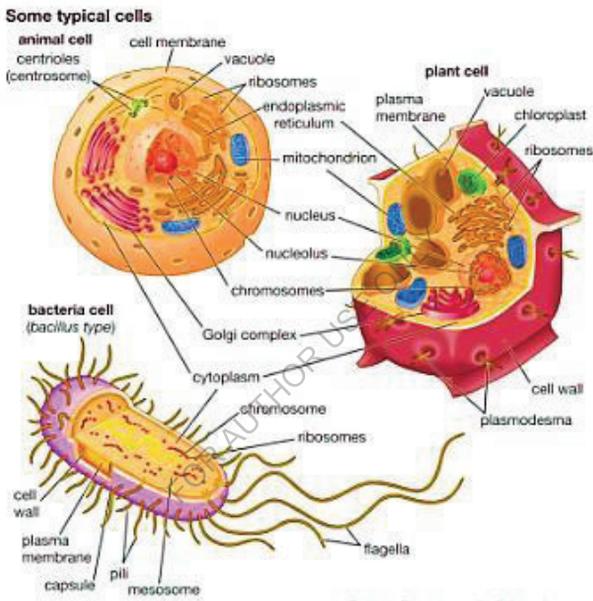
Концепция гомеостаза, согласно которой живые существа поддерживают постоянство внутренней среды, была впервые предложена в 19 веке французским физиологом Клодом Бернаром, который заявил, что "все жизненные механизмы, какими бы разнообразными они ни были, имеют только одну цель: сохранение постоянства условий жизни".

По первоначальному замыслу Бернарда, гомеостаз относился к борьбе отдельного организма за выживание. Позже эта концепция была расширена и стала включать в себя любую биологическую систему от клетки до всей биосферы - всех областей Земли, населенных живыми существами.

#### **Единство**

Все живые организмы, независимо от их уникальности, имеют определенные общие биологические, химические и физические характеристики. Все они, например, состоят из базовых единиц, известных как клетки, и из одних и тех же химических веществ, которые при анализе обнаруживают заметное сходство даже в таких несхожих организмах, как

бактерии и человек. Более того, поскольку действие любого организма определяется тем, как взаимодействуют его клетки, и поскольку все клетки взаимодействуют практически одинаково, базовое функционирование всех организмов также сходно.



**Рисунок (2): Животные и растительные клетки содержат мембраносвязанные органеллы, включая отдельное ядро. В отличие от них, бактериальные клетки не содержат органелл.**

Существует не только единство основного живого вещества и функционирования, но и единство происхождения всего живого. Согласно теории, предложенной в 1855 году немецким патологом Рудольфом Вирховым, "все живые

клетки возникают из ранее существовавших живых клеток". Эта теория представляется верной для всех живых существ в настоящее время при существующих условиях окружающей среды. Однако если в прошлом жизнь зарождалась на Земле не один раз, то тот факт, что все организмы имеют одинаковые базовые структуры, состав и функции, казалось бы, указывает на то, что преуспел только один первоначальный тип.

Общее происхождение жизни объясняет, почему в человеке или бактерии и во всех промежуточных формах жизни одно и то же химическое вещество, дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), в виде генов обеспечивает способность всего живого точно воспроизводить себя и передавать генетическую информацию от родителей к потомству. Более того, механизмы этой передачи следуют схеме, одинаковой для всех организмов.

Всякий раз, когда происходит изменение гена (мутация), в организме, содержащем этот ген, происходят те или иные изменения. Именно это универсальное явление порождает различия (вариации) в популяциях организмов, из которых природа отбирает для выживания те, которые лучше всего справляются с изменяющимися условиями окружающей среды.

## Эволюция

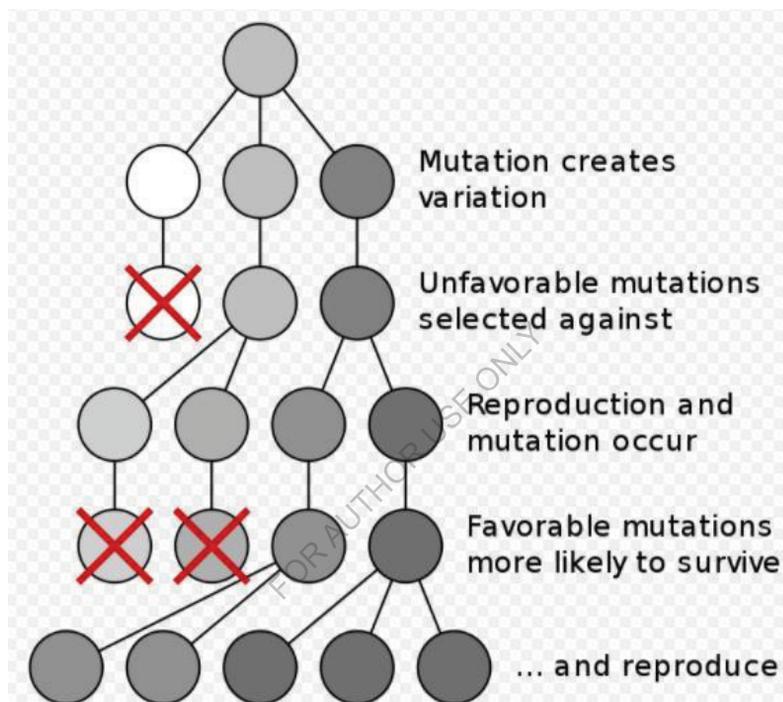
Центральной организующей концепцией биологии является то, что жизнь изменяется и развивается посредством эволюции, которая представляет собой изменение наследуемых характеристик популяций в течение нескольких поколений. Эволюция сегодня используется для объяснения огромных вариаций жизни на Земле. Термин "эволюция" был введен в научный лексикон Жаном-Батистом де Ламарком в 1809 году, а пятьдесят лет спустя Чарльз Дарвин и Альфред Рассел Уоллес сформулировали теорию эволюции путем естественного отбора. Согласно этой теории, особи отличаются друг от друга по наследуемым признакам, что приводит к разной скорости выживания и воспроизводства. В результате признаки, которые лучше приспособлены к окружающей среде, с большей вероятностью будут передаваться последующим поколениям. Дарвин не знал о работе Менделя о наследовании, поэтому точный механизм наследования, лежащий в основе естественного отбора, не был хорошо понят до начала XX века, когда современный синтез примирил дарвиновскую эволюцию с классической генетикой, что установило неodarвиновскую перспективу эволюции путем естественного отбора. Согласно этой точке зрения, эволюция происходит при изменении частот аллелей в популяции скрещивающихся организмов. В отсутствие

какого-либо эволюционного процесса, действующего на большую популяцию, состоящую из случайных спариваний, частоты аллелей будут оставаться постоянными на протяжении поколений, что описывается принципом Харди-Вайнберга.

Другим процессом, способствующим эволюции, является генетический дрейф, который представляет собой случайные колебания частот аллелей в популяции от одного поколения к другому. Когда селективные силы отсутствуют или относительно слабы, частоты аллелей с одинаковой вероятностью будут **дрейфовать** вверх или вниз в каждом последующем поколении, поскольку аллели подвержены ошибке выборки. Этот дрейф прекращается, когда аллель в конце концов становится фиксированным, либо исчезая из популяции, либо полностью заменяя другие аллели. Таким образом, генетический дрейф может устранить некоторые аллели из популяции только благодаря случайности.

В своей теории естественного отбора, которая более подробно рассматривается далее, Чарльз Дарвин предположил, что "выживание сильнейших" является основой органической эволюции (изменение живых существ со временем). Сама эволюция - это биологическое явление, общее для всех живых существ, хотя она и привела к их различиям. Доказательства в поддержку теории эволюции

были получены главным образом из ископаемых останков, из сравнительных исследований структуры и функций, из исследований эмбриологического развития и из исследований ДНК и РНК (рибонуклеиновой кислоты).



**Рисунок (3): Мутация создает вариации.**

## **Многообразие**

Несмотря на основное биологическое, химическое и физическое сходство, присущее всем живым существам,

разнообразие жизни существует не только среди видов и между ними, но и внутри каждой природной популяции. Феномен разнообразия изучался долгое время, потому что многие вариации, существующие в природе, видны глазу. Тот факт, что организмы изменялись в доисторические времена и что новые вариации постоянно развиваются, может быть подтвержден палеонтологическими записями, а также селекционными экспериментами в лаборатории. Спустя долгое время после того, как Дарвин предположил существование вариаций, биологи обнаружили, что они вызваны изменением генетического материала (ДНК). Это изменение может быть незначительным изменением последовательности составляющих ДНК (нуклеотидов), более крупным изменением, например, структурным изменением хромосомы, или полным изменением числа хромосом. В любом случае, изменение генетического материала в репродуктивных клетках проявляется как некое структурное или химическое изменение в потомстве. Последствия такой мутации зависят от взаимодействия мутантного потомства с окружающей средой.

Предполагается, что половое размножение стало доминирующим типом размножения среди организмов из-за присущего ему преимущества изменчивости, которая является механизмом, позволяющим виду приспосабливаться к

изменяющимся условиям. Новые вариации потенциально присутствуют в генетических различиях, но то, насколько преобладающей становится вариация в генофонде, зависит от количества потомков, которых производят мутанты или варианты (дифференциальное размножение). Генетическая новинка (новая вариация) может со временем распространиться среди всех членов популяции, особенно если эта новинка повышает шансы популяции на выживание в той среде, в которой она существует. Таким образом, когда вид попадает в новую среду обитания, он либо адаптируется к изменениям путем естественного отбора или с помощью другого эволюционного механизма, либо в конечном итоге вымирает. Поскольку каждая новая среда обитания подразумевает новые адаптации, изменения среды обитания стали причиной существования миллионов различных видов и неоднородности внутри каждого вида.

Общее число существующих видов животных и растений оценивается примерно от 5 до 10 миллионов; около 1,5 миллионов из этих видов были описаны учеными. Использование классификации как средства создания некоего порядка среди ошеломляющего количества различных типов организмов появилось еще в книге Бытия - с упоминанием скота, зверей, птиц, гадов, деревьев и так далее. Первая научная попытка классификации, однако, приписывается

греческому философу Аристотелю, который попытался создать систему, указывающую на связь всех вещей друг с другом. Он расположил все по шкале, или "лестнице природы", где неживые существа находились внизу, растения располагались ниже животных, а человечество находилось на самом верху. Другие схемы, которые использовались для группировки видов, включают в себя большие анатомические сходства, такие как крылья или плавники, которые указывают на естественные отношения, а также сходство в репродуктивных структурах.

Таксономия была основана на двух основных предположениях: первое - что сходное строение тела может быть использовано в качестве критерия для классификационной группировки; второе - что, в дополнение к структурному сходству, эволюционные и молекулярные отношения между организмами могут быть использованы в качестве средства для определения классификации.

## **Поведение и взаимоотношения**

Изучение взаимоотношений живых существ друг с другом и с окружающей средой известно как экология. Поскольку эти взаимосвязи так важны для благополучия Земли и поскольку

они могут быть серьезно нарушены деятельностью человека, экология стала важной отраслью биологии.

## **Континуитет**

Независимо от того, является ли организм человеком или бактерией, его способность к размножению - одна из важнейших характеристик жизни. Поскольку жизнь возникает только из уже существующей жизни, только благодаря размножению последующие поколения могут передавать свойства вида.

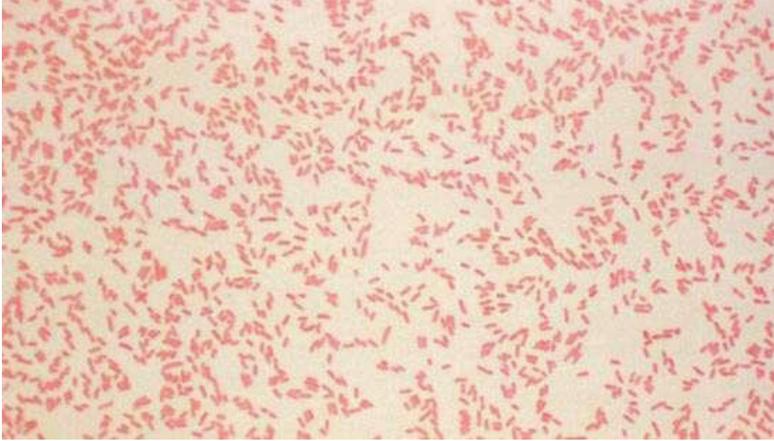
## **Изучение структуры**

Живые существа определяются с точки зрения деятельности или функций, которые отсутствуют у неживых существ. Жизненные процессы каждого организма осуществляются с помощью конкретных материалов, собранных в определенные структуры. Таким образом, живое можно определить как систему или структуру, которая воспроизводится, изменяется в зависимости от окружающей среды в течение определенного периода времени и сохраняет свою индивидуальность за счет постоянного и непрерывного метаболизма.

## **Клетки и их составные части**

Когда-то биологи полагались на световой микроскоп для изучения морфологии клеток, встречающихся у высших растений и животных. Тогда функционирование клеток одноклеточных и многоклеточных организмов постулировалось на основе наблюдения за их структурой; открытие хлоропластов в клетке, например, привело к изучению процесса фотосинтеза. С изобретением электронного микроскопа тонкая организация пластид могла быть использована для дальнейшего количественного изучения различных частей этого процесса.

Качественные и количественные анализы в биологии используют различные методы и подходы для определения и оценки уровней нуклеиновых кислот, белков, углеводов и других химических компонентов клеток и тканей. Во многих таких методах используются антитела или зонды, которые связываются с определенными молекулами внутри клеток и помечаются химическим веществом, обычно флуоресцентным красителем, радиоактивным изотопом или биологическим пятном, что позволяет или улучшает микроскопическую визуализацию или обнаружение интересующих молекул.



**Рисунок (4): Клетки и их составные части**

### ***Yersinia enterocolitica***

Фотомикрограмма окраски по Граму *Yersinia enterocolitica*, возбудителя иерсиниоза.

Химические метки являются мощным средством, с помощью которого биологи могут идентифицировать, находить или отслеживать вещества в живой материи. Некоторые примеры широко используемых анализов с использованием меток включают окрашивание по Граму, которое используется для идентификации и характеристики бактерий; флуоресцентную гибридизацию *in situ*, которая используется для обнаружения специфических генетических последовательностей в хромосомах, и люциферазные

анализы, которые измеряют биолюминесценцию, производимую в результате реакций люциферин-люцифераза, что позволяет количественно определять широкий спектр молекул.

## **Ткани и органы**

Первые биологи рассматривали свою работу как изучение организма. Организм, который тогда считался фундаментальной единицей жизни, по-прежнему является главной заботой некоторых современных биологов, и понимание того, как организмы поддерживают свою внутреннюю среду, остается важной частью биологических исследований. Чтобы лучше понять физиологию организмов, исследователи изучают ткани и органы, из которых состоят организмы. Ключом к этой работе является способность поддерживать и выращивать клетки *in vitro* ("в стекле"), иначе называемая культурой тканей.

Некоторые из первых попыток культивирования тканей были предприняты в конце XIX века. В 1885 году немецкий зоолог Вильгельм Ру поддерживал ткани эмбриона цыпленка в солевом растворе. Однако первый серьезный прорыв в культуре тканей произошел в 1907 году, когда американский зоолог Росс Г. Харрисон вырастил отростки нервных клеток

лягушки. Несколько лет спустя французские исследователи Алексис Каррель и Монтроз Берроуз усовершенствовали методы Харрисона и ввели термин "*культура тканей*". Используя строгие лабораторные методы, ученые смогли сохранить клетки и ткани живыми в условиях культуры в течение длительных периодов времени. Методы сохранения органов живыми при подготовке к трансплантации возникли благодаря таким экспериментам.

Достижения в области культуры тканей позволили сделать бесчисленные открытия в биологии. Например, многие эксперименты были направлены на достижение более глубокого понимания биологической дифференциации, в частности, факторов, контролирующей дифференциацию. Решающее значение для этих исследований имело развитие в конце XX века методов культуры тканей, которые позволили выращивать эмбриональные стволовые клетки млекопитающих и, в конечном итоге, эмбриональные стволовые клетки человека на культуральных пластинах.

## **История биологии**

В истории всех наук бывают моменты, когда за относительно короткий промежуток времени достигается значительный прогресс. Такие скачки в знаниях во многом

обусловлены двумя факторами: первый - наличие творческого ума, ума достаточно пронизательного и оригинального, чтобы отбросить доселе принятые идеи и сформулировать новые гипотезы, второй - технологическая способность проверить гипотезы соответствующими экспериментами. Самый оригинальный и пытливый ум сильно ограничен без соответствующих инструментов для проведения исследования; и наоборот, самое совершенное технологическое оборудование не может само по себе дать представление о каком-либо научном процессе.

### **Узнайте, как австрийский католический монах и ботаник Грегор Мендель заметил свойства наследственности**

Введение в изучение наследственности австрийского ботаника, педагога и августинского прелата Грегора Менделя.

Примером взаимосвязи между этими двумя факторами стало открытие клетки. В течение сотен лет существовали предположения о базовой структуре как растений, так и животных. Однако только после того, как оптические приборы были достаточно развиты, чтобы увидеть клетки, стало возможным сформулировать общую гипотезу, клеточную теорию, которая удовлетворительно объясняла, как устроены растения и животные. Точно так же значение исследований Грегора Менделя о способе наследования у садового гороха

оставалось незамеченным в течение многих лет, пока технический прогресс не позволил открыть хромосомы и ту роль, которую они играют в делении клеток и наследственности. Более того, в результате относительно недавнего развития чрезвычайно сложных инструментов, таких как электронный микроскоп, ультрацентрифуга и автоматические машины для секвенирования ДНК, биология превратилась из в основном описательной науки, занимающейся целыми клетками и организмами, в дисциплину, которая все больше подчеркивает субклеточные и молекулярные аспекты организмов и пытается уравнять структуру с функцией на всех уровнях биологической организации.

### **Раннее наследие**

Хотя неизвестно, когда зародилось изучение биологии, первые люди должны были обладать определенными знаниями о животных и растениях, окружавших их. Выживание человека зависело от точного распознавания неядовитых пищевых растений и от понимания повадок опасных хищников. Археологические находки показывают, что еще до развития цивилизации люди одомашнили практически всех доступных им животных и разработали сельскохозяйственную систему, достаточно стабильную и эффективную, чтобы удовлетворить потребности большого

количества людей, живущих вместе в общинах. Поэтому очевидно, что большая часть истории биологии предшествовала тому времени, когда человечество начало писать и вести записи.

## **Самые ранние биологические записи**

### **Биологические практики у ассирийцев и вавилонян**

Большая часть самой ранней записанной истории биологии почерпнута из ассирийских и вавилонских барельефов с изображением культурных растений и резьбы, изображающей ветеринарию. Иллюстрации на некоторых печатях показывают, что вавилоняне узнали, что финиковая пальма размножается половым путем и что пыльца может быть взята с мужского растения и использована для оплодотворения женских растений. Хотя точная датировка этих ранних записей отсутствует, вавилонский деловой контракт периода Хаммурапи (ок. 1800 г. ДО Н.Э.) упоминает мужской цветок финиковой пальмы как предмет торговли, а описания сбора фиников относятся к периоду около 3500 г. ДО Н.Э.

Еще одним источником информации о степени биологических знаний этих ранних народов стало обнаружение нескольких папирусов, относящихся к медицинской тематике; один из них, датируемый 1600 годом

ДО Н.Э., содержит анатомические описания; другой (ок. 1500 г. ДО Н.Э.) свидетельствует о признании важности сердца. Поскольку эти древние документы, содержащие смесь фактов и суеверий, вероятно, обобщают актуальные на тот момент знания, можно предположить, что некоторые из их содержания были известны предыдущим поколениям.

### **Биологические знания египтян, китайцев и индийцев**

Папирусы и артефакты, найденные в гробницах и пирамидах, свидетельствуют о том, что египтяне также обладали значительными медицинскими знаниями. Их хорошо сохранившиеся мумии свидетельствуют о том, что они хорошо знали консервирующие свойства трав, необходимых для бальзамирования; ожерелья из растений и барельефы из различных источников также показывают, что древние египтяне были хорошо осведомлены о лекарственной ценности некоторых растений. Египетский сборник, известный как папирус Эберса (ок. 1550 г. ДО Н.Э.), является одним из древнейших известных медицинских текстов.



**Рисунок (5): Биологические знания египтян, китайцев и индийцев.**

### **папирус Эберса**

Рецепт папируса Эберса для лечения астмы.

В древнем Китае три мифических императора. Фу Си, Шеннонг и Хуанди, чьи предполагаемые периоды правления длились с 29-го по 27-й век ДО Н.Э., по преданию, обладали медицинскими знаниями. Согласно легенде, Шеннонг описал лечебные свойства многочисленных лекарственных растений, а также включил описания многих важных пищевых растений, таких как соя. Однако самым ранним письменным свидетельством о медицине в Китае является "*Хуанди нэйцзин*" ("*Классика внутренней медицины Желтого императора*"), датируемая III веком ДО НАШЕЙ ЭРЫ. Помимо медицины, древние китайцы обладали знаниями и в

других областях биологии. Например, они не только использовали шелкопряда *Bombyx mori* для производства шелка для торговли, но и понимали принцип биологического контроля, используя один вид насекомых, энтомофагов (насекомоядных) муравьев, для уничтожения насекомых, которые скучиваются на деревьях.

Уже в 2500 году ДО НАШЕЙ ЭРЫ жители северо-западной Индии обладали хорошо развитой наукой о сельском хозяйстве. В развалинах Мохенджо-Даро найдены семена пшеницы и ячменя, которые выращивались в то время. Просо, финики, дыни и другие фрукты и овощи, а также хлопок были известны этой цивилизации. Однако растения были не только источником пищи. В документе, датированном VI веком ДО НАШЕЙ ЭРЫ, описано использование около 960 лекарственных растений и содержится информация по таким темам, как анатомия, физиология, патология и акушерство.

## **Греко-римский мир**

Хотя вавилоняне, ассирийцы, египтяне, китайцы и индийцы накопили много биологической информации, они жили в мире, в котором, как считалось, господствовали непредсказуемые демоны и духи. Поэтому ученые люди в этих ранних культурах направляли свои исследования на

понимание сверхъестественного, а не естественного мира. Анатомы, например, препарировали животных не для того, чтобы понять их строение, а чтобы изучить их органы для предсказания будущего. Однако с возникновением греческой цивилизации эти мистические взгляды начали меняться. Около 600 года ДО Н.Э. возникла школа греческих философов, которые считали, что у каждого события есть причина и что конкретная причина вызывает конкретное следствие. Эта концепция, известная как причинность, оказала глубокое влияние на последующие научные исследования. Кроме того, эти философы предполагали существование "естественного закона", который управляет Вселенной и может быть постигнут человеком с помощью его способностей к наблюдению и дедукции. Хотя они основали науку биологию, самым большим вкладом греков в науку была идея рационального мышления.

### **Теории о человечестве и происхождении жизни**

Один из первых греческих философов, Фалес Милетский (ок. 7 века ДО Н.Э.), утверждал, что во Вселенной присутствует творческая сила, которую он называл *physis*, ранний предшественник термина *физика*, он также постулировал, что мир и все живые существа в нем были созданы из воды. Анаксимандр, ученик Фалеса, не принимал воду как единственное вещество, из которого происходят

живые существа; он считал, что помимо воды живые существа состоят из земли и газоподобного вещества, называемого *анейрон*, которое можно разделить на горячее и холодное. Различные смеси этих материалов дали начало четырем элементам: земле, воздуху, огню и воде. Хотя Анаксимандр был одним из первых, кто описал Землю как шар, а не как плоскую плоскость, он предположил, что жизнь возникла спонтанно в грязи и что первыми животными были рыбы, покрытые колючей кожей. Потомки этих рыб со временем покинули воду и перебрались на сушу, где путем трансмутации (превращения одной формы в другую) породили других животных. Таким образом, была сформулирована ранняя эволюционная теория.

В Кротоне на юге Италии, где Пифагор около 500 года ДО Н.Э. основал важную натурфилософскую школу, один из его учеников, Алкмеон, исследовал строение животных и описал разницу между артериями и венами, открыл зрительный нерв и признал мозг местом обитания интеллекта. В результате своих исследований развития эмбриона Алкмеон может считаться основателем эмбриологии.

Хотя греческий врач Гиппократ, основавший медицинскую школу на эгейском острове Кос около 400 года ДО Н.Э., не был исследователем в понимании Алкмеона, он, наблюдая за пациентами, осознал сложные взаимосвязи, существующие в

человеческом организме. Он также размышлял о влиянии окружающей среды на человеческую природу и считал, что резко контрастный климат, как правило, порождает сильных людей, в то время как ровный, умеренный климат больше способствует праздности.



## **Гиппократ**

Гиппократ, бюст без даты.

© *Photos.com/Thinkstock*

Гиппократ и его предшественников волновал главный философский вопрос о том, как был создан космос и его обитатели. Хотя они принимали *physis* как творческую силу, они расходились во мнениях относительно важности роли, которую играют земля, воздух, огонь, вода и другие элементы. Например, Анаксимен, который, возможно, был учеником Анаксимандра, придерживался популярного в то время представления о том, что жизнь зародилась в массе грязи, но

он постулировал, что реальная творческая сила находится в воздухе и что на нее влияет тепло Солнца. Представители школы Гиппократата также верили, что все живые тела состоят из четырех гуморов - крови, черной желчи, флегмы и желтой желчи, которые якобы образуются в сердце, селезенке, мозге и печени соответственно. Считалось, что дисбаланс этих гуморов приводит к тому, что человек становится сангвиником, меланхоликом, флегматиком или холериком. Эти слова сохранялись в медицинской литературе на протяжении веков, что свидетельствует о длительной популярности идеи о гуморальном влиянии. На протяжении веков также считалось, что дисбаланс гуморов является причиной болезни, и это убеждение привело к распространенной практике кровопускания для избавления организма от избытка гуморов.

## **Открытие клеток**

Из пяти микроскопистов Роберт Гук был, пожалуй, самым выдающимся в интеллектуальном плане. Будучи куратором инструментов в Лондонском королевском обществе, он был в курсе всех новых научных разработок и проявлял интерес к таким разрозненным предметам, как полеты и устройство часов. В 1665 году Гук опубликовал работу *"Микрография"*,

которая в основном представляла собой обзор ряда наблюдений, сделанных им в процессе разработки и усовершенствования микроскопа. Гук подробно описал строение перьев, жала пчелы, радулы, или "языка", моллюсков и лапки мухи. Именно Гук придумал слово "клетка"; на рисунке микроскопической структуры пробки он показал стенки, окружающие пустые пространства, и назвал эти структуры клетками. Он описал подобные структуры в тканях других деревьев и растений и заметил, что в одних тканях клетки заполнены жидкостью, а в других - пусты. Поэтому он предположил, что функция клеток заключается в транспортировке веществ по растению.

Хотя работа любого из классических микроскопистов кажется лишенной определенной цели, следует помнить, что эти люди воплощали концепцию первостепенной важности наблюдения и эксперимента, что одних гипотетических, философских рассуждений недостаточно. Примечательно, что так мало людей, работая как отдельные личности, полностью изолированные друг от друга, записали столько наблюдений, имеющих такое фундаментальное значение. Огромное значение их работы заключалось в том, что она впервые открыла мир, в котором живые организмы демонстрируют почти невероятную сложность.

Работа над составным микроскопом затянулась почти на 200 лет, главным образом потому, что первые линзы были склонны разбивать белый свет на составные части. Эта техническая проблема не была решена до изобретения ахроматических линз, которые появились около 1830 года. В 1878 году был создан современный ахроматический составной микроскоп по проекту немецкого физика Эрнста Аббе. Впоследствии Аббе разработал систему подступенчатого освещения, которая вместе с введением нового подступенчатого конденсора открыла путь к биологическим открытиям той эпохи.

### **Разработка принципов таксономии**

В 1687 году английский математик, физик и астроном Исаак Ньютон опубликовал свой великий труд "*Principia*", в котором он описал Вселенную как неподвижную, с Землей и другими небесными телами, гармонично движущимися в соответствии с математическими законами. Этот подход к систематизации и классификации должен был доминировать в биологии в XVII и XVIII веках. Одной из причин этого было то, что "отцы ботаники" XVI века довольствовались лишь описанием и рисунками растений, собрав огромное и разнообразное количество, которое продолжало расти по мере того, как

исследования зарубежных стран показали, что в каждой стране есть свои местные растения и животные.

Аристотель начал процесс классификации, когда использовал способ размножения и среду обитания для различения групп животных. Действительно, слова *род* и *вид* являются переводом греческих *genos* и *eidos*, использованных Аристотелем. Швейцарский ботаник Баухин ввел биномиальную систему классификации, используя родовое и видовое названия. Однако большинство схем классификации, предложенных до XVII века, были запутанными и неудовлетворительными.

### **Использование структуры для классификации организмов**

Двумя систематиками XVII и XVIII веков были английский натуралист Джон Рей и шведский натуралист и исследователь Каролус Линней. Рей, учившийся в Кембридже, особенно интересовался работой древних составителей гербариев, особенно тех, кто пытался сформулировать некоторые способы классификации. Признавая необходимость создания системы классификации, которая применялась бы как к растениям, так и к животным, Рей использовал в своих классификационных схемах чрезвычайно точные описания родов и видов. Основывая свою систему на структурах, таких

как расположение пальцев ног и зубов у животных, а не на цвете или среде обитания, Рей ввел новую и очень важную концепцию в таксономическую биологию.

## **Реорганизация групп организмов**

До Линнея большинство таксономистов начинали свои классификационные системы с разделения всех известных организмов на большие группы, а затем подразделяли их на все более мелкие группы. В отличие от своих предшественников, Линней начал с видов, объединяя их в более крупные группы или роды, а затем упорядочивая аналогичные роды для формирования семейств, а родственные семейства - для формирования порядков и классов. Вероятно, используя более ранние работы Грю и других, Линней выбрал строение репродуктивных органов цветка в качестве основы для группировки высших растений. Так, он различал растения с настоящими цветками и семенами (фанерогамы) и растения, не имеющие настоящих цветков и семян (криптогамы), подразделяя первые на гермафродитные (бисексуальные) и однополые формы. В отношении животных, следуя работе Рея, Линней полагался на зубы и пальцы ног как основные характеристики млекопитающих; в качестве основы для классификации птиц он использовал форму клюва. Продемонстрировав, что биномиальная система

классификации, основанная на кратких и точных описаниях, может быть использована для группировки организмов, Линней основал таксономическую биологию как дисциплину.

Более поздние разработки классификации были начаты французскими биологами графом де Бюффоном, Жаном-Батистом Ламарком и Жоржем Кювье, которые внесли значительный вклад в биологическую науку, особенно в сравнительные исследования. Последующие систематики интересовались главным образом отношениями между животными и пытались объяснить не только их сходства, но и различия в широких терминах, охватывающих, помимо структуры, состава, функции, генетику, эволюцию и экологию.

### **Развитие сравнительных биологических исследований**

После того, как в XVI веке был снят гнет, связанный с препарированием человеческих тел, анатомы направили свои усилия на лучшее понимание строения человека. При этом они обычно игнорировали других животных, по крайней мере, до второй половины XVII века, когда биологи начали понимать, что важные открытия могут быть получены при сравнительном изучении всех животных, включая человека. Одним из первых таких анатомов был английский врач Эдвард

Тайсон, который подробно изучил анатомию неполовозрелого шимпанзе и сравнил ее с анатомией человека. Проводя дальнейшие сравнения между шимпанзе и другими приматами, Тайсон четко распознал точки сходства между этими животными и человеком. Это был не только большой вклад в физическую антропологию, но и указание почти за два столетия до Дарвина на существование родственных связей между человеком и другими приматами.

Среди тех, кто придал сравнительным исследованиям наибольший импульс, был Жорж Кювье, который использовал большие коллекции биологических образцов, присланных ему со всего мира, для разработки систематической организации животного царства. Помимо установления связи между систематической и сравнительной анатомией, он считал, что существует "корреляция частей", согласно которой данный тип структуры, например, перья, связан с определенным анатомическим образованием, например, крылом, которое, в свою очередь, связано с другими специфическими образованиями, например, ключицей и так далее. Другими словами, он считал, что огромное количество анатомической информации можно получить об организме даже при отсутствии целого образца. Это понимание должно было иметь большое практическое значение для изучения окаменелостей, в котором Кювье играл ведущую роль.

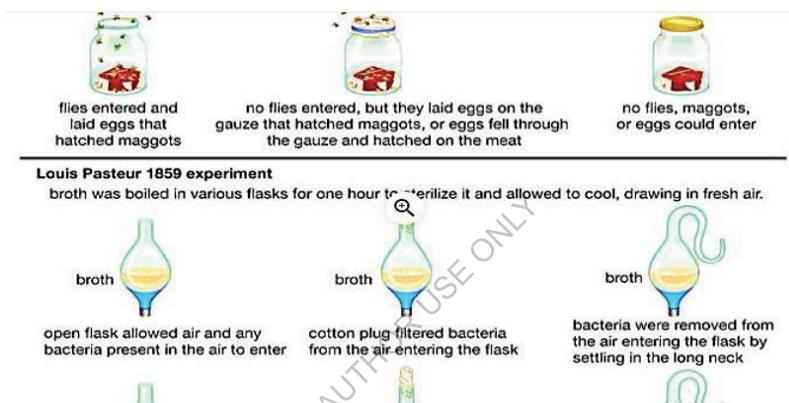
Действительно, публикация в 1812 году работы Кювье "*Recherches sur les ossements fossiles de quadrupèdes*" (переведенной в 1835 году как "*Исследования ископаемых костей*") заложила основу науки палеонтологии. Но чтобы примирить свои научные выводы с личными религиозными убеждениями, Кювье постулировал ряд катастрофических событий, которые могли бы объяснить как наличие окаменелостей, так и неизменность существующих видов.

## **Изучение происхождения жизни**

### **Спонтанная генерация**

Если вид может развиваться только из уже существующего вида, то как же возникла жизнь? Среди множества философских и религиозных идей, выдвинутых для ответа на этот вопрос, одной из самых популярных была теория спонтанного возникновения, согласно которой, как уже говорилось, живые организмы могли возникнуть из неживой материи. Однако с ростом темпов открытий в XVII и XVIII веках исследователи начали более критически рассматривать греческую веру в то, что мухи и другие мелкие животные возникают из грязи на дне ручьев и прудов самопроизвольно. Затем, когда Гарвей объявил свою биологическую сентенцию *ex ovo omnia* ("все происходит из яйца"), казалось, что он

решил проблему, по крайней мере, в той мере, в какой она относится к цветковым растениям и высшим животным, все из которых развиваются из яйца. Но последующее тревожное открытие Левенгуком анималькул показало существование густонаселенного, но ранее невидимого мира организмов, который необходимо было объяснить.



**Рисунок (6):** Гипотеза спонтанного возникновения утверждала, что живые организмы развиваются из неживой материи. Эта идея была опровергнута в результате экспериментов, проведенных в 1668 году итальянским врачом Франческо Реди и в 1859 году французским химиком и микробиологом Луи Пастером.

Итальянский врач и поэт Франческо Реди был одним из первых, кто поставил вопрос о спонтанном происхождении живых существ. Наблюдая за развитием личинок и мух на гниющем мясе, Реди в 1668 году провел ряд экспериментов, которые привели к одному и тому же выводу: если исключить

мух из гнилого мяса, личинки не развиваются. Однако на мясе, находящемся на воздухе, яйца, отложенные мухами, превращаются в личинки. Тем не менее, в 1745 году поддержка спонтанной генерации возобновилась после публикации "An Account of Some New Microscopical Discoveries" английского натуралиста и римско-католического богослова Джона Тербервилла Нидхэма. Нидхэм обнаружил, что в приготовленных настоях различных веществ, которые подвергались сильному нагреванию в запаянных пробирках в течение 30 минут, впоследствии развивалось большое количество организмов. Предполагая, что такая тепловая обработка должна была убить все предыдущие организмы, Нидхэм объяснил появление новой популяции спонтанным возникновением. Эксперименты казались неопровержимыми, пока итальянский физиолог Лаццаро Спалланцани не повторил их и не получил противоречивые результаты. Он опубликовал свои выводы около 1775 года, утверждая, что Нидхэм недостаточно долго нагревал пробирки и не запечатал их удовлетворительным образом. Хотя результаты Спалланцани должны были быть убедительными, Нидхэм пользовался поддержкой влиятельного французского естествоиспытателя Бюффона, поэтому вопрос о спонтанной генерации остался нерешенным.

### **Смерть спонтанной генерации**

После того как ряд дальнейших исследований не помог решить проблему, Французская академия наук предложила премию за исследование, которое "прольет новый свет на вопрос о спонтанном порождении". В ответ на это предложение Луи Пастер, который в то время был химиком, подверг колбы с раствором дрожжей с сахаром воздействию различных условий. Пастер смог убедительно продемонстрировать, что любые микроорганизмы, развивающиеся в подходящих средах, происходят от микроорганизмов в воздухе, а не от самого воздуха, как предполагал Нидхэм. В 1876 году выводы Пастера были поддержаны английским физиком Джоном Тиндаллом, который разработал прибор для демонстрации того, что воздух способен переносить твердые частицы. Поскольку такие частицы в воздухе отражают свет, когда воздух освещается в специальных условиях, аппарат Тиндалла можно было использовать для определения чистоты воздуха. Тиндалл обнаружил, что при внесении чистого воздуха в среду, способную поддерживать рост микроорганизмов, организмы не образуются. Именно эти результаты вместе с выводами Пастера положили конец доктрине спонтанного возникновения. Когда позднее Пастер показал, что родительские микроорганизмы порождают только себе подобных, он тем самым положил начало изучению микробиологии. Более того, ему не только удалось убедить

научный мир в том, что микробы - это живые существа, которые происходят из ранее существовавших форм, но и показать, что они являются огромным и разнообразным компонентом органического мира - концепция, которая должна была иметь важные последствия для науки экологии. Кроме того, изолируя различные виды бактерий и дрожжей в различных химических средах, Пастер смог продемонстрировать, что они вызывают химические изменения характерным и предсказуемым образом, внося тем самым уникальный вклад в изучение ферментации и биохимии.

### **Развитие клеточной теории**

Хотя микроскописты XVII века составили подробные описания строения растений и животных, и хотя Гук ввел термин "*клетка*" для описания отделений, которые он наблюдал в пробковой ткани, их наблюдениям не хватало основополагающего теоретического единства. Только в 1838 году немецкий ботаник Матиас Якоб Шлейден, интересовавшийся анатомией растений, заявил, что "низшие растения состоят из одной клетки, а высшие - из (многих) отдельных клеток". Когда немецкий физиолог Теодор Шванн, друг Шлейдена, распространил клеточную теорию на

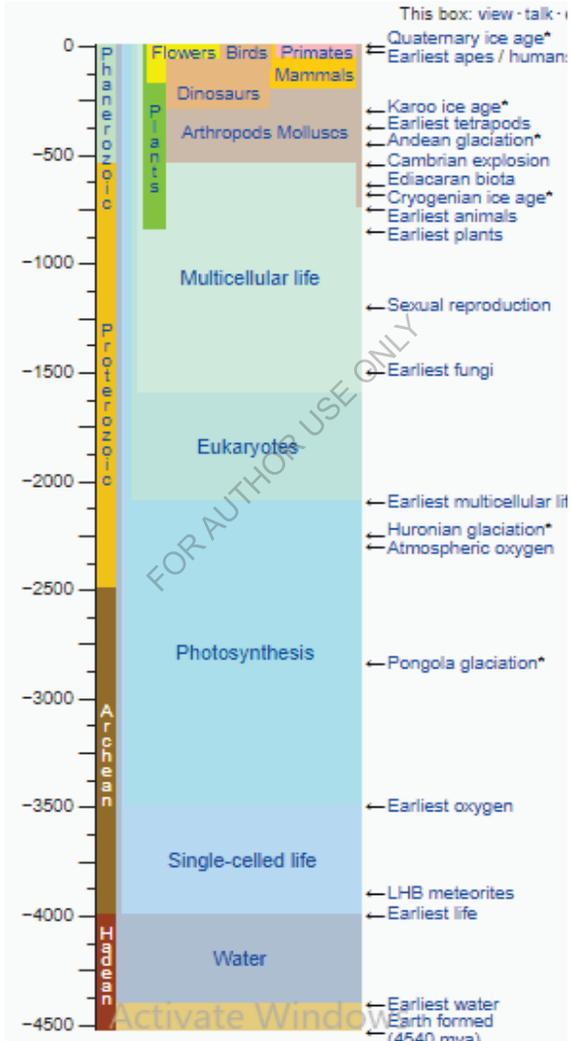
животных, он тем самым положил начало сближению между ботаникой и зоологией. Формирование клеточной теории, согласно которой все растения и животные состоят из клеток, ознаменовало собой большой концептуальный прогресс в биологии и привело к возобновлению внимания к живым процессам, происходящим в клетках.

В 1846 году, после того как несколько исследователей описали потоковое движение цитоплазмы в клетках растений, немецкий ботаник Хуго фон Моль ввел слово *протоплазма* для обозначения живого вещества клетки. Концепция протоплазмы как физической основы жизни привела к развитию клеточной физиологии.

Дальнейшим продолжением клеточной теории стало развитие клеточной патологии немецким ученым Рудольфом Вирховым, который установил связь между аномальными явлениями в организме и необычной клеточной деятельностью. Работа Вирхова дала новое направление в изучении патологии и привела к достижениям в медицине.

Подробному описанию деления клеток способствовал немецкий цитолог растений Эдуард Страсбургер, который наблюдал митотический процесс в растительных клетках и далее показал, что ядра возникают только из ранее существовавших ядер. Параллельную работу у

млекопитающих проводил немецкий анатом Вальтер Флемминг, который в 1882 году опубликовал свои самые важные выводы в книге "*Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung*" ("Вещество клетки, ядро и деление клетки").



## Рисунок (7): Развитие клеточной теории.

### Теория эволюции

По мере накопления знаний о формах растений и животных в XVI, XVII и XVIII веках некоторые биологи начали строить догадки о происхождении этих организмов, хотя преобладающей была точка зрения, провозглашенная Линнеем, а именно неизменность вида. Среди первых догадок, высказанных в XVIII веке, британский врач Эразм Дарвин (дед Чарльза Дарвина) пришел к выводу, что виды происходят от общих предков и что между животными идет борьба за существование. Французский биолог Жан-Батист Ламарк, один из самых важных эволюционистов XVIII века, признавал роль изоляции в образовании видов; он также видел единство природы и придумал идею эволюционного дерева.

Однако полная теория эволюции не была объявлена до публикации в 1859 году книги Чарльза Дарвина *"О происхождении видов путем естественного отбора или о сохранении благоприятствуемых рас в борьбе за жизнь"*. В своей книге Дарвин утверждал, что все живые существа размножаются так быстро, что если их не сдерживать, они вскоре перенаселят мир. По мнению Дарвина, численность популяции сдерживается конкуренцией за средства к жизни. Следовательно, если кто-то из представителей вида

отличается от других каким-то образом, что делает его более приспособленным к выживанию, то он получает преимущество, которое, скорее всего, сохранится в его потомстве. Работа Дарвина отражает влияние британского экономиста Томаса Роберта Мальтуса, который в 1838 году опубликовал эссе о народонаселении, в котором предупреждал, что если люди будут размножаться быстрее, чем их запасы пищи, то возникнет конкуренция за существование. На Дарвина также повлиял британский геолог Чарльз Лайель, который на основе изучения геологических формаций понял, что относительный возраст отложений можно определить по соотношению живых и вымерших моллюсков. Но только после путешествия на корабле "*Бигль*" (1831-36), во время которого он наблюдал огромное богатство и разнообразие островной фауны, Дарвин начал развивать свою теорию эволюции. Альфред Рассел Уоллес пришел к выводам, аналогичным выводам Дарвина, после изучения растений и животных на Малайском архипелаге. Небольшая статья на эту тему, отправленная Уоллесом Дарвину, в конце концов привела к публикации собственных теорий Дарвина.

Концептуально эта теория имела огромное значение, поскольку объясняла образование новых видов. После последующего открытия хромосомной основы наследственности и законов наследственности стало ясно, что

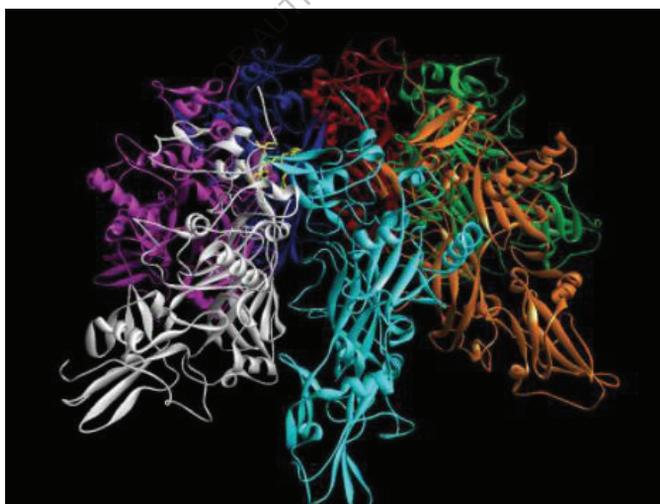
естественный отбор не связан с резкими альтернативами жизни или смерти, а является результатом дифференцированного выживания вариантов. Сегодня универсальный принцип естественного отбора, который является центральным понятием теории Дарвина, твердо установлен.

### **Важные концептуальные и технологические разработки**

Благодаря использованию современных методов исследования, таких как рентгеновская дифракция и электронная микроскопия, для изучения уровней клеточной организации, выходящих за пределы видимых с помощью светового микроскопа, - ультраструктуры клетки - были созданы новые концепции клеточных функций. В результате изучение молекулярной организации клетки оказало огромное влияние на биологию в XX и XXI веках. Оно также непосредственно привело к сближению многих различных научных дисциплин с целью достижения лучшего понимания жизненных процессов.

Также были разработаны такие технологии, как секвенирование ДНК и полимеразная цепная реакция, которые позволили биологам заглянуть в генетические планы,

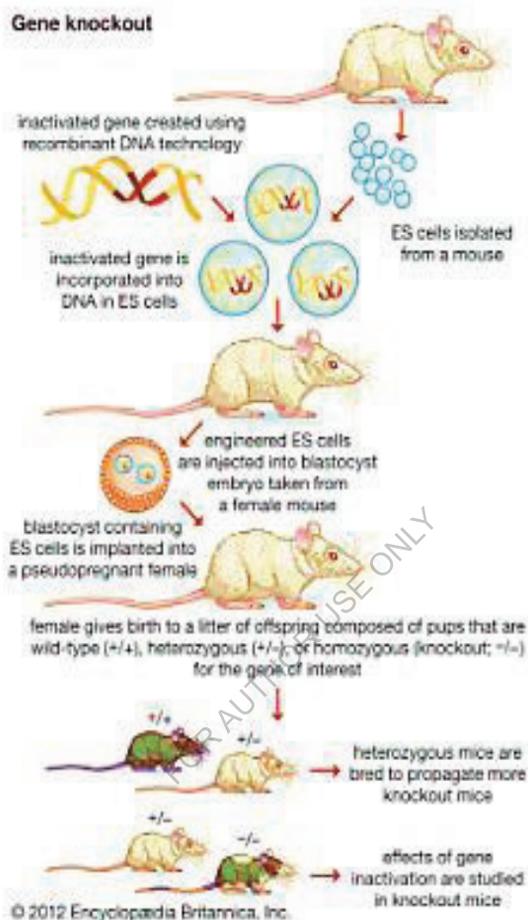
дающие начало организмам. Технологии секвенирования первого поколения появились в 1970-х годах, а спустя несколько десятилетий за ними последовали так называемые технологии секвенирования следующего поколения, которые превосходили их по скорости и экономичности. Секвенирование следующего поколения предоставило исследователям огромные объемы генетических данных, как правило, гигабазы (1 гигабаза = 1 000 000 000 пар оснований ДНК). Биоинформатика, связавшая биологические данные с инструментами и методами анализа, хранения и распространения данных, становится все более важной частью биологических исследований, особенно тех, которые связаны с очень большими наборами генетических данных.



**Рисунок (8): Важные концептуальные и технологические разработки.**

Это компьютерное изображение сибирской язвы показывает различные структурные взаимосвязи семи единиц внутри белка и демонстрирует взаимодействие лекарства (показано желтым цветом), связанного с белком для блокирования так называемой единицы летального фактора. Биоинформатика играет важную роль, позволяя ученым предсказать, где молекула лекарства свяжется с белком, учитывая индивидуальные структуры молекул.

FOR AUTHOR USE ONLY



**Рисунок (9): Важные в геном нокауте концептуальные и технологические разработки.**

При геном нокауте функциональный ген заменяется инактивированным геном, созданным с помощью технологии рекомбинантной ДНК. Когда ген "выбивают", полученный

мутантный фенотип (наблюдаемые характеристики) часто раскрывает биологическую функцию гена.

В 1990-х и начале 2000-х годов исследователи по всему миру все чаще объединялись в консорциумы и другие совместные группы для совершения крупных подвигов в биологии. Первым крупным успехом этих усилий стало секвенирование генома человека, которое было осуществлено в рамках проекта "Геном человека" (HGP). Проект HGP начался в 1990 году при поддержке Министерства энергетики США и Национальных институтов здравоохранения (NIH). Позже исследователи NIH объединили усилия с частным предприятием Celera Genomics, и проект был завершен в 2003 году. Вскоре последовали и другие совместные проекты, включая Международный проект ХарМар, ставший результатом HGP, и проект "1000 геномов", в основу которого легли данные, полученные в рамках проекта ХарМар.

В XX и XXI веках также произошли значительные успехи в областях биологии, связанных с экосистемами, окружающей средой и охраной природы. В XX веке ученые поняли, что человек зависит от природных ресурсов Земли не меньше, чем другие животные. Однако люди способствовали постепенному разрушению окружающей среды, отчасти из-за

увеличения демографического давления и некоторых технологических достижений. Спасительные достижения в медицине, например, позволили людям жить дольше и привели к резкому снижению уровня смертности (в основном в развитых странах), что способствовало взрывному росту человеческой популяции. Химические загрязнители, попадающие в окружающую среду в результате производственных процессов, использования пестицидов, автомобильных выхлопов и других средств, подвергали серьезной опасности все формы жизни. Поэтому биологи стали уделять гораздо больше внимания взаимоотношениям живых существ друг с другом, а также с биотической и абиотической средой.

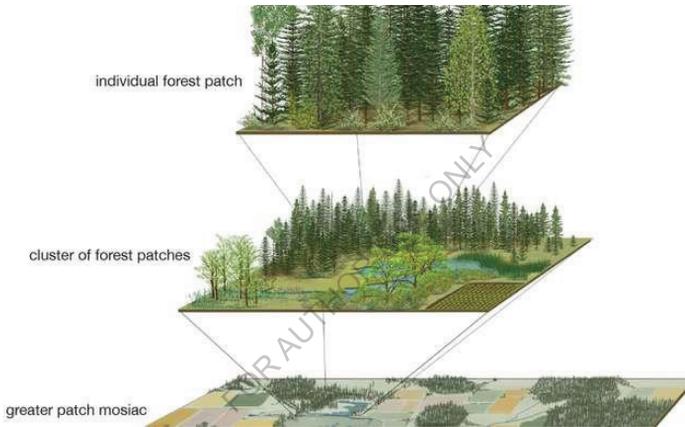
Растущее значение изменения климата и его влияния на экосистемы способствовало развитию экологии, а также таких областей, как биология охраны природы и генетика охраны природы. Как и почти во всех других областях биологии, молекулярная биология стала играть важную роль в этих областях: такие методы, как секвенирование всего генома, используются для сбора информации о генетическом разнообразии популяций исчезающих видов, а такие методы, как клонирование и редактирование генома, позволяют в будущем воскресить вымершие виды (процесс, известный как деэкзистенция). Информация о последовательностях ДНК

широкого круга видов также способствовала прогрессу в понимании учеными эволюции и систематики (изучение эволюционных связей и диверсификации жизни).

### **Внутридисциплинарная и междисциплинарная работа**

К 21 веку в биологических науках появилось множество важных категорий и, соответственно, множество специализаций внутри областей. Ботаника, зоология и микробиология изучали типы организмов и их взаимоотношения друг с другом. Такие дисциплины уже давно подразделяются на более специализированные категории, например, ихтиология - изучение рыб, а альгология - изучение водорослей. Такие дисциплины, как эмбриология и физиология, изучающие развитие и функционирование организма, были разделены в зависимости от вида изучаемого организма, например, эмбриология беспозвоночных и физиология млекопитающих. Многие разработки в области физиологии и эмбриологии стали результатом исследований в области клеточной биологии, биофизики и биохимии. Аналогичным образом, исследования в области клеточной физиологии и цитохимии, а также ультраструктурные исследования помогли ученым соотнести структуру клеток с их функциями. Экология, сосредоточенная на взаимоотношениях между организмами и окружающей

средой, включает в себя как физические особенности окружающей среды, так и другие организмы, которые могут конкурировать за пищу и убежище. Акцент на различных средах и определенных особенностях организмов привел к разделению области на ряд специальностей, таких как экология пресной воды, морская экология и популяционная экология.



**Рисунок (10): Внутридисциплинарная и междисциплинарная работа.**

### **Масштаб в экологических исследованиях**

Лесной участок, вложенный в ландшафтную мозаику.

Многие области изучения биологических наук пересекают границы, которые традиционно разделяли различные отрасли

науки. Например, в биофизике исследователи применяют принципы и методы физики для изучения и поиска решений проблем в биологии. Эволюционные биологи и палеонтологи знакомы с принципами геологии и даже могут тесно сотрудничать с геологами, пытаясь определить возраст биологических останков. Аналогичным образом, антропологи и археологи применяют знания о человеческой культуре и обществе к биологическим находкам, чтобы более полно понять человечество. Астробиология возникла благодаря деятельности ученых и инженеров, занимающихся исследованием космоса. В результате область биологии получила вклад от многих других дисциплин, как гуманитарных, так и естественных.

В XX и XXI веках, по мере того как биология становилась все более взаимосвязанной с другими областями науки, она также стала включать в себя ряд самостоятельных дисциплин. В некоторых из этих дисциплин были признаны несколько уровней организации - например, популяционная биология (изучение популяций живых существ) и организменная биология (изучение всего организма), а также клеточная биология и молекулярная биология. Во второй половине 20 века молекулярная биология породила еще больше дисциплин, а появление геномики привело к возникновению сложных субдисциплин, таких как геномика развития и

функциональная геномика. Генетика продолжала расширяться, порождая новые области, такие как генетика сохранения. Однако, несмотря на разнообразие, в XXI веке многие области биологических наук продолжали опираться на общие объединяющие принципы и идеи, особенно те, которые были центральными для таксономии, генетики и эволюции.

*Сьюзан Хейнер Джоши Эдна Р. Грин Каро Роджерс.*

### **Изменение социальных и научных ценностей**

В XX и XXI веках роль биологов в обществе, а также их моральная и этическая ответственность за открытие и развитие новых идей привели к переоценке индивидуальных социальных и научных систем ценностей. Ученые не могут позволить себе игнорировать последствия своих открытий; они обеспокоены возможным неправильным использованием своих находок не меньше, чем фундаментальными исследованиями, в которых они участвуют. В 20 веке новая социальная и политическая роль биолога и всех других ученых потребовала взвешивания ценностей, которое не могло быть сделано с точностью или объективностью лабораторных весов. Как членам общества, биологам стало необходимо пересмотреть свои социальные обязательства и функции, особенно в сфере вынесения суждений об этических проблемах, таких как контроль человека над окружающей

средой или манипулирование генами для направления дальнейшего эволюционного развития.

## **Решение проблем будущего**

Особое значение для биологических наук имело развитие генной инженерии. В случаях генетических недостатков и заболеваний генная инженерия открыла возможность исправления дефектов генов для восстановления физиологических функций, что потенциально могло улучшить качество жизни пациентов. Генная терапия, при которой нормальный ген вводится в геном человека для устранения мутации, вызывающей заболевание, является одним из средств, с помощью которых исследователи могут достичь этой цели. Однако возможности неправильного использования генной инженерии были огромны. Например, значительную озабоченность вызывали генетически модифицированные организмы, особенно модифицированные сельскохозяйственные культуры, и их воздействие на здоровье человека и окружающую среду. Появление технологий клонирования, включая ядерный перенос соматических клеток, также вызвало озабоченность. Декларация о клонировании человека, принятая в 2005 году Организацией Объединенных Наций, призвала государства-

члены запретить клонирование человека, хотя и оставила возможность терапевтического клонирования.

Аналогичным образом, в 2015 году исследователи, разработавшие технологии редактирования генов, которые позволяют ученым изменять генетический состав организма путем изменения конкретных оснований в последовательности ДНК, призвали ввести мораторий на применение этих технологий на людях. Влияние редактирования генов на генетику человека было неизвестно, и не существовало нормативных актов, которые бы регулировали их использование. И действительно, в отсутствие строгого регулирования китайский ученый продвинулся вперед в редактировании генов у людей, заявив в конце 2018 года о рождении первых в мире младенцев с отредактированными геномами. Ученый утверждал, что отредактировал человеческие эмбрионы, чтобы отключить ген, который обычно способствует проникновению ВИЧ в клетки; затем эмбрионы были имплантированы женщине и доношены до срока. Тем временем исследователи в США пытались использовать генное редактирование для изменения генов в человеческой сперме, что позволило бы передавать отредактированные гены последующим поколениям. В частности, исследователи пытались изменить гены, повышающие риск развития некоторых видов рака, с целью

снижения риска развития рака у потомства. Дебаты по поводу редактирования генов возобновили прежние дискуссии об этических и социальных последствиях генной инженерии у людей, особенно о возможности ее использования для изменения таких признаков, как интеллект и внешность.

Среди других задач, стоящих перед биологами, - поиск путей сдерживания загрязнения окружающей среды без вмешательства в усилия по улучшению качества жизни человечества. Вклад в проблему загрязнения вносила проблема избыточного человеческого населения. Рост численности населения планеты привел к увеличению спроса на землю, особенно в области производства продуктов питания, и вызвал необходимость увеличения масштабов деятельности современной промышленности, отходы которой способствовали загрязнению воздуха, воды и почвы. Чтобы найти решение проблем глобального потепления, загрязнения и других экологических проблем, биологи работали с социологами и другими членами общества, чтобы определить требования, необходимые для поддержания здоровья и продуктивности планеты. Хотя многие из нынешних и будущих проблем человечества могут показаться социальными, политическими или экономическими по своей природе, они имеют биологические последствия, которые могут повлиять на само существование жизни.

## **1-1 Типы клеток**

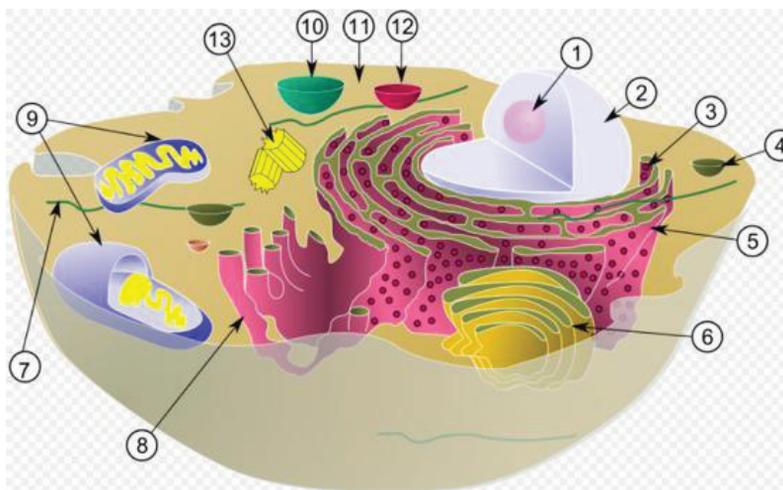
### **Клетки**

Клеточная теория утверждает, что клетки являются фундаментальными единицами жизни, что все живые существа состоят из одной или нескольких клеток, и что все клетки возникают из ранее существовавших клеток путем клеточного деления. Большинство клеток очень малы, их диаметр составляет от 1 до 100 микрометров, поэтому их можно увидеть только под световым или электронным микроскопом. В целом существует два типа клеток: эукариотические клетки, которые содержат ядро, и прокариотические клетки, которые его не содержат. Прокариоты - это одноклеточные организмы, такие как бактерии, в то время как эукариоты могут быть одноклеточными или многоклеточными. У многоклеточных организмов каждая клетка тела происходит в конечном итоге от одной клетки оплодотворенной яйцеклетки.

### **Структура клетки**

Каждая клетка заключена в клеточную мембрану, которая отделяет ее цитоплазму от внеклеточного пространства. Клеточная мембрана состоит из липидного бислоя,

включающего холестерин, которые находятся между фосфолипидами для поддержания их текучести при различных температурах. Клеточные мембраны полупроницаемы, что позволяет пропускать мелкие молекулы, такие как кислород, углекислый газ и вода, ограничивая при этом движение более крупных молекул и заряженных частиц, таких как ионы. Клеточные мембраны также содержат мембранные белки, включая интегральные мембранные белки, которые проходят через мембрану и служат мембранными транспортерами, и периферические белки, которые свободно прикрепляются к внешней стороне клеточной мембраны, действуя как ферменты, формирующие клетку. Клеточные мембраны участвуют в различных клеточных процессах, таких как клеточная адгезия, накопление электрической энергии, клеточная сигнализация, и служат поверхностью прикрепления для нескольких внеклеточных структур, таких как клеточная стенка, гликокаликс и цитоскелет.



**Рисунок (11): Структура клетки.**

Внутри цитоплазмы клетки находится множество биомолекул, таких как белки и нуклеиновые кислоты.<sup>[46]</sup> Помимо биомолекул, эукариотические клетки имеют специализированные структуры, называемые органеллами, которые имеют собственные липидные бислои или являются пространственными единицами. К таким органеллам относятся клеточное ядро, содержащее генетическую информацию клетки, или митохондрии, вырабатывающие аденозинтрифосфат (АТФ) для питания клеточных процессов. Другие органеллы, такие как эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи, играют роль в синтезе и упаковке белков, соответственно. Биомолекулы, такие как белки, могут поглощаться лизосомами, еще одной специализированной

органеллой. Растительные клетки имеют дополнительные органеллы, отличающие их от животных клеток, такие как клеточная стенка, хлоропласты и вакуоли.

## **Метаболизм**

Все клетки нуждаются в энергии для поддержания клеточных процессов. Энергия - это способность совершать работу, которая в термодинамике может быть рассчитана с помощью свободной энергии Гиббса. Согласно первому закону термодинамики, энергия сохраняется, т.е. не может быть создана или уничтожена. Следовательно, химические реакции в клетке не создают новую энергию, а участвуют в преобразовании и передаче энергии. Тем не менее, все передачи энергии приводят к некоторой потере полезной энергии, что увеличивает энтропию (или состояние беспорядка), как гласит второй закон термодинамики. В результате организму требуется постоянный приток энергии для поддержания низкого уровня энтропии. В клетках энергия может передаваться в виде электронов в ходе окислительно-восстановительных реакций, храниться в ковалентных связях и вырабатываться при перемещении ионов (например, водорода, натрия, калия) через мембрану.

Метаболизм - это совокупность поддерживающих жизнь химических реакций в организмах. Три основные цели

метаболизма: преобразование пищи в энергию для запуска клеточных процессов; преобразование пищи/топлива в строительные блоки для белков, липидов, нуклеиновых кислот и некоторых углеводов; и удаление метаболических отходов. Эти реакции, катализируемые ферментами, позволяют организмам расти и размножаться, поддерживать свою структуру и реагировать на окружающую среду. Метаболические реакции можно разделить на катаболические - распад соединений (например, распад глюкозы до пирувата в процессе клеточного дыхания); и анаболические - создание (синтез) соединений (таких как белки, углеводы, липиды и нуклеиновые кислоты). Обычно при катаболизме высвобождается энергия, а при анаболизме энергия расходуется.

Химические реакции метаболизма организованы в метаболические пути, в которых одно химическое вещество превращается через ряд этапов в другое химическое вещество, причем каждый этап облегчается определенным ферментом. Ферменты имеют решающее значение для метаболизма, поскольку они позволяют организмам приводить в движение желательные реакции, требующие энергии, которые не будут происходить сами по себе, соединяя их со спонтанными реакциями, высвобождающими энергию. Ферменты действуют как катализаторы, они позволяют реакции

протекать быстрее, не расходуя при этом энергию активации, необходимую для превращения реагентов в продукты. Ферменты также позволяют регулировать скорость метаболической реакции, например, в ответ на изменения в окружающей среде клетки или на сигналы от других клеток.

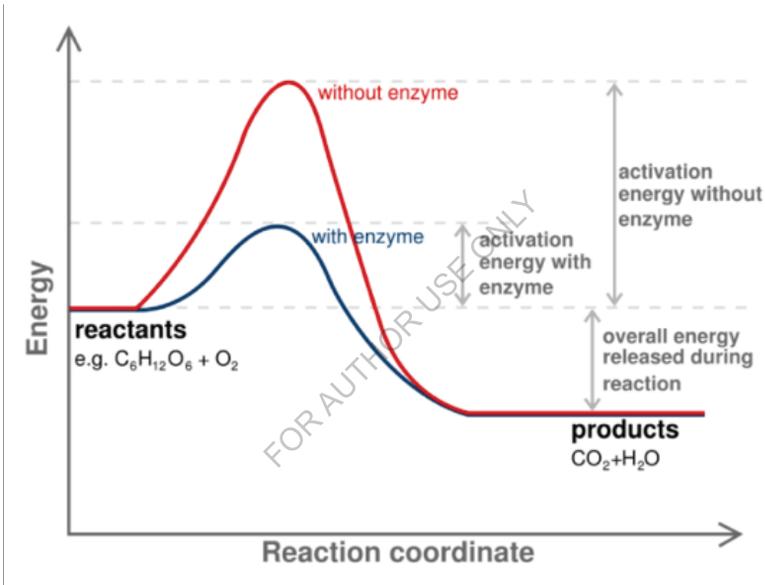


Рисунок (12): Метаболизм.

## Клеточное дыхание



Рисунок (13): Дыхание в эукариотической клетке

Клеточное дыхание - это набор метаболических реакций и процессов, происходящих в клетках организмов для преобразования химической энергии из питательных веществ в аденозинтрифосфат (АТФ) и последующего высвобождения отработанных продуктов. Реакции, участвующие в дыхании, являются катаболическими реакциями, которые расщепляют большие молекулы на более мелкие, высвобождая энергию, поскольку слабые высокоэнергетические связи, в частности, в молекулярном кислороде, заменяются более сильными связями в продуктах. Дыхание является одним из основных способов высвобождения клеткой химической энергии для обеспечения клеточной активности. Общая реакция протекает в виде ряда биохимических этапов, некоторые из которых являются окислительно-восстановительными реакциями. Хотя клеточное дыхание технически является реакцией

сгорания, оно явно не похоже на нее, когда происходит в клетке, из-за медленного, контролируемого высвобождения энергии в результате серии реакций.

Сахар в виде глюкозы является основным питательным веществом, используемым клетками животных и растений в процессе дыхания. Клеточное дыхание с участием кислорода называется аэробным дыханием, которое имеет четыре стадии: гликолиз, цикл лимонной кислоты (или цикл Кребса), цепь переноса электронов и окислительное фосфорилирование. Гликолиз - это метаболический процесс, происходящий в цитоплазме, в результате которого глюкоза превращается в два пирувата, при этом одновременно образуется две молекулы АТФ. Каждый пируват затем окисляется в ацетил-КоА пируватдегидрогеназным комплексом, в результате чего также образуются NADH и углекислый газ. Ацетил-КоА вступает в цикл лимонной кислоты, который происходит внутри митохондриального матрикса. В конце цикла из 1 глюкозы (или 2 пируватов) образуется 6 NADH, 2 FADH<sub>2</sub>, и 2 молекулы АТФ. Наконец, следующим этапом является окислительное фосфорилирование, которое у эукариот происходит в кристах митохондрий. Окислительное фосфорилирование включает в себя цепь переноса электронов, представляющую собой серию из четырех белковых комплексов, которые переносят

электроны от одного комплекса к другому, тем самым высвобождая энергию из NADH и FADH<sub>2</sub>, что связано с перекачкой протонов (ионов водорода) через внутреннюю митохондриальную мембрану (хемиосмос), которая создает протонную движущую силу.<sup>[50]</sup> Энергия протонной движущей силы заставляет фермент АТФ-синтазу синтезировать больше АТФ путем фосфорилирования АДФ. Перенос электронов завершается тем, что молекулярный кислород становится конечным акцептором электронов.

Если бы кислорода не было, пируват не метаболизировался бы в процессе клеточного дыхания, а подвергся бы процессу ферментации. Пируват не транспортируется в митохондрии, а остается в цитоплазме, где превращается в отходы, которые могут быть удалены из клетки. Это служит цели окисления переносчиков электронов, чтобы они могли снова осуществлять гликолиз, и удаления избытка пирувата. Ферментация окисляет NADH до NAD<sup>+</sup>, чтобы его можно было снова использовать в гликолизе. В отсутствие кислорода ферментация предотвращает накопление NADH в цитоплазме и обеспечивает NAD<sup>+</sup> для гликолиза. Этот отработанный продукт варьируется в зависимости от организма. В скелетных мышцах отработанным продуктом является молочная кислота. Этот тип ферментации называется молочнокислым брожением. При интенсивных физических нагрузках, когда

потребности в энергии превышают ее поступление, дыхательная цепь не может переработать все атомы водорода, соединенные NADH. Во время анаэробного гликолиза NAD<sup>+</sup> восстанавливается, когда пары водорода соединяются с пируватом с образованием лактата. Образование лактата катализируется лактатдегидрогеназой в обратимой реакции. Лактат также может использоваться в качестве косвенного предшественника для гликогена печени. Во время восстановления, когда кислород становится доступным, NAD<sup>+</sup> присоединяется к водороду из лактата с образованием АТФ. В дрожжах отработанными продуктами являются этанол и углекислый газ. Этот тип брожения известен как спиртовое или этаноловое брожение. АТФ, образующийся в этом процессе, производится путем фосфорилирования на субстратном уровне, для которого не требуется кислород.

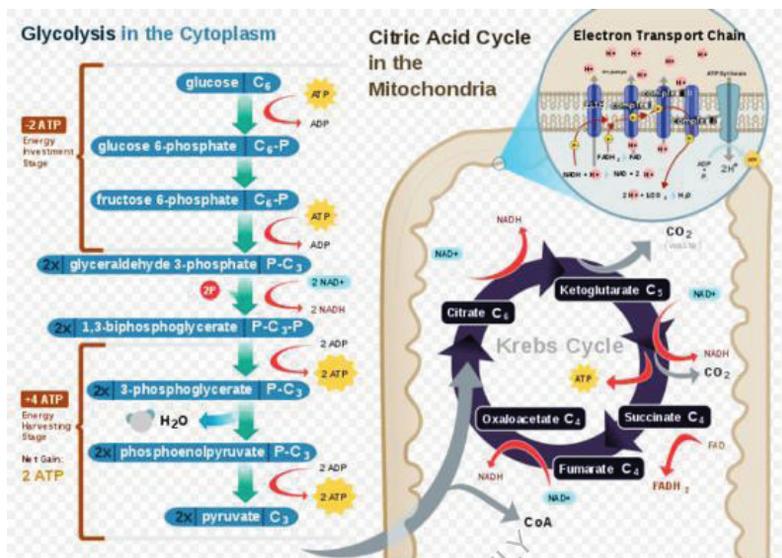


Рисунок (14): Дыхание в эукариотической клетке.

### Клеточный сигналинг

Клеточная коммуникация (или сигнализация) - это способность клеток принимать, обрабатывать и передавать сигналы в окружающую среду и самим себе. Сигналы могут быть нехимическими, такими как свет, электрические импульсы и тепло, или химическими сигналами (или лигандами), взаимодействующими с рецепторами, которые могут быть встроены в клеточную мембрану другой клетки или находиться глубоко внутри клетки. Как правило, существует четыре типа химических сигналов: аутокринные,

паракринные, юкстакринные и гормоны.<sup>[58]</sup> При аутокринной сигнализации лиганд воздействует на ту же клетку, которая его выделяет. Например, опухолевые клетки могут бесконтрольно размножаться, потому что они выделяют сигналы, которые инициируют их собственное саморазделение. При паракринной сигнализации лиганд распространяется в соседние клетки и воздействует на них. Например, клетки мозга, называемые нейронами, выделяют лиганды, называемые нейротрансмиттерами, которые распространяются через синаптическую щель и связываются с рецептором на соседней клетке, например, на другом нейроне или мышечной клетке. При юкстакринной сигнализации существует прямой контакт между сигнальными и отвечающими клетками. Наконец, гормоны - это лиганды, которые перемещаются по кровеносной системе животных или сосудистой системе растений, чтобы достичь клеток-мишеней. Как только лиганд связывается с рецептором, он может влиять на поведение другой клетки, в зависимости от типа рецептора. Например, нейротрансмиттеры, которые связываются с инотропным рецептором, могут изменять возбудимость клетки-мишени. Другие типы рецепторов включают протеинкиназные рецепторы, например, рецептор для гормона инсулина, и рецепторы, связанные с G-белком. Активация рецепторов, связанных с белком G, может инициировать каскады вторых сообщений. Процесс, в ходе

которого химический или физический сигнал передается через клетку в виде серии молекулярных событий, называется трансдукцией сигнала.

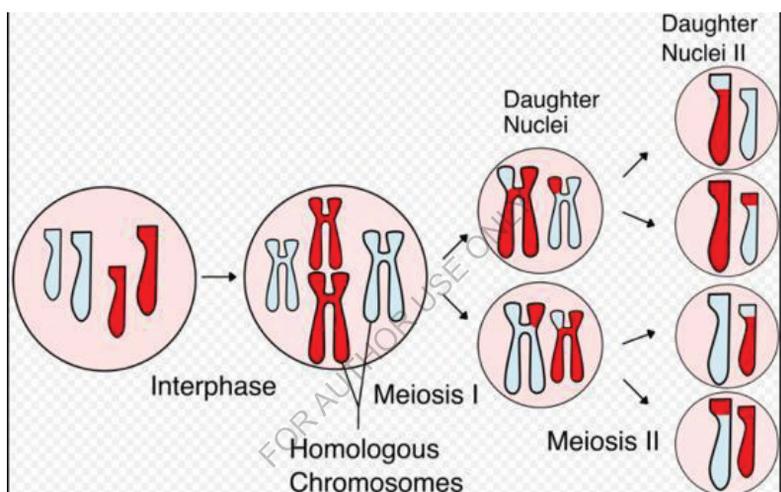
### **Клеточный цикл**

Клеточный цикл - это серия событий, происходящих в клетке, которые приводят к ее делению на две дочерние клетки. Эти события включают дублирование ДНК и некоторых органелл, а также последующее разделение цитоплазмы на две дочерние клетки в процессе, называемом делением клетки. У эукариот (т.е. клеток животных, растений, грибов и протистов) существует два различных типа деления клеток: митоз и мейоз.<sup>[60]</sup> Митоз - это часть клеточного цикла, в ходе которого реплицированные хромосомы разделяются на два новых ядра. Деление клеток дает начало генетически идентичным клеткам, в которых сохраняется общее число хромосом. В целом, митозу (делению ядра) предшествует стадия S интерфазы (во время которой происходит репликация ДНК), за ней часто следуют телофаза и цитокinesis, в результате которых цитоплазма, органеллы и клеточная мембрана одной клетки делятся на две новые клетки, содержащие примерно равные доли этих клеточных компонентов. Различные стадии митоза в совокупности определяют митотическую фазу клеточного цикла животных - деление материнской клетки на две генетически идентичные

дочерние клетки.<sup>[61]</sup> Клеточный цикл - это жизненно важный процесс, благодаря которому одноклеточное оплодотворенное яйцо развивается в зрелый организм, а также процесс, в ходе которого обновляются волосы, кожа, клетки крови и некоторые внутренние органы. После деления клетки каждая из дочерних клеток начинает интерфазу нового цикла. В отличие от митоза, в результате мейоза образуются четыре гаплоидные дочерние клетки, проходящие один раунд репликации ДНК с последующими двумя делениями. Гомологичные хромосомы разделяются в первом делении (мейоз I), а сестринские хроматиды - во втором (мейоз II). Оба этих цикла деления клеток используются в процессе полового размножения на определенном этапе жизненного цикла. Считается, что оба они присутствовали у последнего общего предка эукариот.

Прокариоты, например, археи и бактерии, также могут подвергаться делению клеток (или бинарному делению). В отличие от процессов митоза и мейоза у эукариот, бинарное деление у прокариот происходит без образования веретенообразного аппарата на клетке. Перед бинарным делением ДНК в бактерии плотно свернута. После того как она размоталась и продублировалась, она вытягивается к отдельным полюсам бактерии по мере увеличения ее размеров для подготовки к делению. Рост новой клеточной стенки

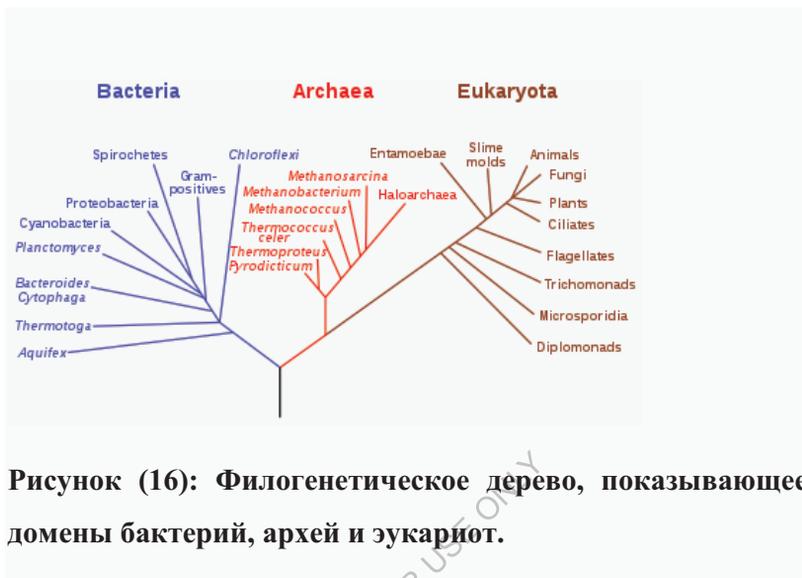
начинает разделять бактерию (запускается полимеризацией FtsZ и формированием "Z-кольца"). Новая клеточная стенка (перегородка) полностью развивается, что приводит к полному разделению бактерии. Новые дочерние клетки имеют плотно свернутые стержни ДНК, рибосомы и плазмиды.



**Рисунок (15): Клеточный цикл.**

В мейозе хромосомы дублируются, и гомологичные хромосомы обмениваются генетической информацией во время мейоза I. Дочерние клетки снова делятся в мейозе II, образуя гаплоидные гаметы.

## Филогении



**Рисунок (16):** Филогенетическое дерево, показывающее домены бактерий, архей и эукариот.

Филогения - это история эволюции определенной группы организмов или их генов. Филогенез можно представить с помощью филогенетического дерева, которое представляет собой диаграмму, показывающую линии происхождения организмов или их генов. Каждая линия, проведенная по оси времени на дереве, представляет собой линию потомков определенного вида или популяции. Когда линия разделяется на две части, это изображается как узел или раскол на филогенетическом дереве. Чем больше разветвлений происходит со временем, тем больше ветвей будет на дереве, а общий предок всех организмов на этом дереве будет представлен корнем дерева. Филогенетические деревья могут

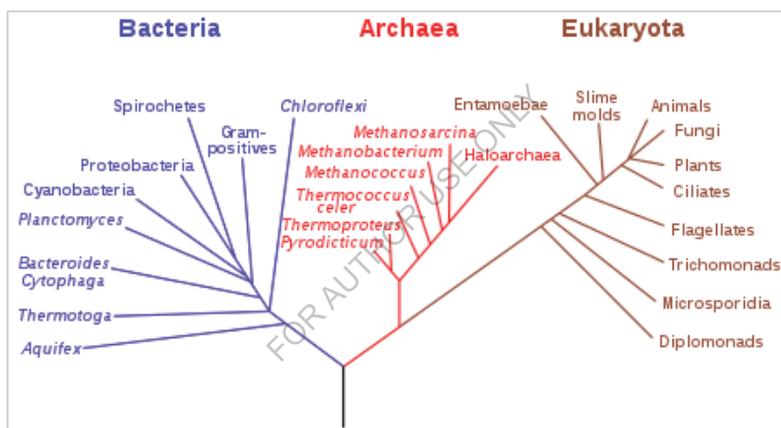
отражать эволюционную историю всех форм жизни, крупной эволюционной группы, например, насекомых, или еще более мелкой группы близкородственных видов. На дереве любая группа видов, обозначенная названием, является таксоном, например, человек, приматы, млекопитающие или позвоночные, а таксон, состоящий из всех эволюционных потомков, - кладом, иначе называемым монофилетическим таксоном. Близкородственные виды называются сестринскими видами, а близкородственные клады - сестринскими кладами. В отличие от монофилетической группы, полифилетическая группа не включает общего предка, а парафилетическая группа не включает всех потомков общего предка.

Филогенетические деревья являются основой для сравнения и группировки различных видов. Различные виды, имеющие общие признаки, унаследованные от общего предка, называются гомологичными. Гомологичными признаками могут быть любые наследуемые признаки, такие как последовательность ДНК, структуры белков, анатомические особенности и модели поведения. Позвоночный столб является примером гомологичного признака, общего для всех позвоночных животных. Признаки, которые имеют сходную форму или функцию, но не были получены от общего предка, называются аналогичными признаками. Филогенез может

быть реконструирован для группы организмов, представляющих основной интерес, которые называются ингруппой. Вид или группа, которая тесно связана с ингруппой, но филогенетически находится вне ее, называется аутгруппой, которая служит точкой отсчета на дереве. Корень дерева располагается между ингруппой и аутгруппой. При реконструкции филогенетических деревьев может быть получено несколько деревьев с различной эволюционной историей. Исходя из принципа парсимонии (или бритвы Оккама), предпочтение отдается тому дереву, которое имеет наименьшее количество эволюционных изменений, необходимых для предположения по всем признакам во всех группах. Вычислительные алгоритмы могут быть использованы для определения того, как дерево могло эволюционировать с учетом имеющихся данных.

Филогения служит основой биологической классификации, которая базируется на таксономии Линнея, разработанной Карлом Линнеем в 18 веке.<sup>[117]</sup> Эта система классификации основана на рангах, где наивысшим рангом является домен, за которым следуют царство, филум, класс, порядок, семейство, род и вид. Все организмы могут быть классифицированы как принадлежащие к одному из трех доменов: Archaea (первоначально Archaeobacteria); бактерии (первоначально eubacteria) или eukarya (включает царства протистов, грибов,

растений и животных). Для классификации различных видов используется биномиальная номенклатура. Согласно этой системе, каждому виду дается два названия - одно для рода, другое для вида. Например, человек - это *Homo sapiens*, где *Homo* - род, а *sapiens* - вид. По традиции научные названия организмов набираются курсивом, при этом заглавной является только первая буква рода.



**Рисунок (17): Филогенетическое дерево, показывающее домены бактерий, архей и эукариот**

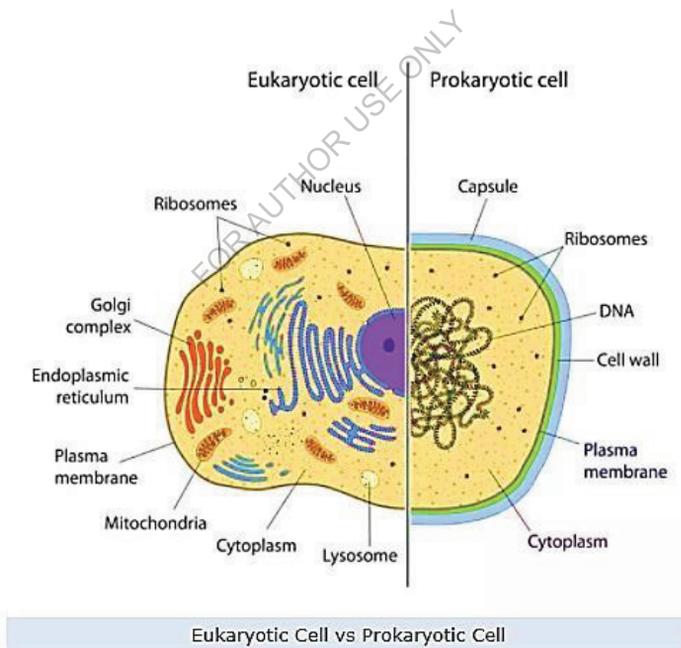
## **А-Эукариотическая клетка**

Эукариотическая клетка содержит мембраносвязанные органеллы, такие как ядро, митохондрии и эндоплазматический ретикулум. К организмам, основанным на эукариотической клетке, относятся простейшие, грибы, растения и животные. Эти организмы объединены в биологическую область Eukaryota. Эукариотические клетки крупнее и сложнее прокариотических клеток, встречающихся в доменах архей и бактерий.

Эукариотическая клетка - это один из двух различных типов клеток. Организмы, в основе которых лежит эукариотическая клетка, называются "эукариотами" и включают растения, животных, грибы и протисты. Единственными организмами, не основанными на эукариотической клетке, являются организмы, основанные на прокариотической клеточной структуре. Эти организмы относятся к областям архей и бактерий. Существует несколько различий между эукариотической и прокариотической клетками, которые помогут вам полностью понять, что делает клетку эукариотической.

## Эукариотическая клетка против прокариотической клетки

Разница между эукариотической и прокариотической клетками проста: эукариотические клетки имеют мембраносвязанные органеллы. В прокариотической клетке (например, бактерии) ДНК просто плавает по цитоплазме, хотя прокариотические клетки имеют один тип органелл (рибосомы), эти органеллы не покрыты плазматической мембраной.



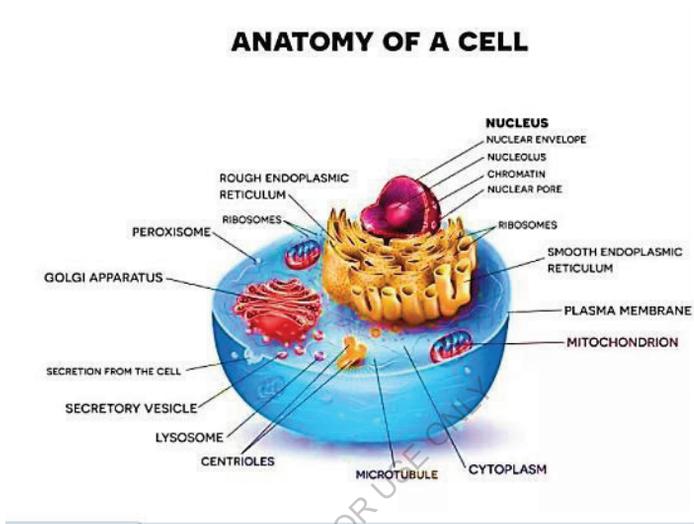
## **Рисунок (18): Эукариотическая клетка в сравнении с прокариотической клеткой**

В отличие от них, эукариотические клетки полны мембранных органелл, которые делят клетку на множество различных отсеков. В ядре хранится ДНК. Эндоплазматический ретикулум образует множество камер для осуществления специфических биохимических реакций. Аппарат Гольджи сворачивает и упаковывает различные белки и клеточные продукты. Лизосомы хранят пищеварительные ферменты для расщепления поступающей пищи. Кроме того, эукариотические клетки содержат митохондрии для создания молекул АТФ из глюкозы и хлоропласты для создания глюкозы из солнечного света (только в растениях и водорослях).

### **Характеристика эукариотической клетки**

Эукариотические клетки содержат множество органелл, которые выполняют различные функции внутри клетки (подробно описанные ниже). Все органеллы стабилизируются и получают физическую поддержку благодаря цитоскелету, который также участвует в передаче сигналов от одной части клетки к другой. В эукариотических клетках цитоскелет состоит в основном из трех типов филаментов: микротрубочек, микрофиламентов и промежуточных

филаментов. Водный раствор, который окружает все органеллы клетки, называется цитозолем.



**Рисунок (19): Характеристики эукариотической клетки**

Клеточный цикл - это жизненный цикл клетки. Во время этого цикла она растет и делится. Между всеми этапами существуют контрольные точки, чтобы белки могли определить, готова ли клетка начать следующую фазу цикла.

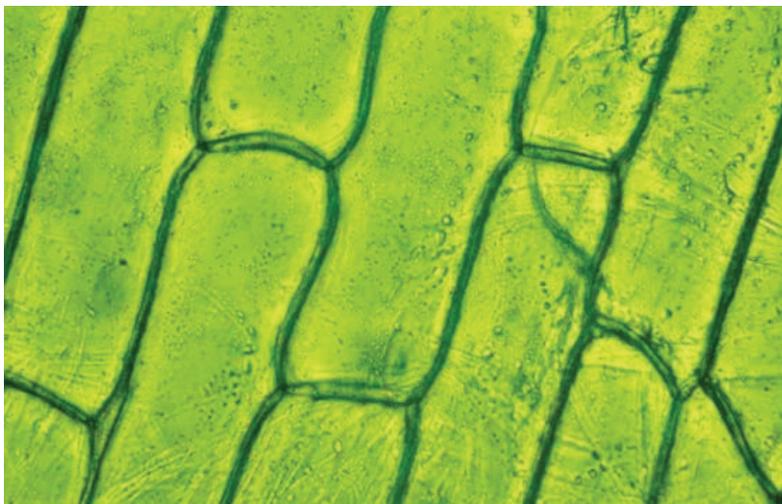
### **Митоз (M)**

Митоз, или фаза M, - это когда клетка начинает организовывать свою дублированную ДНК для разделения на две дочерние клетки. Хромосомы разделяются таким образом, что одна хромосома попадает в каждую дочернюю клетку. В

результате дочерние клетки имеют идентичные хромосомы, что и родительская клетка. Сам митоз делится на профазу, метафазу, анафазу и телофазу. Каждая фаза отмечает различные моменты в процессе разделения ДНК. За митозом следует процесс, называемый цитокинезом, во время которого клетка разделяет свои ядра и другие органеллы для подготовки к делению, а затем физически делится на две клетки.

### **Растительная клетка**

Растительные клетки уникальны среди эукариотических клеток по нескольким причинам. Они имеют укрепленные, относительно толстые клеточные стенки из целлюлозы, которые помогают поддерживать структуру растения. В центре каждой растительной клетки находится большая вакуоль, которая позволяет поддерживать тургорное давление. Тургорное давление возникает в результате того, что вода в центральной вакуоли выталкивает наружу клеточные стенки. Растительные клетки также содержат органеллы, называемые хлоропластами, в которых содержится молекула хлорофилла. Эта важная молекула используется в процессе фотосинтеза, в ходе которого растения получают сахар, используя энергию света.

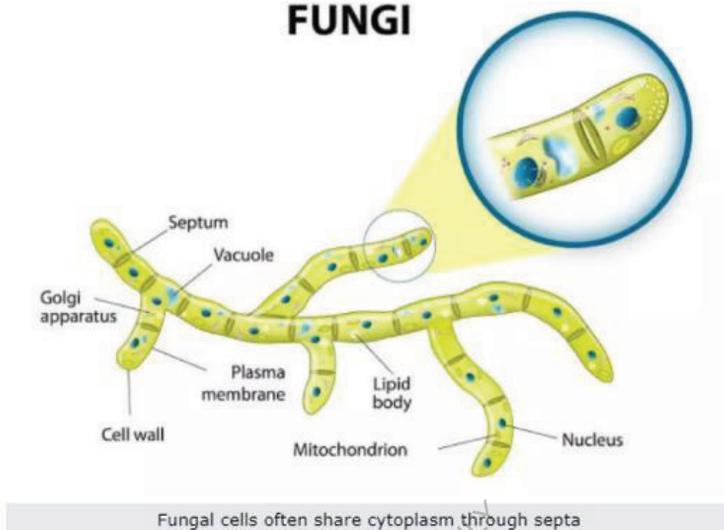


**Рисунок (20): Растительные клетки являются эукариотической клеткой.**

### **Клетки грибов**

Как и клетки растений, клетки грибов также имеют клеточную стенку, но их клеточная стенка состоит из хитина (того же вещества, которое содержится в экзоскелетах насекомых). Некоторые грибы имеют септы - отверстия, позволяющие органеллам и цитоплазме проходить между ними. Это делает границы между различными клетками менее четкими. Большинство грибов живет под землей или в разлагающихся органических веществах, где мицелиальная сеть может содержать миллионы взаимосвязанных клеток.

## FUNGI



**Рисунок (21): Грибковые клетки часто разделяют цитоплазму через септы.**

### **Животные клетки**

Клетки животных не имеют клеточных стенок. Вместо этого у них есть только плазматическая мембрана. Отсутствие клеточной стенки позволяет животным клеткам формировать множество различных форм. Это позволяет осуществлять процессы фагоцитоза ("поедание клеток") и пиноцитоза ("выпивание клеток"). Животные клетки отличаются от растительных тем, что в них нет хлоропластов и имеется

множество мелких вакуолей вместо одной большой центральной вакуоли.

## Protozoa

Протозоа - это эукариотические организмы, состоящие из одной клетки. Они могут передвигаться, питаться другими мелкими организмами и переваривать пищу в вакуолях. Некоторые простейшие имеют множество **ресничек** - маленьких подвижных волосков, которые позволяют им плавать. Другие используют крупные жгутики, похожие на большой хвост, для плавания в воде. Некоторые протисты также имеют тонкий слой, называемый пелликулой, который обеспечивает поддержку клеточной мембраны.



**Рисунок (22): Несколько типов простейших.**

## **В-Прокариотическая клетка**

Прокариотические клетки - это одноклеточные микроорганизмы, которые, как известно, являются самыми ранними на Земле. К прокариотам относятся бактерии и археи. К фотосинтезирующим прокариотам относятся цианобактерии, осуществляющие фотосинтез.

Прокариотическая клетка состоит из одной мембраны, поэтому все реакции происходят в цитоплазме. Они могут быть свободноживущими или паразитами.

### **Характеристика прокариотической клетки**

Прокариотические клетки имеют различные характерные особенности. Характеристики прокариотических клеток приведены ниже.

1. У них отсутствует ядерная мембрана.
2. Митохондрии, тельца Гольджи, хлоропласты и лизосомы отсутствуют.
3. Генетический материал находится на одной хромосоме.
4. В них отсутствуют белки гистоны, важные составляющие эукариотических хромосом.
5. Клеточная стенка состоит из углеводов и аминокислот.
6. Плазматическая мембрана действует как мембрана митохондрий, несущая дыхательные ферменты.

7. Они делятся бесполом путем с помощью бинарного деления. Половой способ размножения включает конъюгацию.

## **Строение прокариотической клетки**

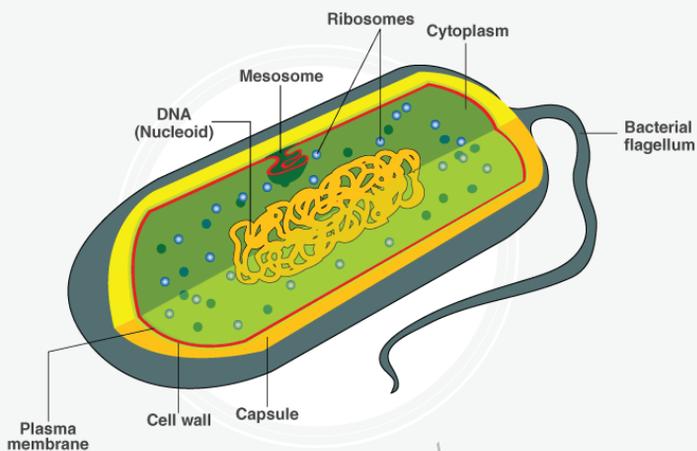
Прокариотическая клетка не имеет ядерной мембраны. Однако генетический материал находится в области цитоплазмы, известной как нуклеоид. Они могут быть сферическими, палочковидными или спиральными. Структура прокариотической клетки выглядит следующим образом:

1. **Капсула:** Это внешняя защитная оболочка, находящаяся в бактериальных клетках в дополнение к клеточной стенке. Она помогает удерживать влагу, защищает клетку при поглощении и помогает прикреплению клеток к питательным веществам и поверхностям.
2. **Клеточная стенка:** Это наружный слой клетки, который придает ей форму.
3. **Цитоплазма:** Цитоплазма в основном состоит из ферментов, солей, клеточных органелл и представляет собой гелеобразный компонент.
4. **Клеточная мембрана:** Этот слой окружает цитоплазму и регулирует вход и выход веществ в клетки.

5. **Пили:** Это волосовидные выросты, которые прикрепляются к поверхности других бактериальных клеток.
6. **Жгутики:** Это длинные структуры в форме хлыста, которые помогают в передвижении клетки.
7. **Рибосомы:** Они участвуют в синтезе белка.
8. **Плазмиды:** Плазмиды - это нехромосомные структуры ДНК. Они не участвуют в размножении.
9. **Область нуклеоида:** Это область в цитоплазме, где находится генетический материал.

В прокариотической клетке отсутствуют некоторые органеллы, такие как митохондрии, эндоплазматический ретикулум и тельца Гольджи.

## PROKARYOTIC CELLS



**Рисунок (23):** Диаграмма прокариотической клетки иллюстрирует отсутствие истинного ядра.

## 1-2 Компоненты прокариотических клеток

Прокариотические клетки состоят из четырех основных компонентов:

**Плазматическая мембрана** - это внешняя защитная оболочка из фосфолипидных молекул, которая отделяет клетку от окружающей среды.

**Цитоплазма** - это желеобразное вещество, находящееся внутри клетки. Все клеточные органеллы находятся в ней во взвешенном состоянии.

**ДНК** - это генетический материал клетки. Все прокариоты обладают циркулярной ДНК. Она определяет, какие белки создает клетка. Она также регулирует действия клетки.

**Рибосомы** - здесь происходит синтез белка.

Некоторые прокариотические клетки обладают ресничками и жгутиками, которые помогают в локомоции.

### Размножение у прокариот

Прокариот размножается двумя способами:

- Размножаются бесполом путем с помощью бинарного деления
- Сексуально по спариванию

## Бинарное деление

1. ДНК организма реплицируется, и новые копии прикрепляются к клеточной мембране.
2. Клеточная стенка увеличивается в размерах и начинает двигаться внутрь.
3. Затем между каждой ДНК образуется клеточная стенка, разделяющая клетку на две дочерние клетки.

## Рекомбинация

В этом процессе гены одной бактерии переносятся в геном другой бактерии. Это происходит тремя способами - конъюгацией, трансформацией, трансдукцией.

- **Конъюгация** - это процесс, в котором гены передаются между двумя бактериями через структуру белковых трубок, называемую пилусом.
- **Трансформация** - это способ полового размножения, при котором ДНК из окружающей среды берется бактериальной клеткой и включается в ее ДНК.
- **Трансдукция** - это процесс, при котором генетический материал переносится в бактериальную клетку с помощью вирусов. Бактериофаги - это вирусы, которые инициируют этот процесс.

## Примеры прокариотических клеток

Примеры прокариотических клеток приведены ниже:

### **Бактериальные клетки**

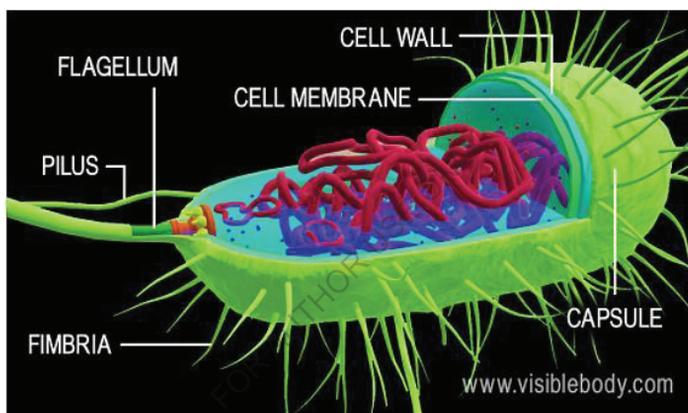
Это одноклеточные организмы, встречающиеся повсюду на земле - от почвы до человеческого тела. Они имеют различные формы и структуры. Клеточная стенка состоит из пептидогликана, который обеспечивает структуру клеточной стенки.

Бактерии имеют некоторые уникальные структуры, такие как хвостики, жгутики и капсулы. Они также обладают внехромосомной ДНК, известной как плазмиды. Они обладают способностью формировать жесткие, неактивные структуры, известные как эндоспоры, которые помогают им выживать в неблагоприятных условиях. Эндоспоры становятся активными, когда условия снова становятся благоприятными.

### **Архейские клетки**

Архебактерии - это одноклеточные организмы, похожие на бактерии по форме и размеру. Они встречаются в экстремальных средах, таких как горячие источники, и в других местах, таких как почва, болота и даже внутри человека. У них есть клеточная стенка и жгутики. Клеточная стенка архей не содержит пептидогликана. Мембраны архей содержат различные липиды с совершенно иной

стереохимией. Как и бактерии, археи имеют одну кольцевую хромосому. Они также обладают плазмидами. Для получения дополнительной информации о прокариотических клетках, их определении, структуре, характеристиках и примерах продолжайте посещать сайт BYJU's Biology или загрузите приложение BYJU's для дальнейшего использования.



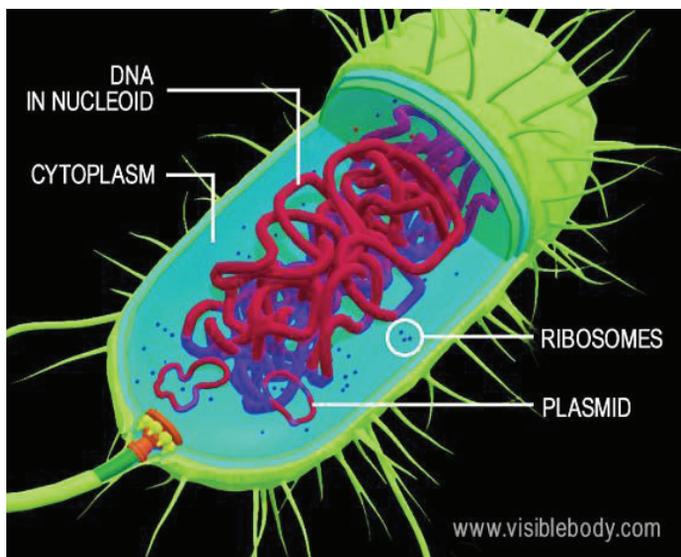


Рисунок (24): Бактериальные структуры.

## Стенка А-клетки

**Клеточная стенка** - это стенка клетки у растений, бактерий, грибов, водорослей и некоторых архей. Клетки животных не имеют клеточных стенок, как и простейшие. Клеточные стенки защищают клетки от повреждений. Они также служат для придания клетке прочности, сохранения ее формы и контроля за ростом клетки и растения.

Клеточная стенка - это прочный, обычно гибкий, но иногда довольно жесткий слой, который окружает некоторые типы клеток. Она находится за пределами клеточной мембраны и обеспечивает этим клеткам поддержку и защиту, а также действует как фильтр. Клеточная стенка также действует как сосуд давления, предотвращая чрезмерное расширение, когда вода попадает в клетку путем осмоса.

Материал клеточной стенки может быть разным. У растений и водорослей клеточная стенка состоит из длинных молекул целлюлозы, пектина и гемицеллюлозы. В клеточной стенке есть каналы, которые пропускают одни белки и не пропускают другие. Вода и мелкие молекулы могут проходить через клеточную стенку и клеточную мембрану.

Клеточная стенка обладает механической прочностью и поддерживает форму клетки. Эта механическая прочность является ее основной функцией:

Представьте себе клеточную стенку как плетеную корзину, в которую надули воздушный шарик, чтобы он оказывал давление изнутри. Такая корзина очень жесткая и устойчива к механическим повреждениям. Таким образом, клетки [организмов], имеющие клеточную стенку, приобретают прочность за счет гибкой плазматической мембраны, прижимающейся к жесткой клеточной стенке".

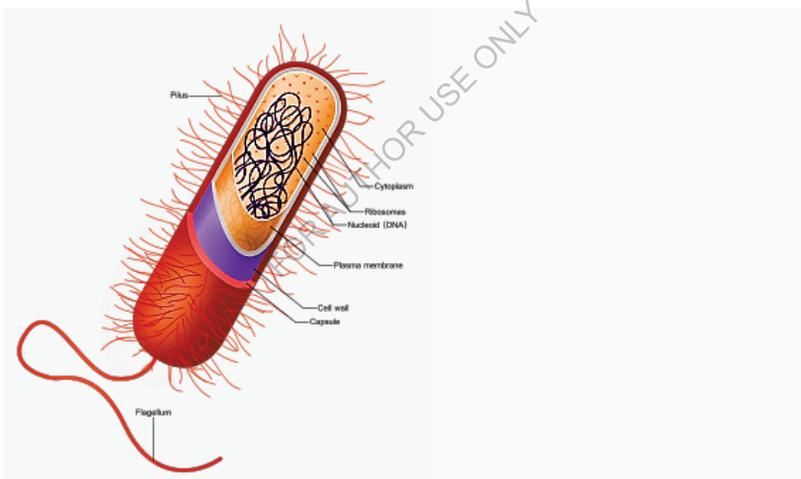
Хотя клеточная стенка растений прочная, она не является жесткой или твердой. Гибкость клеточных стенок проявляется при увядании растений, когда стебли и листья начинают поникать.

Некоторые растения добавляют жесткий материал к некоторым из своих клеточных стенок. *Вторичная* клеточная стенка - это дополнительный слой целлюлозы, который увеличивает жесткость стенки. Могут быть добавлены дополнительные слои, содержащие лигнин в клеточных стенках ксилемы или суберин в клеточных стенках пробки. Эти соединения являются жесткими и водонепроницаемыми. Они делают вторичную стенку жесткой. Клетки древесины и коры деревьев имеют вторичные стенки. Другие части растений, например, стебель листа, могут быть усилены, чтобы противостоять напряжению физических сил.

## Проницаемость

Маленькие молекулы, включая небольшие белки, легко проникают через первичную клеточную стенку растения. Вода и углекислый газ распределяются по всему растению. pH является важным фактором в переносе молекул через клеточные стенки.

## Клеточная стенка бактерий



**Рисунок (25):** Диаграмма типичной грамположительной бактерии.

Оболочка клетки имеет плазматическую мембрану зеленого цвета и толстую клеточную стенку, содержащую

пептидогликан (желтый слой). Внешняя липидная мембрана отсутствует, как у грамотрицательных бактерий. Красный слой, капсула, отличается от клеточной оболочки.

Вокруг внешней стороны клеточной мембраны находится клеточная стенка бактерий. Клеточные стенки бактерий состоят из пептидогликана, который состоит из полисахаридных цепочек, сшитых необычными пептидами, содержащими D-аминокислоты. Клеточные стенки бактерий отличаются от клеточных стенок растений и грибов, которые состоят из целлюлозы и хитина соответственно.

Клеточная стенка бактерий также отличается от клеточной стенки архей, которые не содержат пептидогликана. Клеточная стенка необходима для выживания многих бактерий. Антибиотик пенициллин способен убивать бактерии, предотвращая сшивание пептидогликана, что приводит к ослаблению и лизису клеточной стенки. Фермент лизоцим также может повреждать клеточные стенки бактерий.

### **Средняя ламелла**

Средняя ламель придает клетке форму, опору и прочность. Она состоит из кальция и магния. Несмотря на то, что она называется *средней* ламеллой, она является внешней частью

клетки. Средняя ланелла - это первая стенка клетки, обеспечивающая защиту.

### **Мембрана животной клетки**

Клетки животных не имеют клеточных стенок. У них есть микрофиламенты (тончайшие нити цитоскелета).

FOR AUTHOR USE ONLY

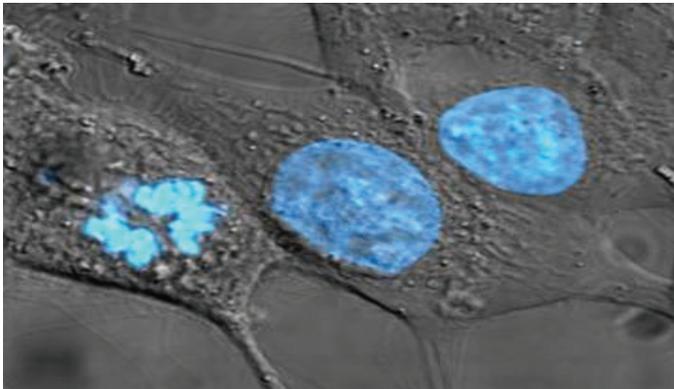
## **В-ядро**

В клеточной биологии **ядро** (pl. *nuclei*; от лат. *nucleus* или *nuculeus*, что означает *ядро* или *семя*) - это мембранно-связанная органелла, встречающаяся в эукариотических клетках. Эукариоты обычно имеют одно ядро, но некоторые типы клеток, например, эритроциты млекопитающих, не имеют ядер, а некоторые другие, включая остеокласты, имеют их много. Основными структурами, составляющими ядро, являются ядерная оболочка - двойная мембрана, которая окружает весь орган и изолирует его содержимое от клеточной цитоплазмы; и ядерный матрикс (который включает ядерную пластинку) - сеть внутри ядра, которая обеспечивает механическую поддержку, подобно тому, как цитоскелет поддерживает клетку в целом.

Ядро клетки содержит весь геном клетки, за исключением небольшого количества митохондриальной ДНК и, в растительных клетках, пластидной ДНК. Ядерная ДНК организована в виде множества длинных линейных молекул в комплексе с большим количеством разнообразных белков, таких как гистоны, образуя хромосомы. Гены в этих хромосомах структурированы таким образом, чтобы способствовать функционированию клетки. Ядро поддерживает целостность генов и контролирует деятельность клетки путем регуляции экспрессии генов,

поэтому ядро является центром управления клетки, поскольку ядерная оболочка непроницаема для крупных молекул, ядерные поры необходимы для регулирования ядерного транспорта молекул через оболочку. Поры пересекают обе ядерные мембраны, обеспечивая канал, через который крупные молекулы должны активно транспортироваться белками-переносчиками, при этом позволяя свободно перемещаться мелким молекулам и ионам. Движение крупных молекул, таких как белки и РНК, через поры необходимо как для экспрессии генов, так и для поддержания хромосом.

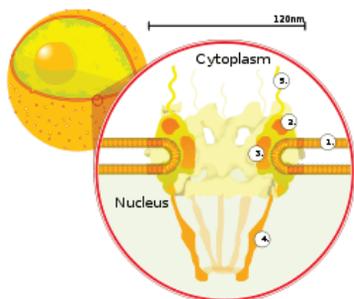
Хотя внутри ядра нет мембранно-связанных субкомпарментов, его содержимое неоднородно, и существует ряд ядерных тел, состоящих из уникальных белков, молекул РНК и отдельных частей хромосом. Наиболее известным из них является нуклеолус, который в основном участвует в сборке рибосом. После производства в нуклеолусе рибосомы экспортируются в цитоплазму, где они переводят мессенджерную РНК.



**Рисунок (26): Ядро.**

Ядро содержит почти всю ДНК клетки, окружено сетью волокнистых промежуточных филаментов и покрыто двойной мембраной, называемой "ядерной оболочкой". Ядерная оболочка отделяет жидкость внутри ядра, называемую нуклеоплазмой, от остальной части клетки. Размер ядра зависит от размера клетки, в которой оно находится, при этом ядро обычно занимает около 8% от общего объема клетки. Ядро - самая большая органелла в клетках животных. В клетках млекопитающих средний диаметр ядра составляет около 6 микрометров (мкм).

### **Ядерная оболочка и поры**



**Рисунок (27): Ядерная оболочка и поры.**

Поперечный разрез ядерной поры на поверхности ядерной оболочки (1). Другие обозначения на схеме показывают (2) внешнее кольцо, (3) спицы, (4) корзину и (5) нити.

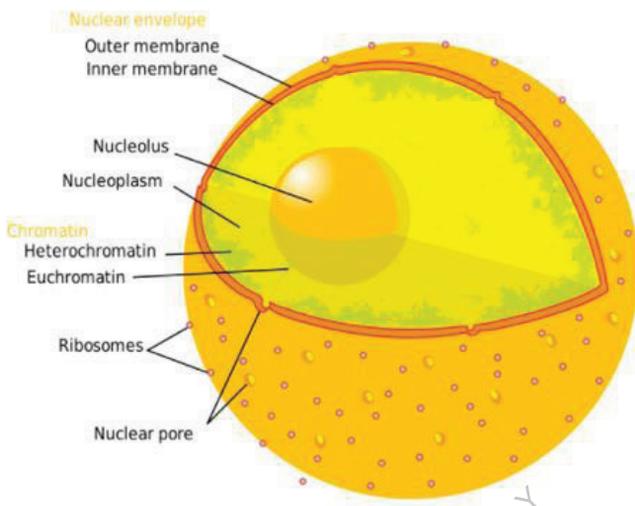
Ядерная оболочка состоит из двух мембран - внутренней и внешней ядерной мембраны. Вместе эти мембраны служат для отделения генетического материала клетки от остального содержимого клетки и позволяют ядру сохранять среду, отличную от остальной части клетки. Несмотря на тесное прилегание к ядру, эти две мембраны существенно различаются по форме и содержанию. Внутренняя мембрана окружает ядерное содержимое, обеспечивая его определяющую границу. Внутри внутренней мембраны различные белки связывают промежуточные филаменты, которые придают ядру его структуру. Наружная мембрана окружает внутреннюю мембрану и является непрерывной с прилегающей мембраной эндоплазматического ретикулума. Как часть мембраны эндоплазматического ретикулума,

внешняя ядерная мембрана усеяна рибосомами, которые активно переводят белки через мембрану. Пространство между двумя мембранами, называемое "перинуклеарным пространством", является непрерывным с просветом эндоплазматического ретикулума.

Ядерные поры, которые обеспечивают водные каналы через оболочку, состоят из множества белков, в совокупности называемых нуклеопоринами. Молекулярная масса пор составляет около 60-80 миллионов дальтон и состоит примерно из 50 (у дрожжей) и нескольких сотен белков (у позвоночных). Общий диаметр поры составляет 100 нм, однако щель, через которую свободно диффундируют молекулы, имеет ширину всего около 9 нм, что обусловлено наличием регуляторных систем в центре поры. Этот размер избирательно обеспечивает прохождение небольших водорастворимых молекул, не позволяя более крупным молекулам, таким как нуклеиновые кислоты и крупные белки, ненадлежащим образом входить или выходить из ядра. Эти крупные молекулы должны активно транспортироваться в ядро. Ядро типичной клетки млекопитающих имеет от 3000 до 4000 пор по всей своей оболочке, каждая из которых содержит восьмикратную симметричную кольцеобразную структуру в месте слияния внутренней и внешней мембран. К кольцу прикреплена структура, называемая **ядерной корзиной**,

которая простирается в нуклеоплазму, и ряд нитевидных отростков, которые тянутся в цитоплазму. Обе структуры служат для связывания с белками ядерного транспорта.

Большинство белков, рибосомальных субъединиц и некоторые РНК транспортируются через поровые комплексы в процессе, опосредованном семейством транспортных факторов, известных как кариоферины. Те кариоферины, которые опосредуют перемещение в ядро, также называются импортинами, а те, которые опосредуют перемещение из ядра, называются экспортинами. Большинство кариоферинов взаимодействуют непосредственно со своим грузом, хотя некоторые используют адаптерные белки. Стероидные гормоны, такие как кортизол и альдостерон, а также другие небольшие липидорастворимые молекулы, участвующие в межклеточной сигнализации, могут диффундировать через клеточную мембрану в цитоплазму, где они связываются с белками ядерных рецепторов, которые перемещаются в ядро. Там они служат в качестве факторов транскрипции, когда связаны со своим лигандом; в отсутствие лиганда многие такие рецепторы функционируют как деацетилазы гистонов, которые подавляют экспрессию генов.



**Рисунок (28): Ядерная оболочка и поры.**

### **Ядерная пластинка**

В животных клетках две сети промежуточных филаментов обеспечивают ядру механическую поддержку: Ядерная пластинка образует организованную сеть на внутренней поверхности оболочки, в то время как менее организованная поддержка обеспечивается на цитозольной поверхности оболочки. Обе системы обеспечивают структурную поддержку ядерной оболочки и места крепления хромосом и ядерных пор.

Ядерная ламина состоит в основном из белков ламинов. Как и все белки, ламины синтезируются в цитоплазме и затем

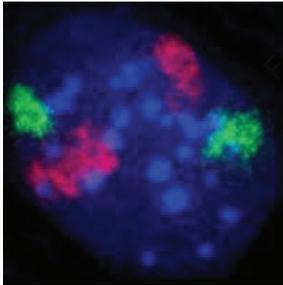
транспортируются во внутреннюю часть ядра, где происходит их сборка перед включением в существующую сеть ядерной ламины. Ламины, расположенные на цитозольной поверхности мембраны, такие как эмерин и несприн, связываются с цитоскелетом для обеспечения структурной поддержки. Ламины также находятся внутри нуклеоплазмы, где они образуют другую регулярную структуру, известную как *нуклеоплазматическая вуаль*, которую можно увидеть с помощью флуоресцентной микроскопии. Фактическая функция вуали неясна, хотя она исключена из нуклеолы и присутствует во время интерфазы. Ламиновые структуры, входящие в состав вуали, такие как LEM3, связывают хроматин, и нарушение их структуры подавляет транскрипцию генов, кодирующих белки.

Как и компоненты других промежуточных филаментов, мономер ламина содержит альфа-спиральный домен, с помощью которого два мономера наматываются друг вокруг друга, образуя димерную структуру, называемую катушкой. Затем две из этих димерных структур соединяются бок о бок в антипараллельном расположении, образуя тетрамер, называемый *протофиламентом*. Восемь таких протофиламентов образуют боковое расположение, которое скручивается, образуя веревкоподобную *нить*. Эти нити могут собираться или разбираться динамически, то есть

изменение длины нити зависит от конкурирующих скоростей добавления и удаления нитей.

Мутации в генах ламинов, приводящие к дефектам сборки филаментов, вызывают группу редких генетических заболеваний, известных как *ламинопатии*. Наиболее известной ламинопатией является семейство заболеваний, известных как прогерия, которая вызывает преждевременное старение у людей, страдающих этим заболеванием. Точный механизм, посредством которого связанные с этим биохимические изменения приводят к старческому фенотипу, не очень хорошо изучен.

## Хромосомы



**Рисунок (28): Ядро фибробласта мыши, в котором ДНК окрашена в синий цвет. Отдельные хромосомные территории хромосомы 2 (красный) и хромосомы 9 (зеленый) окрашены флуоресцентной гибридизацией *in situ*.**

Ядро клетки содержит большую часть генетического материала клетки в виде нескольких линейных молекул ДНК, организованных в структуры, называемые хромосомами. Каждая человеческая клетка содержит примерно два метра ДНК. На протяжении большей части клеточного цикла они организованы в ДНК-белковый комплекс, известный как хроматин, а во время деления клетки хроматин можно увидеть в виде четко очерченных хромосом, знакомых по кариотипу. Небольшая часть генов клетки находится в митохондриях.

Существует два типа хроматина. Эухроматин - это менее компактная форма ДНК, содержащая гены, которые часто экспрессируются клеткой. Другой тип, гетерохроматин, является более компактной формой и содержит ДНК, которая редко транскрибируется. Эта структура далее подразделяется на *факультативный* гетерохроматин, состоящий из генов, которые организованы как гетерохроматин только в определенных типах клеток или на определенных стадиях развития, и *конститутивный* гетерохроматин, состоящий из структурных компонентов хромосом, таких как теломеры и центромеры. Во время интерфазы хроматин организуется в отдельные дискретные участки, называемые *хромосомными территориями*. Активные гены, которые обычно находятся в эухроматической области хромосомы, имеют тенденцию располагаться к границе территории хромосомы.

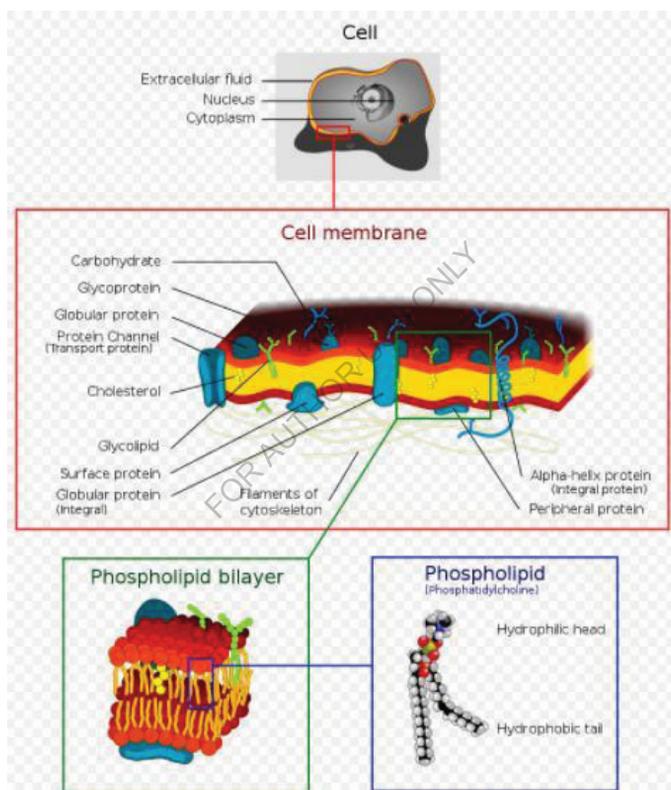
Антитела к определенным типам организации хроматина, в частности, к нуклеосомам, были связаны с рядом аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка. Они известны как антиядерные антитела (ANA) и также наблюдаются при рассеянном склерозе как часть общей дисфункции иммунной системы.

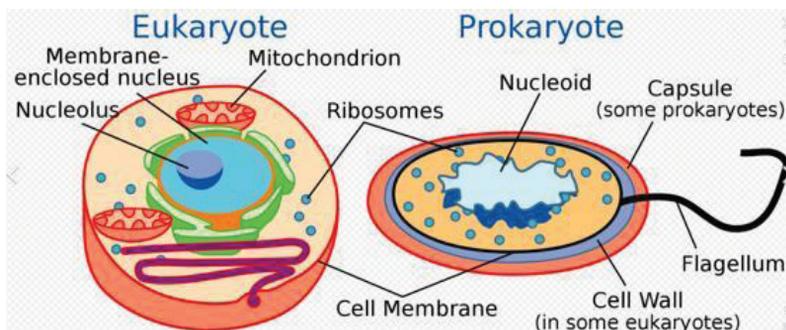
FOR AUTHOR USE ONLY

## Мембрана С-клетки

Клеточная мембрана, также известная как плазматическая мембрана (ПМ) или цитоплазматическая мембрана и исторически называемая плазмалеммой, - это биологическая мембрана, отделяющая внутреннюю часть всех клеток от внешней среды (внеклеточного пространства), которая защищает клетку от окружающей среды. Клеточная мембрана состоит из липидного бислоя, включающего холестерин (липидный компонент), которые находятся между фосфолипидами для поддержания их текучести при различных температурах. Мембрана также содержит мембранные белки, включая интегральные белки, которые проходят через мембрану и служат мембранными транспортерами, и периферические белки, которые свободно прикрепляются к внешней (периферической) стороне клеточной мембраны, действуя как ферменты, формирующие клетку. Клеточная мембрана контролирует движение веществ внутрь и наружу клеток и органелл. Таким образом, она избирательно проницаема для ионов и органических молекул.<sup>[4]</sup> Кроме того, клеточные мембраны участвуют в различных клеточных процессах, таких как клеточная адгезия, ионная проводимость и клеточная сигнализация, и служат поверхностью прикрепления для нескольких внеклеточных структур, включая клеточную стенку, углеводный слой,

называемый гликокаликс, и внутриклеточную сеть белковых волокон, называемую цитоскелетом. В области синтетической биологии клеточные мембраны могут быть искусственно собраны заново.





**Рисунок (29): Эукариотическая клетка и прокариотическая клетка.**

### Состав

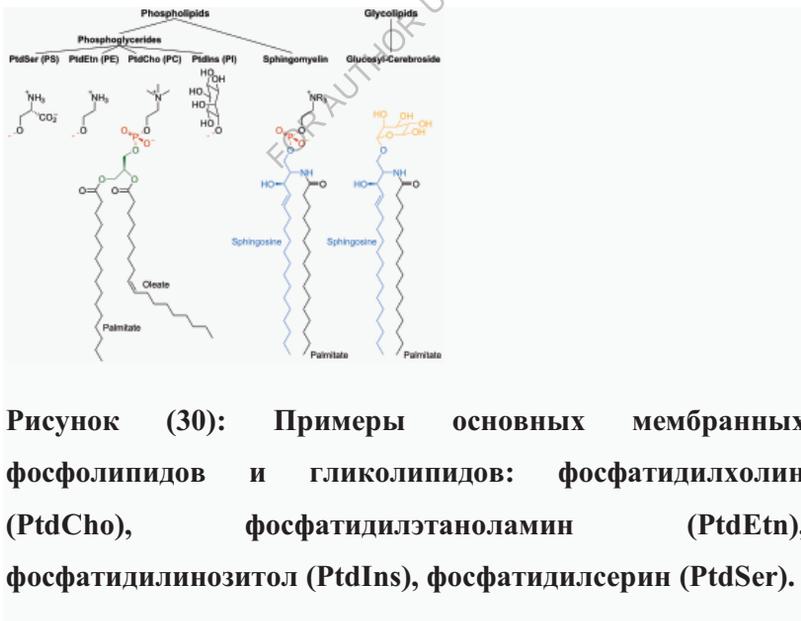
Клеточные мембраны содержат различные биологические молекулы, в частности, липиды и белки. Состав не задан, а постоянно меняется в зависимости от текучести и изменений в окружающей среде, даже колеблется на разных стадиях развития клетки. В частности, количество холестерина в клеточной мембране первичных нейронов человека меняется, и это изменение состава влияет на текучесть на всех стадиях развития.

Материал включается в мембрану или удаляется из нее с помощью различных механизмов:

- При слиянии внутриклеточных везикул с мембраной (экзоцитоз) не только выделяется содержимое везикулы, но

- и компоненты мембраны везикулы включаются в клеточную мембрану. Мембрана может образовывать пузырьки вокруг внеклеточного материала, которые отщепляются и превращаются в везикулы (эндоцитоз).
- Если мембрана непрерывна с трубчатой структурой из мембранного материала, то материал из трубки может непрерывно всасываться в мембрану.
  - Хотя концентрация компонентов мембраны в водной фазе низкая (стабильные компоненты мембраны обладают низкой растворимостью в воде), происходит обмен молекулами между липидной и водной фазами.

## Липиды



**Рисунок (30):** Примеры основных мембранных фосфолипидов и гликолипидов: фосфатидилхолин (PtdCho), фосфатидилэтаноламин (PtdEtn), фосфатидилинозитол (PtdIns), фосфатидилсерин (PtdSer).

Клеточная мембрана состоит из трех классов амфипатических липидов: фосфолипидов, гликолипидов и стеролов. Количество каждого из них зависит от типа клетки, но в большинстве случаев фосфолипиды являются самыми многочисленными, часто составляя более 50% всех липидов в плазматических мембранах. На гликолипиды приходится лишь незначительное количество - около 2%, а остальное составляют стеролы. При исследовании РБК 30% плазматической мембраны составляют липиды. Однако для большинства эукариотических клеток состав плазматических мембран составляет примерно половину липидов и половину белков по весу.

Жирные цепи в фосфолипидах и гликолипидах обычно содержат четное число атомов углерода, как правило, от 16 до 20. Наиболее распространенными являются 16- и 18-углеродные жирные кислоты. Жирные кислоты могут быть насыщенными или ненасыщенными, при этом конфигурация двойных связей почти всегда "цис". Длина и степень ненасыщенности цепей жирных кислот оказывают глубокое влияние на текучесть мембраны, поскольку ненасыщенные липиды создают изгиб, не позволяя жирным кислотам плотно прилегать друг к другу, что снижает температуру плавления (увеличивает текучесть) мембраны. Способность некоторых организмов регулировать текучесть своих клеточных мембран

путем изменения состава липидов называется гомеовискозной адаптацией.

Вся мембрана удерживается вместе посредством нековалентного взаимодействия гидрофобных хвостов, однако структура довольно подвижна и не закреплена жестко на месте. В физиологических условиях молекулы фосфолипидов в клеточной мембране находятся в жидкокристаллическом состоянии. Это означает, что молекулы липидов свободно диффундируют и демонстрируют быструю латеральную диффузию вдоль слоя, в котором они находятся. Однако обмен молекулами фосфолипидов между внутриклеточными и внеклеточными листками бислоя - очень медленный процесс. Липидные рафты и кавеолы являются примерами обогащенных холестерином микродоменов в клеточной мембране. Кроме того, часть липида, находящаяся в непосредственном контакте с интегральными мембранными белками и плотно связанная с поверхностью белка, называется кольцевой липидной оболочкой; она ведет себя как часть белкового комплекса.

В животных клетках холестерин обычно находится в разной степени рассеянным по клеточной мембране, в нерегулярных пространствах между гидрофобными хвостами мембранных липидов, где он придает мембране жесткость и укрепляет ее. Кроме того, количество холестерина в биологических

мембранах варьируется между организмами, типами клеток и даже в отдельных клетках. Холестерин, основной компонент плазматических мембран животных, регулирует текучесть мембраны в целом, то есть холестерин контролирует количество движения различных компонентов клеточной мембраны в зависимости от своей концентрации. При высоких температурах холестерин подавляет движение цепей жирных кислот фосфолипидов, вызывая снижение проницаемости для мелких молекул и уменьшение текучести мембраны. При более низких температурах роль холестерина противоположна. Производство холестерина, а значит, и его концентрация, повышается в ответ на холодную температуру. При низких температурах холестерин препятствует взаимодействию жирных кислот в цепи. Действуя как антифриз, холестерин поддерживает текучесть мембраны. Холестерина больше у животных, живущих в холодную погоду, чем у животных, живущих в теплую погоду. В растениях, где холестерин отсутствует, родственные соединения, называемые стеролами, выполняют ту же функцию, что и холестерин.

### **Фосфолипиды, образующие липидные везикулы**

Липидные везикулы или липосомы представляют собой примерно сферические карманы, которые заключены в

липидный бислой. Эти структуры используются в лабораториях для изучения воздействия химических веществ на клетки путем доставки этих веществ непосредственно в клетку, а также для получения более глубокого представления о проницаемости клеточных мембран. Липидные везикулы и липосомы образуются путем сначала суспендирования липида в водном растворе, затем перемешивания смеси с помощью соникации, в результате чего образуется везикула. Измерение скорости вытекания из внутренней части везикулы в окружающий раствор позволяет исследователю лучше понять проницаемость мембраны. Везикулы могут быть сформированы с молекулами и ионами внутри везикулы путем формирования везикулы с нужной молекулой или ионом, присутствующим в растворе. Белки также могут быть встроены в мембрану путем солюбилизации нужных белков в присутствии детергентов и присоединения их к фосфолипидам, из которых формируется липосома. Это дает исследователям инструмент для изучения различных функций мембранных белков.

## **Углеводы**

Плазматические мембраны также содержат углеводы, преимущественно гликопротеины, но с некоторыми гликолипидами (цереброзиды и ганглиозиды). Углеводы

играют важную роль в распознавании клетки-клетки у эукариот; они располагаются на поверхности клетки, где распознают клетки-хозяева и обмениваются информацией; вирусы, которые связываются с клетками с помощью этих рецепторов, вызывают инфекцию. В основном гликозилирование не происходит на мембранах внутри клетки; как правило, гликозилирование происходит на внеклеточной поверхности плазматической мембраны. Гликокаликс является важной особенностью всех клеток, особенно эпителия с микроворсинками. Согласно последним данным, гликокаликс участвует в клеточной адгезии, хоминге лимфоцитов и многих других процессах. Предпоследним сахаром является галактоза, а конечным - сиаловая кислота, поскольку сахарная основа модифицируется в аппарате Гольджи. Сиаловая кислота несет отрицательный заряд, обеспечивая внешний барьер для заряженных частиц.

## **Протеины**

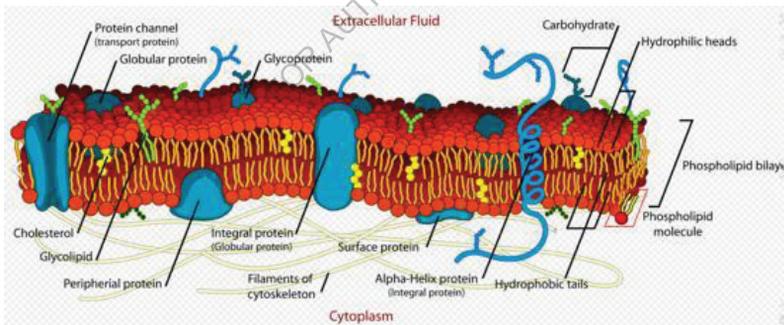
Клеточная мембрана содержит большое количество белков, обычно около 50% объема мембраны. Эти белки важны для клетки, поскольку они отвечают за различные биологические действия. Примерно треть генов в дрожжах кодирует именно их, и это число еще выше в многоклеточных организмах.<sup>[24]</sup> Мембранные белки состоят из трех основных типов: интегральные белки, периферические белки и липидные

белки. Интегральные белки - это амфипатические трансмембранные белки. Примерами интегральных белков являются ионные каналы, протонные насосы и рецепторы, связанные с g-белками. Ионные каналы позволяют неорганическим ионам, таким как натрий, калий, кальций или хлор, диффундировать вниз по электрохимическому градиенту через липидный бислой через гидрофильные поры в мембране. Электрическое поведение клеток, например, нервных клеток, контролируется ионными каналами.<sup>[4]</sup> Протонные насосы - это белковые насосы, встроенные в липидный бислой, которые позволяют протонам перемещаться через мембрану путем переноса с одной боковой цепи аминокислоты на другую. Такие процессы, как перенос электронов и выработка АТФ, используют протонные насосы. Рецептор, связанный с G-белком, представляет собой одну полипептидную цепь, которая семь раз пересекает липидный бислой, реагируя на сигнальные молекулы, например, гормоны и нейротрансмиттеры. G-белок-связанные рецепторы используются в таких процессах, как передача сигнала от клетки к клетке, регуляция выработки цАМФ и регуляция ионных каналов.

Клеточная мембрана, подвергаясь воздействию внешней среды, является важным местом коммуникации между клетками. Поэтому на поверхности мембраны присутствует

большое количество разнообразных белковых рецепторов и идентификационных белков, таких как антигены. Функции мембранных белков могут также включать контакт между клеткой и клеткой, распознавание поверхности, контакт с цитоскелетом, сигнализацию, ферментативную активность или перенос веществ через мембрану.

Большинство мембранных белков должны каким-то образом встраиваться в мембрану. Для этого N-концевая "сигнальная последовательность" аминокислот направляет белки в эндоплазматический ретикулум, который вставляет белки в липидный бислой. После вставки белки транспортируются к месту назначения в везикулах, где везикула сливается с мембраной-мишенью.



**Рисунок (30): Плазменная мембрана.**

Клеточная мембрана окружает цитоплазму живых клеток, физически отделяя внутриклеточные компоненты от внеклеточной среды. Клеточная мембрана также играет роль в

закреплении цитоскелета, придавая клетке форму, и в прикреплении к внеклеточному матриксу и другим клеткам, удерживая их вместе для формирования тканей. Грибы, бактерии, большинство архей и растения также имеют клеточную стенку, которая обеспечивает механическую поддержку клетки и препятствует прохождению более крупных молекул.

Клеточная мембрана обладает избирательной проницаемостью и способна регулировать то, что входит и выходит из клетки, облегчая тем самым перенос материалов, необходимых для выживания. Перемещение веществ через мембрану может быть либо "пассивным", происходящим без затрат клеточной энергии, либо "активным", требующим от клетки затрат энергии на их перемещение. Мембрана также поддерживает клеточный потенциал. Таким образом, клеточная мембрана работает как селективный фильтр, который позволяет только определенным элементам входить или выходить за пределы клетки. Клетка использует ряд транспортных механизмов, в которых задействованы биологические мембраны:

1. Пассивный осмос и диффузия: Некоторые вещества (небольшие молекулы, ионы), такие как углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ) и кислород ( $\text{O}_2$ ), могут перемещаться через плазматическую мембрану путем диффузии, которая является пассивным

транспортным процессом. Поскольку мембрана действует как барьер для определенных молекул и ионов, они могут находиться в разных концентрациях по обе стороны мембраны. Диффузия происходит, когда небольшие молекулы и ионы свободно перемещаются от высокой концентрации к низкой, чтобы уравновесить мембрану. Она считается пассивным транспортным процессом, поскольку не требует энергии и приводится в движение градиентом концентрации, создаваемым с каждой стороны мембраны. Такой градиент концентрации через полупроницаемую мембрану создает осмотический поток для воды. Осмос в биологических системах подразумевает движение растворителя через полупроницаемую мембрану аналогично пассивной диффузии, поскольку растворитель по-прежнему движется с градиентом концентрации и не требует энергии. Хотя вода является наиболее распространенным растворителем в клетке, это могут быть и другие жидкости, а также сверхкритические жидкости и газы.

2. Каналы и транспортеры трансмембранных белков: Трансмембранные белки простираются через липидный бислой мембран; они функционируют по обе стороны мембраны для переноса молекул через нее. Питательные вещества, такие как сахара или аминокислоты, должны поступать в клетку, а определенные продукты метаболизма -

покидать ее. Такие молекулы могут пассивно диффундировать через белковые каналы, такие как аквапорины, при облегченной диффузии или перекачиваться через мембрану трансмембранными транспортерами. Белки белковых каналов, также называемые *пермеазами*, обычно довольно специфичны, они распознают и переносят только ограниченное разнообразие химических веществ, часто ограничиваясь одним веществом. Другим примером трансмембранного белка является рецептор клеточной поверхности, который позволяет сигнальным молекулам клетки общаться между клетками.

3. Эндоцитоз: Эндоцитоз - это процесс, в котором клетки поглощают молекулы путем их захвата. Плазматическая мембрана создает небольшую деформацию внутрь, называемую инвагинацией, в которую захватывается транспортируемое вещество. Эта инвагинация вызывается белками, находящимися снаружи на клеточной мембране, которые действуют как рецепторы и группируются в углубления, что в конечном итоге способствует накоплению большего количества белков и липидов на цитозольной стороне мембраны. Затем деформация отщепляется от мембраны на внутренней стороне клетки, образуя везикулу, содержащую захваченное вещество. Эндоцитоз - это путь для интернализации твердых частиц "поедание клетки" или

фагоцитоз, малых молекул и ионов "питье клетки" или пиноцитоз и макромолекул. Эндоцитоз требует энергии и, таким образом, является формой активного транспорта.

4. Экзоцитоз: Подобно тому, как материал может быть внесен в клетку путем инвагинации и образования везикулы, мембрана везикулы может быть слита с плазматической мембраной, выдавливая ее содержимое в окружающую среду. Это и есть процесс экзоцитоза. Экзоцитоз происходит в различных клетках для удаления непереваренных остатков веществ, поступивших в результате эндоцитоза, для выделения таких веществ, как гормоны и ферменты, а также для полного переноса вещества через клеточный барьер. В процессе экзоцитоза содержащая непереваренные отходы пищевая вакуоль или секреторная везикула, отпочковавшаяся от аппарата Гольджи, сначала перемещается по цитоскелету из внутренней части клетки на поверхность. Мембрана везикулы вступает в контакт с плазматической мембраной. Липидные молекулы двух бислоев перестраиваются, и две мембраны, таким образом, сливаются. В слившейся мембране образуется проход, и везикула выбрасывает свое содержимое наружу клетки.

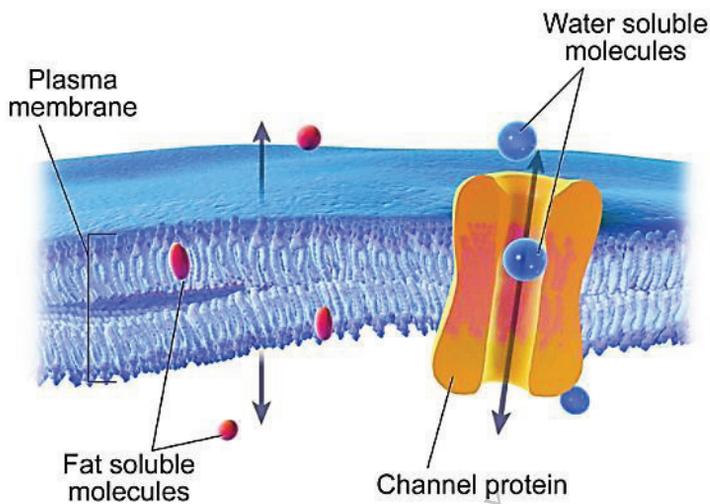
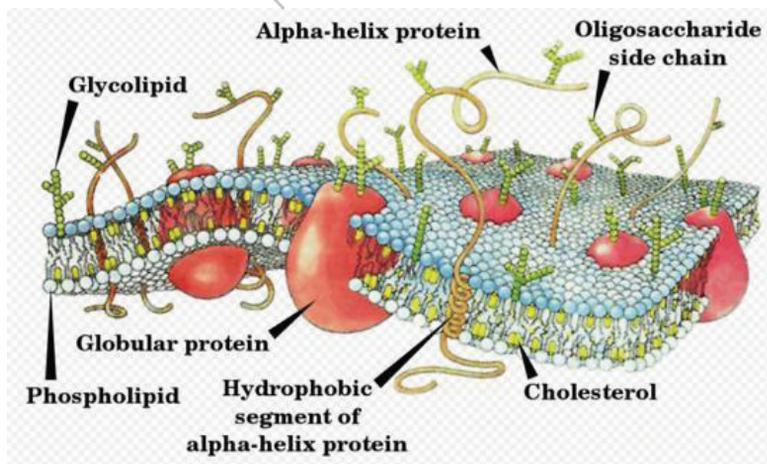


Рисунок (31): Диффузия через плазматическую мембрану.



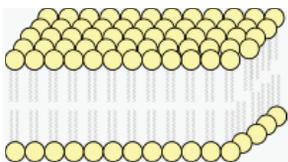
**Рисунок (32): Гликолипид, белок альфа-спирали, холестерин, гидрофобный сегмент белка альфа-спирали и олигосахаридная боковая цепь плазматической мембраны.**

## **Структуры**

### **Жидкостная мозаичная модель**

Согласно модели жидкой мозаики С. Дж. Сингера и Г. Л. Николсона (1972), которая заменила более раннюю модель Дэвсона и Даниэлли, биологические мембраны можно рассматривать как двумерную жидкость, в которой липидные и белковые молекулы диффундируют более или менее легко. Хотя липидные бислои, составляющие основу мембран, действительно сами по себе образуют двумерную жидкость, плазматическая мембрана также содержит большое количество белков, которые обеспечивают большую структуру. Примерами таких структур являются белково-белковые комплексы, пикеты и ограждения, образованные цитоскелетом на основе актина, и, возможно, липидные рафты.

## Липидный бислой



**Рисунок (33):** Диаграмма расположения амфипатических молекул липидов для формирования липидного бислоя. Желтые полярные головные группы отделяют серые гидрофобные хвосты от водной цитозольной и внеклеточной среды.

Липидные бислои образуются в процессе самосборки. Клеточная мембрана состоит в основном из тонкого слоя амфипатических фосфолипидов, которые спонтанно располагаются таким образом, что гидрофобные "хвостовые" области изолированы от окружающей воды, а гидрофильные "головные" области взаимодействуют с внутриклеточной (цитозольной) и внеклеточной сторонами образующегося бислоя. Таким образом, образуется непрерывный сферический липидный бислой. Гидрофобные взаимодействия (также известные как гидрофобный эффект) являются основными движущими силами в формировании липидных бислоев. Увеличение взаимодействий между гидрофобными молекулами (вызывающее кластеризацию гидрофобных областей) позволяет молекулам воды более свободно

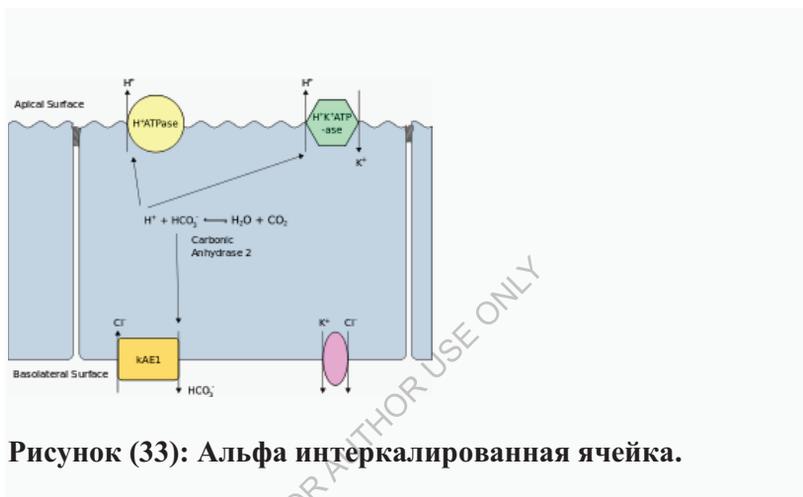
связываться друг с другом, увеличивая энтропию системы. Это сложное взаимодействие может включать нековалентные взаимодействия, такие как ван-дер-ваальсовы, электростатические и водородные связи.

Липидные бислои обычно непроницаемы для ионов и полярных молекул. Расположение гидрофильных головок и гидрофобных хвостов липидного бислоя препятствует диффузии полярных растворителей, таких как аминокислоты, нуклеиновые кислоты, углеводы, белки и ионы, через мембрану, но в целом позволяет пассивную диффузию гидрофобных молекул. Это дает клетке возможность контролировать движение этих веществ с помощью трансмембранных белковых комплексов, таких как поры, каналы и ворота. Флиппазы и скремблазы концентрируют фосфатидилсерин, несущий отрицательный заряд, на внутренней мембране. Вместе с NANA это создает дополнительный барьер для перемещения заряженных веществ через мембрану.

Мембраны выполняют различные функции в эукариотических и прокариотических клетках. Одна из важных функций заключается в регулировании перемещения материалов в клетки и из клеток. Бислойная структура фосфолипидов (жидкостная мозаичная модель) со специфическими мембранными белками объясняет

избирательную проницаемость мембраны и механизмы пассивного и активного транспорта. Кроме того, мембраны у прокариот и в митохондриях и хлоропластах эукариот способствуют синтезу АТФ посредством хемиосмоса.

### Полярность мембраны



**Рисунок (33): Альфа интеркалированная ячейка.**

Апикальная мембрана поляризованной клетки - это поверхность плазматической мембраны, обращенная внутрь к просвету. Это особенно заметно в эпителиальных и эндотелиальных клетках, но также характерно и для других поляризованных клеток, например, нейронов. Базолатеральная мембрана поляризованной клетки - это поверхность плазматической мембраны, которая образует ее базальную и латеральную поверхности. Она обращена наружу, к интерстицию, и в сторону от просвета. Базолатеральная мембрана - это составная фраза,

обозначающая термины "базальная (основная) мембрана" и "латеральная (боковая) мембрана", которые, особенно в эпителиальных клетках, идентичны по составу и активности. Белки (такие как ионные каналы и насосы) свободно перемещаются с базальной на латеральную поверхность клетки или наоборот в соответствии с жидкостной мозаичной моделью. Плотные соединения соединяют эпителиальные клетки вблизи их апикальной поверхности, чтобы предотвратить миграцию белков с базолатеральной мембраны на апикальную. Таким образом, базальная и латеральная поверхности остаются примерно эквивалентными друг другу, но при этом отличаются от апикальной поверхности.

### Мембранные структуры

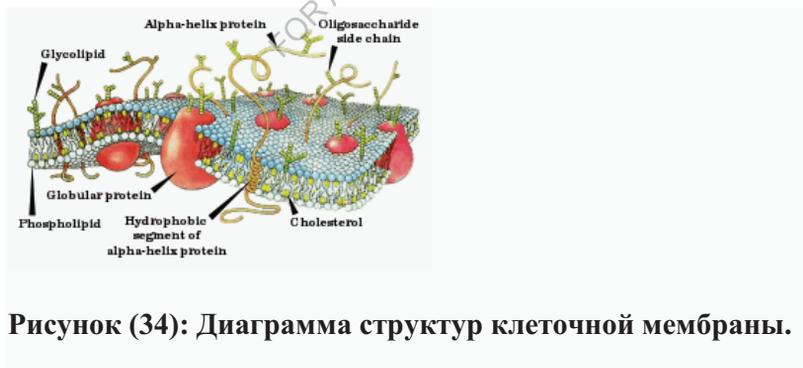


Рисунок (34): Диаграмма структур клеточной мембраны.

Клеточная мембрана может образовывать различные типы "надмембранных" структур, таких как кавеола,

постсинаптическая плотность, подосома, инвадоподия, фокальная адгезия и различные типы клеточных стыков. Эти структуры обычно отвечают за клеточную адгезию, коммуникацию, эндоцитоз и экзоцитоз. Их можно визуализировать с помощью электронной микроскопии или флуоресцентной микроскопии. Они состоят из специфических белков, таких как интегрины и кадхерины.

## **Цитоскелет**

Цитоскелет находится под клеточной мембраной в цитоплазме и служит основой для крепления мембранных белков, а также формирует органеллы, которые выходят из клетки. Действительно, цитоскелетные элементы интенсивно и тесно взаимодействуют с клеточной мембраной. Крепление белков ограничивает их конкретной клеточной поверхностью - например, апикальной поверхностью эпителиальных клеток, выстилающих кишечник позвоночных, - и ограничивает их распространение в бислое. Цитоскелет способен формировать придатки, подобные органеллам, такие как реснички, представляющие собой микротрубочки, покрытые клеточной мембраной, и филоподии, представляющие собой актиновые отростки. Эти отростки покрыты мембраной и выступают с поверхности клетки, чтобы воспринимать внешнюю среду и/или контактировать с субстратом или другими клетками.

Апикальные поверхности эпителиальных клеток густо покрыты пальцеобразными выступами на основе актина, известными как микроворсинки, которые увеличивают площадь поверхности клетки и тем самым повышают скорость поглощения питательных веществ. Локализованное отсоединение цитоскелета и клеточной мембраны приводит к образованию блеба.

### **Внутриклеточные мембраны**

Содержимое клетки, находящееся внутри клеточной мембраны, состоит из многочисленных мембраносвязанных органелл, которые вносят свой вклад в общую функцию клетки. Происхождение, структура и функции каждой органеллы приводят к большому разнообразию в составе клетки из-за индивидуальной неповторимости, связанной с каждой органеллой.

- Считается, что митохондрии и хлоропласты произошли от бактерий, что известно как эндосимбиотическая теория. Эта теория возникла из идеи, что *Paracoccus* и *Rhodospseudomonas*, виды бактерий, имеют сходные функции с митохондриями, а сине-зеленые водоросли, или цианобактерии, имеют сходные функции с хлоропластами. Эндосимбиотическая теория предполагает, что в ходе

эволюции эукариотическая клетка поглотила эти два вида бактерий, что привело к образованию митохондрий и хлоропластов внутри эукариотических клеток. Это поглощение привело к образованию двух мембранных систем этих органелл, в которых внешняя мембрана происходит от плазматической мембраны хозяина, а внутренняя - от плазматической мембраны эндосимбионта. Тот факт, что митохондрии и хлоропласты содержат собственную ДНК, является дополнительным подтверждением того, что обе эти органеллы произошли от поглощенных бактерий, которые процветали внутри эукариотической клетки.

- В эукариотических клетках ядерная мембрана отделяет содержимое ядра от цитоплазмы клетки. Ядерная мембрана образована внутренней и внешней мембранами, обеспечивающими строгую регуляцию поступления материалов в ядро и выхода из него. Материалы перемещаются между цитозолем и ядром через ядерные поры в ядерной мембране. Если ядро клетки более активно в транскрипции, его мембрана будет иметь больше пор. Белковый состав ядра может сильно отличаться от цитозоля, так как многие белки не могут пройти через поры путем диффузии. Внутри ядерной мембраны внутренняя и внешняя мембраны различаются по белковому составу, и только внешняя мембрана непрерывна с мембраной

эндоплазматического ретикулума (ЭР). Как и ER, внешняя мембрана также обладает рибосомами, ответственными за производство и транспортировку белков в пространство между двумя мембранами. Ядерная мембрана разбирается на ранних стадиях митоза и вновь собирается на более поздних стадиях митоза.

- ЭР, который является частью эндомембранной системы, составляющей очень большую часть общего содержания мембран клетки. ЭР представляет собой замкнутую сеть канальцев и мешочков, и его основные функции включают синтез белка и метаболизм липидов. Существует 2 типа ЭР - гладкий и шероховатый. Шероховатый ЭР имеет прикрепленные к нему рибосомы, используемые для синтеза белка, в то время как гладкий ЭР больше используется для переработки токсинов и регуляции кальция в клетке.
- Аппарат Гольджи имеет две взаимосвязанные круглые цистерны Гольджи. Отделы аппарата образуют многочисленные тубулярно-ретикулярные сети, отвечающие за организацию, соединение стопок и транспорт грузов, которые отображают непрерывные виноградоподобные нитевидные везикулы размером 50-60 нм. Аппарат состоит из трех основных компартментов, плоской дисковидной цистерны с тубулярно-ретикулярными сетями и везикул.



однако каналы и белки все еще присутствуют для выполнения своих функций в мембране.

- Аксолема: специализированная плазматическая мембрана на аксонах нервных клеток, которая отвечает за генерацию потенциала действия. Она состоит из зернистого, плотно упакованного липидного бислоя, который тесно взаимодействует с компонентами цитоскелета - спектрином и актином. Эти компоненты цитоскелета способны связываться и взаимодействовать с трансмембранными белками в аксолеме.

### **Разрешимость**

Проницаемость мембраны - это скорость пассивной диффузии молекул через мембрану. Эти молекулы известны как проницаемые молекулы. Проницаемость зависит в основном от электрического заряда и полярности молекулы и в меньшей степени от молярной массы молекулы. Из-за гидрофобной природы клеточной мембраны небольшие электрически нейтральные молекулы проходят через мембрану легче, чем заряженные крупные молекулы. Неспособность заряженных молекул пройти через клеточную мембрану приводит к разделению рН веществ по жидкостным отделениям организма.

## D - Органеллы

В клеточной биологии органелла - это специализированная субъединица, обычно внутри клетки, которая выполняет определенную функцию. Название органелла происходит от идеи, что эти структуры являются частями клеток, как органы для тела, отсюда органелла, суффикс -elle является уменьшительным. Органеллы либо отдельно заключены в собственные липидные бислои (также называемые мембраносвязанными органеллами), либо являются пространственно обособленными функциональными единицами без окружающего липидного бислоя (немембраносвязанные органеллы). Хотя большинство органелл являются функциональными единицами внутри клеток, некоторые функциональные единицы, выходящие за пределы клеток, часто называют органеллами, например, реснички, жгутик и архаэлл, а также трихоциста.

Органеллы идентифицируются с помощью микроскопии, а также могут быть очищены путем фракционирования клеток. Существует множество типов органелл, особенно в эукариотических клетках. Они включают структуры, составляющие внутреннюю эндомембранную систему (такие как ядерная оболочка, эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи), и другие структуры, такие как митохондрии и пластиды. Хотя прокариоты не обладают

эукариотическими органеллами, некоторые из них содержат бактериальные микрокомпартменты, покрытые белковой оболочкой, которые, как считается, действуют как примитивные прокариотические органеллы, а также есть свидетельства существования других мембранно-связанных структур. Кроме того, прокариотический жгутик, выступающий за пределы клетки, и его мотор, а также в значительной степени внеклеточный пилус часто называют органеллами.

В биологии органы определяются как ограниченные функциональные единицы в организме.<sup>[3]</sup> Аналогия телесных органов с микроскопическими клеточными субструктурами очевидна, поскольку, начиная даже с ранних работ, авторы соответствующих учебников редко останавливаются на различии между ними.

В 1830-х годах Феликс Дюжарден опроверг теорию Эренберга, которая гласила, что микроорганизмы имеют те же органы, что и многоклеточные животные, только более мелкие.

Первым, кто использовал уменьшительное от слова орган, например, *little organ* для клеточных структур, был немецкий зоолог Карл Август Мёбиус (1884), который использовал термин *organula* (множественное число от *organulum*, уменьшительное от латинского *organum*). В сноске, которая

была опубликована как исправление в следующем номере журнала, он обосновал свое предложение называть органы одноклеточных организмов "органеллами", поскольку они являются лишь различными по форме частями одной клетки, в отличие от органов многоклеточных организмов.

## Типы

Хотя большинство клеточных биологов считают термин "органелла" синонимом клеточного компартмента - пространства, часто ограниченного одним или двумя липидными бислоями, некоторые клеточные биологи предпочитают ограничивать этот термин, включая в него только те клеточные компартменты, которые содержат дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), возникшую из ранее автономных микроскопических организмов, приобретенных в результате эндосимбиоза.

Согласно этому определению, существует только два широких класса органелл, например, те, которые содержат собственную ДНК, и те, которые произошли от эндосимбиотических бактерий:

- митохондрии (почти во всех эукариотах)
- пластиды (например, в растениях, водорослях и некоторых протистах).

Предполагается, что и другие органеллы имеют эндосимбиотическое происхождение, но не содержат собственной ДНК.

Второе, менее ограничительное определение органелл заключается в том, что это мембранно-связанные структуры. Однако даже при использовании этого определения некоторые части клетки, которые, как было показано, являются отдельными функциональными единицами, не квалифицируются как органеллы. Поэтому использование органеллы для обозначения не связанных с мембраной структур, таких как рибосомы, является общепринятым и общепризнанным. Это привело к тому, что во многих текстах проводится разграничение между мембраносвязанными и немембраносвязанными органеллами. Немембраносвязанные органеллы, также называемые крупными биомолекулярными комплексами, представляют собой большие совокупности макромолекул, которые выполняют определенные и специализированные функции, но у них отсутствуют границы мембраны. Многие из них называются "протеиновыми органеллами", поскольку их основная структура состоит из белков. К таким клеточным структурам относятся:

- большие РНК и белковые комплексы: рибосома, сплайсосома, свод

- крупные белковые комплексы: протеасома, голофермент ДНК-полимеразы III, голофермент РНК-полимеразы II, симметричные вирусные капсиды, комплекс GroEL и GroES; мембранные белковые комплексы: поросома, фотосистема I, АТФ-синтаза
- большие комплексы ДНК и белков: нуклеосома
- центриоль и микротрубочки-организующий центр (МТОС)
- цитоскелет
- жгутик
- нуклеол
- стрессовая гранула
- гранула зародышевой клетки
- нейронная транспортная гранула

Механизмы, с помощью которых такие немембранно-связанные органеллы формируются и сохраняют свою пространственную целостность, были уподоблены разделению фаз жидкость-жидкость.

Эукариотические клетки структурно сложны и, по определению, частично организованы внутренними отсеками, которые сами окружены липидными мембранами, напоминающими внешнюю клеточную мембрану. Более крупные органеллы, такие как ядро и вакуоли, легко увидеть с помощью светового микроскопа. Они были одними из первых

биологических открытий, сделанных после изобретения микроскопа.

Не все эукариотические клетки имеют все перечисленные ниже органеллы. Исключительные организмы имеют клетки, не включающие некоторые органеллы, которые в противном случае можно было бы считать универсальными для эукариот (например, митохондрии). Также иногда встречаются исключения по количеству мембран, окружающих органеллы, перечисленные в таблицах ниже, например, некоторые органеллы, которые указаны как двухмембранные, иногда встречаются с одной или тремя мембранами. Кроме того, количество отдельных органелл каждого типа, имеющих в данной клетке, варьирует в зависимости от функции этой клетки.

FOR AUTHOR USE ONLY

Таблица (1): Основные эукариотические органеллы				
Органелла	Основная функция	Структура	Организмы	Примечания
<b>Клеточная мембрана</b>	отделяет внутреннюю часть всех клеток от внешней среды (внеклеточного пространства), что защищает клетку от окружающей среды.	двумерная жидкость	все эукариоты	

<b>Клеточная стенка</b>	Клеточная стенка - это жесткая структура, состоящая из целлюлозы, которая придает клетке форму, помогает удерживать органеллы внутри клетки и не дает клетке разорваться от осмотического давления.	различные	растения, протисты, редкие клеточные организмы	
<b>Хлоропласт (пластиды)</b>	фотосинтез, улавливает энергию солнечного света	двухмембранный отсек	растения, протисты, редкие клеточные организмы	имеет собственную ДНК; предполагается, что она была поглощена предковой эукариотической клеткой (endosymbiosis)
<b>Эндоплазматический ретикулум</b>	трансляция и сворачивание новых белков (шероховатый эндоплазматический ретикулум), экспрессия липидов (гладкий эндоплазматический ретикулум)	одномембранный отсек	все эукариоты	шероховатый эндоплазматический ретикулум покрыт рибосомами, имеет складки в виде плоских мешочков; гладкий эндоплазматический ретикулум

				имеет складки в виде трубочек
<b>Жгутик</b>	локомоция, сенсорный	белок	некоторые эукариоты	
<b>аппарат Гольджи</b>	сортировка, упаковка, переработка и модификация белков	одномембранный отсек	все эукариоты	цисторона (выпуклая), ближайшая к шероховатому эндоплазматическому ретикулуму; трансторона (вогнутая), наиболее удаленная от шероховатого эндоплазматического ретикулума
<b>Митохондрия</b>	производство энергии в результате окисления глюкозных веществ и высвобождения аденозинтрифосфата	двухмембранный отсек	большинство эукариот	составляющий элемент хондриома; имеет собственную ДНК; предполо

				жительно был поглощен предковой эукариоти ческой клеткой (эндосимб иоз) <sup>[20]</sup>
<b>Ядро</b>	Ведение ДНК, контролирует всю деятельность клетки, транскрипция РНК	двухмембранный отсек	все эукариоты	содержит основную часть генома
<b>Vacuole</b>	хранение, транспортировка, помогает поддерживать гомеостаз	одномембранный отсек	эукариоты	

Митохондрии и пластиды, включая хлоропласты, имеют двойные мембраны и собственную ДНК. Согласно эндосимбиотической теории, считается, что они возникли из неполностью потребленных или вторгшихся прокариотических организмов.

**Таблица (2): Минорные эукариотические органеллы и компоненты клетки**

Органелла/ макромолекула	Основная функция	Структура	Организмы
<b>Акросома</b>	помогает сперматозоидам соединиться с яйцеклеткой	одномембранный отсек	большинство животных

<b>Аутофагосома</b>	везикула, в которой хранится цитоплазматический материал и органеллы для деградации	двухмембранный отсек	все эукариоты
<b>Centriole</b>	якорь для цитоскелета, организует деление клеток путем формирования веретенообразных волокон	Белок микротрубочек	животные
<b>Cilium</b>	движение во внешней среде или из внешней среды; "критический сигнальный путь развития". <sup>[21]</sup>	Белок микротрубочек	животные, протисты, немногие растения
<b>Книдоциста</b>	жгучий	свернутый полый каналец	книдарии
<b>Глазмерный аппарат</b>	обнаруживает свет, что позволяет осуществлять фототаксис		зеленые водоросли и другие одноклеточные фотосинтезирующие организмы, такие как эвглениды

<b>Гликосома</b>	осуществляет гликолиз	одномембранный отсек	Некоторые простейшие, например, трипаносомы.
<b>Глиоксисома</b>	преобразование жиров в сахара	одномембранный отсек	растения
<b>Гидрогеносома</b>	энергия и производство водорода	двухмембранный отсек	несколько одноклеточных эукариот
<b>Лизосома</b>	расщепление крупных молекул (например, белков + полисахаридов)	одномембранный отсек	животные
<b>Меланосома</b>	хранение пигмента	одномембранный отсек	животные
<b>Митосома</b>	вероятно, играет роль в сборке железо-серных кластеров (Fe-S)	двухмембранный отсек	несколько одноклеточных эукариот, у которых отсутствуют митохондрии
<b>Миофибриллы</b>	сокращение миоцитов	пучковые нити	животные

<b><u>Нуклеола</u></b>	производство прерибосом	белок- ДНК- РНК	большинств о эукариот
<b>Оцеллоид</b>	распознает свет и, возможно, форму, что позволяет осуществлять фототаксис	двухмемб ранный отсек	представите ли семейства Warnowiace ae
<b>Парентесо ма</b>	нехарактерный	нехаракте рный	грибы
<b>Пероксисо ма</b>	распад метаболического пероксида водорода	одномемб ранный отсек	все эукариоты
<b>Поросома</b>	секреторный портал	одномемб ранный отсек	все эукариоты
<b>Протеасом а</b>	деградация ненужных или поврежденных белков путем протеолиза	очень большой белковый комплекс	все эукариоты, все археи и некоторые бактерии
<b>Рибосома (80S)</b>	трансляция РНК в белки	РНК- белок	все эукариоты
<b>стрессовая гранула</b>	хранение мРНК <sup>[22]</sup>	без мембран ы	большинств о эукариот

		(комплекс мРНК)	
<b>домен TIGER</b>	мРНК, кодирующие белки	без мембраны	большинство организмов
<b>Везикула</b>	транспортировка материалов	одномембранный отсек	все эукариоты

Прокариоты не так структурно сложны, как эукариоты, и раньше считалось, что у них мало внутренней организации и отсутствуют клеточные компартменты и внутренние мембраны, но постепенно появляются подробности о внутренних структурах прокариот, которые опровергают эти предположения. Ранним ложным поворотом была разработанная в 1970-х годах идея о том, что бактерии могут содержать складки клеточной мембраны, называемые мезосомами, но позже было показано, что это артефакты, созданные химикатами, используемыми для подготовки клеток к электронной микроскопии.

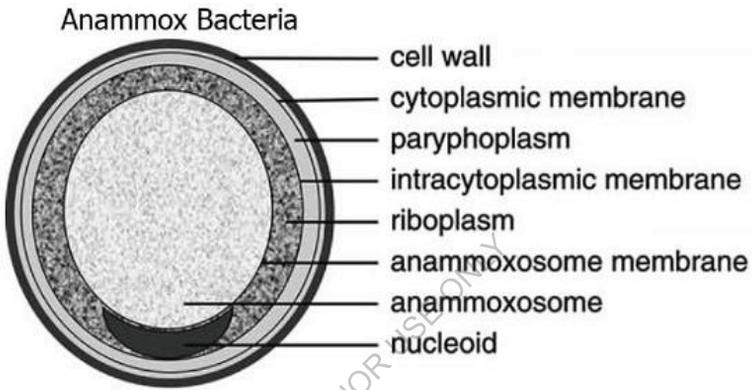
Однако появляется все больше доказательств наличия компартментов, по крайней мере, у некоторых прокариот. Недавние исследования показали, что по крайней мере у некоторых прокариот есть микрокомпартменты, такие как

карбоксисомы. Эти субклеточные компартменты имеют диаметр 100-200 нм и окружены оболочкой из белков. Еще более поразительным является описание мембранно-связанных магнитосом у бактерий, о котором было сообщено в 2006 году.

В бактериальном филуме Planctomycetes обнаружен ряд особенностей компартментализации. Клеточный план Planctomycetes включает внутрицитоплазматические мембраны, разделяющие цитоплазму на парифоплазму (внешнее пространство без рибосом) и пиреллулосому (или рибоплазму, внутреннее пространство, содержащее рибосомы). Мембранно-связанные анаммоксосомы были обнаружены у пяти родов Planctomycetes, которые осуществляют анаэробное окисление аммония. У вида Planctomycetes Gemmata obscuriglobus была обнаружена ядроподобная структура, окруженная липидными мембранами.

Компартментализация является особенностью прокариотических фотосинтетических структур. У пурпурных бактерий есть "хроматофоры" - реакционные центры, расположенные в инвагинациях клеточной мембраны. У зеленых серных бактерий есть хлоросомы - фотосинтетические антенные комплексы, прикрепленные к клеточной мембране. Цианобактерии имеют внутренние

тилакоидные мембраны для светозависимого фотосинтеза; исследования показали, что клеточная мембрана и тилакоидные мембраны не являются непрерывными друг с другом.



**Рисунок (35): Бактерии анаммокс.**

Таблица (3):Прокариотические органеллы и компоненты клетки			
Органелла /макромолекула	Основная функция	Структура	Организмы
Анаммоксома	анаэробное окисление аммония	липидная мембрана ладдерана	"Candidatus" бактерии в составе Planctomycetes

Карбоксисома	фиксация углерода	бактериальный микрокомпартмент с белковой оболочкой	некоторые бактерии
Хлоросома	фотосинтез	комплекс для сбора света, прикрепленный к клеточной мембране	зелёные серные бактерии
Жгутик	движение во внешней среде	белковая нить	некоторые прокариоты
Магнитосома	магнитная ориентация	неорганический кристалл, липидная мембрана	магнитотактические бактерии
Нуклеоид	поддержание ДНК, транскрипция в РНК	ДНК-белок	прокариоты
Pilus	Адгезия к другим клеткам для конъюгации или к твердой подложке для создания подвижных сил.	волосовидный придаток, торчащий наружу (хотя и частично встроенный в) плазматическую мембрану	прокариотические клетки
Плаزمида	обмен ДНК	циркулярная ДНК	некоторые бактерии
Рибосома (70S)	трансляция РНК в белки	РНК-белок	бактерии и археи
Мембраны тилакоидов	фотосинтез	белки и пигменты фотосистемы	в основном цианобактерии

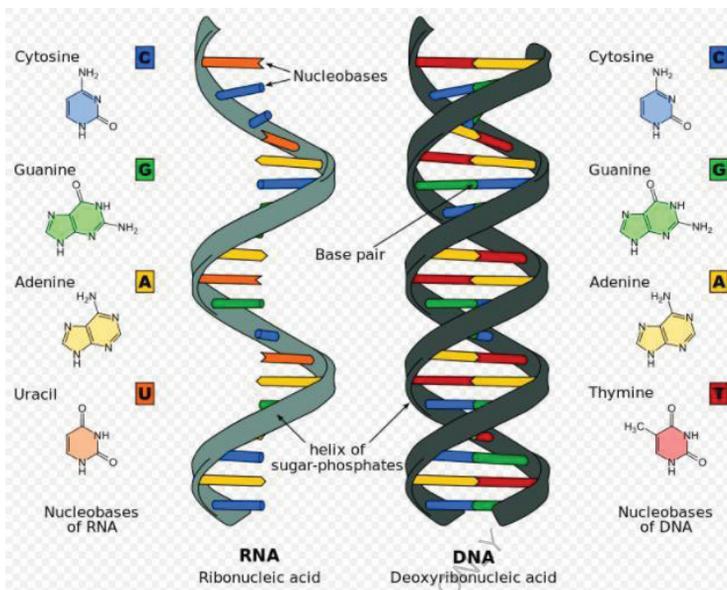
## **Е - Нуклеиновые кислоты**

Нуклеиновые кислоты - это биополимеры, или крупные биомолекулы, необходимые для всех известных форм жизни. Они состоят из нуклеотидов, которые представляют собой мономеры, состоящие из трех компонентов: 5-углеродного сахара, фосфатной группы и азотистого основания. Два основных класса нуклеиновых кислот - это дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК). Если сахар - рибоза, то полимером является РНК; если сахар - производное рибозы - дезоксирибоза, то полимером является ДНК.

Нуклеиновые кислоты - это встречающиеся в природе химические соединения, которые служат основными молекулами-носителями информации в клетках и составляют генетический материал. Нуклеиновые кислоты в изобилии содержатся во всех живых существах, где они создают, кодируют и затем хранят информацию каждой живой клетки каждой формы жизни на Земле. В свою очередь, они функционируют для передачи и выражения этой информации внутри и вне клеточного ядра для внутренних операций клетки и, в конечном счете, для следующего поколения каждого живого организма. Закодированная информация содержится и передается через последовательность нуклеиновых кислот, которая обеспечивает "лестнично-ступенчатое"

упорядочивание нуклеотидов в молекулах РНК и ДНК. Они играют особенно важную роль в управлении синтезом белка.

Строки нуклеотидов соединены между собой, образуя спиралевидные основы - как правило, одну для РНК, две для ДНК - и собраны в цепочки пар оснований, выбранных из пяти первичных, или канонических, нуклеобаз: аденина, цитозина, гуанина, тимина и урацила. Тимин встречается только в ДНК, а урацил - только в РНК. С помощью аминокислот и процесса, известного как синтез белка,<sup>[1]</sup> специфическая последовательность этих пар нуклеобаз в ДНК позволяет хранить и передавать закодированные инструкции в виде генов. В РНК последовательность пар оснований обеспечивает производство новых белков, которые определяют каркас, части и большинство химических процессов всех форм жизни.



**Рисунок (36): Структуры ДНК и РНК.**

- Нуклеин был открыт Фридрихом Мишером в 1869 году в Тюбингенском университете, Германия.
- В начале 1880-х годов Альбрехт Коссель очистил вещество и обнаружил его сильно кислотные свойства. Позже он также идентифицировал нуклеобазы.
- В **1889** году Ричард Альтманн создает термин нуклеиновая кислота
- В **1938** году Эстбери и Белл опубликовали первую рентгеновскую дифракционную картину ДНК.

- В 1944 году эксперимент Эйвери-Маклеода-Маккарти показал, что ДНК является носителем генетической информации.
- В 1953 году Уотсон и Крик представили структуру ДНК.

Экспериментальные исследования нуклеиновых кислот составляют большую часть современных биологических и медицинских исследований, формируют основу для геномной и судебной медицины, биотехнологической и фармацевтической промышленности.

Нуклеиновые кислоты, как правило, представляют собой очень большие молекулы. Действительно, молекулы ДНК, вероятно, являются самыми большими из всех известных индивидуальных молекул. Размер хорошо изученных биологических молекул нуклеиновых кислот варьируется от 21 нуклеотида (малая интерферирующая РНК) до больших хромосом (хромосома 1 человека представляет собой одну молекулу, содержащую 247 миллионов пар оснований).

В большинстве случаев встречающиеся в природе молекулы ДНК являются двухцепочечными, а молекулы РНК - одноцепочечными. Однако существуют многочисленные исключения: некоторые вирусы имеют геномы из двухцепочечной РНК, другие вирусы имеют геномы из одноцепочечной ДНК, а при некоторых обстоятельствах могут

образовываться структуры нуклеиновых кислот с тремя или четырьмя нитями.

Нуклеиновые кислоты представляют собой линейные полимеры (цепочки) нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: пуриновой или пиримидиновой нуклеобазы (иногда называемой *азотистым основанием* или просто *основанием*), пентозного сахара и фосфатной группы, которая делает молекулу кислой. Субструктура, состоящая из нуклеобазы и сахара, называется нуклеозидом. Типы нуклеиновых кислот различаются по структуре сахара в их нуклеотидах - ДНК содержит 2'-дезоксирибозу, а РНК - рибозу (единственное отличие - наличие гидроксильной группы). Также различаются нуклеобазы, содержащиеся в двух типах нуклеиновых кислот: аденин, цитозин и гуанин встречаются как в РНК, так и в ДНК, в то время как тимин встречается в ДНК, а урацил - в РНК.

Сахара и фосфаты в нуклеиновых кислотах соединены друг с другом в чередующуюся цепь (сахарно-фосфатная основа) посредством фосфодиэфирных связей. В обычной номенклатуре углероды, к которым присоединяются фосфатные группы, являются 3'-концом и 5'-концом углеродов сахара. Это придает нуклеиновым кислотам направленность, и концы молекул нуклеиновых кислот обозначаются как 5'-конец и 3'-конец. Нуклеобазы соединяются с сахарами

посредством N-гликозидной связи, включающей азот кольца нуклеобазы (N-1 для пиримидинов и N-9 для пуринов) и 1' углерод пентозного кольца сахара.

Нестандартные нуклеозиды также встречаются как в РНК, так и в ДНК и обычно возникают в результате модификации стандартных нуклеозидов в молекуле ДНК или первичного (исходного) транскрипта РНК. Молекулы трансферной РНК (тРНК) содержат особенно большое количество модифицированных нуклеозидов.

- Некоторые из последних пунктов были помечены как нуклеиновые кислоты, хотя на самом деле они не являются нуклеиновыми кислотами. Нуклеиновые кислоты содержатся в ядрах клеток, но такие молекулы, как PNA's или Morpholinos, являются чисто синтетическими аналогами. Они должны быть либо помечены как таковые, либо полностью исключены из этого списка (хотя я считаю, что они представляют достаточный интерес, чтобы быть сохраненными).
- Я сделал страницу "попытка" Аналоги нуклеиновых кислот, чтобы связать аналоги, есть много сиротских статей, отнесенных либо к генетике, либо к биохимии (в зависимости от дисциплины авторов?). будет ли "другие"

приличным для шаблона? Squidonium (talk) 14:58, 20 ноября 2007 (UTC) решено.

- cpDNA (хлоропластная ДНК) должна быть добавлена; однако страницы для неё пока нет (cpDNA перенаправляет на хлоропласт). - tameeria (беседа) 04:28, 11 декабря 2007 (UTC)

Одна молекула ДНК или РНК отличается от другой прежде всего последовательностью нуклеотидов. Последовательности нуклеотидов имеют огромное значение в биологии, поскольку они несут в себе конечные инструкции, которые кодируют все биологические молекулы, молекулярные агрегаты, субклеточные и клеточные структуры, органы и организмы, а также непосредственно обеспечивают познание, память и поведение. Огромные усилия были направлены на разработку экспериментальных методов определения нуклеотидной последовательности биологических молекул ДНК и РНК,<sup>[24][25]</sup> и сегодня сотни миллионов нуклеотидов ежедневно секвенируются в геномных центрах и небольших лабораториях по всему миру. Помимо ведения базы данных последовательностей нуклеиновых кислот GenBank, NCBI предоставляет ресурсы для анализа и поиска данных в GenBank и других биологических данных, доступных через веб-сайт NCBI.<sup>[26]</sup>

## Дезоксирибонуклеиновая кислота

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) - это нуклеиновая кислота, содержащая генетические инструкции, используемые в развитии и функционировании всех известных живых организмов. Сегменты ДНК, несущие эту генетическую информацию, называются генами. Кроме того, другие последовательности ДНК имеют структурное назначение или участвуют в регулировании использования этой генетической информации. Наряду с РНК и белками, ДНК является одной из трех основных макромолекул, необходимых для всех известных форм жизни. ДНК состоит из двух длинных полимеров простых единиц, называемых нуклеотидами, с основой из сахаров и фосфатных групп, соединенных эфирными связями. Эти две нити идут в противоположных направлениях друг от друга и поэтому являются антипараллельными. К каждому сахару прикреплен один из четырех типов молекул, называемых нуклеобазами (неофициально - основаниями). Именно последовательность этих четырех нуклеобаз вдоль позвоночника кодирует информацию. Эта информация считывается с помощью генетического кода, который определяет последовательность аминокислот в белках. Код считывается путем копирования участков ДНК в связанную с ней нуклеиновую кислоту РНК в процессе, называемом транскрипцией. Внутри клеток ДНК

организована в длинные структуры, называемые хромосомами. Во время деления клетки эти хромосомы дублируются в процессе репликации ДНК, обеспечивая каждую клетку собственным полным набором хромосом. Эукариотические организмы - животные, растения, грибы и протисты - хранят большую часть своей ДНК внутри клеточного ядра, а часть ДНК - в органеллах, таких как митохондрии или хлоропласты. В отличие от них, прокариоты (бактерии и археи) хранят свою ДНК только в цитоплазме. Внутри хромосом белки хроматина, такие как гистоны, уплотняют и упорядочивают ДНК. Эти компактные структуры направляют взаимодействие между ДНК и другими белками, помогая контролировать, какие части ДНК транскрибируются.

### **Рибонуклеиновая кислота**

Рибонуклеиновая кислота (РНК) выполняет функцию преобразования генетической информации из генов в аминокислотные последовательности белков. Три универсальных типа РНК включают трансферную РНК (тРНК), мессенджерную РНК (мРНК) и рибосомальную РНК (рРНК). Мессенджерная РНК переносит информацию о генетической последовательности между ДНК и рибосомами, направляя синтез белка, и передает инструкции от ДНК в ядре к рибосоме. Рибосомальная РНК считывает

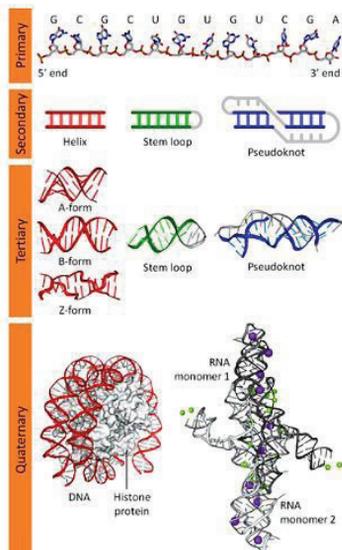
последовательность ДНК и катализирует образование пептидных связей. Трансферная РНК служит молекулой-переносчиком аминокислот для синтеза белка и отвечает за декодирование мРНК. Кроме того, в настоящее время известно множество других классов РНК.

### **Искусственная нуклеиновая кислота**

Искусственные аналоги нуклеиновых кислот были разработаны и синтезированы химиками и включают пептидную нуклеиновую кислоту, морфолино- и блокированную нуклеиновую кислоту, гликолевую нуклеиновую кислоту и треозовую нуклеиновую кислоту. Каждый из них отличается от ДНК или РНК естественного происхождения изменением основы молекул.

### **Структуры нуклеиновых кислот**

Структура нуклеиновых кислот относится к структуре нуклеиновых кислот, таких как ДНК и РНК. С химической точки зрения ДНК и РНК очень похожи. Структуру нуклеиновых кислот часто делят на четыре различных уровня: первичный, вторичный, третичный и четвертичный.



Size of this preview: 377 × 598 pixels, Other resolutions: 151 × 240 pixels | 302 × 480 pixels | 378 × 600 pixels | 484 × 768 pixels | 1,253 × 1,989 pixels.  
 Original file (1,253 × 1,989 pixels, file size: 798 KB, MIME type: image/png)

## Рисунок (37): Первичная структура состоит из линейной последовательности нуклеотидов.

Первичная структура состоит из линейной последовательности нуклеотидов, связанных между собой фосфодиэфирной связью. Именно эта линейная последовательность нуклеотидов составляет первичную структуру ДНК или РНК. Нуклеотиды состоят из 3 компонентов:

### 1. Азотистое основание

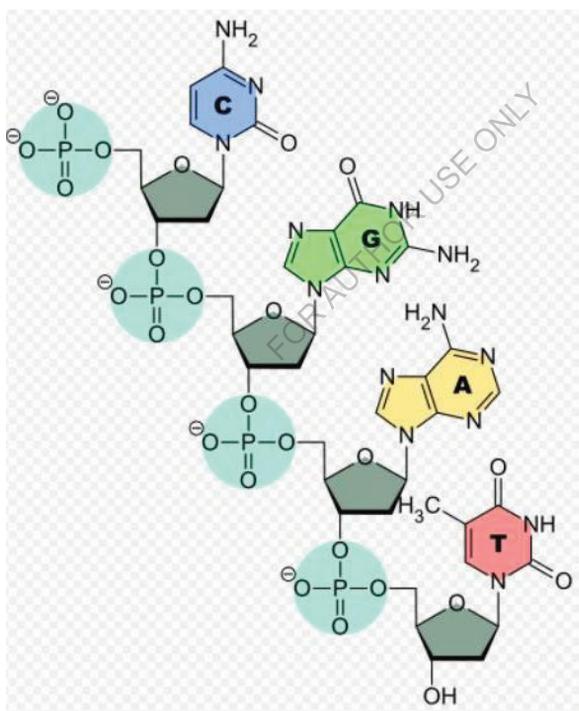
1. Аденин

2. Гуанин

3. Цитозин
  4. Тимин (присутствует только в ДНК)
  5. Урацил (присутствует только в РНК)
2. 5-углеродный сахар, который называется дезоксирибоза (содержится в ДНК) и рибоза (содержится в РНК).
3. Одна или несколько фосфатных групп.<sup>[1]</sup>

Азотистые основания аденин и гуанин имеют пуриновую структуру и образуют гликозидную связь между своим 9 азотом и 1' -ОН группой дезоксирибозы. Цитозин, тимин и урацил являются пиримидинами, поэтому гликозидные связи образуются между их 1 азотом и 1' -ОН дезоксирибозы. Для пуриновых и пиримидиновых оснований фосфатная группа образует связь с сахаром дезоксирибозы через эфирную связь между одной из отрицательно заряженных кислородных групп и 5'-ОН сахара. Полярность ДНК и РНК обусловлена наличием атомов кислорода и азота в основе. Нуклеиновые кислоты образуются, когда нуклеотиды соединяются вместе посредством фосфодиэфирных связей между 5' и 3' атомами углерода. Последовательность нуклеиновой кислоты - это порядок нуклеотидов в молекуле ДНК (GACT) или РНК (GACU), который определяется серией букв. Последовательности представлены с 5' по 3' конец и определяют ковалентную структуру всей молекулы. Последовательности могут быть комплементарны другой

последовательности в том смысле, что основание в каждом положении комплементарно, а также в обратном порядке. Примером комплементарной последовательности к AGCT является TCGA. ДНК является двухцепочечной и содержит смысловую и антисмысловую нити. Поэтому комплементарная последовательность будет комплементарна смысловой нити.



**Рисунок (38): Структуры азотистых оснований.**

## ДНК

Вторичная структура - это набор взаимодействий между основаниями, т.е. какие части нитей связаны друг с другом. В двойной спирали ДНК две нити ДНК удерживаются вместе водородными связями. Нуклеотиды на одной нити образуют пары оснований с нуклеотидами на другой нити. Вторичная структура отвечает за форму, которую принимает нуклеиновая кислота. Основания в ДНК классифицируются как пурины и пиримидины. Пурины - это аденин и гуанин. Пурины состоят из двойного кольца, шестичленного и пятичленного кольца, содержащего азот. Пиримидины - цитозин и тимин. Они имеют однокольцевую структуру, шестичленное кольцо, содержащее азот. Пуриновое основание всегда образует пару с пиримидиновым основанием (гуанин (G) образует пару с цитозином (C), а аденин (A) - с тимином (T) или урацилом (U)). Вторичная структура ДНК в основном определяется сопряжением оснований двух полинуклеотидных нитей, обернутых друг вокруг друга и образующих двойную спираль. Хотя две нити выровнены водородными связями в парах оснований, более сильными силами, удерживающими две нити вместе, являются стэкинг-взаимодействия между основаниями. Эти взаимодействия стабилизируются силами Ван-дер-Ваальса и гидрофобными взаимодействиями и демонстрируют большую

локальную структурную изменчивость. В двойной спирали также есть две канавки, которые называются главной и второстепенной канавками в зависимости от их относительного размера.

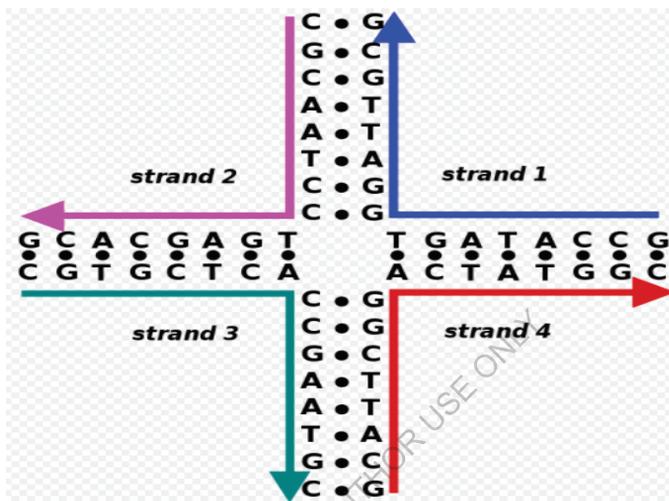
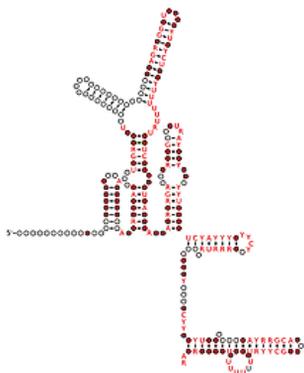


Рисунок (39): Прядь 1, прядь 2, прядь 3 и прядь 4 нуклеиновой кислоты (ДНК).

## РНК



### Рисунок (40): Вторичная структура РНК.

Пример вторичной структуры РНК. Это изображение включает несколько структурных элементов, в том числе: одноцепочечные и двухцепочечные участки, выпуклости, внутренние петли и шпильчатые петли. Двухцепочечная РНК образует спиральную структуру типа А, в отличие от обычной конформации типа В, которую принимают двухцепочечные молекулы ДНК.

Вторичная структура РНК состоит из одного полинуклеотида. Сопряжение оснований в РНК происходит, когда РНК складывается между областями комплементарности. В молекулах РНК часто встречаются как одно-, так и двухцепочечные участки.

Четыре основных элемента вторичной структуры РНК - это:

- **Helices**
- **Выпуклости**
- **Петли**
- **Перекрестки**

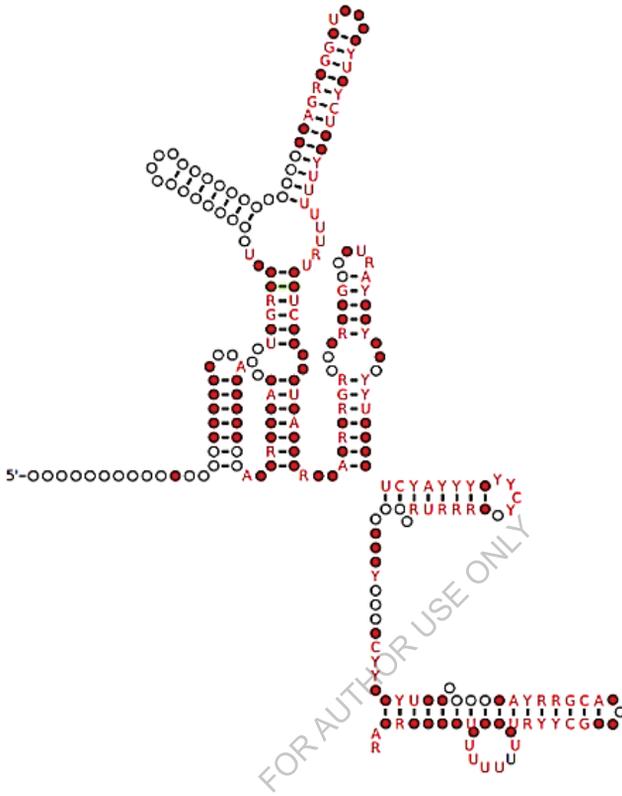
Антипараллельные нити образуют спиралевидную форму.<sup>[3]</sup> Выпуклости и внутренние петли образуются в результате разделения двойного спирального тракта на одной нити (выпуклость) или на обеих нитях (внутренние петли) неспаренными нуклеотидами.

Стебель-петля или шпильчатая петля - наиболее распространенный элемент вторичной структуры РНК. Стержневая петля образуется, когда цепи РНК складываются обратно, образуя двойной спиральный участок, называемый "стеблем", а неспаренные нуклеотиды образуют одноцепочечный участок, называемый "петлей". Тетралуп - это структура РНК в виде шпильки из четырех пар оснований. В рибосомальной РНК существует три распространенных семейства тетралупов: UNCG, GNRA и CUUG (*N* - один из четырех нуклеотидов, *R* - пурин). UNCG - самая стабильная тетралупа.

Псевдокнот - это вторичная структура РНК, впервые выявленная в вирусе желтой мозаики репы. Псевдокноты образуются, когда нуклеотиды из шпильки-петли соединяются с одноцепочечной областью вне шпильки,

образуя спиральный сегмент. Лучше всего характеризуются псевдокноты Н-типа сложения. В складке Н-типа нуклеотиды в паре шпилька-петля с основаниями вне стержня шпильки образуют второй стержень и петлю. Это приводит к образованию псевдокнопок с двумя стеблями и двумя петлями. Псевдокнопки являются функциональными элементами в структуре РНК, выполняющими разнообразные функции и встречающимися в большинстве классов РНК.

Вторичная структура РНК может быть предсказана на основе экспериментальных данных об элементах вторичной структуры, спиральных, петлях и выпуклостях. Для сравнительного предсказания псевдокнопок используется метод DotKnot-PW. Основным моментом в методе DotKnot-PW является оценка сходства, обнаруженного в стеблях, вторичных элементах и псевдокнотах Н-типа.



**Рисунок (41): Третичная структура РНК.**

Третичная структура относится к расположению атомов в трехмерном пространстве с учетом геометрических и стерических ограничений. Это более высокий порядок, чем вторичная структура, в которой происходит крупномасштабное сворачивание в линейном полимере, и вся цепь сворачивается в определенную трехмерную форму. Существует 4 области, в которых структурные формы ДНК могут различаться.

1. Рука - правая или левая
2. Длина витка спирали
3. Количество пар оснований на оборот
4. Разница в размере между мажорными и минорными бороздами<sup>[3]</sup>

Третичное расположение двойной спирали ДНК в пространстве включает в себя В-ДНК, А-ДНК и Z-ДНК.

В-ДНК является наиболее распространенной формой ДНК в естественных условиях и представляет собой более узкую, вытянутую спираль, чем А-ДНК. Ее широкая главная борозда делает ее более доступной для белков. С другой стороны, у нее узкая минорная канавка. Благоприятные конформации В-ДНК возникают при высоких концентрациях воды; гидратация минорной бороздки, по-видимому, благоприятствует В-ДНК. Пары оснований В-ДНК почти перпендикулярны оси спирали. Сахарная складка, которая определяет форму а-спирали, будет ли спираль существовать в А-форме или в В-форме, происходит на С2'-конце.

А-ДНК - это форма дуплекса ДНК, наблюдаемая в условиях обезвоживания. Она короче и шире, чем В-ДНК. РНК принимает эту двухспиральную форму, и дуплексы РНК-ДНК в основном имеют форму А, но наблюдались и дуплексы РНК-

ДНК в форме В. В локализованных одноцепочечных динуклеотидных контекстах РНК также может принимать В-форму без сопряжения с ДНК. А-ДНК имеет глубокую, узкую основную бороздку, которая не делает ее легко доступной для белков. С другой стороны, широкая и мелкая минорная борозда делает ее доступной для белков, но с меньшим информационным содержанием, чем основная борозда. Ее благоприятная конформация наблюдается при низких концентрациях воды. Пары оснований А-ДНК наклонены относительно оси спирали и смещены от оси. Сахарная укладка происходит на С3'-эндо, а в РНК 2'-ОН препятствует конформации С2'-эндо.<sup>[14]</sup> А-ДНК, которую долгое время считали не более чем лабораторным искусством, теперь известна несколькими биологическими функциями.

Z-ДНК - это относительно редкая левосторонняя двойная спираль. При наличии соответствующей последовательности и суперспирального натяжения она может образовываться *in vivo*, но ее функция неясна. Она имеет более узкую, более вытянутую спираль, чем А или В. Основная борозда Z-ДНК на самом деле не является бороздкой, и она имеет узкую вторую бороздку. Наиболее благоприятная конформация возникает при высоких концентрациях соли. Существуют некоторые замены оснований, но они требуют чередования пурин-пиримидиновой последовательности. N2-амино G H-

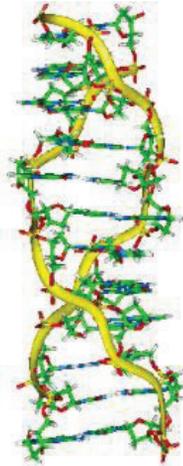
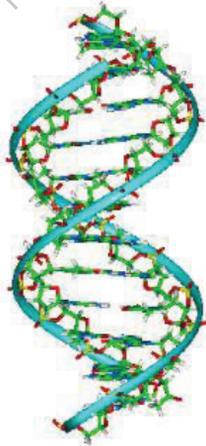
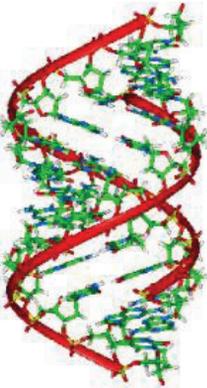
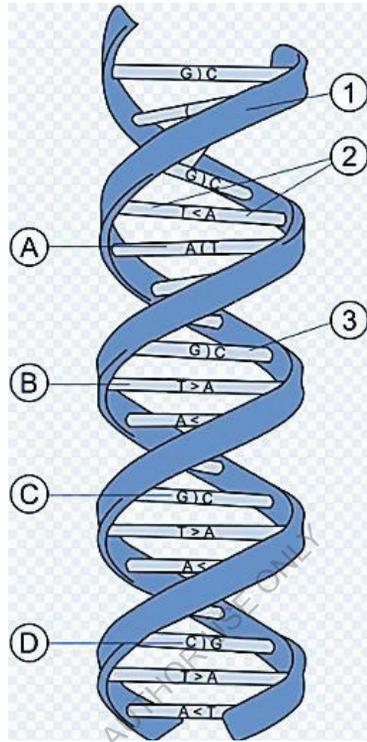
связывается с 5' РО, что объясняет медленный обмен протонами и необходимость G-пурина. Пары оснований Z-ДНК расположены почти перпендикулярно оси спирали. Z-ДНК содержит не одиночные пары оснований, а повтор GpC, причем расстояния P-P различны для GpC и CpG. На GpC-стеке имеется хорошее перекрывание оснований, в то время как на CpG-стеке перекрывание меньше. Зигзагообразная основа Z-ДНК обусловлена конформацией сахара С, компенсирующей конформацию гликозидной связи G. Конформация G - син, С2'-эндо; для С - анти, С3'-эндо.

Линейная молекула ДНК со свободными концами может вращаться, чтобы приспособиться к изменениям различных динамических процессов в клетке, изменяя, сколько раз две цепи ее двойной спирали закручиваются друг вокруг друга. Некоторые молекулы ДНК являются кольцевыми и топологически ограничены. Совсем недавно была описана циркулярная РНК, которая также является естественным распространенным классом нуклеиновых кислот, экспрессируемых во многих организмах.

Ковалентно замкнутая кольцевая ДНК, также известная как кДНК, топологически ограничена, так как количество раз цепей, намотанных друг вокруг друга, не может меняться. Такая сссDNA может быть сверхсвернутой, что является третичной структурой ДНК. Сверхсвертывание

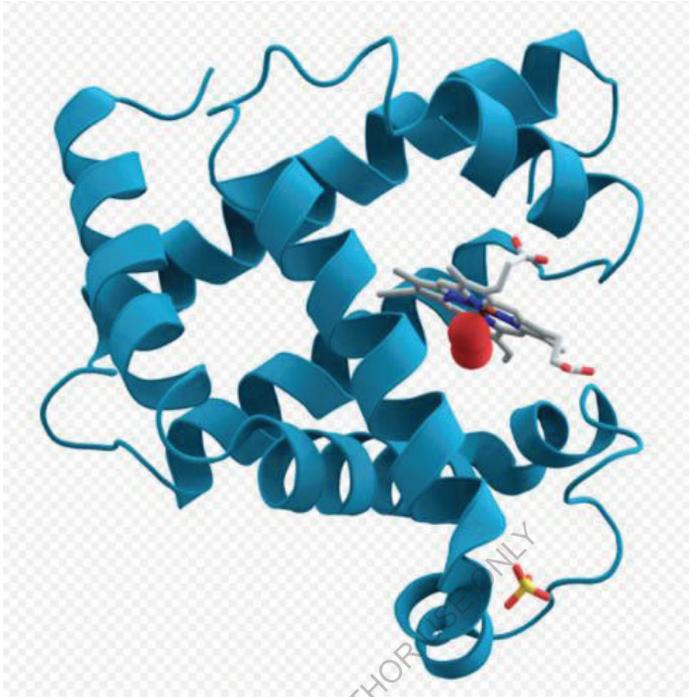
характеризуется числом связывания, скручиванием и наматыванием. Связующее число ( $Lk$ ) для циркулярной ДНК определяется как количество раз, которое одна нить должна пройти через другую нить, чтобы полностью разделить две нити. Связующее число для кольцевой ДНК может быть изменено только путем разрыва ковалентной связи в одной из двух нитей. Всегда целое число, связующее число кДНК представляет собой сумму двух компонентов: скручивания ( $Tw$ ) и переписывания ( $Wr$ ).

Витки - это количество раз, когда две нити ДНК закручиваются друг вокруг друга. Скрутки - это количество раз, когда спираль ДНК перекрещивается сама с собой. ДНК в клетках свернута отрицательно и имеет тенденцию к разматыванию. Поэтому в отрицательно сверхсвернутой ДНК разделение нитей происходит легче, чем в расслабленной ДНК. Два компонента сверхсвернутой ДНК - это соленоид и плектонема. Плектонематическая сверхспираль встречается у прокариот, а соленоидная сверхспираль - в основном у эукариот.



**Рисунок (42): Четвертичная структура нуклеиновой кислоты.**

Четвертичная структура нуклеиновых кислот схожа с четвертичной структурой белков. Хотя некоторые понятия не совсем совпадают, четвертичная структура относится к более высокому уровню организации нуклеиновых кислот. Кроме того, она относится к взаимодействию нуклеиновых кислот с другими молекулами. Наиболее часто встречающаяся форма высокоуровневой организации нуклеиновых кислот наблюдается в виде хроматина, что приводит к его взаимодействию с небольшими белками гистонами. Кроме того, четвертичная структура относится к взаимодействиям между отдельными единицами РНК в рибосоме или сплайсосоме .



**Рисунок (43): Четвертичная структура нуклеиновой кислоты.**

Методы изучения нуклеиновых кислот - это методы, используемые для изучения нуклеиновых кислот: ДНК и РНК.

- Очистка
- выделение ДНК
- Фенол-хлороформная экстракция
- Очистка с помощью мини-колонок
- Выделение РНК
- Метод штанги
- Синхронное изменение коэффициента сопротивления (SCODA) очистка ДНК

### **Количественная оценка**

- Количество в весе: спектроскопическое количественное определение нуклеиновых кислот
- Абсолютное количество в количестве: полимеразная цепная реакция в реальном времени (количественная ПЦР)
- Высокопроизводительное относительное количество: ДНК-микрочип
- Высокопроизводительный анализ абсолютного избытка: серийный анализ экспрессии генов (SAGE)
- Размер: гель-электрофорез

## Синтез

- *De novo*: синтез олигонуклеотидов
- Амплификация: полимеразная цепная реакция (ПЦР).

## Кинетика

- Многопараметрический поверхностный плазмонный резонанс
- Двухполяризационная интерферометрия
- Кварцевый кристаллический микровесы с контролем рассеивания (QCM-D).

## Функция гена

### РНК-интерференция

## Другое

- Бисульфитное секвенирование
- секвенирование ДНК
- Экспрессионное клонирование

- Флуоресцентная гибридизация in situ
- Лаборатория-на-чипе
- Сравнение программного обеспечения для моделирования нуклеиновых кислот
- Северный блот
- Анализ ядерной прогонки
- Радиоактивность в науках о жизни
- Южный блот
- Дифференциальное центрифугирование (градиент сахарозы)
- Пробирное клеймо
- Несколько методов биоинформатики, как видно из списка программ для предсказания структуры РНК

### **Техника, используемая в молекулярной генетике**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - это метод, широко используемый для быстрого создания миллионов или миллиардов копий (полных или частичных) определенного образца ДНК, позволяющий ученым взять очень маленький образец ДНК и усилить его (или его часть) до достаточно большого количества для детального изучения. ПЦР была изобретена в 1983 году американским биохимиком Кэри Маллисом в компании Cetus Corporation. Она является

основополагающей для многих процедур, используемых в генетическом тестировании и исследованиях, включая анализ древних образцов ДНК и идентификацию инфекционных агентов. При использовании ПЦР копии очень небольшого количества последовательностей ДНК экспоненциально усиливаются в серии циклов изменения температуры. В настоящее время ПЦР является распространенным и часто незаменимым методом, используемым в медицинских лабораторных исследованиях для широкого круга задач, включая биомедицинские исследования и криминалистику.

Большинство методов ПЦР основаны на термоциклировании. При термоциклировании реактивы подвергаются многократным циклам нагревания и охлаждения, что позволяет проводить различные температурно-зависимые реакции, в частности, плавление ДНК и репликацию ДНК под действием ферментов. В ПЦР используются два основных реагента - праймеры, представляющие собой короткие одноцепочечные фрагменты ДНК, известные как олигонуклеотиды, которые являются комплементарной последовательностью к целевому участку ДНК, и ДНК-полимераза. На первом этапе ПЦР две нити двойной спирали ДНК физически разделяются при высокой температуре в процессе, называемом денатурацией нуклеиновой кислоты. На втором этапе температура

снижается, и праймеры связываются с комплементарными последовательностями ДНК. Затем две нити ДНК становятся шаблонами для ДНК-полимеразы, которая ферментативно собирает новую нить ДНК из свободных нуклеотидов - строительных блоков ДНК. По мере развития ПЦР образующаяся ДНК сама используется в качестве шаблона для репликации, приводя в движение цепную реакцию, в которой исходный шаблон ДНК экспоненциально усиливается.

Почти во всех приложениях ПЦР используется термостабильная ДНК-полимераза, например Таq-полимераза, фермент, первоначально выделенный из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*. Если бы использовалась термочувствительная полимеразы, она бы денатурировала под воздействием высоких температур на этапе денатурации. До использования Таq-полимеразы ДНК-полимеразу приходилось добавлять вручную каждый цикл, что было утомительным и дорогостоящим процессом.

Применение метода включает клонирование ДНК для секвенирования, клонирование и манипулирование генами, мутагенез генов; построение филогенезов на основе ДНК или функциональный анализ генов; диагностику и мониторинг генетических заболеваний; амплификацию древней ДНК, анализ генетических отпечатков пальцев для ДНК-профилирования (например, в криминалистике и при

определении родства); обнаружение патогенов в тестах на нуклеиновые кислоты для диагностики инфекционных заболеваний.



**Рисунок (44): ПЦР амплифицирует определенный участок нити ДНК.**

## **Принципы**

ПЦР амплифицирует определенный участок нити ДНК (ДНК-мишень). Большинство методов ПЦР амплифицируют фрагменты ДНК длиной от 0,1 до 10 килопар оснований (кбп),

хотя некоторые методы позволяют амплифицировать фрагменты длиной до 40 кбп. Количество амплифицированного продукта определяется доступными субстратами в реакции, которые становятся лимитирующими по мере протекания реакции.

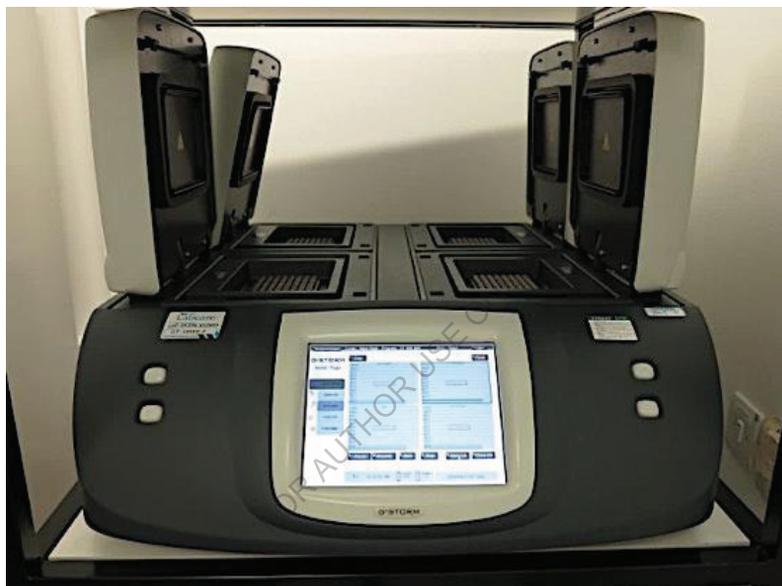
Для проведения базовой ПЦР требуется несколько компонентов и реагентов, включая:

- ДНК-шаблон, содержащий целевой участок ДНК для амплификации.
- ДНК-полимераза фермент, полимеризующий новые нити ДНК; особенно распространена термостойкая Taq-полимераза, поскольку она с большей вероятностью останется неповрежденной в процессе высокотемпературной денатурации ДНК.
- Два праймера ДНК, которые комплементарны 3' (три праймера) концам каждой из смысловой и антисмысловой нитей ДНК-мишени (ДНК-полимераза может связываться и удлиняться только с двухцепочечной областью ДНК; без праймеров нет двухцепочечного сайта инициации, на котором полимераза может связываться), специфические праймеры, комплементарные целевой области ДНК, выбираются заранее, и часто изготавливаются в лаборатории на заказ или приобретаются у коммерческих биохимических поставщиков.

- дезоксинуклеозидтрифосфаты или dNTPs, иногда называемые дезоксинуклеотидтрифосфатами, нуклеотиды, содержащие трифосфатные группы, строительные блоки, из которых ДНК-полимераза синтезирует новую нить ДНК
- буферный раствор, обеспечивающий подходящую химическую среду для оптимальной активности и стабильности ДНК-полимеразы
- двухвалентные катионы, обычно ионы магния (Mg) или марганца (Mn);  $Mg^{2+}$  является наиболее распространенным, но  $Mn^{2+}$  может использоваться для ПЦР-опосредованного мутагенеза ДНК, так как более высокая концентрация  $Mn^{2+}$  увеличивает частоту ошибок при синтезе ДНК и *моновалентные катионы*, обычно ионы калия (K).

Реакцию обычно проводят в объеме 10-200 мкл в небольших реакционных пробирках (объемом 0,2-0,5 мл) в термоциклере. Термоциклер нагревает и охлаждает реакционные пробирки для достижения температуры, необходимой на каждом этапе реакции. Многие современные термоциклеры используют эффект Пельтье, который позволяет как нагревать, так и охлаждать блок, содержащий ПЦР-пробирки, просто меняя направление электрического тока. Тонкостенные реакционные пробирки обеспечивают благоприятную теплопроводность для быстрого установления теплового равновесия. Большинство термоциклеров оснащены

крышками с подогревом для предотвращения конденсации влаги в верхней части реакционной пробирки. Старые термоциклеры, не имеющие подогреваемой крышки, требуют наличия слоя масла поверх реакционной смеси или шарика из парафина внутри пробирки.



**Рисунок (45): Как правило, ПЦР состоит из серии 20-40 повторяющихся изменений температуры, называемых термическими циклами.**

## **Процедура**

Как правило, ПЦР состоит из серии 20-40 повторяющихся изменений температуры, называемых термическими циклами,

причем каждый цикл обычно состоит из двух или трех дискретных температурных этапов (см. рисунок ниже). Циклированию часто предшествует один температурный шаг при очень высокой температуре ( $>90\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $194\text{ }^{\circ}\text{F}$ )), а в конце следует одна выдержка для удлинения конечного продукта или кратковременного хранения. Используемые температуры и продолжительность каждого цикла зависят от множества параметров, включая фермент, используемый для синтеза ДНК, концентрацию двухвалентных ионов и dNTPs в реакции, а также температуру плавления ( $T_m$ ) праймеров. Ниже перечислены отдельные этапы, характерные для большинства методов ПЦР:

- **Инициализация:** Этот этап требуется только для ДНК-полимераз, которые требуют тепловой активации при горячем старте ПЦР. Он заключается в нагревании реакционной камеры до температуры  $94\text{-}96\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $201\text{-}205\text{ }^{\circ}\text{F}$ ) или  $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $208\text{ }^{\circ}\text{F}$ ), если используются чрезвычайно термостабильные полимеразы, которую затем выдерживают в течение 1-10 минут.
- **Денатурация:** Этот этап является первым регулярным циклическим событием и заключается в нагревании реакционной камеры до  $94\text{-}98\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $201\text{-}208\text{ }^{\circ}\text{F}$ ) в течение 20-30 секунд. Это вызывает плавление ДНК, или денатурацию, двухцепочечной ДНК-шаблона путем разрыва водородных

связей между комплементарными основаниями, в результате чего образуются две одноцепочечные молекулы ДНК.

- Отжиг: На следующем этапе температура реакции снижается до 50-65 °C (122-149 °F) на 20-40 секунд, что позволяет отжигу праймеров к каждому из одноцепочечных ДНК-шаблонов. В реакционную смесь обычно включают два разных праймера: по одному для каждого из двух одноцепочечных комплементов, содержащих целевой регион. Праймеры сами являются одноцепочечными последовательностями, но они намного короче длины целевого региона, дополняя только очень короткие последовательности на 3' конце каждой нити.

Очень важно определить правильную температуру для этапа отжига, поскольку эффективность и специфичность сильно зависят от температуры отжига. Эта температура должна быть достаточно низкой, чтобы обеспечить гибридизацию праймера с нитью, но достаточно высокой, чтобы гибридизация была специфичной, например, праймер должен связываться только с идеально комплементарной частью нити и нигде больше. Если температура слишком низкая, праймер может связываться несовершенно. Если она слишком высока, праймер может вообще не связываться. Типичная температура отжига примерно на 3-5 °C ниже  $T_m$  используемых праймеров. Стабильные водородные связи между комплементарными

основаниями образуются только тогда, когда последовательность праймера очень близко совпадает с последовательностью шаблона. На этом этапе полимераза связывается с гибридом праймера и шаблона и начинает образование ДНК.

- Экстензия/удлинение: Температура на этом этапе зависит от используемой ДНК-полимеразы; оптимальная температура активности термостабильной ДНК-полимеразы Таq-полимеразы составляет приблизительно 75-80 °C (167-176 °F),<sup>[13][14]</sup> хотя обычно для этого фермента используется температура 72 °C (162 °F). На этом этапе ДНК-полимераза синтезирует новую нить ДНК, комплементарную нити шаблона ДНК, добавляя свободные dNTPs из реакционной смеси, комплементарные шаблону в направлении 5'-к-3', конденсируя 5'-фосфатную группу dNTPs с 3'-гидроксигруппой на конце зарождающейся (удлиняющейся) нити ДНК. Точное время, необходимое для элонгации, зависит как от используемой ДНК-полимеразы, так и от длины целевого участка ДНК, который необходимо амплифицировать. Как правило, при оптимальной температуре большинство ДНК-полимераз полимеризуют тысячу оснований в минуту. В оптимальных условиях, например, при отсутствии

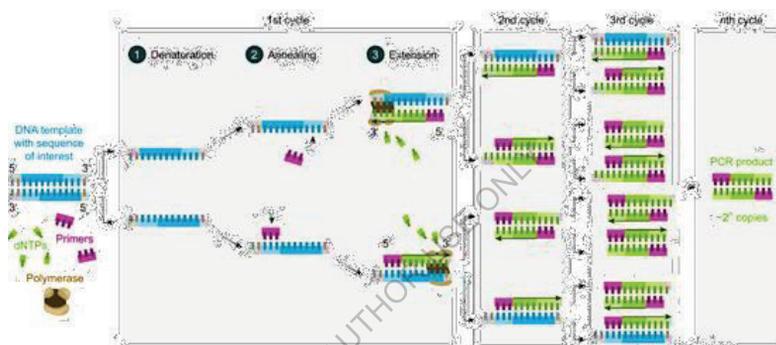
ограничений, связанных с ограничением субстратов или реагентов на каждом этапе удлинения/удлинения, количество целевых последовательностей ДНК удваивается. С каждым последующим циклом исходные нити шаблона плюс все вновь образованные нити становятся нитями шаблона для следующего раунда удлинения, что приводит к экспоненциальной (геометрической) амплификации конкретной целевой области ДНК.

Процессы денатурации, отжига и элонгации составляют один цикл. Для амплификации ДНК-мишени до миллионов копий требуется несколько циклов. Формула, используемая для расчета количества копий ДНК, образовавшихся после определенного числа циклов, равна  $2^n$ , где  $n$  – число циклов. Таким образом, в результате реакции, рассчитанной на 30 циклов, образуется  $2^{30}$ , или 1 073 741 824 копий исходного двухцепочечного участка ДНК-мишени.

- Окончательная элонгация: Этот отдельный этап необязателен, но выполняется при температуре 70-74 °C (158-165 °F) (температурный диапазон, необходимый для оптимальной активности большинства полимераз, используемых в ПЦР) в течение 5-15 минут после последнего цикла ПЦР для

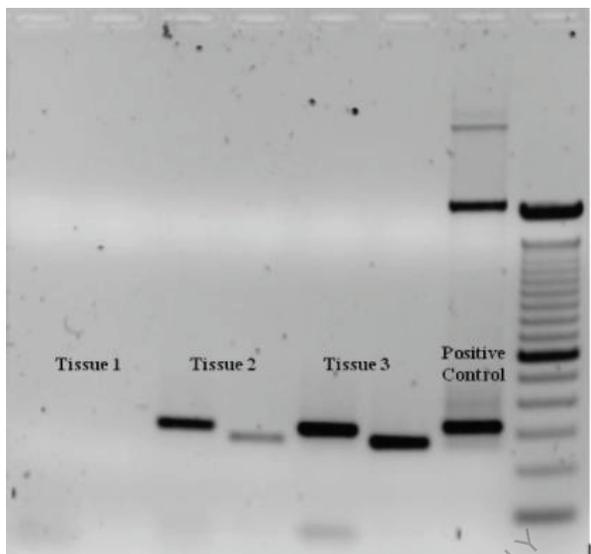
обеспечения полной элонгации любой оставшейся одноцепочечной ДНК.

- Окончательная выдержка: На последнем этапе реакционная камера охлаждается до 4-15 °С (39-59 °F) на неопределенное время и может использоваться для кратковременного хранения продуктов ПЦР.



**Рисунок (46): Этапы ПЦР.**

Чтобы проверить, успешно ли в результате ПЦР образовался предполагаемый целевой участок ДНК, иногда называемый амплимером или ампликоном, для разделения продуктов ПЦР по размеру можно использовать агарозный гель-электрофорез. Размер продуктов ПЦР определяется путем сравнения с ДНК-лестницей - маркером молекулярного веса, содержащим фрагменты ДНК известных размеров, который наносится на гель вместе с продуктами ПЦР.



**Рисунок (47): Гель-электрофорез.**

## Этапы

Как и в других химических реакциях, на скорость реакции и эффективность ПЦР влияют ограничивающие факторы. Таким образом, весь процесс ПЦР можно разделить на три стадии в зависимости от хода реакции:

- Экспоненциальная амплификация: При каждом цикле количество продукта удваивается (при условии 100% эффективности реакции). После 30 циклов одна копия ДНК может быть увеличена до 1 000 000 000 (одного миллиарда)

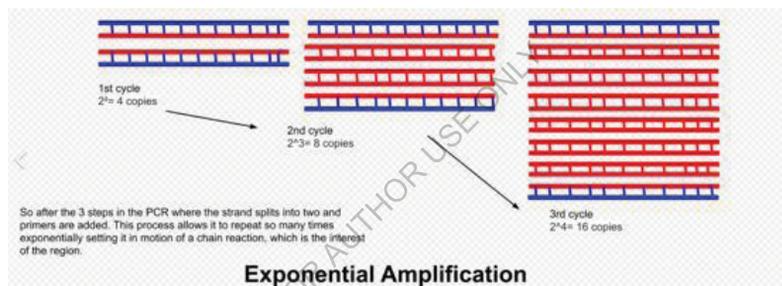
копий. В некотором смысле, репликация дискретной нити ДНК происходит в пробирке в контролируемых условиях.<sup>[15]</sup> Реакция очень чувствительна: в ней должны присутствовать лишь ничтожные количества ДНК.

- Стадия выравнивания: Реакция замедляется, поскольку ДНК-полимераза теряет активность, а расход реагентов, таких как dNTPs и праймеры, становится более ограниченным.
- Плато: Продукт больше не накапливается из-за истощения реагентов и фермента.

## **Оптимизация**

На практике ПЦР может давать сбои по разным причинам, отчасти из-за чувствительности к загрязнению, вызывающему амплификацию ложных продуктов ДНК. В связи с этим был разработан ряд методов и процедур для оптимизации условий ПЦР. Загрязнение посторонней ДНК решается с помощью лабораторных протоколов и процедур, которые отделяют смеси до ПЦР от потенциальных загрязнителей ДНК. Обычно это предполагает пространственное разделение зон постановки ПЦР от зон анализа или очистки продуктов ПЦР, использование одноразовой пластиковой посуды и тщательную очистку рабочей поверхности между постановками реакций. Методы разработки праймеров важны

для повышения выхода продуктов ПЦР и предотвращения образования ложных продуктов, а использование альтернативных компонентов буфера или ферментов полимеразы может помочь в амплификации длинных или других проблемных участков ДНК. Добавление реагентов, таких как формамид, в буферные системы может повысить специфичность и выход ПЦР. Компьютерное моделирование теоретических результатов ПЦР (электронная ПЦР) может быть выполнено для помощи в разработке праймеров.



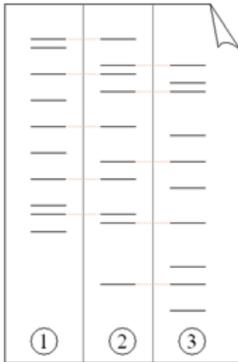
**Рисунок (48): Экспоненциальное усиление.**

### Селективное выделение ДНК

ПЦР позволяет выделять фрагменты ДНК из геномной ДНК путем селективной амплификации определенного участка ДНК. Такое использование ПЦР расширяет возможности многих методов, таких как создание гибридизационных зондов для гибридизации по Саузерну или Северу и

клонирование ДНК, которые требуют больших объемов ДНК, представляющих определенный регион ДНК. ПЦР обеспечивает эти методы большим количеством чистой ДНК, позволяя анализировать образцы ДНК даже из очень малого количества исходного материала.

Другие применения ПЦР включают секвенирование ДНК для определения неизвестных ПЦР-амплифицированных последовательностей, в которых один из праймеров для амплификации может быть использован в секвенировании Сэнгера, выделение последовательности ДНК для ускорения технологий рекомбинантной ДНК, включающих вставку последовательности ДНК в плазмиду, фаг или космиду в зависимости от размера или в генетический материал другого организма. Бактериальные колонии, такие как *E. coli*, могут быть быстро проверены с помощью ПЦР на наличие правильных конструкций ДНК-векторов. ПЦР также может использоваться для генетической дактилоскопии - криминалистической техники, используемой для идентификации человека или организма путем сравнения экспериментальных ДНК, полученных с помощью различных методов ПЦР.



**Рисунок (49): Электрофорез ПЦР-амплифицированных фрагментов ДНК:**

Отец

1. Ребенок
2. Мать

Ребенок унаследовал некоторые, но не все отпечатки пальцев каждого из своих родителей, что дает ему новый, уникальный отпечаток.

Некоторые методы ПЦР-отпечатков обладают высокой дискриминационной способностью и могут использоваться для определения генетических отношений между особями, например, между родителями и детьми или между братьями и сестрами, и применяются при тестировании на отцовство. Этот метод также может быть использован для определения эволюционных отношений между организмами при

использовании определенных молекулярных часов, например, генов *16SrRNA* и *recA* микроорганизмов).

## **Аmplификация и количественное определение ДНК**

Поскольку ПЦР амплифицирует те участки ДНК, на которые она направлена, ПЦР можно использовать для анализа очень малых объемов образца. Это часто имеет решающее значение для судебно-медицинской экспертизы, когда в качестве улики можно использовать только следовые количества ДНК. ПЦР также может использоваться для анализа древней ДНК, возраст которой составляет десятки тысяч лет. Эти методы, основанные на ПЦР, были успешно использованы на животных, таких как сорокатысячелетний мамонт, а также на человеческой ДНК, в самых разных областях - от анализа египетских мумий до идентификации русского царя и тела английского короля Ричарда III.

Методы количественной ПЦР или ПЦР в реальном времени (qPCR, не путать с RT-PCR) позволяют оценить количество заданной последовательности, присутствующей в образце - этот метод часто применяется для количественного определения уровня экспрессии генов. Количественная ПЦР - это признанный инструмент для количественной оценки ДНК, который измеряет накопление продукта ДНК после каждого раунда амплификации ПЦР.

qPCR позволяет количественно определить и обнаружить конкретную последовательность ДНК в режиме реального времени, поскольку измеряет концентрацию во время процесса синтеза. Существует два метода одновременного обнаружения и количественного определения. Первый метод заключается в использовании флуоресцентных красителей, которые неспецифически удерживаются между двойными нитями. Второй метод предполагает использование зондов, которые кодируют определенные последовательности и имеют флуоресцентную метку. Обнаружение ДНК с помощью этих методов возможно только после гибридизации зондов с комплементарной ДНК. Интересной комбинацией методов является ПЦР в реальном времени и обратная транскрипция. Эта сложная техника, называемая RT-qPCR, позволяет количественно определить небольшое количество РНК. С помощью этой комбинированной техники мРНК преобразуется в кДНК, которая далее количественно оценивается с помощью qPCR. Эта техника снижает вероятность ошибки в конечной точке ПЦР,<sup>[24]</sup> увеличивая шансы на обнаружение генов, связанных с генетическими заболеваниями, такими как рак.<sup>[4]</sup> Лаборатории используют RT-qPCR для чувствительного измерения регуляции генов. Математические основы надежной количественной оценки ПЦР и RT-qPCR облегчают реализацию процедур точной подгонки экспериментальных данных в исследовательских,

медицинских, диагностических и инфекционных приложениях.

## **Медицинские и диагностические приложения**

Будущие родители могут быть протестированы на предмет носительства генетики, а их дети - на предмет наличия заболевания.<sup>[1]</sup> Образцы ДНК для пренатального тестирования могут быть получены путем амниоцентеза, взятия проб ворсин хориона или даже путем анализа редких клеток плода, циркулирующих в крови матери. ПЦР-анализ также необходим для преимплантационной генетической диагностики, когда отдельные клетки развивающегося эмбриона проверяются на наличие мутаций.

- ПЦР также может использоваться как часть чувствительного теста для типирования тканей, жизненно важного для трансплантации органов. В 2008 году даже поступило предложение заменить традиционные тесты на определение группы крови на основе антител тестами на основе ПЦР.
- Многие формы рака связаны с изменениями в онкогенах. Используя тесты на основе ПЦР для изучения этих мутаций, схемы терапии иногда могут быть индивидуально подобраны для пациента. ПЦР позволяет проводить раннюю диагностику злокачественных заболеваний, таких

как лейкоцитоз и лимфоцитоз, что в настоящее время является самым высоким показателем в исследованиях рака и уже используется в рутинной практике. ПЦР-анализ можно проводить непосредственно на образцах геномной ДНК для выявления транслокационно-специфических злокачественных клеток с чувствительностью, которая как минимум в 10 000 раз выше, чем у других методов. ПЦР очень полезна в медицине, поскольку позволяет выделять и амплифицировать опухолевые супрессоры. Количественная ПЦР, например, может использоваться для количественной оценки и анализа отдельных клеток, а также для распознавания подтверждений и комбинаций ДНК, мРНК и белков.

### **Применение при инфекционных заболеваниях**

ПЦР позволяет быстро и высокоспецифично диагностировать инфекционные заболевания, в том числе вызванные бактериями или вирусами.<sup>[33]</sup> ПЦР также позволяет идентифицировать некультивируемые или медленно растущие микроорганизмы, такие как микобактерии, анаэробные бактерии или вирусы, на основе анализа культур тканей и моделей животных. Основой применения ПЦР-диагностики в микробиологии является обнаружение

инфекционных агентов и дискриминация непатогенных и патогенных штаммов на основе специфических генов.

Характеристика и обнаружение организмов инфекционных заболеваний были революционизированы с помощью ПЦР следующим образом:

- Вирус иммунодефицита человека, или ВИЧ, представляет собой сложную цель для обнаружения и искоренения. Самые первые тесты на инфекцию основывались на наличии антител к вирусу, циркулирующих в крови. Однако антитела появляются только через много недель после заражения, материнские антитела маскируют инфекцию новорожденного, а терапевтические средства для борьбы с инфекцией не влияют на антитела. Были разработаны ПЦР-тесты, которые могут обнаружить всего один вирусный геном среди ДНК более 50 000 клеток-хозяев. Инфекции можно выявлять раньше, донорскую кровь можно проверять непосредственно на наличие вируса, новорожденных можно сразу же тестировать на наличие инфекции, а эффект от противовирусного лечения можно оценить количественно.
- Некоторые болезнетворные организмы, например, возбудители туберкулеза, трудно получить от пациентов и медленно выращивать в лаборатории. Тесты на основе ПЦР позволяют обнаружить небольшое количество

болезнетворных организмов (как живых, так и мертвых) в удобных образцах. Детальный генетический анализ также может быть использован для выявления устойчивости к антибиотикам, что позволяет проводить немедленную и эффективную терапию. Эффект терапии также может быть немедленно оценен.

- Распространение болезнетворного организма через популяции домашних или диких животных можно отслеживать с помощью ПЦР-тестов. Во многих случаях можно обнаружить и отследить появление новых вирулентных подтипов. Подтипы организма, которые были ответственны за предыдущие эпидемии, также могут быть определены с помощью ПЦР-анализа.
- Вирусную ДНК можно обнаружить с помощью ПЦР. Используемые праймеры должны быть специфичны к целевым последовательностям в ДНК вируса, и ПЦР может использоваться для диагностических анализов или секвенирования ДНК вирусного генома. Высокая чувствительность ПЦР позволяет обнаружить вирус вскоре после заражения и даже до начала заболевания.<sup>[33]</sup> Такое раннее обнаружение может дать врачам значительное преимущество в лечении. Количество вируса ("вирусная нагрузка") в организме пациента также может быть определено с помощью методов количественного анализа ДНК на основе ПЦР. Разновидность ПЦР (RT-PCR)

используется для выявления вирусной РНК, а не ДНК: в этом тесте фермент обратная транскриптаза используется для создания последовательности ДНК, соответствующей вирусной РНК; затем эта ДНК амплифицируется в соответствии с обычным методом ПЦР. RT-PCR широко используется для выявления вирусного генома SARS-CoV-2.

- Такие заболевания, как коклюш (или коклюш), вызываются бактерией *Bordetella pertussis*. Эта бактерия характеризуется серьезной острой респираторной инфекцией, которая поражает различных животных и людей и приводит к гибели многих маленьких детей. Коклюшный токсин - это белковый экзотоксин, который связывается с клеточными рецепторами двумя димерами и реагирует с различными типами клеток, такими как Т-лимфоциты, играющие роль в клеточном иммунитете. ПЦР является важным инструментом тестирования, который позволяет обнаружить последовательности в гене коклюшного токсина. Поскольку ПЦР обладает высокой чувствительностью к токсину и быстрым временем выполнения, она очень эффективна для диагностики коклюша по сравнению с культурой.

## Криминалистические приложения

Разработка протоколов генетического (или ДНК) дактилоскопирования на основе ПЦР нашла широкое применение в криминалистике:

- В своей наиболее дискриминационной форме *генетическая дактилоскопия* может однозначно отличить одного человека от всего населения мира. На месте преступления могут быть выделены мельчайшие образцы ДНК, которые сравниваются с образцами ДНК подозреваемых или с ДНК из базы данных более ранних улик или осужденных. Более простые версии этих тестов часто используются для быстрого исключения подозреваемых в ходе уголовного расследования. Улики, полученные в результате преступлений десятилетней давности, могут быть проверены, подтверждая или оправдывая первоначально осужденных людей.
- Судебно-медицинское типирование ДНК является эффективным способом идентификации или оправдания подозреваемых в совершении преступлений благодаря анализу улик, обнаруженных на месте преступления. В геноме человека имеется множество повторяющихся областей, которые можно найти в последовательностях генов или в некодирующих областях генома. В частности,

до 40% человеческой ДНК состоит из повторяющихся участков. Существует две различные категории этих повторяющихся некодирующих областей генома. Первая категория называется тандемными повторами с переменным числом (VNTR), длина которых составляет 10-100 пар оснований, а вторая категория называется короткими тандемными повторами (STR), состоящими из повторяющихся участков длиной 2-10 пар оснований. ПЦР используется для амплификации нескольких известных VNTR и STR с использованием праймеров, которые фланкируют каждую из повторяющихся областей. Размеры фрагментов, полученных от любого индивидуума по каждому из STR, указывают, какие аллели присутствуют. Анализируя несколько STR для одного человека, можно найти набор аллелей для каждого человека, который статистически вероятно будет уникальным. Исследователи определили полную последовательность генома человека. Эта последовательность легко доступна на сайте NCBI и используется во многих реальных приложениях. Например, ФБР составило набор участков ДНК-маркеров, используемых для идентификации, и они называются базой данных ДНК Combined DNA Index System (CODIS). Использование этой базы данных позволяет применять статистический анализ для определения вероятности совпадения образца ДНК. ПЦР - это очень мощный и

значимый аналитический инструмент, используемый для судебно-медицинского типирования ДНК, поскольку для анализа исследователям требуется лишь очень небольшое количество целевой ДНК. Например, один человеческий волос с прикрепленным волосяным фолликулом имеет достаточно ДНК для проведения анализа. Аналогичным образом, несколько сперматозоидов, образцы кожи из-под ногтей или небольшое количество крови могут обеспечить достаточное количество ДНК для проведения окончательного анализа.

- Менее дискриминирующие формы ДНК-отпечатков могут помочь в ДНК-тестировании отцовства, когда человек сопоставляется со своими близкими родственниками. ДНК из неопознанных человеческих останков может быть протестирована и сравнена с ДНК возможных родителей, братьев, сестер или детей. Аналогичное тестирование может быть использовано для подтверждения биологических родителей усыновленного или похищенного ребенка. Также может быть подтвержден (или исключен) реальный биологический отец новорожденного.
- Конструкция PCR AMGX/AMGY облегчила амплификацию последовательностей ДНК из очень мизерного количества генома. Однако она также может быть использована для определения пола в реальном

времени по образцам костей для судебно-медицинской экспертизы. Это обеспечивает мощный и эффективный способ определения пола в судебно-медицинских делах и древних образцах.

## **Приложения**

ПЦР применяется во многих областях исследований в молекулярной генетике:

- ПЦР позволяет быстро получать короткие фрагменты ДНК, даже если известна не более чем последовательность двух праймеров. Эта способность ПЦР расширяет возможности многих методов, таких как создание гибридизационных зондов для гибридизации по Саузерну или Северному блоту. ПЦР обеспечивает эти методы большим количеством чистой ДНК, иногда одноцепочечной, что позволяет проводить анализ даже из очень малого количества исходного материала.
- Задача секвенирования ДНК также может быть облегчена с помощью ПЦР. Известные сегменты ДНК можно легко получить от пациента с мутацией генетического заболевания. Модификации техники амплификации позволяют выделить сегменты из совершенно неизвестного генома или генерировать только одну нить интересующего участка.

- ПЦР имеет множество применений по сравнению с более традиционным процессом клонирования ДНК. Он может выделять сегменты для вставки в вектор из большого генома, который может быть доступен только в небольших количествах. Используя один набор "векторных праймеров", можно также анализировать или извлекать фрагменты, которые уже были вставлены в вектор. Некоторые изменения в протоколе ПЦР могут вызвать мутации (общие или направленные на участок) вставленного фрагмента.
- Сайты с метками последовательностей - это процесс, в котором ПЦР используется в качестве индикатора того, что определенный сегмент генома присутствует в конкретном клоне. В рамках проекта "Геном человека" это приложение оказалось жизненно важным для картирования клонов космид, которые они секвенировали, и для координации результатов, полученных в разных лабораториях.
- Одним из применений ПЦР является филогенетический анализ ДНК из древних источников, например, найденной в найденных костях неандертальцев, из замороженных тканей мамонтов или из мозга египетских мумий. В некоторых случаях сильно деградированная ДНК из этих источников может быть вновь собрана на ранних стадиях амплификации.

- Распространенным применением ПЦР является изучение закономерностей экспрессии генов. Ткани (или даже отдельные клетки) могут быть проанализированы на разных стадиях, чтобы увидеть, какие гены стали активными, а какие были выключены. В этом случае также может использоваться количественная ПЦР для определения фактических уровней экспрессии.
- Способность ПЦР одновременно амплифицировать несколько локусов из отдельных сперматозоидов значительно расширила более традиционную задачу генетического картирования путем изучения хромосомных кроссинговеров после мейоза. Редкие случаи кроссинговера между очень близкими локусами были непосредственно замечены при анализе тысяч отдельных сперматозоидов. Аналогичным образом можно анализировать необычные делеции, инсерции, транслокации или инверсии, и все это без необходимости ждать или платить за долгие и трудоемкие процессы оплодотворения, эмбриогенеза.
- Сайт-направленный мутагенез: С помощью ПЦР можно создавать мутантные гены с мутациями, которые ученые выбирают по своему усмотрению. Эти мутации могут быть выбраны для того, чтобы понять, как белки выполняют свои функции, а также для изменения или улучшения функции белка.

## **Преимущества**

ПЦР имеет ряд преимуществ. Она довольно проста для понимания и использования и быстро дает результаты. Метод высокочувствителен и способен производить миллионы и миллиарды копий определенного продукта для секвенирования, клонирования и анализа. qRT-PCR имеет те же преимущества, что и ПЦР, с дополнительным преимуществом - количественным определением синтезированного продукта. Поэтому он используется для анализа изменений уровня экспрессии генов в опухолях, микробах и других заболеваниях.

ПЦР - очень мощный и практичный исследовательский инструмент. С помощью ПЦР выясняется последовательность неизвестной этиологии многих заболеваний. Этот метод может помочь определить последовательность ранее неизвестных вирусов, связанных с уже известными, и таким образом дать нам лучшее понимание самой болезни. Если процедуру удастся еще больше упростить и разработать чувствительные нерадиометрические системы обнаружения, ПЦР займет видное место в клинической лаборатории на долгие годы.

## **Ограничения**

Одним из основных ограничений ПЦР является то, что для создания праймеров, позволяющих проводить селективную амплификацию, необходима предварительная информация о целевой последовательности. Это означает, что, как правило, пользователи ПЦР должны знать точную последовательность (последовательности) перед целевой областью на каждом из двух одноцепочечных шаблонов, чтобы гарантировать, что ДНК-полимераза правильно связывается с гибридами праймера и шаблона и впоследствии генерирует всю целевую область во время синтеза ДНК.

Как и все ферменты, ДНК-полимеразы также подвержены ошибкам, что в свою очередь вызывает мутации в генерируемых фрагментах ПЦР.

Еще одним ограничением ПЦР является то, что даже самое незначительное количество загрязняющей ДНК может амплифицироваться, что приведет к недостоверным или неоднозначным результатам. Чтобы свести к минимуму вероятность загрязнения, исследователи должны выделить отдельные помещения для подготовки реагентов, проведения ПЦР и анализа продукта. Реагенты следует разливать в одноразовые аликвоты. Следует регулярно использовать пипетки с одноразовыми плунжерами и удлиненными наконечниками для пипеток. Кроме того, рекомендуется обеспечить однонаправленный рабочий процесс в

лаборатории. Материалы и реагенты, используемые в комнатах для ПЦР и анализа, не должны попадать в комнату для подготовки ПЦР без тщательной дезинфекции. Образцы окружающей среды, содержащие гуминовые кислоты, могут препятствовать амплификации ПЦР и приводить к неточным результатам.

## Вариации

- Аллель-специфическая ПЦР: метод диагностики или клонирования, основанный на однонуклеотидных вариациях (SNV, не путать с SNPs) (различия в одном основании у пациента). Он требует предварительного знания последовательности ДНК, включая различия между аллелями, и использует праймеры, 3' концы которых охватывают SNV (обычно включается буфер пар оснований вокруг SNV). Амплификация ПЦР в строгих условиях гораздо менее эффективна при наличии несоответствия между шаблоном и праймером, поэтому успешная амплификация с праймером, специфичным для SNP, сигнализирует о наличии конкретного SNP в последовательности.
- Сборка ПЦР или полимеразная циклическая сборка (PCA): искусственный синтез длинных последовательностей ДНК

путем проведения ПЦР на пуле длинных олигонуклеотидов с короткими перекрывающимися сегментами. Олигонуклеотиды чередуются между смысловым и антисмысловым направлениями, а перекрывающиеся сегменты определяют порядок фрагментов ПЦР, тем самым избирательно производя конечный длинный продукт ДНК.

- Асимметричная ПЦР: преимущественно амплифицирует одну нить ДНК в шаблоне двухцепочечной ДНК. Используется при секвенировании и гибридизационном зондировании, когда требуется амплификация только одной из двух комплементарных нитей. ПЦР проводится как обычно, но с большим избытком праймера для нити, предназначенной для амплификации. Из-за медленной (арифметической) амплификации в конце реакции после израсходования лимитирующего праймера требуются дополнительные циклы ПЦР. Недавняя модификация этого процесса, известная как линейно-последэкспоненциальная ПЦР (LATE-ПЦР), использует лимитирующий праймер с более высокой температурой плавления ( $T_m$ ), чем у избыточного праймера, чтобы сохранить эффективность реакции при снижении концентрации лимитирующего праймера в середине реакции.<sup>[46]</sup>
- Конвективная ПЦР: псевдоизотермический способ проведения ПЦР. Вместо многократного нагревания и охлаждения ПЦР-смеси раствор подвергается тепловому

градиенту. Возникающий в результате тепловой нестабильности конвективный поток автоматически перемещает реагенты для ПЦР из горячей и холодной областей, что позволяет проводить ПЦР многократно. Такие параметры, как тепловые граничные условия и геометрия корпуса ПЦР, могут быть оптимизированы для получения надежной и быстрой ПЦР за счет использования хаотических полей потока.<sup>[48]</sup> Такая установка для ПЦР с конвективным потоком значительно снижает потребление энергии устройства и время работы.

- Наборная ПЦР: высокопараллельный метод извлечения точных молекул ДНК для синтеза генов. Сложная библиотека молекул ДНК модифицируется уникальными фланкирующими метками перед массовым параллельным секвенированием. Затем праймеры, направленные на метки, позволяют извлекать молекулы с желаемыми последовательностями с помощью ПЦР.
- Цифровая ПЦР (dPCR): используется для измерения количества целевой последовательности ДНК в образце ДНК. Образец ДНК сильно разбавляется, так что после параллельного проведения многих ПЦР в некоторых из них не попадает ни одной молекулы целевой ДНК. Концентрация целевой ДНК рассчитывается по доле отрицательных результатов. Отсюда и название "цифровая ПЦР".

- Хеликазозависимая амплификация: похожа на традиционную ПЦР, но использует постоянную температуру, а не циклы денатурации и отжига/расширения. Вместо тепловой денатурации используется ДНК-геликаза - фермент, разматывающий ДНК.
- Горячий старт ПЦР: метод, который снижает неспецифическую амплификацию на начальных установочных этапах ПЦР. Он может быть выполнен вручную путем нагревания компонентов реакции до температуры денатурации (например, 95 °С) перед добавлением полимеразы. Были разработаны специализированные ферментные системы, которые ингибируют активность полимеразы при температуре окружающей среды, либо путем связывания антитела<sup>[12][52]</sup> либо благодаря наличию ковалентно связанных ингибиторов, которые диссоциируют только после высокотемпературного этапа активации. Горячий старт/холодный финиш ПЦР достигается с помощью новых гибридных полимераз, которые неактивны при температуре окружающей среды и мгновенно активируются при температуре элонгации.
- *In silico PCR* (digital PCR, virtual PCR, electronic PCR, e-PCR) относится к вычислительным инструментам, используемым для расчета теоретических результатов

полимеразной цепной реакции с использованием заданного набора праймеров (зондов) для амплификации последовательностей ДНК из секвенированного генома или транскриптома. ПЦР *in silico* была предложена в качестве учебного пособия по молекулярной биологии.<sup>[53]</sup>

- Межпоследовательная специфическая ПЦР (ISSR): метод ПЦР для дактилоскопии ДНК, который амплифицирует области между повторами простых последовательностей для получения уникального отпечатка длины амплифицированного фрагмента.
- Инверсная ПЦР: обычно используется для определения фланкирующих последовательностей вокруг геномных вставок. Она включает серию перевариваний ДНК и самолигирование, в результате чего на обоих концах неизвестной последовательности образуются известные последовательности.
- ПЦР, опосредованная лигированием: использует небольшие ДНК-линкеры, лигированные к интересующей ДНК, и несколько праймеров, отжигающих от ДНК-линкеров; используется для секвенирования ДНК, "хождения по геному" и определения следов ДНК.
- ПЦР, специфичная для метилирования (MSP): разработана Стивеном Бейлином и Джеймсом Г. Германом в Медицинской школе Джона Хопкинса и используется для

обнаружения метилирования островков CpG в геномной ДНК. ДНК сначала обрабатывается бисульфитом натрия, который превращает неметилированные основания цитозина в урацил, который распознается праймерами ПЦР как тимин. Затем на модифицированной ДНК проводятся две ПЦР с использованием наборов праймеров, идентичных за исключением любых CpG-островков в последовательностях праймеров. В этих точках один набор праймеров распознает ДНК с цитозинами для амплификации метилированной ДНК, а другой набор распознает ДНК с урацилом или тиминном для амплификации неметилированной ДНК. MSP с использованием qPCR также может быть проведен для получения количественной, а не качественной информации о метилировании.

- Минипримерная ПЦР: использует термостабильную полимеразу (S-Tbr), которая может удлинять из коротких праймеров "smalligos" длиной 9 или 10 нуклеотидов. Этот метод позволяет нацеливать ПЦР на меньшие участки связывания праймеров и используется для амплификации консервативных последовательностей ДНК, таких как ген 16S или эукариотический ген 18S) рРНК.
- Мультиплексная лигазависимая амплификация зондов (MLPA): позволяет амплифицировать несколько мишеней с

помощью одной пары праймеров, что позволяет избежать ограничений разрешения мультиплексной ПЦР.

- Мультиплексная ПЦР: состоит из нескольких наборов праймеров в одной ПЦР-смеси для получения ампликонов разного размера, специфичных для различных последовательностей ДНК. Благодаря одновременной нацеленности на несколько генов можно получить дополнительную информацию в результате одного теста, для проведения которого в противном случае потребовалось бы в несколько раз больше реагентов и больше времени. Температура отжига для каждого из наборов праймеров должна быть оптимизирована для корректной работы в рамках одной реакции, а также размеры ампликонов. То есть длина их пар оснований должна быть достаточно разной, чтобы при визуализации на гель-электрофорезе образовывались отдельные полосы.
- ПЦР с использованием наночастиц (наноПЦР): некоторые наночастицы (НП) могут повышать эффективность ПЦР (поэтому их называют наноПЦР), а некоторые могут даже превосходить оригинальные усилители ПЦР. Сообщалось, что квантовые точки (QDs) могут повысить специфичность и эффективность ПЦР. Одностенные углеродные нанотрубки (SWCNTs) и многостенные углеродные нанотрубки (MWCNTs) эффективны в усилении амплификации длинной ПЦР. Углеродный нанопорошок

(CNP) может повысить эффективность повторной ПЦР и длинной ПЦР, а оксид цинка, диоксид титана и Ag NPs, как было установлено, увеличивают выход ПЦР. Предыдущие данные показали, что неметаллические НП сохраняют приемлемую точность амплификации. Учитывая, что многие НП способны повышать эффективность ПЦР, становится ясно, что существует большой потенциал для усовершенствования технологии наноПЦР и разработки продуктов.<sup>[59][60]</sup>

- Вложенная ПЦР: повышает специфичность амплификации ДНК, снижая фон, вызванный неспецифической амплификацией ДНК. Два набора праймеров используются в двух последовательных ПЦР. В первой реакции одна пара праймеров используется для получения продуктов ДНК, которые, помимо предполагаемой цели, могут состоять из неспецифически амплифицированных фрагментов ДНК. Затем продукт(ы) используют во второй ПЦР с набором праймеров, сайты связывания которых полностью или частично отличаются от сайтов связывания каждого из праймеров, использованных в первой реакции, и расположены в 3' от них. Вложенная ПЦР часто более успешна в специфической амплификации длинных фрагментов ДНК, чем обычная ПЦР, но она требует более детального знания целевых последовательностей.

- ПЦР с расширением внахлест или сплайсинг с расширением внахлест (SOEing): метод генной инженерии, который используется для сращивания двух или более фрагментов ДНК, содержащих комплементарные последовательности. Он используется для соединения фрагментов ДНК, содержащих гены, регуляторные последовательности или мутации; метод позволяет создавать специфические и длинные конструкции ДНК. Он также может вводить делеции, вставки или точечные мутации в последовательность ДНК.
- PAN-AC: использует изотермические условия для амплификации и может применяться в живых клетках.
- количественная ПЦР (qPCR): используется для измерения количества целевой последовательности (обычно в режиме реального времени). Она количественно измеряет начальные количества ДНК, кДНК или РНК. Количественная ПЦР обычно используется для определения наличия последовательности ДНК в образце и количества ее копий в образце. *Количественная ПЦР* имеет очень высокую степень точности. Методы количественной ПЦР используют флуоресцентные красители, такие как Sybr Green, EvaGreen или флуорофорсодержащие ДНК-зонды, такие как TaqMan, для измерения количества амплифицированного продукта в режиме реального времени. Иногда его также сокращают до RT-PCR (ПЦР в

реальном времени), но это сокращение следует использовать только для ПЦР с обратной транскрипцией. qPCR - это подходящее сокращение для количественной ПЦР (ПЦР в реальном времени).

- ПЦР с обратным комплементом (RC-PCR): Позволяет добавлять функциональные домены или последовательности по выбору независимо к любому концу генерируемого ампликона в одной реакции в закрытой пробирке. Этот метод генерирует специфичные для цели праймеры в ходе реакции путем взаимодействия универсальных праймеров (которые содержат желаемые последовательности или домены, подлежащие добавлению) и RC-зондов.
- ПЦР с обратной транскрипцией (RT-PCR): для амплификации ДНК из РНК. Обратная транскриптаза осуществляет обратную транскрипцию РНК в кДНК, которая затем усиливается с помощью ПЦР. ПЦР широко используется в профилировании экспрессии, для определения экспрессии гена или для идентификации последовательности транскрипта РНК, включая места начала и окончания транскрипции. Если известна последовательность геномной ДНК гена, RT-PCR можно использовать для картирования расположения экзонов и интронов в гене. 5' конец гена (соответствующий сайту

начала транскрипции) обычно определяется с помощью RACE-PCR (Rapid Amplification of cDNA Ends).

- Рназа Н-зависимая ПЦР (rhPCR): модификация ПЦР, в которой используются праймеры с блоком удлинения 3', который может быть удален термостабильным ферментом Рназа III. Эта система уменьшает количество праймеродимеров и позволяет проводить мультиплексные реакции с большим количеством праймеров.
- Односпецифический праймер-ПЦР (SSP-ПЦР): позволяет амплифицировать двухцепочечную ДНК, даже если информация о последовательности доступна только на одном конце. Этот метод позволяет амплифицировать гены, для которых доступна только частичная информация о последовательности, и обеспечивает однонаправленную ходьбу по геному от известных к неизвестным регионам хромосомы.
- Твердофазная ПЦР: Охватывает множество значений, включая полонийную амплификацию, когда колонии ПЦР получают в гелевой матрице, например, мостовую ПЦР (праймеры ковалентно связаны с поверхностью твердой опоры), обычную твердофазную ПЦР (когда асимметричная ПЦР применяется в присутствии праймера на твердой опоре, последовательность которого совпадает с последовательностью одного из водных праймеров) и улучшенную твердофазную ПЦР, когда обычная

твердофазная ПЦР может быть улучшена путем использования праймеров с высоким  $T_m$  и вложенных праймеров на твердой опоре с дополнительным применением термического "шага" для благоприятного праймирования на твердой опоре.

- Суицидальная ПЦР: обычно используется в палеогенетике или других исследованиях, где главным приоритетом является избежание ложноположительных результатов и обеспечение специфичности амплифицированного фрагмента. Первоначально этот метод был описан в исследовании для проверки присутствия микроба *Yersinia pestis* в образцах зубов, полученных из могил XIV века людей, предположительно погибших от чумы во время средневековой эпидемии Черной смерти. Метод предписывает использовать любую комбинацию праймеров только один раз в ПЦР, отсюда и термин "самоубийство". Праймеры никогда не должны были использоваться ни в одной реакции ПЦР с положительным контролем, и праймеры всегда должны быть нацелены на геномную область, никогда ранее не амплифицированную в лаборатории с использованием этого или любого другого набора праймеров. Это гарантирует, что в лаборатории нет загрязняющей ДНК из предыдущих реакций ПЦР, которая в противном случае могла бы генерировать ложноположительные результаты.

- Термическая асимметричная интерлейсная ПЦР (TAIL-PCR): для выделения неизвестной последовательности, фланкирующей известную последовательность. В пределах известной последовательности в TAIL-PCR используется вложенная пара праймеров с разными температурами отжига; вырожденный праймер используется для амплификации в другом направлении от неизвестной последовательности.
- Touchdown PCR (Step-down PCR): вариант ПЦР, направленный на снижение неспецифического фона путем постепенного понижения температуры отжига по ходу цикла ПЦР. Температура отжига в начальных циклах обычно на несколько градусов (3-5 °C) выше  $T_m$  используемых праймеров, а в последующих циклах - на несколько градусов (3-5 °C) ниже  $T_m$  праймера. Более высокие температуры обеспечивают большую специфичность связывания праймеров, а более низкие температуры позволяют проводить более эффективную амплификацию из специфических продуктов, образующихся в начальных циклах.
- Universal Fast Walking: для "хождения по геному" и генетического дактилоскопирования с использованием более специфичной "двусторонней" ПЦР, чем обычные "односторонние" подходы (с использованием только одного праймера, специфичного для гена, и одного общего

праймера, что может привести к артефактному "шуму"), благодаря механизму, включающему образование лариат-структуры. Упрощенными производными UFW являются LaNe RAGE (лариат-зависимая вложенная ПЦР для быстрой амплификации концов геномной ДНК), 5'RACE LaNe и 3'RACE LaNe.

Термостойкие ферменты, являющиеся ключевым компонентом полимеразной цепной реакции, были обнаружены в 1960-х годах как продукт жизнедеятельности микроорганизмов, обитавших в перегретых водах Грибного источника Йеллоустоуна.

В 1971 году Кьелл Клеппе и его коллеги из лаборатории Х. Гобинда Хораны впервые описали метод использования ферментативного анализа для репликации короткого шаблона ДНК с праймерами *in vitro*. Однако это раннее проявление основного принципа ПЦР не привлекло в то время особого внимания, и изобретение полимеразной цепной реакции в 1983 году обычно приписывается Кэри Маллису.

Когда Маллис разработал ПЦР в 1983 году, он работал в Эмеривилле, штат Калифорния, в корпорации Cetus, одной из первых биотехнологических компаний, где он отвечал за синтез коротких цепочек ДНК. Маллис писал, что идея ПЦР пришла ему в голову, когда он ехал однажды ночью в машине по шоссе Тихоокеанского побережья. Он мысленно

прикидывал новый способ анализа изменений-мутаций в ДНК, когда понял, что вместо этого изобрел метод амплификации любого участка ДНК путем повторяющихся циклов дубликации под действием ДНК-полимеразы. В журнале Scientific American Маллис кратко описал эту процедуру: "Начиная с одной молекулы генетического материала ДНК, ПЦР может создать 100 миллиардов подобных молекул в течение одного дня. Реакция проста в исполнении. Она требует не более чем пробирку, несколько простых реактивов и источник тепла". ДНК-отпечатки пальцев впервые были использованы для установления отцовства в 1988 году.

Маллис и профессор Майкл Смит, разработавший другие важные способы манипулирования ДНК, были совместно удостоены Нобелевской премии по химии в 1993 году, через семь лет после того, как Маллис и его коллеги из Cetus впервые применили его предложение на практике. Работа Маллиса и Р. К. Сайки и Х. А. Эрлиха 1985 года "Ферментативная амплификация геномных последовательностей  $\beta$ -глобина и анализ сайтов рестрикции для диагностики серповидноклеточной анемии" - изобретение полимеразной цепной реакции (ПЦР) - в 2017 году была отмечена премией Citation for Chemical Breakthrough Award от

Отдела истории химии Американского химического общества.

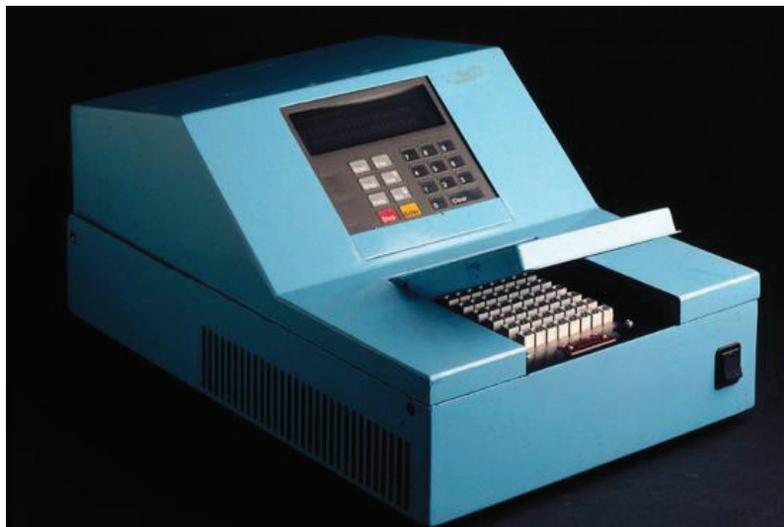
В основе метода ПЦР лежит использование подходящей ДНК-полимеразы, способной выдерживать высокие температуры  $>90\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $194\text{ }^{\circ}\text{F}$ ), необходимые для разделения двух нитей ДНК в двойной спирали ДНК после каждого цикла репликации. ДНК-полимеразы, первоначально использовавшиеся для экспериментов *in vitro*, предваряющих ПЦР, были неспособны выдерживать такие высокие температуры. Поэтому ранние процедуры репликации ДНК были очень неэффективными и трудоемкими, они требовали большого количества ДНК-полимеразы и постоянного обращения с ней на протяжении всего процесса.

Открытие в 1976 году ДНК-полимеразы *Taq*, очищенной от термофильной бактерии *Thermus aquaticus*, которая естественным образом обитает в жарких ( $50\text{-}80\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $122\text{-}176\text{ }^{\circ}\text{F}$ )) средах, таких как горячие источники, открыло путь к значительному усовершенствованию метода ПЦР. ДНК-полимераза, выделенная из *T. aquaticus*, стабильна при высоких температурах, оставаясь активной даже после денатурации ДНК, что избавляет от необходимости добавлять новую ДНК-полимеразу после каждого цикла. Это позволило автоматизировать процесс амплификации ДНК на базе термоциклера.

## Патентные споры

Метод ПЦР был запатентован Кэри Маллисом и закреплен за корпорацией Cetus, где Маллис работал, когда изобрел этот метод в 1983 году. Фермент Taq-полимераза также был запатентован. Было несколько громких судебных процессов, связанных с этим методом, включая неудачный иск, поданный компанией DuPont. Швейцарская фармацевтическая компания Hoffmann-La Roche приобрела права на патенты в 1992 году и в настоящее время владеет теми из них, которые все еще защищены.

В нескольких юрисдикциях по всему миру между компаниями Roche и Promega продолжается патентная борьба за фермент Taq-полимеразу. Юридические споры выходят за рамки срока действия оригинальных патентов на ПЦР и Taq-полимеразу, который истек 28 марта 2005 года.



**Рисунок (50): Процесс амплификации ДНК на основе термоциклера.**

## **RT-PCR**

RT-PCR" перенаправляет сюда. О полимеразной цепной реакции в реальном времени, также называемой количественной полимеразной цепной реакцией в реальном времени (qPCR) или кинетической полимеразной цепной реакцией, см. полимеразная цепная реакция в реальном времени.

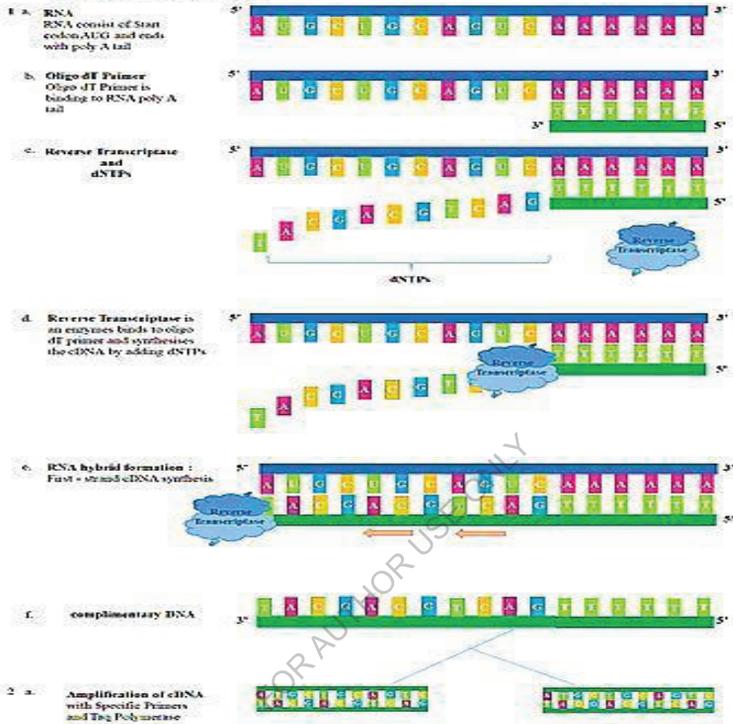
**Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (RT-PCR)**

это лабораторный метод, сочетающий обратную транскрипцию РНК в ДНК, в данном контексте называемую комплементарной ДНК или кДНК, и амплификацию специфических ДНК-мишеней с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). В первую очередь он используется для измерения количества конкретной РНК. Это достигается путем мониторинга реакции амплификации с помощью флуоресценции, метод называется ПЦР в реальном времени или количественной ПЦР (qPCR). Комбинированный RT-PCR и qPCR регулярно используются для анализа экспрессии генов и количественного определения вирусной РНК в исследовательских и клинических условиях.

Тесная связь между RT-PCR и qPCR привела к метонимическому использованию термина qPCR для обозначения RT-PCR. Такое использование может сбивать с толку, поскольку RT-PCR может использоваться без qPCR, например, для молекулярного клонирования, секвенирования или простого обнаружения РНК. И наоборот, qPCR может использоваться без RT-PCR, например, для количественного определения числа копий определенного фрагмента ДНК.

#### 4.8 Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

In RT-PCR, the RNA population is converted to cDNA by reverse transcription (RT), and then the cDNA is amplified by the polymerase chain reaction. The cDNA amplification step provides opportunities to further study the original RNA species, even when they are limited in amount or expressed in low abundance. Common applications of RT-PCR include detection of expressed genes, examination of transcript variants, and generation of cDNA templates for cloning and sequencing.



© Lokesh Thimmana, under the guidance of Dr. G. Matikarjuna, Assistant Professor, Molecular Biology, Agri Biotech Foundation.

Рисунок (51): Техника RT-PCR и q PCR.

Комбинированный метод RT-PCR и qPCR был описан как количественный RT-PCR или RT-PCR в реальном времени (иногда даже называемый количественным RT-PCR в реальном времени), был по-разному сокращен как qRT-PCR, RT-qPCR, RRT-PCR и rRT-PCR. Чтобы избежать путаницы, в таблице (4) будут последовательно использоваться следующие сокращения.

**Таблица (4): Аббревиатура типов ПЦР.**

<b>Техника</b>	<b>Аббревиатура</b>
<b>Полимеразная цепная реакция</b>	<b>ПЦР</b>
<b>Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией</b>	<b>RT-PCR</b>
<b>Полимеразная цепная реакция в реальном времени</b>	<b>qPCR</b>
<b>Комбинированный метод RT-PCR / qPCR</b>	<b>qRT-PCR</b>

Не все авторы, особенно ранние, используют это соглашение, и читатель должен быть осторожен при переходе по ссылкам. RT-PCR используется для обозначения как ПЦР в реальном времени (qPCR), так и ПЦР с обратной транскрипцией (RT-PCR).

С момента своего появления в 1977 году северный блот широко использовался для количественного определения РНК, несмотря на его недостатки: (а) трудоемкий метод, (б)

требует большого количества РНК для обнаружения, и (в) количественно неточен при низком содержании РНК.<sup>[10][11]</sup> Однако с момента изобретения Кэри Маллисом в 1983 году RT-PCR вытеснила северный блот как метод выбора для обнаружения и количественного определения РНК.

RT-PCR стала эталонной технологией для определения и/или сравнения уровней РНК по нескольким причинам: (а) она не требует обработки после ПЦР, (б) можно измерить широкий диапазон ( $>10^7$  - кратный) количества РНК, и (в) она позволяет получить как качественные, так и количественные данные.<sup>[5]</sup> Благодаря своей простоте, специфичности и чувствительности, RT-PCR используется в широком спектре приложений - от таких простых экспериментов, как количественное определение дрожжевых клеток в вине, до более сложных применений в качестве диагностических инструментов для выявления инфекционных агентов, таких как вирус птичьего гриппа и SARS-CoV-2.

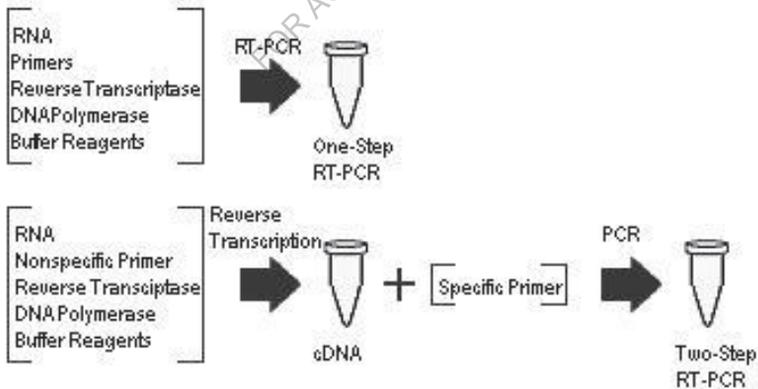
## Принципы

В RT-PCR шаблон РНК сначала преобразуется в комплементарную ДНК (кДНК) с помощью обратной транскриптазы (RT). Затем кДНК используется в качестве шаблона для экспоненциальной амплификации с помощью ПЦР. Использование RT-PCR для обнаружения РНК-

транскрипта произвело революцию в изучении экспрессии генов следующими важными способами:

- Сделал теоретически возможным обнаружение транскриптов практически любого гена<sup>[16]</sup>
- Обеспечивает амплификацию образца и устраняет необходимость в большом количестве исходного материала, необходимого при использовании северного блот-анализа
- Обеспечивает толерантность к деградации РНК до тех пор, пока РНК, охватывающая праймер, остается неповрежденной.

### Одноэтапная RT-PCR против двухэтапной RT-PCR



## **Рисунок (52): Одноэтапный RT-PCR против двухэтапного RT-PCR**

### **Одноэтапный и двухэтапный RT-PCR**

Количественное определение мРНК с помощью RT-PCR может быть выполнено в виде одноэтапной или двухэтапной реакции. Разница между этими двумя подходами заключается в количестве пробирок, используемых при проведении процедуры. Двухэтапная реакция требует, чтобы реакция обратной транскриптазы и ПЦР-амплификация проводились в отдельных пробирках. Недостатком двухэтапного подхода является подверженность контаминации из-за более частой обработки образца. С другой стороны, при одноэтапном подходе вся реакция от синтеза кДНК до ПЦР-амплификации проходит в одной пробирке. Считается, что одноэтапный подход позволяет минимизировать экспериментальный разброс, поскольку все ферментативные реакции протекают в одной среде. Он исключает этапы пипетирования продукта кДНК, что является трудоемким и чревато загрязнением реакции ПЦР. Дальнейшее использование устойчивых к ингибиторам полимераз, усилителей полимеразы и оптимизированных условий одностадийной RT-PCR позволяет проводить обратную транскрипцию РНК из неочищенных или сырых образцов, таких как цельная кровь и

сыворотка. Однако исходные шаблоны РНК подвержены деградации при одностадийном подходе, и использование этого подхода не рекомендуется при необходимости проведения повторных анализов из одного и того же образца. Кроме того, сообщается, что одноэтапный подход менее точен по сравнению с двухэтапным. Он также является предпочтительным методом анализа при использовании ДНК-связывающих красителей, таких как SYBR Green, поскольку устранение праймер-димеров может быть достигнуто простым изменением температуры плавления. Тем не менее, одноэтапный подход является относительно удобным решением для быстрого обнаружения целевой РНК непосредственно в биосенсинге.

### **RT-PCR с конечной точкой в сравнении с RT-PCR в реальном времени**

Количественную оценку продуктов RT-PCR в основном можно разделить на две категории: конечная точка и реальное время. Использование конечного RT-PCR предпочтительно для измерения изменений экспрессии генов в небольшом количестве образцов, но RT-PCR в реальном времени стал методом золотого стандарта для подтверждения количественных результатов, полученных при анализе

массивов или изменений экспрессии генов в глобальном масштабе.

### **RT-PCR с конечной точкой**

Подходы к измерению конечной точки RT-PCR требуют определения уровня экспрессии генов с помощью флуоресцентных красителей, таких как бромистый этидий, мечения продуктов ПЦР P32 с помощью фосфоримагера или сцинтилляционного подсчета. Конечная точка RT-PCR обычно достигается с помощью трех различных методов: относительного, конкурентного и сравнительного.

### **Относительная RT-PCR**

Относительная количественная оценка в RT-PCR включает совместную амплификацию внутреннего контроля одновременно с интересующим геном. Внутренний контроль используется для нормализации образцов. После нормализации можно провести прямое сравнение относительного количества транскриптов в нескольких образцах мРНК. Следует обратить внимание на то, что внутренний контроль должен быть выбран таким образом, чтобы на него не влияла экспериментальная обработка.

Уровень экспрессии должен быть постоянным во всех образцах и с интересующей мРНК, чтобы результаты были точными и значимыми. Поскольку количественная оценка результатов анализируется путем сравнения линейного диапазона амплификации мишени и контроля, крайне важно учитывать начальную концентрацию молекул мишени и скорость их амплификации до начала анализа. Результаты анализа выражаются в виде отношения сигнала гена к сигналу внутреннего контроля, значения которых затем могут быть использованы для сравнения образцов при оценке относительной экспрессии РНК мишени.

### **Конкурентная RT-PCR**

Конкурентный метод RT-PCR используется для абсолютного количественного определения. Он предполагает использование синтетической РНК-"конкурента", которую можно отличить от целевой РНК по небольшой разнице в размере или последовательности. Для получения точных результатов важно, чтобы синтетическая РНК была идентична по последовательности, но немного короче, чем целевая РНК. После разработки и синтеза известное количество РНК-конкурента добавляется в экспериментальные образцы и коамплифицируется с целевой РНК с помощью RT-PCR. Затем строится кривая концентрации конкурирующей РНК, которая используется для сравнения сигналов RT-PCR,

полученных от эндогенных транскриптов, чтобы определить количество мишени, присутствующей в образце.

### **Сравнительная RT-PCR**

Сравнительный RT-PCR похож на конкурентный RT-PCR в том, что целевая РНК конкурирует за амплификационные реагенты в рамках одной реакции с внутренним стандартом неродственной последовательности. После завершения реакции результаты сравниваются с кривой внешнего стандарта для определения концентрации целевой РНК. По сравнению с относительным и конкурентным методами количественного определения, сравнительный RT-PCR считается более удобным методом, поскольку не требует от исследователя проведения пилотного эксперимента; в относительном RT-PCR необходимо заранее определить экспоненциальный диапазон амплификации мРНК, а в конкурентном RT-PCR необходимо синтезировать синтетическую конкурирующую РНК.

### **RT-PCR в реальном времени**

Появление в последние несколько лет новых флуоресцентных методов маркировки ДНК позволило анализировать и обнаруживать продукты ПЦР в режиме реального времени и, как следствие, привело к широкому

распространению метода RT-PCR в реальном времени для анализа экспрессии генов. RT-PCR в реальном времени не только является методом выбора для количественной оценки экспрессии генов, но и предпочтительным методом получения результатов анализа массивов и экспрессии генов в глобальном масштабе. В настоящее время существует четыре различных флуоресцентных ДНК-зонда для обнаружения продуктов ПЦР в режиме реального времени: SYBR Green, TaqMan, молекулярные маяки и скорпионовы зонды. Все эти зонды позволяют обнаруживать продукты ПЦР путем генерирования флуоресцентного сигнала. В то время как краситель SYBR Green излучает флуоресцентный сигнал, просто связываясь с двухцепочечной ДНК в растворе, генерация флуоресценции зондов TaqMan, молекулярных маяков и скорпионов зависит от связи молекулы красителя и гасителя с олигонуклеотидными субстратами посредством резонансного переноса энергии Фёрстера (FRET).

## **SYBR Green**

Когда SYBR Green связывается с двухцепочечной ДНК продуктов ПЦР, он излучает свет при возбуждении. Интенсивность флуоресценции увеличивается по мере накопления продуктов ПЦР. Этот метод прост в использовании, так как нет необходимости в разработке

зондов, учитывая отсутствие специфичности связывания. Однако, поскольку краситель не различает двухцепочечную ДНК из продуктов ПЦР и ДНК из праймеров, завышение целевой концентрации является распространенной проблемой. В тех случаях, когда точное количественное определение является абсолютной необходимостью, необходимо проводить дополнительные анализы для подтверждения результатов. Тем не менее, среди методов определения продуктов RT-PCR в реальном времени SYBR Green является наиболее экономичным и простым в использовании.

### **Зонды Taq Man**

Зонды TaqMan представляют собой олигонуклеотиды, к 5' концу которых присоединен флуоресцентный зонд, а к 3' концу - гаситель. Во время ПЦР-амплификации эти зонды гибридизуются с целевыми последовательностями, расположенными в ампликоне, и по мере того, как полимеразы реплицируют шаблон со связанным TaqMan, она также расщепляет флуоресцентный зонд благодаря активности 5'-нуклеазы полимеразы. Поскольку тесная близость между гасящей молекулой и флуоресцентным зондом обычно препятствует обнаружению флуоресценции посредством FRET, развязывание приводит к увеличению интенсивности

флуоресценции пропорционально количеству циклов расщепления зонда. Хотя хорошо разработанные TaqMan-зонды дают точные результаты RT-PCR в реальном времени, их синтез является дорогостоящим и трудоемким, поскольку для каждой анализируемой мРНК-мишени необходимо изготавливать отдельные зонды. Кроме того, эти зонды чувствительны к свету и должны быть тщательно заморожены в виде аликвот для предотвращения деградации.

FOR AUTHOR USE ONLY

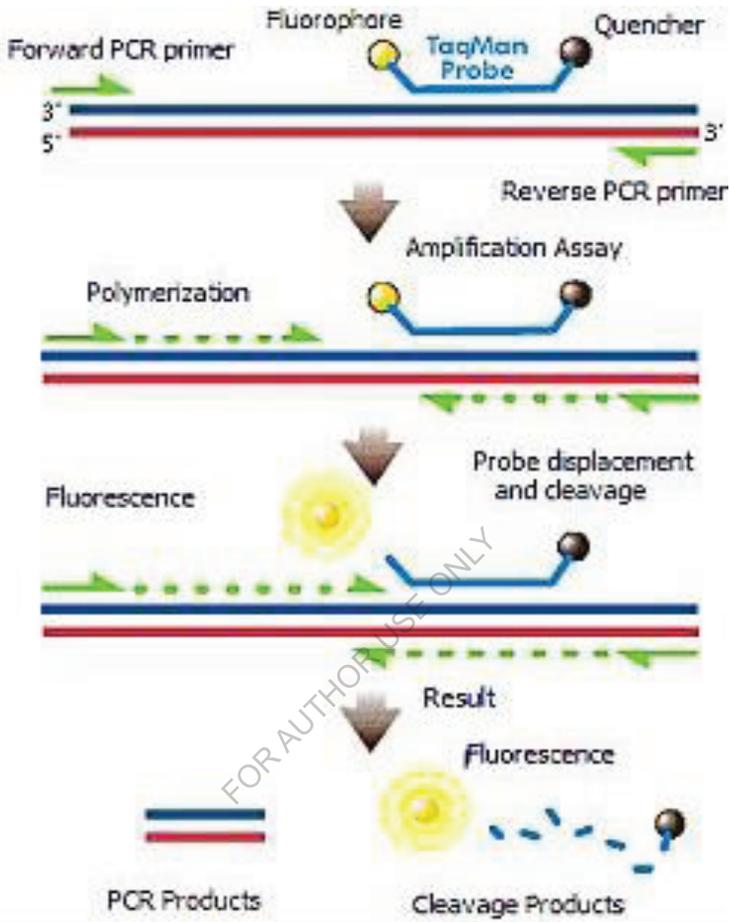


Рисунок (52): Этапы RT-PCR.

### Молекулярные маячковые зонды

Подобно зондам TaqMan, молекулярные маячки также используют FRET детекцию с флуоресцентными зондами, присоединенными к 5' концу и гасителем, присоединенным к 3' концу олигонуклеотидного субстрата. Однако, в то время

как флуоресцентные зонды TaqMan расщепляются в процессе амплификации, зонды молекулярных маяков остаются неповрежденными и связываются с новой мишенью в течение каждого цикла реакции. В свободном состоянии в растворе близость флуоресцентного зонда и молекулы гасителя предотвращает флуоресценцию через FRET. Однако, когда молекулярные зонды-маяки гибридизуются с мишенью, флуоресцентный краситель и гаситель разделяются, что приводит к испусканию света при возбуждении. Как и в случае с зондами TaqMan, молекулярные маяки дороги в синтезе и требуют отдельных зондов для каждой РНК-мишени.

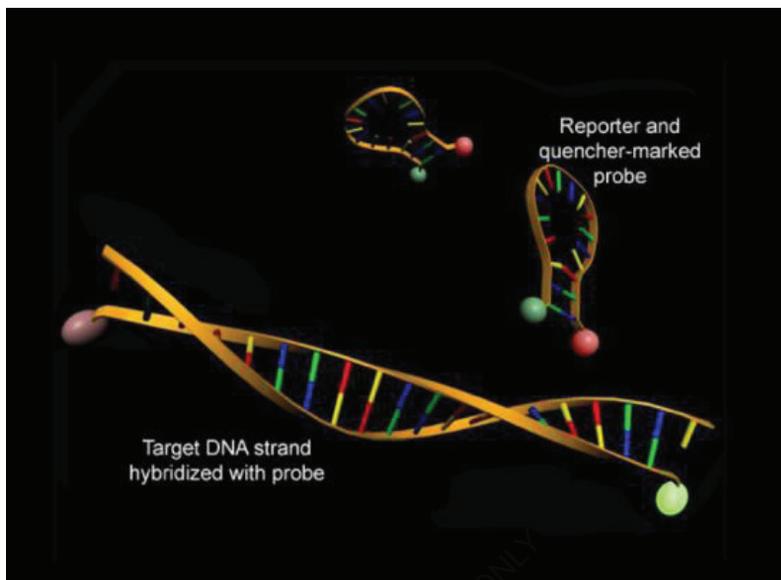
### **Зонды скорпиона**

Скорпион-зонды, как и молекулярные маяки, не будут флуоресцентно активны в негибризованном состоянии, опять же, из-за того, что флуоресцентный зонд на 5' конце гасится мотивом на 3' конце олигонуклеотида, однако у Скорпионов 3' конец содержит последовательность, комплементарную продукту расширения праймера на 5' конце. Когда удлинитель Scorpion связывается со своим комплементом на ампликоне, структура Scorpion открывается, предотвращает FRET и позволяет измерять флуоресцентный сигнал.

### **Мультиплексные зонды**

Зонды TaqMan, молекулярные маяки и скорпионы позволяют одновременно измерять продукты ПЦР в одной пробирке. Это возможно благодаря тому, что каждый из различных флуоресцентных красителей может быть связан со специфическим спектром излучения. Использование мультиплексных зондов не только экономит время и усилия без ущерба для полезности теста, но и применяется в широких областях исследований, таких как анализ делеции генов, анализ мутаций и полиморфизма, количественный анализ и обнаружение РНК, что делает его бесценным методом для лабораторий многих направлений.

Для количественной оценки результатов, полученных с помощью RT-PCR в реальном времени, обычно используются две стратегии: метод стандартной кривой и метод сравнительного порога.

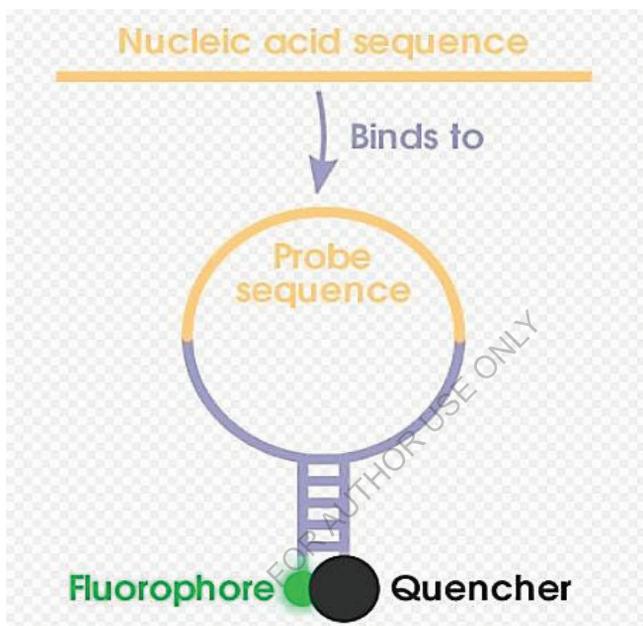


**Рисунок (53): Целевая нить ДНК, гибридизованная с зондом, зондом-репортером и зондом, помеченным кенхером.**

### **Использование в клеточной инженерии**

Сообщалось о флуорогенных сигнальных олигонуклеотидных зондах для использования с целью обнаружения и выделения клеток, экспрессирующих один или несколько желаемых генов, включая получение мультигенных стабильных клеточных линий, экспрессирующих гетеромультимерный эпителиальный натриевый канал ( $\alpha\beta\gamma$ -ENaC), натриевый вольтаж-связанный ионный канал 1.7 (NaV1.7- $\alpha\beta1\beta2$ ), четыре уникальные комбинации субъединиц

ионного канала рецептора  $\gamma$ -аминомасляной кислоты А (ГАМК)  $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ ,  $\alpha 2\beta 3\gamma 2s$ ,  $\alpha 3\beta 3\gamma 2s$  и  $\alpha 5\beta 3\gamma 2s$ , регулятор проводимости муковисцидоза (CFTR), CFTR- $\Delta 508$  и два рецептора, связанных с G-белками (GPCR).



**Рисунок (54): Структуры типичных молекулярных зондов-маяков.**

## Приложения

Экспоненциальная амплификация с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией обеспечивает высокочувствительный метод, при котором можно обнаружить очень низкое число копий молекул РНК. RT-PCR

широко используется для диагностики генетических заболеваний и, полуколичественно, для определения количества специфических различных молекул РНК в клетке или ткани в качестве меры экспрессии генов.

### **Методология RT-PCR**

RT-PCR широко используется в исследовательских методах для измерения экспрессии генов. Например, Лин и др. использовали qRT-PCR для измерения экспрессии генов Gal в дрожжевых клетках. Сначала Лин и др. сконструировали мутацию белка, который предположительно участвует в регуляции генов Gal. Предполагалось, что эта мутация избирательно отменяет экспрессию Gal. Чтобы подтвердить это, уровни экспрессии генов в дрожжевых клетках, содержащих эту мутацию, были проанализированы с помощью qRT-PCR. Исследователи смогли окончательно установить, что мутация этого регуляторного белка снижает экспрессию Gal. Для дальнейшего изучения экспрессии генов РНК используется анализ северного блота.

### **Вставка гена**

RT-PCR также может быть очень полезен при вставке эукариотических генов в прокариоты. Поскольку

большинство эукариотических генов содержат интроны, которые присутствуют в геноме, но не в зрелой мРНК, кДНК, полученная в результате реакции RT-PCR, является точной (без учета подверженной ошибкам природы обратных транскриптаз) последовательностью ДНК, которая будет непосредственно переведена в белок после транскрипции. Когда эти гены экспрессируются в прокариотических клетках для производства или очистки белка, РНК, полученная непосредственно в результате транскрипции, не должна подвергаться сплайсингу, поскольку транскрипт содержит только экзоны. Прокариоты, такие как *E. coli*, не имеют механизма сплайсинга мРНК, характерного для эукариот.

### **Диагностика генетических заболеваний**

RT-PCR может быть использован для диагностики генетического заболевания, такого как синдром Леша-Нихана. Это генетическое заболевание вызвано сбоем в работе гена HPRT1, что клинически приводит к образованию смертельного мочекишечного камня в моче и симптомам, похожим на подагру. Анализ беременной матери и плода на уровень экспрессии мРНК HPRT1 позволяет определить, является ли мать носителем и есть ли вероятность развития у плода синдрома Леша-Нихана.

## **Выявление рака**

Ученые работают над тем, как использовать RT-PCR для выявления рака, чтобы улучшить прогноз и контролировать ответ на терапию. Циркулирующие опухолевые клетки производят уникальные транскрипты мРНК в зависимости от типа рака. Цель состоит в том, чтобы определить, какие транскрипты мРНК служат наилучшими биомаркерами для определенного типа раковых клеток, а затем проанализировать уровень их экспрессии с помощью RT-PCR.

RT-PCR обычно используется при изучении геномов вирусов, чьи геномы состоят из РНК, таких как Influenzavirus A, ретровирусы, например, ВИЧ и SARS-CoV-2.

## **Вызовы**

Несмотря на свои основные преимущества, RT-PCR не лишена недостатков. Экспоненциальный рост обратно транскрибированной комплементарной ДНК (кДНК) во время многочисленных циклов ПЦР приводит к неточному количественному определению конечной точки из-за сложности поддержания линейности.<sup>[45]</sup> Для того чтобы обеспечить точное обнаружение и количественное определение содержания РНК в образце, была разработана qRT-PCR с использованием модификации на основе флуоресценции для мониторинга продуктов амплификации во

время каждого цикла ПЦР. Чрезвычайная чувствительность метода может быть обоюдоострым мечом, поскольку даже малейшее загрязнение ДНК может привести к нежелательным результатам. Простым методом устранения ложноположительных результатов является включение якорей, или меток, в 5' область праймера, специфичного для гена. Кроме того, планирование и дизайн количественных исследований могут быть технически сложными из-за существования многочисленных источников вариаций, включая концентрацию образца и эффективность амплификации. В качестве контроля можно использовать внесение известного количества РНК в образец, серию разведений РНК для построения стандартной кривой, а также внесение образца без шаблона (без кДНК). RT-PCR может проводиться по одностадийному протоколу RT-PCR или двухстадийному протоколу RT-PCR.

### **Одноэтапный RT-PCR**

Одноэтапный RT-PCR подвергает мРНК-мишени размером до 6 кб обратной транскрипции с последующей ПЦР-амплификацией в одной пробирке. Важно отметить, что использование интактной РНК высокого качества и праймера, специфичного для конкретной последовательности, дает наилучшие результаты.

После выбора одноэтапного набора для RT-PCR со смесью обратной транскриптазы, Taq ДНК-полимеразы и корректорной полимеразы и получения всех необходимых материалов и оборудования необходимо приготовить реакционную смесь. Реакционная смесь включает dNTPs, праймеры, шаблонную РНК, необходимые ферменты и буферный раствор. Реакционная смесь добавляется в ПЦР-пробирку для каждой реакции, затем добавляется шаблонная РНК. Затем пробирки с ПЦР помещают в термоциклер для начала цикла. В первом цикле происходит синтез кДНК. Второй цикл - это начальная денатурация, в ходе которой инактивируется обратная транскриптаза. Оставшиеся 40-50 циклов - это амплификация, которая включает денатурацию, отжиг и удлинение. После завершения амплификации продукты RT-PCR могут быть проанализированы с помощью гель-электрофореза.

### **Двухэтапный RT-PCR**

Двухэтапная RT-PCR, как следует из названия, проводится в два этапа. Сначала проводится обратная транскрипция, а затем ПЦР. Этот метод более чувствителен, чем одноэтапный. Наборы также полезны для двухэтапной ПЦР. Как и для одноэтапной ПЦР, для получения наилучших результатов используйте только неповрежденную РНК высокого качества.

Праймер для двухэтапной ПЦР не обязательно должен быть специфичным по последовательности.

### **Шаг первый**

Сначала соедините шаблонную РНК, праймер, смесь dNTP и воду без нуклеазы в пробирке для ПЦР. Затем добавьте ингибитор РНКазы и обратную транскриптазу в пробирку для ПЦР. Затем поместите пробирку с ПЦР в термоциклер на один цикл, в котором происходит отжиг, расширение и инактивация обратной транскриптазы. Наконец, переходите непосредственно ко второму шагу - ПЦР или храните продукт на льду до проведения ПЦР.

### **Шаг второй**

Добавьте мастер-микс, содержащий буфер, смесь dNTP,  $MgCl_2$ , Taq-полимеразу и воду без нуклеазы в каждую пробирку для ПЦР. Затем добавьте в пробирки необходимый праймер. Затем поместите пробирки с ПЦР в термоциклер на 30 циклов программы амплификации. Это включает в себя: денатурацию, отжиг и элонгацию. Продукты RT-PCR могут быть проанализированы с помощью гель-электрофореза.

### **Руководства по публикации**

Количественный анализ RT-PCR считается золотым стандартом для измерения количества копий определенных

кДНК-мишеней в образце, но он плохо стандартизирован. В результате, хотя существует множество публикаций, в которых используется этот метод, многие из них содержат недостаточное количество экспериментальных деталей и используют неподходящий анализ данных, чтобы сделать неправильные выводы. Из-за присущей variability качества любых данных количественной ПЦР рецензентам не только трудно оценивать эти рукописи, но и невозможно воспроизводить исследования. Признавая необходимость стандартизации представления экспериментальных условий, международный консорциум академических ученых опубликовал руководство "Минимальная информация для публикации результатов количественной ПЦР в реальном времени" (MIQE, произносится "мики"). Руководство MIQE описывает минимальную информацию, необходимую для оценки экспериментов количественной ПЦР, которая должна быть обязательной для публикации с целью поощрения лучшей экспериментальной практики и обеспечения релевантности, точности, правильной интерпретации и воспроизводимости данных количественной ПЦР. Помимо рекомендаций по отчетности, MIQE подчеркивает необходимость стандартизации номенклатуры, связанной с количественной ПЦР, чтобы избежать путаницы, например, аббревиатура qPCR должна использоваться для количественной ПЦР в реальном времени, RT-qPCR - для ПЦР

с обратной транскрипцией, а гены, используемые для нормализации, должны называться референсными генами вместо генов домашнего хозяйства. Также предлагается не использовать коммерческие термины, такие как TaqMan зонды, а называть их гидролизными зондами. Кроме того, предлагается использовать цикл количественной оценки (Cq) для описания цикла ПЦР, используемого для количественной оценки, вместо порогового цикла (Ct), точки пересечения (Cp) и точки взлета (TOP), которые обозначают одно и то же значение, но были придуманы разными производителями приборов реального времени.

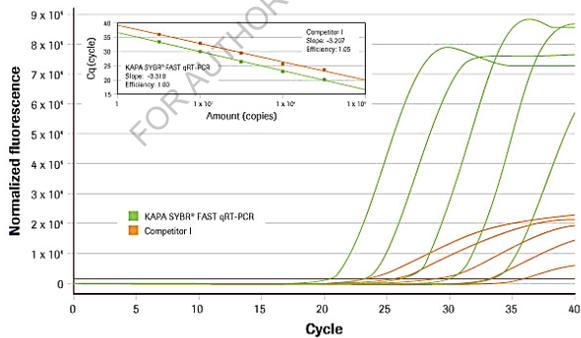
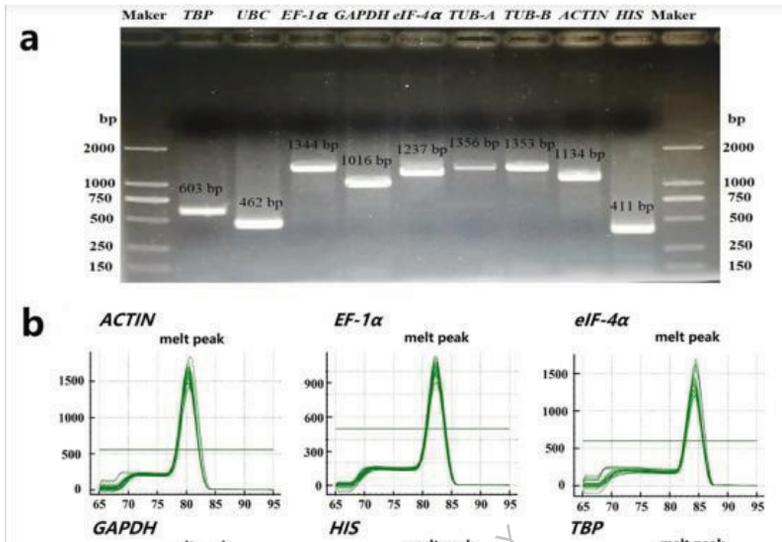
Руководство состоит из следующих элементов:

- 1) экспериментальный дизайн.
- 2) образец.
- 3) выделение нуклеиновых кислот.
- 4) обратная транскрипция.
- 5) Информация о цели qPCR.
- 6) олигонуклеотиды.
- 7) протокол.
- 8) валидация.
- 9) анализ данных.

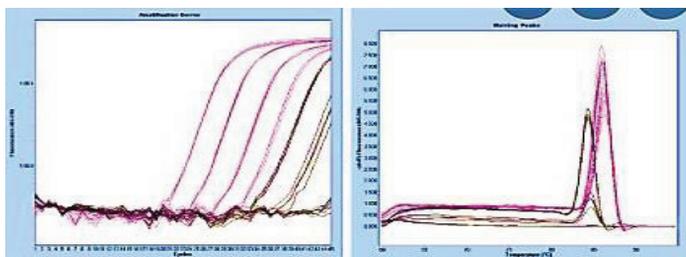
Конкретные элементы в рамках каждого элемента имеют маркировку E (существенный) или D (желательный). Элементы, обозначенные E, считаются критическими и необходимыми, в то время как элементы, обозначенные D, считаются периферийными, но важными для лучших практик.



**Рисунок (55): Двухэтапный RT-PCR**



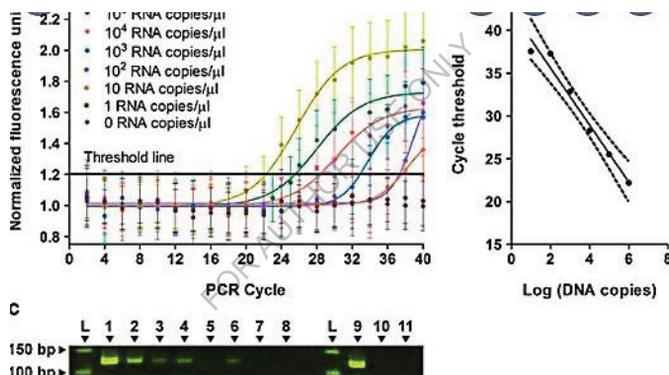
RRM1 gene (94 bp, 45.7% GC) amplified from 10-fold dilution series of RNA (100 ng to 10 pg per 20  $\mu$ L reaction) isolated from human placenta. KAPA SYBR FAST One-Step qRT-PCR Kit demonstrates earlier Cq values, higher fluorescence, and optimal reaction efficiencies.



**Fig 2. Exceptional Speed and Sensitivity of AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix.**

qPCR amplification and melt traces of mouse housekeeping gene Phosphoglycerate kinase 1 (PGK-1) directly from Total RNA (dilution series).

Panel B: AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix (Purple) is compared with Qiagen QuantiTect® SYBR Green RT-PCR Kit (Black). In each case, AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix exhibits earlier Ct values and improved sensitivity.



**Рисунок (56): КТ РТ-ПЦР с пиком экспрессии гена.**

## 1-3 ссылки

1. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Эволюция, темы биологии и научный поиск". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 2-26. ISBN 978-0134093413.
2. Хиллис, Дэвид М.; Хеллер, Х. Крейг; Хакер, Салли Д.; Ласковски, Марта Дж.; Садава, Дэвид Е. (2020). "Изучение жизни". Life: The Science of Biology(12th ed.). W. H. Freeman. ISBN 978-1319017644.
3. Фриман, Скотт; Куиллин, Ким; Эллисон, Лизабет; Блэк, Майкл; Подгорски, Грег; Тейлор, Эмили; Кармайкл, Джефф (2017). "Биология и три жизни". Биологическая наука (6-е изд.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 1-18. ISBN 978-0321976499.
4. Моделл, Гарольд; Клифф, Уильям; Майкл, Джоэл; Макфарланд, Дженни; Вендерот, Мэри Пэт; Райт, Энн (декабрь 2015). "Взгляд физиолога на гомеостаз". *Advances in Physiology Education*. **39** (4): 259–266. doi:10.1152/advan.00107.2015. ISSN 1043-4046. PMC 4669363. PMID 26628646.
5. Дэвис, РС; Рипер, Е; Тушински, JA (январь 2013). "Самоорганизация и уменьшение энтропии в живой клетке". *Bio Systems*. **111** (1): 1–10.

- doi:10.1016/j.biosystems.2012.10.005. PMC 3712629.  
PMID 23159919.
6. На основе определения из: "Глоссарий терминов проекта Aquarena Wetlands". Техасский государственный университет в Сан-Маркосе. Архивировано из оригинала 2004-06-08.
  7. Крейг, Нэнси (2014). Молекулярная биология, принципы функционирования генома. ISBN 978-0-19-965857-2.
  8. Москони, Франческо; Жулу, Томас; Депра, Николя; Синха, Дипак Кумар; Аллеманд, Жан-Франсуа; Венсан Крокетт; Бенсимон, Давид (2008). "Некоторые нелинейные задачи в биологии". *Нелинейность*. 21 (8): T131. Bibcode:2008Nonli... 21..131M. doi:10.1088/0951-7715/21/8/T03. ISSN 0951-7715.
  9. Хауэлл, Элизабет (8 декабря 2014 г.). "Как жизнь стала сложной, и может ли это произойти за пределами Земли?". Журнал "Астробиология". Архивировано из оригинала 17 августа 2018 года. Retrieved 14 February 2018.
  10. Pearce, Ben K.D.; Tupper, Andrew S.; Pudritz, Ralph E.; et al. (1 марта 2018). "Ограничение временного интервала для возникновения жизни на Земле". *Astrobiology*. 18 (3): 343-364. arXiv:1808.09460.

Bibcode:2018AsBio... 18..343P. doi:10.1089/ast.2017.1674.  
ISSN 1531-1074. PMID 29570409. S2CID 4419671.

11. "Кто придумал термин биология?". Info.com. Архивировано из первоисточника 2013-05-09. Retrieved 2012-06-03.
12. "биология". Этимологический словарь онлайн. Архивировано из первоисточника 2013-03-07.
13. Ричардс, Роберт Дж. (2002). Романтическая концепция жизни: Наука и философия в эпоху Гете. Издательство Чикагского университета. ISBN 978-0-226-71210-9.
14. Линдберг, Дэвид К. (2007). "Наука до греков". Зарождение западной науки: европейская научная традиция в философском, религиозном и институциональном контексте (второе изд.). Чикаго, Иллинойс: Издательство Чикагского университета. стр. 1-20. ISBN 978-0-226-48205-7.
15. Грант, Эдвард (2007). "От Древнего Египта до Платона". История натурфилософии: От древнего мира до девятнадцатого века (первое изд.). Нью-Йорк, Нью-Йорк: Cambridge University Press. pp. 1-26. ISBN 978-052-1-68957-1.
16. Магнер, Лоис Н. (2002). A History of the Life Sciences, Revised and Expanded. CRC Press. ISBN 978-0-

- 203-91100-6. Архивировано из первоисточника 2015-03-24.
17. Серафини, Энтони (2013). Эпическая история биологии. ISBN 978-1-4899-6327-7. Retrieved 14 July 2015.
  18. В одно или несколько предыдущих предложений включен текст из публикации, которая в настоящее время является общественным достоянием: Chisholm, Hugh, ed. (1911). "Теофраст". *Encyclopædia Britannica* (11-е изд.). Издательство Кембриджского университета.
  19. Фахд, Туфик (1996). "Ботаника и сельское хозяйство". In Morelon, Régis; Rashed, Roshdi (eds.). *Энциклопедия истории арабской науки*. 3. Routledge. p. 815. ISBN 978-0-415-12410-2.
  20. Магнер, Лоис Н. (2002). *A History of the Life Sciences, Revised and Expanded*. CRC Press. pp. 133-44. ISBN 978-0-203-91100-6. Архивировано из первоисточника 2015-03-24.
  21. Сапп, Ян (2003). "7". *Генезис: Эволюция биологии*. Нью-Йорк: Издательство Оксфордского университета. ISBN 978-0-19-515618-8.
  22. Коулман, Уильям (1977). *Биология в девятнадцатом веке: Проблемы формы, функции и*

- трансформации. Нью-Йорк: Издательство Кембриджского университета. ISBN 978-0-521-29293-1.
23. Майр, Эрнст. Рост биологической мысли, глава 4
  24. Майр, Эрнст. Рост биологической мысли, глава 7
  25. Дарвин 1909, с. 53
  26. Гулд, Стивен Джей. Структура эволюционной теории. Издательство Belknap Press Гарвардского университета: Cambridge, 2002. ISBN 0-674-00613-5. p. 187.
  27. Ламарк (1914)
  28. Майр, Эрнст. Рост биологической мысли, глава 10: "Доказательства Дарвина в пользу эволюции и общего происхождения"; и глава 11: "Причина эволюции: естественный отбор".
  29. Ларсон, Эдвард Дж. (2006). "Гл. 3". Эволюция: Удивительная история научной теории. Издательская группа Random House. ISBN 978-1-58836-538-5. Архивировано из первоисточника 2015-03-24.
  30. Хениг (2000). Op. cit. pp. 134-138.
  31. Мико, Илона (2008). "Принципы наследования Грегора Менделя являются краеугольным камнем современной генетики. Так что же это такое?". Nature Education. **1** (1): 134.

32. Футуйма, Дуглас Дж.; Киркпатрик, Марк (2017). "Эволюционная биология". Evolution (4th ed.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. стр. 3-26.
33. Ноубл, Иван (2003-04-14). "Геном человека наконец-то завершен". BBC News. Архивировано из оригинала 2006-06-14. Retrieved 2006-07-22.
34. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Химический контекст жизни". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 28-43. ISBN 978-0134093413.
35. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Вода и жизнь". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 44-55. ISBN 978-0134093413.
36. "Ионная связь". IUPAC Compendium of Chemical Terminology. 2009. doi:10.1351/goldbook.IT07058. ISBN 978-0-9678550-9-7.
37. Кэмпбелл, Нил А.; Уильямсон, Брэд; Хейден, Робин Дж. (2006). Биология: Exploring Life. Boston. ISBN 0-13-250882-6. Retrieved 2012-02-05.<sup>[необходим лучший источник]</sup>
38. Фриман, Скотт; Куиллин, Ким; Эллисон, Лизабет; Блэк, Майкл; Подгорски, Грег; Тейлор, Эмили; Кармайкл, Джефф (2017). "Вода и углерод: химическая

- основа жизни". Биологическая наука (6-е изд.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 55-77. ISBN 978-0321976499.
39. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Молекулярное разнообразие жизни". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 56-65. ISBN 978-0134093413.
40. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Структура и функция больших биологических молекул". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 66-92. ISBN 978-0134093413.
41. Маццарелло, П (май 1999). "Объединяющая концепция: история клеточной теории". *Nature Cell Biology*. 1 (1): E13-15, doi:10.1038/8964. PMID 10559875. S2CID 7338204.
42. Campbell NA, Williamson B, Heyden RJ (2006). Биология: Exploring Life. Бостон: Pearson Prentice Hall. ISBN 9780132508827.
43. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Мембранная структура и функция". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 126-142. ISBN 978-0134093413.
44. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, и др. (2002). Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Нью-Йорк:

- Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3. Архивировано из первоисточника 2017-12-20.
45. Том Херрманн; Сандип Шарма (2 марта 2019). "Физиология, Мембрана". StatPearls. PMID 30855799.
46. Движения клеток и формирование тела позвоночных в главе 21 четвертого издания "Молекулярной биологии клетки" под редакцией Брюса Альбертса (2002), опубликованного издательством Garland Science. В тексте Альбертса обсуждается, как "клеточные строительные блоки" перемещаются для формирования развивающихся эмбрионов. Также принято называть "молекулярными строительными блоками" небольшие молекулы, такие как аминокислоты.
47. Фриман, Скотт; Куиллин, Ким; Эллисон, Лизабет; Блэк, Майкл; Подгорски, Грег; Тейлор, Эмили; Кармайкл, Джефф (2017). "Энергия и ферменты: Введение в метаболизм". Биологическая наука (6-е изд.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 171-188. ISBN 978-0321976499.
48. Бейли, Регина. "Клеточное дыхание". Архивировано из первоисточника 2012-05-05.
49. Шмидт-Рор, К. (2015). "Почему горение всегда экзотермично и дает около 418 кДж на моль O<sub>2</sub> ", J.

Chem. Educ. 92: 2094-2099.  
<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00333>

50. Лодиш, Харви; Берк, Арнольд; Кайзер, Крис А.; Кригер, Монти; Скотт, Мэтью П.; Бретшер, Энтони; Пloed, Хидде; Мацудайра, Пол (2008). "Клеточная энергетика". Молекулярная биология клетки (6-е изд.). New York: W.H. Freeman and Company. стр. 479-532. ISBN 978-0716776017.
51. "фотосинтез". Этимологический словарь онлайн. Архивировано из первоисточника 2013-03-07. Retrieved 2013-05-23.
52. Лидделл, Генри Джордж; Скотт, Роберт; Греко-английский лексикон в проекте Персей
53. Лидделл, Генри Джордж; Скотт, Роберт; Греко-английский лексикон в проекте "Персей".
54. Bryant DA, Frigaard NU (Nov 2006). "Прокариотический фотосинтез и фототрофия освещены". *Trends in Microbiology*. 14 (11): 488-496. doi:10.1016/j.tim.2006.09.001. PMID 16997562.
55. Риис Дж, Урри Л, Кейн М, Вассерман С, Минорски П, Джексон Р (2011). Биология (международное изд.). Upper Saddle River, N.J.: Pearson Education. pp. 235, 244. ISBN 978-0-321-73975-9. Это первоначальное

включение углерода в органические соединения известно как фиксация углерода.

56. Нейтцель, Джеймс; Расбанд, Мэтью. "Коммуникация клеток". Природное образование. Retrieved 29 May 2021.
57. "Клеточная сигнализация". Природное образование. Retrieved 29 May 2021.
58. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Клеточные мембраны и сигнализация". *Principles of Life* (2nd ed.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 82-104. ISBN 978-1464175121.
59. Мартин Е.А., Хайн Р (2020). *A dictionary of biology* (6th ed.). Оксфорд: Издательство Оксфордского университета. ISBN 9780199204625. OCLC 176818780.
60. Гриффитс Эй Джей (2012). *Введение в генетический анализ* (10-е изд.). New York: W.H. Freeman and Co. ISBN 9781429229432. OCLC 698085201.
61. "10.2 Клеточный цикл - Биология 2e | OpenStax". [openstax.org](https://openstax.org). Retrieved 2020-11-24.
62. Фриман, Скотт; Куиллин, Ким; Эллисон, Лизабет; Блэк, Майкл; Подгорски, Грег; Тейлор, Эмили; Кармайкл, Джефф (2017). "Мейоз". *Biological Science*(6th

- ed.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 271-289. ISBN 978-0321976499.
63. Casiraghi A, Suigo L, Valoti E, Straniero V (февраль 2020). "Таргетинг деления бактериальных клеток: A Binding Site-Centered Approach to the Most Promising Inhibitors of the Essential Protein FtsZ". *Antibiotics*. **9** (2): 69. doi:10.3390/antibiotics9020069. PMC 7167804. PMID 32046082.
64. Гриффитс, Энтони Дж.; Уэсслер, Сьюзен Р.; Кэрролл, Шон Б.; Доэбли, Джон (2015). "Революция в генетике". *An Introduction to Genetic Analysis* (11-е изд.). Sunderland, Mass.: W.H. Freeman & Company. pp. 1-30. ISBN 978-1464109485.
65. Гриффитс, Энтони Дж. Ф.; Миллер, Джеффри Х.; Судзуки, Дэвид Т.; Левонтин, Ричард К.; Гелбарт, Уильям М., ред. (2000). "Генетика и организм: введение". *Введение в генетический анализ* (7-е изд.). New York: W. H. Freeman. ISBN 978-0-7167-3520-5.
66. Хартл, Д; Джонс, Е (2005). *Генетика: Анализ генов и геномов* (6-е изд.). Jones & Bartlett. ISBN 978-0-7637-1511-3.
67. Ратгерс: Принципы менделизма
68. Мико, Илона (2008), "Тестовые кресты", *Образование в области природы*, **1** (1): 136

69. Мико, Илона (2008), "Томас Хант Морган и связь полов", *Природоведение*, **1** (1): 143
70. "Родословная". Национальный институт исследования генома человека. Получено 28 мая 2021 года. Родословная - это генетическое представление семейного дерева, которое отражает наследование признака или болезни через несколько поколений. Родословная показывает взаимоотношения между членами семьи и указывает, кто из них выражает или молчаливо несет рассматриваемый признак.
71. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Мендель и идея гена". *Биология Кэмпбелла* (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 269-293. ISBN 978-0134093413.
72. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2014). *Молекулярная биология клетки* (6-е изд.). Garland. p. Chapter 4: DNA, Chromosomes and Genomes. ISBN 978-0-8153-4432-2. Архивировано из первоисточника 14 июля 2014 года.
73. Перселл А. "ДНК". *Базовая биология*. Архивировано из оригинала 5 января 2017 года.
74. Рассел П (2001). *iGenetics*. Нью-Йорк: Бенджамин Каммингс. ISBN 0-8053-4553-1.

75. Thanbichler, M; Wang, SC; Shapiro, L (октябрь 2005). "Бактериальный нуклеоид: высокоорганизованная и динамичная структура". Журнал клеточной биохимии. **96** (3): 506-21. doi:10.1002/jcb.20519. PMID 15988757. S2CID 25355087.
76. "Определение генотипа - Медицинский словарь определений". Medterms.com. 2012-03-19. Архивировано из первоисточника 2013-09-21. Retrieved 2013-10-02.
77. Крик ФХ (1958). "О синтезе белка". Симпозиумы Общества экспериментальной биологии. **12**: 138-63. PMID 13580867.
78. Крик Ф (август 1970). "Центральная догма молекулярной биологии". Nature. **227**(5258): 561-3. Bibcode:1970Natur.227.. 561C. doi:10.1038/227561a0. PMID 4913914. S2CID 4164029.
79. "Центральная догма повернута вспять". Nature. **226** (5252): 1198-9. June 1970. Bibcode:1970Natur.226.1198.. doi:10.1038/2261198a0. PMID 5422595. S2CID 4184060.
80. "Урацил". Genome.gov. Retrieved 2019-11-21.
81. Темин НМ, Мизутани S (июнь 1970). "РНК-зависимая ДНК-полимераза в вирионах вируса саркомы Рousca". Nature. **226** (5252): 1211-3. doi:10.1038/2261211a0. PMID 4316301. S2CID 4187764.

82. Балтимор Д (июнь 1970). "РНК-зависимая ДНК-полимераза в вирионах РНК-опухолевых вирусов". *Nature*. **226** (5252): 1209–11. doi:10.1038/2261209a0. PMID 4316300. S2CID 4222378.
83. "Определения ВОЗ по генетике и геномике". Всемирная организация здравоохранения.
84. Концепции генетики (10-е изд.). Сан-Франциско: Pearson Education. 2012. ISBN 978-0-321-72412-0.
85. Калвер KW, Лабоу МА (8 ноября 2002). "Геномика". In Robinson R (ed.). *Genetics*. Macmillan Science Library. Macmillan Reference USA. ISBN 978-0-02-865606-9.
86. Kadakkuzha BM, Puthanveetil SV (июль 2013). "Геномика и протеомика в решении сложных проблем мозга". *Молекулярные биосистемы*. **9** (7): 1807–21. doi:10.1039/C3MB25391K. PMC 6425491. PMID 23615871.
87. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Биотехнология". *Принципы жизни* (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 234-252. ISBN 978-1464175121.
88. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Биотехнология". *Принципы*

- жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 253-272. ISBN 978-1464175121.
89. Фриман, Скотт; Куиллин, Ким; Эллисон, Лизабет; Блэк, Майкл; Подгорски, Грег; Тейлор, Эмили; Кармайкл, Джефф (2017). "Биология и три жизни". Биологическая наука (6-е изд.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 398-417. ISBN 978-0321976499.
90. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Гены, развитие и эволюция". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 273-298. ISBN 978-1464175121.
91. Slack, J.M.W. (2013) Essential Developmental Biology. Wiley-Blackwell, Oxford.
92. Slack, J.M.W. (2007). "Метаплазия и трансдифференцировка: от чистой биологии к клинике". Nature Reviews Molecular Cell Biology. **8** (5): 369-378. doi:10.1038/nrm2146. PMID 17377526. S2CID 3353748.
93. Атала А, Ланза Р (2012-12-31). Справочник по стволовым клеткам. Academic Press. p. 452. ISBN 978-0-12-385943-3.
94. Yanes, Oscar; Clark, Julie; Wong, Diana M.; Patti, Gary J.; Sánchez-Ruiz, Antonio; Benton, H. Paul; Trauger, Sunia A.; Despons, Caroline; Ding, Sheng; Siuzdak, Gary (June 2010). "Метаболическое окисление регулирует

- дифференциацию эмбриональных стволовых клеток". *Nature Chemical Biology*. **6** (6): 411–417. doi:10.1038/nchembio.364. ISSN 1552-4469. PMC 2873061. PMID 20436487.
95. Кэрролл, Шон Б. "Происхождение формы". *Естественная история*. Retrieved 9 October 2016. Биологи могут с уверенностью сказать, что формы меняются, и что естественный отбор является важной силой, способствующей изменениям. Однако они ничего не могут сказать о том, как происходят эти изменения. Как изменяются тела или части тела, как возникают новые структуры, оставалось полной загадкой.
96. Абжанов, А.; Протас, М.; Грант, Б.Р.; Грант, П.Р.; Табин, К.Дж. (2004). "Wnt4 и морфологическая вариация клювов у дарвиновых вьюрков". *Science*. **305**(5689): 1462-1465. Bibcode:2004Sci...305.1462A. doi:10.1126/science.1098095. PMID 15353802. S2CID 17226774.
97. Кон, М.Дж.; Тикл, К. (1999). "Основа развития бесхвостости и осевого узора у змей". *Nature*. **399** (6735): 474-479. Bibcode:1999Natur.399.. 474C. doi:10.1038/20944. PMID 10365960. S2CID 4309833.
98. Бевердам, А.; Мерло, Г.Р.; Палеари, Л.; Мантеро, С.; Генова, Ф.; Барбиери, О.; Жанвье, П.; Леви, Г. (август

- 2002). "Трансформация челюсти с приобретением симметрии после инактивации DLX5/DLX6: Зеркало прошлого?". (PDF). *Genesis*. **34** (4): 221-227. doi:10.1002/gene.10156. hdl:2318/87307. PMID 12434331. S2CID 19592597.
99. Depew, M.J.; Lufkin, T.; Rubenstein, J.L. (October 2002). "Спецификация подразделений челюсти генами DLX". *Science*. **298** (5592): 381–385. doi:10.1126/science.1075703. PMID 12193642. S2CID 10274300.
100. Panganiban, Grace; Rubenstein, John L. R. (2002). "Функции развития генов Distal-less/Dlx homeobox". *Development*. **129** (19): 4371–4386. doi:10.1242/dev.129.19.4371. PMID 12223397.
101. Beldade, P.; Brakefield, P.M.; Long, A.D. (2002). "Вклад Distal-less в количественную вариацию в глазных точках бабочек". *Nature*. **415** (6869): 315-318. doi:10.1038/415315a. PMID 11797007. S2CID 4430563.
102. Hall & Hallgrímsson 2008, pp. 4-6
103. "Ресурсы эволюции". Вашингтон, округ Колумбия: Национальные академии наук, инженерии и медицины. 2016. Архивировано из первоисточника 2016-06-03.
104. Паккард, Алфеус Спринг (1901). Ламарк, основатель эволюции: его жизнь и работа с переводами

- его трудов по органической эволюции. Нью-Йорк: Лонгманс, Грин. ISBN 978-0-405-12562-1.
105. "Полное собрание сочинений Дарвина онлайн - Биография". darwin-online.org.uk. Архивировано из первоисточника 2007-01-07. Retrieved 2006-12-15.
106. Добжанский, Т. (1973). "Ничто в биологии не имеет смысла, кроме как в свете эволюции". Американский учитель биологии. **35** (3): 125-29. CiteSeerX 10.1.1.525.3586. doi:10.2307/4444260. JSTOR 4444260. S2CID 207358177.
107. Кэрролл, Джозеф, ред. (2003). О происхождении видов с помощью естественного отбора. Питерборо, Онтарио: Broadview. p. 15. ISBN 978-1-55111-337-1. Как выразился дарвинист Джозеф Кэрролл из Университета Миссури-Сент-Луис в своем предисловии к современному переизданию работы Дарвина: "Происхождение видов" имеет особые права на наше внимание. Это одна из двух или трех наиболее значительных работ всех времен - одна из тех работ, которые фундаментально и навсегда изменили наше видение мира... Она аргументирована с исключительной строгой последовательностью, но она также красноречива, образно выразительна и риторически убедительна".

108. Шермер стр. 149.
109. Левонтин, Ричард К. (ноябрь 1970). "Единицы отбора" (PDF). *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1: 1-18. doi:10.1146/annurev.es.01.110170.000245. ISSN 1545-2069. JSTOR 2096764. Архивировано (PDF) из первоисточника 2015-02-06.
110. Дарвин, Чарльз (1859). О происхождении видов, Джон Мюррей.
111. Чарльзворт, Брайан; Чарльзворт, Дебора (2009). "Дарвин и генетика". *Генетика*. **183** (3): 757–766. doi:10.1534/genetics.109.109991. PMC 2778973. PMID 19933231.
112. Футуйма, Дуглас Дж.; Киркпатрик, Марк (2017). "Эволюционная биология". *Эволюция* (4-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. стр. 3-26.
113. Футуйма, Дуглас Дж.; Киркпатрик, Марк (2017). "Мутация и вариации". *Эволюция* (4-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 79-101.
114. Симпсон, Джордж Гейлорд (1967). *Смысл эволюции* (второе изд.). Yale University Press. ISBN 978-0-300-00952-1.
115. Масел, Джоанна (25 октября 2011). "Генетический дрейф". *Current Biology*. **21**(20): R837–R838.

- doi:10.1016/j.cub.2011.08.007. ISSN 0960-9822. PMID 22032182. S2CID 17619958.
116. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Видообразование". Принципы жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. стр. 343-356. ISBN 978-1464175121.
117. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Реконструкция и использование филогений". Принципы жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. стр. 325-342. ISBN 978-1464175121.
118. Вуз, КР; Кандлер, О; Уилис, МЛ (июнь 1990). "На пути к естественной системе организмов: предложение для доменов Archaea, Bacteria и Eucarya". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **87** (12): 4576-79. Bibcode:1990PNAS...87.4576W. doi:10.1073/pnas.87.12.4576. PMC 54159. PMID 2112744.
119. McNeill, J; Barrie, FR; Buck, WR; Demoulin, V; Greuter, W; Hawksworth, DL; et al. (2012). Международный кодекс номенклатуры водорослей, грибов и растений (Мельбурнский кодекс), принятый Восемнадцатым Международным ботаническим конгрессом Мельбурн, Австралия, июль 2011 года.

- A.R.G. Gantner Verlag KG. ISBN 978-3-87429-425-6.  
Архивировано из первоисточника 2013-11-04.  
Рекомендация 60F
120. Силин-Робертс, Хизер (2000). Письмо для науки и инженерии: Доклады, презентации. Oxford: Butterworth-Heinemann. p. 198. ISBN 978-0-7506-4636-9. Архивировано из первоисточника 2020-10-02. Retrieved 2020-08-24.
121. Montévil, M; Mossio, M; Pocheville, A; Longo, G (октябрь 2016). "Теоретические принципы для биологии: Вариации". Прогресс в биофизике и молекулярной биологии. От века генома к веку организма: Новые теоретические подходы. **122** (1): 36–50. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2016.08.005. PMID 27530930. Архивировано из первоисточника 2018-03-20.
122. Де Дюве, Кристиан (2002). Эволюция жизни: Молекулы, разум и смысл. Нью-Йорк: Oxford University Press. p. 44. ISBN 978-0-19-515605-8.
123. Футуйма 2005
124. Футуйма, Ди Джей (2005). Эволюция. Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-187-3. OCLC 57311264.
125. Розинг, Миник Т. (29 января 1999 г.). "<sup>13</sup>С-обедненные углеродом микрочастицы в >3700-Ма морских донных осадочных породах из Западной

- Гренландии". *Science*. **283**(5402): 674-676.  
Bibcode:1999Sci...283.. 674R.  
doi:10.1126/science.283.5402.674. ISSN 0036-8075. PMID 9924024.
126. Охтомо, Йоко; Какегава, Такеши; Ишида, Акизуми; и др. (январь 2014). "Доказательства наличия биогенного графита в раннеархейских метаседиментационных породах Исуа". *Nature Geoscience*. **7** (1): 25-28. Bibcode:2014NatGe...7...25O. doi:10.1038/ngeo2025. ISSN 1752-0894.
127. Нисбет, Юэн Г.; Фаулер, К.М.Р. (7 декабря 1999). "Архейская метаболическая эволюция микробных матов". *Proceedings of the Royal Society B*. **266**(1436): 2375–2382. doi:10.1098/rspb.1999.0934. ISSN 0962-8452. PMC 1690475.
128. Кнолл, Эндрю Х.; Жаво, Эммануэль Ж.; Хьюитт, Дэвид; и др. (29 июня 2006). "Эукариотические организмы в океанах протерозоя". *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **361** (1470): 1023–1038. doi:10.1098/rstb.2006.1843. ISSN 0962-8436. PMC 1578724. PMID 16754612.
129. Федонкин, Михаил А. (31 марта 2003). "Происхождение Metazoa в свете ископаемой летописи протерозоя" (PDF). *Палеонтологические исследования*. **7**

- (1): 9-41. doi:10.2517/prpsj.7.9. ISSN 1342-8144. S2CID 55178329. Архивировано из оригинала (PDF) 2009-02-26. Retrieved 2008-09-02.
130. Боннер, Джон Тайлер (7 января 1998 года). "Происхождение многоклеточности". Интегративная биология. **1** (1): 27–36. doi:10.1002/(SICI)1520-6602(1998)1:1< 27::AID-INBI4>3.0.CO;2-6. ISSN 1757-9694.
131. Стротер, Пол К.; Баттисон, Лейла; Брасье, Мартин Д.; и др. (26 мая 2011 г.). "Самые ранние неморские эукариоты Земли". *Nature*. **473** (7348): 505-509. Bibcode:2011Natur.473.. 505S. doi:10.1038/nature09943. ISSN 0028-0836. PMID 21490597. S2CID 4418860.
132. Беральди-Кампеси, Уго (23 февраля 2013). "Ранняя жизнь на суше и первые наземные экосистемы". *Экологические процессы*. **2** (1): 1–17. doi:10.1186/2192-1709-2-1. ISSN 2192-1709.
133. Algeo, Thomas J.; Scheckler, Stephen E. (January 29, 1998). "Наземно-морские телесвязи в девоне: связи между эволюцией наземных растений, процессами выветривания и морскими аноксическими явлениями". *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **353** (1365): 113–130. doi:10.1098/rstb.1998.0195. ISSN 0962-8436. PMC 1692181.

134. Чжун-Юань, Чэнь; Оливери, Паола; Чиа-Вей, Ли; и др. (25 апреля 2000 г.). "Разнообразие животных докембрия: Предположительные фосфатизированные эмбрионы из формации Доушаньтоу в Китае". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97** (9): 4457-4462. Bibcode:2000PNAS...97.4457C. doi:10.1073/pnas.97.9.4457. ISSN 0027-8424. PMC 18256. PMID 10781044.
135. D-G., Shu; H-L., Luo; Conway Morris, Simon; и др. (4 ноября 1999). "Нижнекембрийские позвоночные из южного Китая" (PDF). *Nature*. **402** (6757): 42-46. Bibcode:1999Natur.402...42S. doi:10.1038/46965. ISSN 0028-0836. S2CID 4402854. Архивировано из оригинала (PDF) 2009-02-26. Retrieved 2015-01-22.
136. Хойт, Дональд Ф. (17 февраля 1997). "Синапсидные рептилии". *ZOO 138 Vertebrate Zoology* (лекция). Помона, Калифорния: Калифорнийский государственный политехнический университет, Помона. Архивировано из первоисточника 2009-05-20. Retrieved 2015-01-22.
137. Барри, Патрик Л. (28 января 2002 г.). Филлипс, Тони (ред.). "Великое вымирание". *Science@NASA*. Центр космических полетов имени Маршалла. Архивировано из первоисточника 2010-04-10. Retrieved 2015-01-22.

138. Таннер, Лоуренс Х.; Лукас, Спенсер Г.; Чепмен, Мэри Г. (март 2004). "Оценка истории и причин поздних триасовых вымираний" (PDF). *Earth-Science Reviews*. **65** (1-2): 103-139. Bibcode:2004ESRv... 65.. 103T. doi:10.1016/S0012-8252(03)00082-5. Архивировано из первоисточника (PDF)2007-10-25. Retrieved 2007-10-22.
139. Бентон 1997
140. Фастовский, Дэвид Е.; Шихан, Питер М. (март 2005). "Вымирание динозавров в Северной Америке" (PDF). *GSA Today*. **15** (3): 4-10. doi:10.1130/1052-5173(2005)015< 4:TEOTDI>2.0.CO;2. ISSN 1052-5173. Архивировано (PDF) из первоисточника на 2019-03-22. Retrieved 2015-01-23.
141. Роуч, Джон (20 июня 2007 г.). "Вымирание динозавров способствовало появлению современных млекопитающих". *Новости National Geographic*. Вашингтон, округ Колумбия: Национальное географическое общество. Архивировано из первоисточника 2008-05-11. Retrieved 2020-02-21.
142. Вибл, Джон Р.; Ружье, Гильермо В.; Новачек, Майкл Дж.; и др. (21 июня 2007). "Меловые эвтерии и лавразийское происхождение плацентарных млекопитающих вблизи границы К/Т". *Nature*. **447** (7147): 1003-1006. Bibcode:2007Natur.447.1003W.

- doi:10.1038/nature05854. ISSN 0028-0836. PMID 17581585. S2CID 4334424.
143. Ван Валкенбург, Блэр (1 мая 1999). "Основные закономерности в истории плотоядных млекопитающих". Ежегодный обзор наук о Земле и планетах. **27**: 463-493. Bibcode:1999AREPS.. 27..463V. doi:10.1146/annurev.earth.27.1.463. ISSN 1545-4495.
144. Fredrickson JK, Zachara JM, Balkwill DL, Kennedy D, Li SM, Kostandarithes HM, Daly MJ, Romine MF, Brockman FJ (July 2004). "Геомикробиология загрязненных ядерными отходами высокого уровня вадозных отложений на площадке Хэнфорд, штат Вашингтон". Прикладная и экологическая микробиология. **70** (7): 4230-41. Bibcode:2004ApEnM... 70.4230F. doi:10.1128/AEM.70.7.4230-4241.2004. PMC 444790. PMID 15240306.
145. Дудек Н. К., Сан К. Л., Бурштейн Д. (2017). "Новое микробное разнообразие и функциональный потенциал в микробиоме полости рта морских млекопитающих" (PDF). *Current Biology*. **27** (24): 3752–3762. doi:10.1016/j.cub.2017.10.040. PMID 29153320. S2CID 43864355.

146. Пейс Н. Р. (май 2006 года). "Время перемен". *Nature*. **441** (7091): 289. Bibcode:2006Natur.441...289P. doi:10.1038/441289a. PMID 16710401. S2CID 4431143.
147. Stoeckenius W (октябрь 1981). "Квадратная бактерия Уолсби: тонкая структура ортогонального прокариота". *Journal of Bacteriology*. **148** (1): 352–60. doi:10.1128/JB.148.1.352-360.1981. PMC 216199. PMID 7287626.
148. "Archaea Basic Biology". Март 2018 года.
149. Bang C, Schmitz RA (сентябрь 2015). "Археи, ассоциированные с человеческими поверхностями: не стоит недооценивать". *FEMS Microbiology Reviews*. **39** (5): 631–48. doi:10.1093/femsre/fuv010. PMID 25907112.
150. Moissl-Eichinger C, Pausan M, Taffner J, Berg G, Bang C, Schmitz RA (January 2018). "Археи являются интерактивными компонентами сложных микробиомов". *Trends in Microbiology*. **26** (1): 70–85. doi:10.1016/j.tim.2017.07.004. PMID 28826642.
151. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Происхождение и диверсификация эукариот". *Principles of Life* (2nd ed.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. стр. 402-419. ISBN 978-1464175121.

152. O'Malley, Maureen A.; Leger, Michelle M.; Wideman, Jeremy G.; Ruiz-Trillo, Iñaki (2019-02-18). "Концепции последнего общего предка эукариот". *Nature Ecology & Evolution*. Springer Science and Business Media LLC. **3** (3): 338-344. doi:10.1038/s41559-019-0796-3. hdl:10261/201794. ISSN 2397-334X. PMID 30778187. S2CID 67790751.
153. Тейлор, Ф. Дж. Р. 'М. (2003-11-01). "Крах системы двух царств, подъем протистологии и основание Международного общества эволюционной протистологии (ISEP)". *Международный журнал систематической и эволюционной микробиологии. Общество микробиологии*. **53** (6): 1707–1714. doi:10.1099/ijs.0.02587-0. ISSN 1466-5026. PMID 14657097.
154. Пителка, Д. Р. (1963). *Электронно-микроскопическая структура простейших*. Пергамон Пресс, Оксфорд.
155. Бернер, Т. (1993). *Ultrastructure of Microalgae*. Бока Ратон: CRC Press. ISBN 0849363233
156. ^ Beckett, A., Heath, I. B., and McLaughlin, D. J. (1974). *An Atlas of Fungal Ultrastructure*. Лонгман, Грин, Нью-Йорк.

157. Ragan M.A. & Chapman D.J. (1978). *A Biochemical Phylogeny of the Protists*. Лондон, Нью-Йорк: Academic Press. ISBN 0323155618
158. Льюин Р. А. (1974). "Биохимическая таксономия", стр. 1-39 в *Физиология и биохимия водорослей*, Стюарт В. Д. П. (ред.). Blackwell Scientific Publications, Oxford. ISBN 0520024109
159. Орен, А., и Папке, Р. Т. (2010). *Молекулярная филогения микроорганизмов*. Норфолк, Великобритания: Caister Academic Press. ISBN 1904455670
160. Хорнер, Д. С., и Хирт, Р. П. (2004). "Обзор происхождения и эволюции эукариот: красота клетки и сказочные филогении генов", стр. 1-26 в Hirt, R.P. & D.S. Horner. *Organelles, Genomes and Eukaryote Phylogeny, An Evolutionary Synthesis in the Age of Genomics*. New York: CRC Press. ISBN 0203508939
161. RBG Kew (2016). Отчет о состоянии растений мира - 2016. Королевские ботанические сады, Кью. [https://stateoftheworldsplants.com/report/sotwp\\_2016.pdf](https://stateoftheworldsplants.com/report/sotwp_2016.pdf)  
Архивировано 2016-09-28 в Wayback Machine.
162. "Список растений - Bryophytes".
163. Christenhusz, M. J. M. & Byng, J. W. (2016). "Число известных видов растений в мире и его ежегодное

- увеличение". *Phytotaxa*. **261** (3): 201–217.  
doi:10.11646/phytotaxa.261.3.1.
164. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Эволюция растений". Принципы жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. стр. 420-449. ISBN 978-1464175121.
165. "Гимноспермы в списке растений". Theplantlist.org. Retrieved 2013-07-24.
166. Hawksworth DL, Lücking R (июль 2017). "Fungal Diversity Revisited: 2.2 - 3.8 Million Species". *The Fungal Kingdom. Microbiology Spectrum*. **5**. pp. 79-95. doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016. ISBN 978-1-55581-957-6. PMID 28752818.
167. Cheek, Martin; Nic Lughadha, Eimear; Kirk, Paul; Lindon, Heather; Carretero, Julia; Looney, Brian; et al. (2020). "Новые научные открытия: Растения и грибы". *Растения, Люди, Планета*. **2** (5): 371–388. doi:10.1002/ppp3.10148.
168. "Хватит пренебрегать грибочками". *Nature Microbiology*. **2** (8): 17120. 25 июля 2017. doi:10.1038/nmicrobiol.2017.120. PMID 28741610.
169. Feuda R, Dohrmann M, Pett W, Philippe H, Rota-Stabelli O, Lartillot N, et al. (December 2017). "Улучшенное моделирование композиционной

- гетерогенности подтверждает, что губки являются сестрой всех других животных". *Current Biology*. **27** (24): 3864–3870.e4. doi:10.1016/j.cub.2017.11.008. PMID 29199080.
170. Pisani D, Pett W, Dohrmann M, Feuda R, Rota-Stabelli O, Philippe H, et al. (December 2015). "Геномные данные не поддерживают гребневииков как сестринскую группу по отношению ко всем остальным животным". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **112** (50): 15402-7. Bibcode:2015PNAS. 11215402P. doi:10.1073/pnas.1518127112. PMC 4687580. PMID 26621703.
171. Simion P, Philippe H, Baurain D, Jager M, Richter DJ, Di Franco A, et al. (April 2017). "Большой и последовательный филогеномный набор данных подтверждает, что губки являются сестринской группой по отношению ко всем остальным животным" (PDF). *Current Biology*. **27** (7): 958–967. doi:10.1016/j.cub.2017.02.031. PMID 28318975.
172. Giribet G (1 октября 2016). "Геномика и древо жизни животных: конфликты и будущие перспективы". *Zoologica Scripta*. **45**: 14-21. doi:10.1111/zsc.12215. ISSN 1463-6409.

173. Laumer CE, Gruber-Vodicka H, Hadfield MG, Pearse VB, Riesgo A, Marioni JC, Giribet G (2017-10-11). "Placozoans are eumetazoans related to Cnidaria". bioRxiv 10.1101/200972.
174. Мэй, Роберт М. (16 сентября 1988). "Сколько видов существует на Земле?". Science. **241** (4872): 1441-1449. Bibcode:1988Sci...241.1441M. doi:10.1126/science.241.4872.1441. JSTOR 1702670. PMID 17790039. S2CID 34992724. Архивировано из оригинала 15 ноября 2016 года. Retrieved 17 June 2014.
175. Richards, O. W.; Davies, R.G. (1977). Imms' General Textbook of Entomology: Том 1: Структура, физиология и развитие Том 2: Классификация и биология. Berlin: Springer. ISBN 978-0-412-61390-6.
176. "Таблица 1а: Количество видов, оцененных по отношению к общему количеству описанных видов, и количество видов, находящихся под угрозой исчезновения, по основным группам организмов". Красный список МСОП. 18 июля 2019 года.
177. Ву Кей Джей (15 апреля 2020). "Во Вселенной вирусов больше, чем звезд. Почему только некоторые заражают нас? - На Земле существует более квадриллиона квадриллионов отдельных вирусов, но большинство из них не готовы перепрыгнуть на

- человека. Можем ли мы найти те, которые могут?". Национальное географическое общество. Получено 18 мая 2020 года.
178. Кунин Е.В., Сенкевич Т.Г., Доля В.В. (сентябрь 2006). "Древний мир вирусов и эволюция клеток". *Biology Direct*. **1** (1): 29. doi:10.1186/1745-6150-1-29. PMC 1594570. PMID 16984643.
179. Циммер С (26 февраля 2021 г.). "Тайная жизнь коронавируса - маслянистый пузырек генов шириной 100 нанометров убил более двух миллионов человек и изменил мир. Ученые не знают, что с ним делать". Получено 28 февраля 2021 года.
180. "Таксономия вирусов: выпуск 2019 года". talk.ictvonline.org. Международный комитет по таксономии вирусов. Retrieved 25 April 2020.
181. Lawrence CM, Menon S, Eilers BJ, Bothner B, Khayat R, Douglas T, Young MJ (May 2009). "Структурные и функциональные исследования архейных вирусов". *The Journal of Biological Chemistry*. **284** (19): 12599–603. doi:10.1074/jbc.R800078200. PMC 2675988. PMID 19158076.
182. Edwards RA, Rohwer F (июнь 2005). "Вирусная метагеномика". *Nature Reviews. Микробиология*. **3** (6):

- 504–10. doi:10.1038/nrmicro1163. PMID 15886693. S2CID 8059643.
183. Canchaya C, Fournous G, Chibani-Chennoufi S, Dillmann ML, Brüssow H (август 2003). "Фаги как агенты латерального переноса генов". *Current Opinion in Microbiology*. **6** (4): 417–24. doi:10.1016/S1369-5274(03)00086-9. PMID 12941415.
184. Рыбицкий Е.П. (1990). "Классификация организмов на краю жизни, или проблемы систематики вирусов". *Южноафриканский научный журнал*. **86**: 182-86.
185. Кунин Е.В., Старокадомский П (октябрь 2016). "Живы ли вирусы? Парадигма репликаторов проливает решающий свет на старый, но ошибочный вопрос". *Исследования по истории и философии биологических и биомедицинских наук*. **59**: 125-34. doi:10.1016/j.shpsc.2016.02.016. PMC 5406846. PMID 26965225.
186. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Тело растения". *Принципы жизни* (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 521-536. ISBN 978-1464175121.
187. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Питание и транспорт растений".

- Principles of Life (2nd ed.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 537-554. ISBN 978-1464175121.
188. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Рост и развитие растений". Принципы жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 555-572. ISBN 978-1464175121.
189. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Размножение цветковых растений". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 573-588. ISBN 978-1464175121.
190. "Самоопыление и перекрестное опыление | Биология для мажоров II" - courses.lumenlearning.com.
191. Хармер СЛ, Панда С, Кей СА (2001). "Молекулярные основы циркадных ритмов". Annual Review of Cell and Developmental Biology. **17**: 215-53. doi:10.1146/annurev.cellbio.17.1.215. PMID 11687489.
192. Стронг, Дональд Р.; Рэй, Томас С. (1 января 1975 г.). "Поведение тропической лианы (*Monstera gigantea*) по расположению деревьев-хозяев с помощью скототропизма". Science. **190** (4216): 804-806. Bibcode:1975Sci...190.. 804S. doi:10.1126/science.190.4216.804. JSTOR 1741614. S2CID 84386403.

193. Jaffe MJ, Forbes S (февраль 1993). "Тигмоморфогенез: влияние механического возмущения на растения". *Plant Growth Regulation*. **12** (3): 313–24. doi:10.1007/BF00027213. PMID 11541741. S2CID 29466083.
194. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Основы функционирования животных". *Принципы жизни* (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 605-623. ISBN 978-1464175121.
195. Родольфо, Кельвин (январь 2000). "Что такое гомеостаз?". *Scientific American*. Архивировано из первоисточника 2013-12-03.
196. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Водно-солевой баланс". *Принципы жизни* (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 751-767. ISBN 978-1464175121.
197. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Питание, кормление и пищеварение". *Принципы жизни* (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 624-642. ISBN 978-1464175121.

198. Кэмпбелл, Нил А. (1990). Биология (2-е изд.). Редвуд Сити, Калифорния: Benjamin/Cummings Pub. Co. pp. 834-835. ISBN 0-8053-1800-3.
199. Hsia, CC; Hyde, DM; Weibel, ER (15 марта 2016). "Структура легких и внутренние проблемы газообмена". *Comprehensive Physiology*. **6** (2): 827–95. doi:10.1002/cphy.c150028. PMC 5026132. PMID 27065169.
200. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Циркуляция". *Принципы жизни* (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 661-680. ISBN 978-1464175121.
201. "сердечно-сосудистая система" в Медицинском словаре Дорланда
202. "Как работает система кровообращения?". PubMed Health. 1 августа 2016 года.
203. Pawlina, Wojciech; Ross, Michael H. (2011). *Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology* (6th ed.). Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health. ISBN 9780781772006. OCLC 548651322.
204. Стэндинг, Сьюзен (2016). *Анатомия Грея : анатомическая основа клинической практики* (сорок

- первое изд.). Philadelphia. ISBN 9780702052309. OCLC 920806541.
205. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид Е.; Прайс, Мэри В. (2014). "Мышцы и движение". Принципы жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 681-698. ISBN 978-1-464-10947-8.
206. Гарднер, К.Р. (1976). "Нейронный контроль локомоции у земляного червя". Биологические обзоры Кембриджского философского общества. **51** (1): 25-52. doi:10.1111/j.1469-185X.1976.tb01119.x. PMID 766843. S2CID 9983649.
207. Александр, Р. МакНилл (2003). "Мышцы, моторика". Principles of Animal Locomotion (2nd ed.). Принстон, штат Нью-Джерси: Princeton University Press. pp. 15-37. ISBN 978-0-691-12634-0.
208. Джозефсон, Р. К.; Маламуд, Дж. Г.; Стокс, Д. Р. (2000-09-15). "Асинхронная мышца: учебник". Journal of Experimental Biology. **203**(18): 2713-2722. doi:10.1242/jeb.203.18.2713. ISSN 0022-0949. PMID 10952872.
209. Lee WC, Huang H, Feng G, Sanes JR, Brown EN, So PT, Nedivi E (февраль 2006). "Динамическое ремоделирование дендритных дуг в ГАМК-ергических интернейронах зрительной коры взрослого человека".

- PLOS Biology. 4 (2): e29.  
doi:10.1371/journal.pbio.0040029. PMC 1318477. PMID 16366735.
210. "Нервная система". Колумбийская энциклопедия. Издательство Колумбийского университета.
211. Эйдли, Дэвид Дж. (1998). "Введение". Физиология возбудимых клеток (4-е изд.). New York: Cambridge University Press. pp. 1-7. ISBN 978-0521574211.
212. Эйдли, Дэвид Дж. (1998). "Ионная основа нервной проводимости". Физиология возбудимых клеток (4-е изд.). Нью-Йорк: Cambridge University Press. pp. 54-75. ISBN 978-0521574211.
213. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Нейроны, органы чувств и нервные системы". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 699-732. ISBN 978-1464175121.
214. Фриман, Скотт; Куиллин, Ким; Эллисон, Лизабет; Блэк, Майкл; Подгорски, Грег; Тейлор, Эмили; Кармайкл, Джефф (2017). "Сенсорные системы животных". Биологическая наука (6-е изд.). Hoboken, N.J.: Pearson. pp. 922-941. ISBN 978-0321976499.
215. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Контроль со стороны

- эндокринной и нервной систем". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 733-750. ISBN 978-1464175121.
216. Шустер М (2014-03-14). Биология для меняющегося мира, с физиологией (Второе изд.). New York, NY. ISBN 9781464151132. OCLC 884499940.
217. Мариб Э (2014). Анатомия и физиология. Glenview, IL: Pearson Education, Inc. ISBN 978-0-321-86158-0.
218. Кнобильт, Эрнст (1998). Энциклопедия репродукции, том 1. Academic Press. p. 315. ISBN 978-0-12-227020-8.
219. Шварц, Джилл (2010). Master the GED 2011. Peterson's. p. 371. ISBN 978-0-7689-2885-3.
220. Гамильтон, Мэтью Б. (2009). Популяционная генетика. Wiley-Blackwell. p. 55. ISBN 978-1-4051-3277-0.
221. Вилле, Клод Элвин; Уокер, Уоррен Франклин; Барнс, Роберт Д. (1984). Общая зоология. Saunders College Pub. p. 467. ISBN 978-0-03-062451-3.
222. Гамильтон, Уильям Джеймс; Бойд, Джеймс Диксон; Моссман, Харланд Уинфилд (1945). Эмбриология человека: (пренатальное развитие формы и функции). Williams & Wilkins. p. 330.

223. Филипс, Джой Б. (1975). Развитие анатомии позвоночных. Mosby. p. 176. ISBN 978-0-8016-3927-2.
224. Энциклопедия Американа: библиотека универсальных знаний, том 10. Encyclopedia Americana Corp. 1918. p. 281.
225. Ромозер, Уильям С.; Стоффолано, Дж. Г. (1998). Наука энтомологии. WCB McGraw-Hill. p. 156. ISBN 978-0-697-22848-2.
226. Adiyodi, K.G.; Hughes, Roger N.; Adiyodi, Rita G. (July 2002). Reproductive Biology of Invertebrates, Volume 11, Progress in Asexual Reproduction. Wiley. p. 116. ISBN 978-0-471-48968-9.
227. Шац, Фил. "Концепции биологии | Как размножаются животные". OpenStax College. Архивировано из оригинала 6 марта 2018 года. Retrieved 5 March 2018.
228. Юнгникель МК, Саттон КА, Флорман ХМ (август 2003). "В начале: уроки оплодотворения у мышей и червей". Cell. **114** (4): 401–4. doi:10.1016/s0092-8674(03)00648-2. PMID 12941269.
229. Gilbert, S. F.; Barresi, M. J. F. (2017-05-01). "Developmental Biology, 11Th Edition 2016". American Journal of Medical Genetics Part A. **173** (5): 1430. doi:10.1002/ajmg.a.38166. ISSN 1552-4833.

230. Эдлунд, Хелена (июль 2002). "Органогенез: Органогенез поджелудочной железы - механизмы развития и последствия для терапии". *Nature Reviews Genetics*. **3** (7): 524-532. doi:10.1038/nrg841. ISSN 1471-0064. PMID 12094230. S2CID 2436869.
231. Рэнкин, Скотт (2018). "Timing is everything: Reiterative Wnt, BMP and RA signaling regulate developmental competence during endoderm organogenesis". *Developmental Biology*. **434** (1): 121–132. doi:10.1016/j.ydbio.2017.11.018. PMC 5785443. PMID 29217200 - via NCBI.
232. Адер, Мариус; Танака, Элли М (2014). "Моделирование развития человека в 3D-культуре". *Current Opinion in Cell Biology*. **31**: 23-28. doi:10.1016/j.ccb.2014.06.013. PMID 25033469.
233. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Поведение животных". *Принципы жизни* (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 827-844. ISBN 978-1464175121.
234. Páez-Rondón, Oscar; Aldana, Elis; Dickens, Joseph; Otálora-Luna, Fernando (May 2018). "Этологическое описание фиксированного паттерна действий у целующегося клопа (Triatominae): зрение, вкусовые ощущения, выдвижение хоботка и питье воды и гуавы".

- Journal of Ethology. **36** (2): 107–116. doi:10.1007/s10164-018-0547-y. ISSN 0289-0771.
235. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Поведение животных". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 1137-1161. ISBN 978-0134093413.
236. Бегон, М; Таунсенд, КР; Харпер, JL (2006). Экология: От индивидуумов до экосистем (4-е изд.). Blackwell. ISBN 978-1-4051-1117-1.
237. Среды обитания мира. Нью-Йорк: Marshall Cavendish. 2004. p. 238. ISBN 978-0-7614-7523-1.
238. Tansley (1934); Molles (1999), p. 482; Chapin et al. (2002), p. 380; Schulze et al. (2005); p. 400; Gurevitch et al. (2006), p. 522; Smith & Smith 2012, p. G-5
239. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Распределение экологических систем Земли". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 845-863. ISBN 978-1464175121.
240. Одум, Юджин П (1971). Основы экологии (третье изд.). New York: Saunders. ISBN 978-0-534-42066-6.
241. Чапин III, Ф. Стюарт; Мэтсон, Памела А.; Муни, Гарольд А. (2002). "Концепция экосистемы". Принципы

- экологии наземных экосистем. New York: Springer. p. 10. ISBN 978-0-387-95443-1.
242. Плантон, Серж (Франция; редактор) (2013). "Приложение III. Глоссарий: МГЭИК - Межправительственная группа экспертов по изменению климата" (PDF). Пятый оценочный доклад МГЭИК. стр. 1450. Архивировано из оригинала (PDF) на 2016-05-24. Retrieved 25 July 2016.
243. Шепард, доктор Дж. Маршалл; Шинделл, Дрю; О'Кэрролл, Синтия М. (1 февраля 2005 г.). "В чем разница между погодой и климатом?". НАСА. Retrieved 13 November 2015.
244. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Популяции". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 864-897. ISBN 978-1464175121.
245. Урри, Лиза; Кейн, Майкл; Вассерман, Стивен; Минорски, Питер; Рис, Джейн (2017). "Популяционная экология". Биология Кэмпбелла (11-е изд.). New York: Pearson. pp. 1188-1211. ISBN 978-0134093413.
246. "Популяция". Биология онлайн. Retrieved 5 December 2012.
247. "Определение популяции (биология)". Оксфордские словари. Издательство Оксфордского

- университета. Получено 5 декабря 2012 г. Сообщество животных, растений или людей, между членами которого происходит скрещивание.
248. Хартл, Дэниел (2007). Принципы популяционной генетики. Sinauer Associates. p. 45. ISBN 978-0-87893-308-2.
249. Чепмен, Эрик Дж.; Байрон, Кэрри Дж. (2018-01-01). "Гибкое применение несущей способности в экологии". *Global Ecology and Conservation*. **13**: e00365. doi:10.1016/j.gecco.2017.e00365. ISSN 2351-9894.
250. Одум, Э. П.; Барретт, Г. В. (2005). Основы экологии (5-е изд.). Brooks/Cole, a part of Cengage Learning. ISBN 978-0-534-42066-6. Архивировано из оригинала 2011-08-20.
251. Вуттон, Джей Ти; Эммерсон, М (2005). "Измерение силы взаимодействия в природе". *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **36**: 419-44. doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.091704.175535. JSTOR 30033811.
252. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Экологические и эволюционные последствия внутри и между видами". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 882-897. ISBN 978-1464175121.

253. Смит, А. Л. (1997). Оксфордский словарь по биохимии и молекулярной биологии. Оксфорд [Оксфордшир]: Oxford University Press. p. 508. ISBN 978-0-19-854768-6. Фотосинтез - синтез организмами органических химических соединений, в частности углеводов, из углекислого газа с использованием энергии, получаемой от света, а не путем окисления химических соединений.
254. Эдвардс, Катрина. "Микробиология осадочного пруда и лежащего под ним молодого, холодного, гидрологически активного фланга хребта". Океанографический институт Вудс-Хоул.
255. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Экологические сообщества". Принципы жизни (2-е изд.). Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. pp. 898-915. ISBN 978-1464175121.
256. Рибик, Холли (16 июня 2011). "Углеродный цикл". Обсерватория Земли. НАСА. Архивировано из оригинала 5 марта 2016 года. Retrieved 5 April 2018.
257. Хиллис, Дэвид М.; Садава, Дэвид; Хилл, Ричард В.; Прайс, Мэри В. (2014). "Распределение экологических систем Земли". Принципы жизни (2-е изд.). Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. pp. 916-934. ISBN 978-1464175121.

258. МГЭИК AR5 WG1 Резюме для политиков 2013, с. 4: Потепление климатической системы однозначно, и с 1950-х годов многие из наблюдаемых изменений являются беспрецедентными на протяжении десятилетий и тысячелетий. Атмосфера и океан потеплели, количество снега и льда уменьшилось, уровень моря повысился, а концентрация парниковых газов увеличилась; IPCC SR15 Ch1 2018, p. 54: Обилие эмпирических свидетельств беспрецедентной скорости и глобального масштаба воздействия антропогенного влияния на систему Земли (Steffen et al., 2016; Waters et al., 2016) заставило многих ученых призвать к признанию того, что Земля вступила в новую геологическую эпоху - антропоцен.
259. ЕРА 2020: Диоксид углерода (76%), Метан (16%), Оксид азота (6%).
260. ЕРА 2020: Углекислый газ попадает в атмосферу при сжигании ископаемого топлива (угля, природного газа и нефти), твердых отходов, деревьев и других биологических материалов, а также в результате некоторых химических реакций (например, при производстве цемента). Использование ископаемого топлива является основным источником СО<sub>2</sub>. СО<sub>2</sub> также может выделяться в результате прямого

- антропогенного воздействия на лесное хозяйство и другие виды землепользования, например, при обезлесении, расчистке земель под сельское хозяйство и деградации почв. Метан выделяется при добыче и транспортировке угля, природного газа и нефти. Выбросы метана также являются результатом животноводства и других видов сельскохозяйственной деятельности, а также разложения органических отходов на полигонах твердых бытовых отходов.
261. Sahney, S.; Benton, M. J (2008). "Восстановление после самого глубокого массового вымирания всех времен". *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **275** (1636): 759–65. doi:10.1098/rspb.2007.1370. PMC 2596898. PMID 18198148.
262. Соуле, Майкл Е.; Уилкоккс, Брюс А. (1980). *Биология охраны природы: эволюционно-экологическая перспектива*. Сандерленд, Массачусетс: Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-800-1.
263. Соуле, Майкл Э. (1986). "Что такое биология сохранения?". (PDF). *BioScience*. Американский институт биологических наук. **35** (11): 727-34. doi:10.2307/1310054. JSTOR 1310054.
264. Хантер, Малкольм Л. (1996). *Основы биологии сохранения*. Оксфорд: Blackwell Science. ISBN 978-0-86542-371-8.

265. Меффе, Гэри К.; Марта Дж. Грум (2006). Принципы биологии охраны природы (3-е изд.). Сандерленд, штат Массачусетс: Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-518-5.
266. Ван Дейк, Фред (2008). Биология сохранения: основы, концепции, применение (2-е изд.). Нью-Йорк: Springer-Verlag. doi:10.1007/978-1-4020-6891-1. ISBN 9781402068904. OCLC 232001738.
267. Sahney, S.; Benton, M. J.; Ferry, P. A. (2010). "Связь между глобальным таксономическим разнообразием, экологическим разнообразием и распространением позвоночных на суше". *Biology Letters*. **6** (4): 544–7. doi:10.1098/rsbl.2009.1024. PMC 2936204. PMID 20106856.
268. Koh, Lian Pin; Dunn, Robert R.; Sodhi, Navjot S.; Colwell, Robert K.; Proctor, Heather C.; Smith, Vincent S. (2004). "Кожестинкции видов и кризис биоразнообразия". *Science*. **305** (5690): 1632–4. Bibcode:2004Sci...305.1632K. doi:10.1126/science.1101101. PMID 15361627. S2CID 30713492.
269. Оценка экосистем на пороге тысячелетия (2005). Экосистемы и благосостояние человека: Синтез

- биоразнообразия. Институт мировых ресурсов, Вашингтон, О.К. [1]
270. Джексон, Дж. Б. К. (2008). "Экологическое вымирание и эволюция в новом смелом океане". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **105** (Suppl 1): 11458-65. Bibcode:2008PNAS... 10511458J. doi:10.1073/pnas.0802812105. PMC 2556419. PMID 18695220.
271. Соул, Майкл Э. (1986). *Биология сохранения: Наука о скудости и разнообразии*. Sinauer Associates. p. 584. ISBN 978-0-87893-795-0.
272. Гейб Бакли. (2020). Эукариотическая клетка. Reviewed by: BD Editors. Последнее обновление: 6 ноября 2020. Биологический словарь
273. Гудселл, Д. С. Кишечная палочка. *Биохим. Мол. Biol. Educ.* **37**, 325-332 (2009).
274. Pilhofer, M., Ladinsky, M. S., McDowall, A. W. & Jensen, G. J. Bacterial TEM: new insights from cryo-microscopy. *Methods Cell Biol.* **96**, 21-45 (2010).
275. Pilhofer, M. et al. Архитектура и интерфейс хозяина экологических хламидий, выявленные с помощью электронной криотомографии. *Environ. Microbiol.* **16**, 417-429 (2014).

276. An, L. & Jensen, G. J. Электронная томография клеток. *Q. Rev. Biophys.* **45**, 27-56 (2012).
277. Биби, М., Гумбарт, Ж. К., Ру, Б. и Йенсен, Г. Дж. Архитектура и сборка клеточной стенки грамположительных клеток. *Мол. Microbiol.* **88**, 664-672 (2013).
278. Точева, Е. И. и др. Трансформации пептидогликана при споруляции *Bacillus subtilis*. *Мол. Microbiol.* **88**, 673-686 (2013).
279. Хауленд, Джон Л. (2000). *The Surprising Archaea: Discovering Another Domain of Life*. Оксфорд: Oxford University Press. pp. 69-71. ISBN 0-19-511183-4.
280. К.Майкл Хоган 2010. Абиотический фактор. Энциклопедия Земли. под ред. Эмили Моноссон и К. Кливленда. Национальный совет по науке и окружающей среде. Вашингтон, округ Колумбия
281. van Heijenoort J (2001). "Формирование гликановых цепей при синтезе бактериального пептидогликана". *Гликобиология.* **11** (3): 25R–36R. doi:10.1093/glycob/11.3.25R. PMID 11320055.
282. Кох А (2003). "Бактериальная стенка как мишень для атаки: прошлое, настоящее и будущие исследования". *Clin Microbiol Rev.* **16** (4): 673–87.

- doi:10.1128/CMR.16.4.673687.2003. PMC 207114. PMID 14557293.
283. Cantwell H, Nurse P (2019). "Разгадка контроля размера ядер". *Current Genetics*. Springer. **65** (6): 1282. doi:10.1007/s00294-019-00999-3. PMC 6820586. PMID 31147736.
284. Lodish HF, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. (2016). *Molecular Cell Biology* (Eighth ed.). New York: W.H. Freeman. ISBN 978-1-4641-8339-3.
285. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2002). Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Нью-Йорк: Garland Science. p. 197. ISBN 978-0-8153-4072-0.
286. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Морган Д, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2015). *Molecular Biology of the Cell* (6 ed.). New York: Garland Science.
287. Rhoades R, Pflanze R, eds. (1996). "Ch3". *Физиология человека* (3-е изд.). Saunders College Publishing.
288. Шульга Н, Мосаммапараст Н, Возняк Р, Голдфарб ДС (май 2000). "Дрожжевые нуклеопорины, участвующие в пассивной проницаемости ядерной оболочки". Первичный. *Журнал клеточной биологии*.

- 149 (5): 1027–38. doi:10.1083/jcb.149.5.1027. PMC 2174828. PMID 10831607.
289. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SL, Darnell J (2004). Молекулярная биология клетки (5-е изд.). Нью-Йорк: WH Freeman. ISBN 978-0-7167-2672-2.
290. Pemberton LF, Paschal VM (март 2005). "Механизмы рецептор-опосредованного ядерного импорта и ядерного экспорта". Обзор. *Traffic*. **6** (3): 187-98. doi:10.1111/j.1600-0854.2005.00270.x. PMID 15702987. S2CID 172279.
291. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П, ред. (2002). "Глава 4: ДНК и хромосомы". Молекулярная биология клетки (4-е изд.). New York: Garland Science. pp. 191-234. ISBN 978-0-8153-4072-0.
292. Stuurman N, Heins S, Aebi U (1998). "Ядерные ламины: их структура, сборка и взаимодействия". Обзор. *Журнал структурной биологии*. **122** (1-2): 42–66. doi:10.1006/jsbi.1998.3987. PMID 9724605.
293. Goldman AE, Moir RD, Montag-Lowy M, Stewart M, Goldman RD (November 1992). "Путь встраивания микроинъецированного ламина А в ядерную оболочку".

- Первичный. Журнал клеточной биологии. **119** (4): 72535. doi:10.1083/jcb.119.4.725. PMC 2289687. PMID 1429833.
294. Голдман РД, Груенбаум Й, Мойр РД, Шумейкер ДК, Спанн ТП (март 2002). "Ядерные ламины: строительные блоки ядерной архитектуры". Обзор. *Genes & Development*. **16** (5): 533–47. doi:10.1101/gad.960502. PMID 11877373.
295. Broers JL, Ramaekers FC (2004). "Динамика сборки и разборки ядерной ламины". Обзор. *Symposia of the Society for Experimental Biology* (56): 177-92. ISBN 9781134279838. PMID 15565881.
296. Мойр РД, Юн М, Кхуон С, Голдман РД (декабрь 2000). "Ядерные ламины А и В1: различные пути сборки во время формирования ядерной оболочки в живых клетках". Первоисточник. Журнал клеточной биологии. **151** (6): 1155–68. doi:10.1083/jcb.151.6.1155. PMC 2190592. PMID 11121432.
297. Spann TP, Goldman AE, Wang C, Huang S, Goldman RD (февраль 2002). "Изменение организации ядерных ламинов ингибирует РНК-полимеразу II-зависимую транскрипцию". Первичный. Журнал клеточной биологии. **156** (4): 603–8. doi:10.1083/jcb.200112047. PMC 2174089. PMID 11854306.

298. Mounkes LC, Stewart CL (июнь 2004). "Старение и ядерная организация: ламины и прогерия". Обзор. *Current Opinion in Cell Biology*. **16** (3): 322–7. doi:10.1016/j.ceb.2004.03.009. PMID 15145358.
299. Ehrenhofer-Murray AE (июнь 2004). "Динамика хроматина при репликации, транскрипции и репарации ДНК". Обзор. *Европейский журнал биохимии*. **271** (12): 2335-49. doi:10.1111/j.1432-1033.2004.04162.x. PMID 15182349.
300. Григорьев С.А., Булышко Ю.А., Попова Е.Ю. (2006). "Цель корректирует средства: ремоделирование гетерохроматина во время дифференцировки терминальных клеток". Обзор. *Chromosome Research*. **14** (1): 53–69. doi:10.1007/s10577-005-1021-6. PMID 16506096. S2CID 6040822.
301. Schardin M, Cremer T, Hager HD, Lang M (декабрь 1985). "Специфическое окрашивание хромосом человека в гибридных клеточных линиях китайского хомячка х человек демонстрирует интерфазные хромосомные территории" (PDF). *Первичная. Генетика человека*. **71** (4): 281-7. doi:10.1007/BF00388452. PMID 2416668. S2CID 9261461.
302. Lamond AI, Earnshaw WC (апрель 1998). "Структура и функция в ядре" (PDF). Обзор. *Science*. **280**

- (5363): 54753. CiteSeerX 10.1.1.323.5543.  
doi:10.1126/science.280.5363.547. PMID 9554838.
303. Kurz A, Lampel S, Nickolenko JE, Bradl J, Benner A, Zirbel RM, et al. (December 1996). "Активные и неактивные гены локализируются преимущественно на периферии хромосомных территорий". Первичный. Журнал клеточной биологии. **135** (5): 1195205. doi:10.1083/jcb.135.5.1195. PMC 2121085. PMID 8947544. Архивировано из оригинала 29 сентября 2007 года.
304. Ротфилд Н.Ф., Столлар Б.Д. (ноябрь 1967). "Связь класса иммуноглобулинов, структуры антиядерных антител и комплементфиксирующих антител с ДНК в сыворотках пациентов с системной красной волчанкой". Первичный. Журнал клинических исследований. **46** (11): 1785-94. doi:10.1172/JCI105669. PMC 292929. PMID 4168731.
305. Barned S, Goodman AD, Mattson DH (февраль 1995). "Частота антиядерных антител при рассеянном склерозе". Первичная. Неврология. **45** (2): 384-5. doi:10.1212/WNL.45.2.384. PMID 7854544. S2CID 30482028.
306. Эрнандес-Вердун Д (январь 2006). "Нуклеола: от структуры к динамике". Обзор. Гистохимия и клеточная

- биология. **125** (1-2): 127–37. doi:10.1007/s00418-005-0046-4. PMID 16328431. S2CID 20769260.
307. Lamond AI, Sleeman JE (октябрь 2003). "Ядерная субструктура и динамика". Обзор. *Current Biology*. **13**(21): R8258. doi:10.1016/j.cub.2003.10.012. PMID 14588256. S2CID 16865665.
308. Cioce M, Lamond AI (2005). "Тела Кахаля: долгая история открытия". Обзор. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. **21**: 105-31. doi:10.1146/annurev.cellbio.20.010403.103738. PMID 16212489. S2CID 8807316.
309. Lafarga M, Berciano MT, Pena E, Mayo I, Castaño JG, Bohmann D, et al. (August 2002). "Кластосома: подтип ядерного тела, обогащенного 19S и 20S протеасомами, убиквитином и белковыми субстратами протеасомы". Первичная. *Молекулярная биология клетки*. **13** (8): 2771-82. CiteSeerX 10.1.1.321.6138. doi:10.1091/mbc.e02-030122. PMC 117941. PMID 12181345.
310. Pollard TD, Earnshaw WC (2004). *Биология клетки*. Филадельфия: Saunders. ISBN 978-0-7216-3360-2.
311. Дандр М, Мистели Т (июнь 2001). "Функциональная архитектура в клеточном ядре". Обзор. *Биохимический журнал*. **356**(Pt 2): 297–310.

- doi:10.1042/0264-6021:3560297. PMC 1221839. PMID 11368755.
312. Bond CS, Fox AH (сентябрь 2009). "Парасплексы: ядерные тела, построенные на длинных некодирующих РНК". Обзор. Журнал клеточной биологии. **186** (5): 637–44. doi:10.1083/jcb.200906113. PMC 2742191. PMID 19720872.
313. Goebel NH, Warlo I (январь 1997). "Немалиновая миопатия с интрануклеарными стержнями - интрануклеарная стержневая миопатия". Обзор. Нейромышечные расстройства. **7** (1): 13–9. doi:10.1016/S0960-8966(96)00404-X. PMID 9132135. S2CID 29584217.
314. Matera AG, Frey MR (август 1998). "Свернутые тела и драгоценные камни: Янус или Джемини?". Обзор. Американский журнал генетики человека. **63** (2): 317-21. doi:10.1086/301992. PMC 1377332. PMID 9683623.
315. Матера А.Г. (август 1998). "О свернутых телах, драгоценных камнях и лососе". Обзор. Журнал клеточной биохимии. **70** (2): 181–92. doi:10.1002/(sici)1097-4644(19980801)70:2< 181::aid-jcb4>3.0.co;2-k. PMID 9671224.
316. Navascues J, Berciano MT, Tucker KE, Lafarga M, Matera AG (June 2004). "Таргетинг SMN в тельца

- Каджала и ядерные геммы во время нейритогенеза".  
Первичная. *Chromosoma*. **112** (8): 398–409.  
doi:10.1007/s00412-004-0285-5. PMC 1592132. PMID  
15164213
317. Saunders WS, Cooke CA, Earnshaw WC (ноябрь  
1991). "Компартментализация в ядре: открытие новой  
субъядерной области". Первичный. *Журнал клеточной  
биологии*. **115**(4): 919–31. doi:10.1083/jcb.115.4.919. PMC  
2289954. PMID 1955462.
318. Pombo A, Cuello P, Schul W, Yoon JB, Roeder RG,  
Cook PR, Murphy S (March 1998). "Региональная и  
временная специализация в ядре: транскрипционно  
активный ядерный домен, богатый антигенами PTF, Oct1  
и PIKA, ассоциируется со специфическими  
хромосомами на ранних стадиях клеточного цикла".  
Первичный. *Журнал EMBO*. **17** (6): 1768–78.  
doi:10.1093/emboj/17.6.1768. PMC 1170524. PMID  
9501098.
319. Zimmer A, Nguyen QD, Gespach C (октябрь 2004).  
"Ядерные тела и компартменты: функциональные роли и  
клеточная сигнализация в здоровье и болезни". Обзор.  
*Cellular Signalling*. **16** (10): 1085–104.  
doi:10.1016/j.cellsig.2004.03.020. PMID 15240004.

320. Lallemand-Breitenbach V, de Thé H (май 2010). "Ядерные тела ПМЛ". Обзор. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2 (5): a000661. doi:10.1101/cshperspect.a000661. PMC 2857171. PMID 20452955.
321. Спектор Д. Л., Ламонд А. И. (февраль 2011). "Ядерные крапинки". Обзор. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 3 (2): a000646. doi:10.1101/cshperspect.a000646. PMC 3039535. PMID 20926517.
322. Страницы биологии Кимбалла Архивировано 2009-01-25 на Wayback Machine, Клеточные мембраны
323. Синглтон П (1999). Бактерии в биологии, биотехнологии и медицине (5-е изд.). New York: Wiley. ISBN 978-0-471-98880-9.
324. Том Херрманн<sup>1</sup>; Сандип Шарма<sup>2</sup>. (2 марта 2019). "Физиология, Мембрана". StatPearls. 1 SIU School of Medicine 2 Baptist Regional Medical Center. PMID 30855799
325. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, и др. (2002). Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Нью-Йорк: Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3. Архивировано из оригинала 2017-12-20.

326. Будин И., Деварадж Н. К. (январь 2012). "Сборка мембран под действием биомиметической реакции сопряжения". Журнал Американского химического общества. **134** (2): 751-3. doi:10.1021/ja2076873. PMC 3262119. PMID 22239722.
327. Сотрудники (25 января 2012 г.). "Химики синтезировали искусственную клеточную мембрану". ScienceDaily. Архивировано из оригинала 29 января 2012 года. Retrieved February 18, 2012.
328. Сотрудники (26 января 2012). "Химики создают искусственную клеточную мембрану". kurzweilai.net. Архивировано из первоисточника 26 февраля 2012 года. Retrieved February 18, 2012.
329. Zeidi, Mahdi; Kim, Chun IL (2018). "Влияние внутримембранной вязкости на морфологию липидных мембран: полное аналитическое решение". Scientific Reports. **8** (1): 12845. doi:10.1038/s41598-018-31251-6. ISSN 2045-2322.
330. Ломбард Дж (декабрь 2014). "Жили-были клеточные мембраны: 175 лет исследования клеточных границ". Biology Direct. **9**: 32. doi:10.1186/s13062-014-0032-7. PMC 4304622. PMID 25522740.
331. Лерай, К. Хронологическая история липидного центра. Киберлипидный центр. Последнее обновление

11 ноября 2017 года. ссылка Архивировано 2017-10-13 в Wayback Machine.

332. Гортер Э, Грендель Ф (март 1925). "О бимолекулярных слоях липоидов на хромосомах крови". Журнал экспериментальной медицины. **41** (4): 439–443. doi:10.1084/jem.41.4.439. PMC 2130960. PMID 19868999.
333. S J Singer and G L Nicolson. "Жидкостно-мозаичная модель структуры клеточных мембран". Science. (1972) 175. 720-731.
334. де Врис Х (1885). "Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen". Jahrb. Wiss. Bot. **16**: 465-598.
335. Pfeffer, W. 1877. Osmotische Untersuchungen: Studien zur Zell Mechanik. Энгельманн, Лейпциг.
336. Пфеффер, В., 1900-1906. The Physiology of Plants, [1] Archived 2018-06-02 at the Wayback Machine. Translated by A. J. Ewart from the 2nd German ed. of Pflanzenphysiologie, 1897-1904, [2] Archived 2018-06-01 at the Wayback Machine. Clarendon Press, Oxford.
337. Шарп, Л. У. (1921). Introduction To Cytology. New York: McGraw Hill, p. 42.
338. Кляйнцеллер, А. 1999. Концепция Чарльза Эрнеста Овертона о клеточной мембране. In: Мембранная проницаемость: 100 лет со дня Эрнеста Овертона (ред.

- Deamer D.W., Kleinzeller A., Fambrough D.M.), pp. 1-18, Academic Press, San Diego.
339. Мэст СО (1924). "Структура и локомоция у Амoеба proteus". *Anat. Rec.* **29** (2): 88. doi:10.1002/ar.1090290205.
340. Plowe JQ (1931). "Мембраны в растительной клетке. I. Морфологические мембраны на протоплазматических поверхностях". *Protoplasma.* **12**: 196-220. doi:10.1007/BF01618716.
341. Уэйн Р (2009). Биология растительной клетки: От астрономии до зоологии. Амстердам: Elsevier/Academic Press. p. 17. ISBN 9780080921273.
342. Noutsi P, Gratton E, Chaieb S (2016-06-30). "Оценка флуктуаций мембранной текучести во время клеточного развития выявляет специфику времени и типа клеток". *PLOS ONE.* **11** (6):0158313. Bibcode:2016PLoSO..1158313N. doi:10.1371/journal.pone.0158313. PMC 4928918. PMID 27362860.
343. Lodish H, Berk A, Zipursky LS, et al. (2000). "Биомембраны: Структурная организация и основные функции". Молекулярная биология клетки (4-е изд.). New York: Scientific American Books. ISBN 978-0-7167-3136-8.

344. Купер ГМ (2000). "Структура плазматической мембраны". The Cell: A Molecular Approach (2nd ed.). Архивировано из первоисточника 2017-09-19.
345. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2000). "Биомембраны: Структурная организация и основные функции". Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Архивировано из первоисточника 2018-06-05.
345. Брэндли Б. К., Шнаар Р. Л. (июль 1986 г.). "Углеводы клеточной поверхности в распознавании и ответе клеток". Журнал биологии лейкоцитов. **40** (1): 97–111. doi:10.1002/jlb.40.1.97. PMID 3011937.
346. Jesse Gray; Shana Groeschler; Tony Le; Zara Gonzalez (2002). "Мембранная структура" (SWF). Колледж Дэвидсона. Архивировано из первоисточника 2007-01-08. Retrieved 2007-01-11.
347. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2000). "Посттрансляционные модификации и контроль качества в грубом ЭР". Молекулярная биология клетки (4-е изд.).
348. Купер, Джеффри М. (2000). "Транспорт малых молекул". The Cell: A Molecular Approach (2-е изд.). Архивировано из первоисточника 2018-06-05.

349. Kramer EM, Myers DR (апрель 2013). "Осмоз не обусловлен разбавлением воды". *Trends in Plant Science*. **18** (4): 195–7. doi:10.1016/j.tplants.2012.12.001. PMID 23298880.
350. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2002). "Мембранные белки". *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Архивировано из первоисточника 2018-06-05.
351. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2002). "Транспорт в клетку из плазматической мембраны: Эндоцитоз". *Молекулярная биология клетки* (4-е изд.). Garland Science. Архивировано из первоисточника 2018-06-05.
352. Солтон МР, Ким К (1996). Барон С (ред.). *Медицинская микробиология* (4-е изд.). Галвестон (штат Техас): Медицинский филиал Техасского университета в Галвестоне. ISBN 978-0963117212. PMID 21413343.
353. Mishra NN, Liu GY, Yeaman MR, Nast CC, Proctor RA, McKinnell J, Bayer AS (февраль 2011). "Связанное с каротиноидами изменение текучести клеточной мембраны влияет на восприимчивость *Staphylococcus aureus* к защитным пептидам хозяина". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **55** (2): 526–31.

- doi:10.1128/AAC.00680-10. PMC 3028772. PMID 21115796.
354. Александр С, Ритшель ЭТ (2001). "Бактериальные липополисахариды и врожденный иммунитет". Журнал исследований эндотоксинов. **7** (3): 167–202. doi:10.1177/09680519010070030101. PMID 11581570.
355. YashRoy RC (1999). "Структурная модель для органелл вирулентности грамотрицательных организмов со ссылкой на патогенность Salmonella в подвздошной кишке курицы". Indian Journal of Poultry Science. **34** (2): 213-219. Архивировано из первоисточника 2014-11-07.
356. Saier MH (2013). "Микрокомпартменты и белковые машины у прокариот". Журнал молекулярной микробиологии и биотехнологии. **23** (4-5): 243-69. doi:10.1159/000351625. PMC 3832201. PMID 23920489
- Singer SJ, Nicolson GL (February 1972). "Жидкостно-мозаичная модель структуры клеточных мембран". Science. **175** (4023): 720-31. Bibcode:1972Sci...175.. 720S. doi:10.1126/science.175.4023.720. PMID 4333397.
357. Zeidi, Mahdi; Kim, Chun IL (2018). "Влияние внутримембранной вязкости на морфологию липидных мембран: полное аналитическое решение". Scientific Reports. **8** (1): 12845. doi:10.1038/s41598-018-31251-6. ISSN 2045-2322.

358. Doherty GJ, McMahon HT (2008). "Посредничество, модуляция и последствия мембранно-цитоскелетных взаимодействий". *Annual Review of Biophysics*. **37**: 65-95. doi:10.1146/annurev.biophys.37.032807.125912. PMID 18573073. S2CID 17352662.
359. Whatley JM, John P, Whatley FR (апрель 1979). "От внеклеточного к внутриклеточному: становление митохондрий и хлоропластов". Труды Лондонского королевского общества. Серия В, Биологические науки. **204** (1155): 165-87. Bibcode:1979RSPSB.204.. 165W. doi:10.1098/rspb.1979.0020. PMID 36620.
360. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2002). "Структура и функция ДНК". Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Garland Science.
361. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П (2002). "Транспорт молекул между ядром и цитозолем". Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Garland Science.
362. Купер ГМ (2000). "Эндоплазматический ретикулум". *The Cell: A Molecular Approach* (2nd ed.). Архивировано из первоисточника 2017-10-03.
363. Xu H, Su W, Cai M, Jiang J, Zeng X, Wang H (2013-04-16). "Асимметричная структура мембран аппарата

- Гольджи, выявленная с помощью атомно-силового микроскопа *in situ*". PLOS ONE. **8** (4): e61596. Bibcode:2013PLoSO...861596X. doi:10.1371/journal.pone.0061596. PMC 3628984. PMID 23613878.
364. Рид Р, Вустон ТВ, Тодд ПМ (июль 1966). "Структура и функция сарколеммы скелетных мышц". Nature. **211** (5048): 534-6. Bibcode:1966Natur.211.. 534R. doi:10.1038/211534b0. PMID 5967498.
365. Campbell KP, Stull JT (апрель 2003). "Серия мини-обзоров взаимодействия базовой мембраны скелетных мышц, сарколеммы и цитоскелета". The Journal of Biological Chemistry. **278** (15): 12599–600. doi:10.1074/jbc.r300005200. PMID 12556456.
366. Mitra K, Ubarretxena-Belandia I, Taguchi T, Warren G, Engelman DM (March 2004). "Модуляция толщины бислоя мембран экзоцитарных путей мембран мембранными белками, а не холестеринном". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **101** (12): 4083-8. Bibcode:2004PNAS. 101.4083M. doi:10.1073/pnas.0307332101. PMC 384699. PMID 15016920.
367. Вессел ГМ, Вонг JL (октябрь 2009). "Изменения поверхности клеток в яйцеклетке при оплодотворении".

- Молекулярная репродукция и развитие. **76** (10): 942-53.  
doi:10.1002/mrd.21090. PMC 2842880. PMID 19658159.
368. Рейн Ч.С. (1999). "Характеристики нейрона".  
Основы нейробиологии: Молекулярные, клеточные и  
медицинские аспекты (6-е изд.).
369. Фицпатрик МО, Максвелл ВЛ, Грэм ДИ (март  
1998). "Роль аксолеммы в возникновении травматически  
индуцированного аксонального повреждения". Журнал  
неврологии, нейрохирургии и психиатрии. **64** (3): 285–7.  
doi:10.1136/jnnp.64.3.285. PMC 2169978. PMID 9527135.
370. Kerfeld CA, Sawaya MR, Tanaka S, Nguyen CV,  
Phillips M, Beeby M, Yeates TO (August 2005). "Белковые  
структуры, формирующие оболочку примитивных  
органелл". *Science*. **309** (5736): 936-8.  
Bibcode:2005Sci...309.. 936K. CiteSeerX 10.1.1.1026.896.  
doi:10.1126/science.1113397. PMID 16081736. S2CID
371. Мурат, Доротея; Бирн, Меган; Комейли, Араш  
(2010-10-01). "Клеточная биология прокариотических  
органелл". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2**  
(10): a000422. doi:10.1101/cshperspect.a000422. PMC  
2944366. PMID 20739411.
372. Петерсон Л (17 апреля 2010). "Освоение частей  
клетки". Планета уроков. Retrieved 2010-04-19.

373. Ди Грегорियो МА (2005). Отсюда в вечность: Эрнст Геккель и научная вера. Геттинген: Vandenhoeck & Ruprecht. p. 218.
374. Bütschli O (1888). Dr. H. G. Bronn's Klassen u. Ordnungen des Thier-Reichs wissenschaftlich dargestellt in Wort und Bild. Erster Band. Protozoa. Dritte Abtheilung: Infusoria und System der Radiolaria. p. 1412. Die Vacuolen sind demnach in strengem Sinne keine beständigen Organe oder O r g a n u l a (wie Möbius die Organe der Einzelligen im Gegensatz zu denen der Vielzelligen zu nennen vorschlug).
375. Райдер Дж. А., ред. (февраль 1889 г.). "Эмбриология: Структура человеческого сперматозоида". American Naturalist. 23: 184. Возможно, будет полезно использовать здесь слово органула вместо органа, следуя предложению Мёбиуса. Функционально дифференцированные многоклеточные агрегаты в многоклеточных формах или метазоа являются в этом смысле органами, тогда как для функционально дифференцированных частей одноклеточных организмов или для таких дифференцированных частей одноклеточных зародышевых элементов метазоа подходит уменьшительное органула.

376. Robin C, Pouchet G, Duval MM, Retterrer E, Tourneux F (1891). Journal de l'anatomie et de la physiologie normales et pathologiques de l'homme et des animaux. Ф. Алкан.
377. Мёбиус К (сентябрь 1884). "Das Sterben der einzelligen und der vielzelligen Tiere. Vergleichend betrachtet". Biologisches Centralblatt. 4 (13, 14): 389-392, 448. Während die Fortpflanzungszellen der vielzelligen Tiere unthätig fortleben bis sie sich loslösen, wandern und entwickeln, treten die einzelligen Tiere auch durch die an der Fortpflanzung beteiligten Leibesmasse in Verkehr mit der Außenwelt und viele bilden sich dafür auch besondere Organula". Сноска на с. 448: "Die Organe der Heteroplastiden bestehen aus vereinigten Zellen. Da die Organe der Monoplastiden nur verschieden ausgebildete Teile e i n e r Zelle sind schlage ich vor, sie "Organula" zu nennen
378. Уолкер, Патрик (2009). Ядерный импорт гистоновых складчатых мотивов, содержащих гетеродимеры, с помощью импортина 13. Нидерзехская государственная и университетская библиотека Геттингена.
379. Килинг П. Дж., Арчибальд Дж. М. (апрель 2008). "Эволюция органелл: что в названии?". Current Biology.

- 18 (8): R345-7. doi:10.1016/j.cub.2008.02.065. PMID 18430636. S2CID 11520942.
380. Imanian B, Carpenter KJ, Keeling PJ (март-апрель 2007). "Митохондриальный геном третичного эндосимбионта сохраняет гены для белков электронного транспорта". Журнал эукариотической микробиологии. **54** (2): 146-53. doi:10.1111/j.1550-7408.2007.00245.x. PMID 17403155. S2CID 20393495.
381. Маллинз С (2004). "Теория биогенеза органелл: Историческая перспектива". Биогенез клеточных органелл. Springer Science+Business Media, National Institutes of Health. ISBN 978-0-306-47990-8.
382. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Уолтер П. "Генетические системы митохондрий и пластид". Молекулярная биология клетки (4-е изд.). ISBN 978-0-8153-3218-3.
383. Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG (2002). Биология (6-е изд.). Бенджамин Каммингс. ISBN 978-0-8053-6624-2.
384. Nott TJ, Petsalaki E, Farber P, Jarvis D, Fussner E, Plochowitz A, Craggs TD, Bazett-Jones DP, Pawson T, Forman-Kay JD, Baldwin AJ (March 2015). "Фазовый переход неупорядоченного белка puage генерирует экологически чувствительные безмембранные

- органеллы". *Molecular Cell*. **57** (5): 936–947. doi:10.1016/j.molcel.2015.01.013. PMC 4352761. PMID 25747659.
385. Banani SF, Lee HO, Hymann AA, Rosen MK (May 2017). "Биомолекулярные конденсаты: организаторы клеточной биохимии". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **18** (5): 285–298. doi:10.1038/nrm.2017.7. PMC 7434221. PMID 28225081.
386. Кормак Д.Х. (1984). Введение в гистологию. Липпинкотт. ISBN 978-0-397-52114-2.
387. Brangwynne CP, Eckmann CR, Courson DS, Rybarska A, Hoesge C, Gharakhani J, Jülicher F, Hymann AA (June 2009). "Зародышевые гранулы Р представляют собой жидкие капли, которые локализуются путем контролируемого растворения/конденсации". *Science*. **324** (5935): 1729–32. Bibcode:2009Sci...324.1729B. doi:10.1126/science.1172046. PMID 19460965. S2CID 42229928.
388. Fahey RC, Newton GL, Arrick B, Overdank-Bogart T, Aley SB (April 1984). "Entamoeba histolytica: эукариот без метаболизма глутатиона". *Science*. **224** (4644): 70–2. Bibcode:1984Sci...224...70F. doi:10.1126/science.6322306. PMID 6322306.

389. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff MC, Roberts K, Walter P, Wilson JH, Hunt T (2014-11-18). Молекулярная биология клетки (шестое изд.). Garland Science. p. 679. ISBN 978-0815345244.
390. Badano JL, Mitsuma N, Beales PL, Katsanis N (сентябрь 2006). "Цилиопатии: новый класс генетических заболеваний человека". *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. **7**: 125-48. doi:10.1146/annurev.genom.7.080505.115610. PMID 16722803.
391. Андерсон П, Кедерша Н (март 2008). "Стрессовые гранулы: дао сортировки РНК". *Trends in Biochemical Sciences*. **33** (3): 141–50. doi:10.1016/j.tibs.2007.12.003. PMID 18291657.
392. Tsai Y, Sawaya MR, Cannon GC, Cai F, Williams EB, Heinhorst S, Kerfeld CA, Yeates TO (June 2007). "Структурный анализ CsoS1A и белковой оболочки карбоксисомы *Halothiobacillus neapolitanus*". *PLOS Biology*. **5**(6): e144. doi:10.1371/journal.pbio.0050144. PMC 1872035. PMID 17518518.
393. Ryter A (январь-февраль 1988). "Вклад новых криометодов в лучшее знание анатомии бактерий". *Annales de l'Institut Pasteur. Микробиология*. **139** (1): 33–44. doi:10.1016/0769-2609(88)90095-6. PMID 3289587.

394. Komeili A, Li Z, Newman DK, Jensen GJ (январь 2006). "Магнитосомы - это инвагинации клеточной мембраны, организованные актиноподобным белком MamK" (PDF). *Science*. **311** (5758): 242-5. Bibcode:2006Sci...311...242K. doi:10.1126/science.1123231. PMID 16373532. S2CID 36909813.
395. Шеффель А, Груска М, Файвр Д, Линарудис А, Плитцко Ж.М., Шюлер Д (март 2006). "Кислотный белок выравнивает магнитосомы вдоль нитевидной структуры у магнитотаксических бактерий". *Nature*. **440** (7080): 110-4. Bibcode:2006Natur.440...110S. doi:10.1038/nature04382. PMID 16299495. S2CID 4372846.
396. Lindsay, M. R.; Webb, R. I.; Strous, M; Jetten, M. S.; Butler, M. K.; Forde, R. J.; Fuerst, J. A. (2001). "Компартментализация клеток у планктомицетов: Новые типы структурной организации бактериальной клетки". *Archives of Microbiology*. **175** (6): 413–29. doi:10.1007/s002030100280. PMID 11491082. S2CID 21970703.
397. Jetten, Mike S. M.; Niftrik, Laura van; Strous, Marc; Kartal, Boran; Keltjens, Jan T.; Op den Camp, Huub J. M. (2009-06-01). "Биохимия и молекулярная биология анаэробных бактерий". *Critical Reviews in Biochemistry and*

- Molecular Biology. 44 (2-3): 65–84.  
doi:10.1080/10409230902722783. PMID 19247843. S2CID  
205694872. Retrieved 2020-08-03.
398. Fuerst JA (13 октября 2005). "Внутриклеточные компартменты у планктомицетов". Annual Review of Microbiology. 59: 299-328.  
doi:10.1146/annurev.micro.59.030804.121258. PMID 15910279
399. "Что такое ДНК". Что такое ДНК. Линда Кларкс. Получено 6 августа 2016 г.
400. Bill Bryson, A Short History of Nearly Everything, Broadway Books, 2015.p. 500.
401. Дам Р (январь 2008). "Открытие ДНК: Фридрих Мишер и первые годы исследований нуклеиновых кислот". Генетика человека. 122 (6): 565-81.  
doi:10.1007/s00439-007-0433 0. PMID 17901982. S2CID 915930.
402. Кокс М, Нельсон Д (2008). Принципы биохимии. Susan Winslow. p. 288. ISBN 9781464163074.
403. "Структура ДНК". Что такое ДНК. Линда Кларкс. Получено 6 августа 2016 г.
404. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MS, Baldwin J, et al. (February 2001). "Первоначальное

- секвенирование и анализ генома человека"(PDF). Nature. **409** (6822): 860-921. Bibcode:2001Natur.409.. 860L. doi:10.1038/35057062. PMID 11237011.
405. Вентер JC, Адамс MD, Майерс EW, Ли PW, Мурал RJ, Саттон GG, и др. (февраль 2001). "Последовательность генома человека". Science. **291**(5507): 1304-51. Bibcode:2001Sci...291.1304V. doi:10.1126/science.1058040. PMID 11181995.
406. Будоул Б, ван Даал А (апрель 2009). "Извлечение доказательств из судебно-медицинских анализов ДНК: будущие направления молекулярной биологии". BioTechniques. **46** (5): 339-40, 342-50. doi:10.2144/000113136. PMID 19480629.
407. Элсон Д (1965). "Метаболизм нуклеиновых кислот (макромолекулярных ДНК и РНК)". Annual Review of Biochemistry. **34**: 449-86. doi:10.1146/annurev.bi.34.070165.002313. PMID
408. Дам Р (январь 2008). "Открытие ДНК: Фридрих Мишер и первые годы исследований нуклеиновых кислот". Генетика человека. nih.gov. **122** (6): 565–81. doi:10.1007/s00439-007-0433-0. PMID 17901982. S2CID 915930.

409. Брок ТД, Мэдиган МТ (2009). Брок биология микроорганизмов. Pearson / Benjamin Cummings. ISBN 978-0-321-53615-0.
410. Хардингер, Стивен; Калифорнийский университет, Лос-Анджелес (2011). "Знание нуклеиновых кислот" (PDF). ucla.edu.
411. Маллис, Кэри Б. Полимеразная цепная реакция (Нобелевская лекция). 1993. (получено 1 декабря 2010 г.) [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1993/mullis-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/mullis-lecture.html).
412. Верма С, Экштейн Ф (1998). "Модифицированные олигонуклеотиды: синтез и стратегия для пользователей". Annual Review of Biochemistry. **67**: 99-134. doi:10.1146/annurev.biochem.67.1.99. PMID 9759484.
413. Gregory SG, Barlow KF, McLay KE, Kaul R, Swarbreck D, Dunham A, et al. (May 2006). "Последовательность ДНК и биологическая аннотация хромосомы 1 человека". Nature. **441** (7091): 315-21. Bibcode:2006Natur.441.. 315G. doi:10.1038/nature04727. PMID 16710414.
414. Тодоров Т.И., Моррис М.Д. (апрель 2002). Национальные институты здравоохранения. "Сравнение поведения РНК, одноцепочечной ДНК и двухцепочечной ДНК при капиллярном электрофорезе в

- полуразбавленных полимерных растворах".  
Electrophoresis. nih.gov. **23** (7-8): 1033–44.  
doi:10.1002/1522-2683(200204)23:7/8< 1033::AID-  
ELPS1033>3.0.CO;2-7. PMID 11981850.
415. Маргарет Хант; Университет Южной Каролины  
(2010). "Стратегии репликации вируса RN". sc.edu.
416. McGlynn P, Lloyd RG (август 1999). "Активность  
геликазы RecG в трех- и четырехцепочечных структурах  
ДНК". Nucleic Acids Research. **27** (15): 3049–56.  
doi:10.1093/nar/27.15.3049. PMC 148529. PMID  
10454599418. Stryer, Lubert; Berg, Jeremy Mark;  
Тумoczko, John L. (2007). Биохимия. Сан-Франциско:  
W.H. Freeman. ISBN 978-0-7167-6766-4.
417. Rich A, RajBhandary UL (1976). "Трансферная РНК:  
молекулярная структура, последовательность и  
свойства". Annual Review of Biochemistry. **45**: 805-60.  
doi:10.1146/annurev.bi.45.070176.004105. PMID 60910.
418. Уотсон Дж. Д., Крик Ф. Х. (апрель 1953 года).  
"Молекулярная структура нуклеиновых кислот;  
структура нуклеиновой кислоты дезоксирибозы". Nature.  
**171** (4356): 737-8. Bibcode:1953Natur.171...737W.  
doi:10.1038/171737a0. PMID 13054692. S2CID 4253007.
419. Ferré-D'Amaré AR, Doudna JA (1999). "Складки  
РНК: понимание на основе последних кристаллических

- структур". Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure. **28**: 57-73. doi:10.1146/annurev.biophys.28.1.57. PMID 10410795. 422- Альбертс, Брюс (2008). Молекулярная биология клетки. Нью-Йорк: Garland Science. ISBN 978-0-8153-4105-5.
420. Гилберт, Уолтер Г. 1980. Секвенирование ДНК и структура генов (Нобелевская лекция) [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1980/gilbert-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/gilbert-lecture.html).
421. Сэнгер, Фредерик. 1980. Определение нуклеотидных последовательностей в ДНК (Нобелевская лекция) [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1980/sanger-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/sanger-lecture.html).
422. Координаторы ресурсов NCBI (январь 2014). "Ресурсы баз данных Национального центра биотехнологической информации". Nucleic Acids Research. **42**(Database issue): D7-17. doi:10.1093/nar/gkt1146. PMC 3965057. PMID 24259429
423. Krieger M, Scott MP, Matsudaira PT, Lodish HF, Darnell JE, Lawrence Z, Kaiser C, Berk A (2004). "Раздел 4.1: Структура нуклеиновых кислот". Молекулярная клеточная биология. Нью-Йорк: W.H. Freeman and CO.

- ISBN 978-0-7167-4366-8. 427. "Структура нуклеиновых кислот". SparkNotes.
424. Anthony-Cahill SJ, Mathews CK, van Holde KE, Appling DR (2012). Биохимия (4-е издание). Englewood Cliffs, N.J.: Prentice Hall. ISBN 978-0-13-800464-4.
425. Альбертс Б, Джонсон А, Льюис Дж, Рафф М, Робертс К, Влатер П (2002). Молекулярная биология клетки (4-е изд.). Нью-Йорк, штат Нью-Йорк: Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3.
426. Мао С (декабрь 2004). "Возникновение сложности: уроки ДНК". *PLoS Biology*. **2** (12): e431. doi:10.1371/journal.pbio.0020431. PMC 535573. PMID 15597116.
427. Кацуюки, Аоки; Казутака, Мураяма; Ху, Нин-Хай (2016). "Глава 3, раздел3. Комплексы составляющих нуклеиновых кислот". In Astrid, Sigel; Helmut, Sigel; Roland K.O., Sigel (eds.). *The Alkali Metal Ions: Их роль в жизни. Metal Ions in Life Sciences*. **16**. Springer. pp. 43–66. doi:10.1007/978-3-319-21756-7\_3. ISBN 978-3-319-21755-0. PMID 26860299.
428. Седова А., Банавали Н. К. (2017). "Геометрические паттерны для соседних оснований вблизи сложенного состояния в нитях нуклеиновых кислот". *Биохимия*. **56**

- (10): 1426–1443. doi:10.1021/acs.biochem.6b01101. PMID 28187685
429. Тиноко И, Бустаманте С (октябрь 1999). "Как складывается РНК". Журнал молекулярной биологии. **293** (2): 271–81. doi:10.1006/jmbi.1999.3001. PMID 10550208.
430. "Структура РНК (Молекулярная биология)".
431. Hollyfield JG, Besharse JC, Rayborn ME (декабрь 1976). "Влияние света на количество фагосом в пигментном эпителии". *Experimental Eye Research*. **23** (6): 623–35. doi:10.1016/0014-4835(76)90221-9. PMID 1087245.
432. Rietveld K, Van Poelgeest R, Pleij CW, Van Boom JH, Bosch L (March 1982). "тРНК-подобная структура на 3' конце РНК вируса желтой мозаики репы. Различия и сходства с канонической тРНК". *Nucleic Acids Research*. **10** (6): 1929–46. doi:10.1093/nar/10.6.1929. PMC 320581. PMID 7079175.
433. Стэпл ДУ, Батчер СЭ (июнь 2005). "Псевдокноты: РНК-структуры с разнообразными функциями". *PLoS Biology*. **3** (6): e213. doi:10.1371/journal.pbio.0030213. PMC 1149493. PMID 15941360.

434. Sperschneider J, Datta A, Wise MJ (декабрь 2012). "Предсказание псевдокнотичных структур по двум последовательностям РНК". *Биоинформатика*. **28**(23): 3058–65. doi:10.1093/bioinformatics/bts575. PMC 3516145.
435. Dickerson RE, Drew HR, Conner BN, Wing RM, Fratini AV, Kopka ML (April 1982). "Анатомия А-, В- и Z-ДНК". *Science*. **216** (4545): 475–85. doi:10.1126/science.7071593. PMID 7071593.
436. Chen X; Ramakrishnan B; Sundaralingam M (1995). "Кристаллические структуры В-форм химеров ДНК-РНК, комплексированных с дистамицином". *Nature Structural Biology*. **2** (9): 733–735. doi:10.1038/nsb0995-733.
437. Sedova A, Vanavali NK (2016). "РНК приближается к В-форме в стекированных одноцепочечных динуклеотидных контекстах". *Biopolymers*. **105** (2): 65-82. doi:10.1002/bip.22750. PMID 26443416.
438. Миркин СМ (2001). *Топология ДНК: Основы. Энциклопедия наук о жизни*. doi:10.1038/npg.els.0001038. ISBN 978-0470016176.
439. "Структурная биохимия/Нуклеиновая кислота/Структура ДНК/ДНК". Получено 11 декабря 2012 года.

440. Tang, Wei; Hu, Shichao; Wang, Huaming; Zhao, Yan; Li, Na; Liu, Feng (23 сентября 2014). "Универсальный молекулярный транслятор для мишеней из нуклеиновых кислот, обеспечивающий динамические сборки ДНК и логические операции". *Chem. Commun.* **50** (92): 14352–14355. doi:10.1039/C4CC07041K. PMID 25295484.
441. Ihalainen, Petri; Pettersson, Fredrik; Pesonen, Markus; Viitala, Tapani; Määttänen, Anni; Österbacka, Ronald; Peltonen, Jouko (7 марта 2014). "Импедиметрическое исследование гибридизации ДНК на золотых электродах со струйной печатью на бумаге". *Nanotechnology.* **25** (9): 094009. Bibcode:2014Nanot...25i4009I. doi:10.1088/0957-4484/25/9/094009. PMID 24522116.
442. Берни, Х.; Оливер, К. (2005). "Двойная поляризационная интерферометрия размер и плотность характеристика иммобилизации и гибридизации ДНК". *Биосенсоры и биоэлектроника.* **21** (4): 618–626. doi:10.1016/j.bios.2004.12.024. PMID 16202875.
443. Диксон, Мэтью К. (июль 2008). "Кварцевый кристаллический микровесы с мониторингом диссипации: Обеспечение возможности характеристики биологических материалов и их взаимодействий в

- реальном времени". *Journal of Biomolecular Techniques*. **19** (3): 151-158. PMC 2563918. PMID 19137101.
444. Хэннон, Грегори Дж. (июль 2002). "РНК-интерференция". *Nature*. **418** (6894): 244-251. doi:10.1038/418244a. ISSN 1476-4687
445. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (December 1985). "Ферментативная амплификация геномных последовательностей бета-глобина и анализ сайтов рестрикции для диагностики серповидноклеточной анемии". *Science*. **230** (4732): 1350-4. Bibcode:1985Sci...230.1350S. doi:10.1126/science.2999980. PMID 2999980.
446. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al (January 1988). "Направленная праймерами ферментативная амплификация ДНК с помощью термостабильной ДНК-полимеразы". *Science*. **239** (4839): 487-91. Bibcode:1988Sci...239.. 487S. doi:10.1126/science.239.4839.487. PMID 2448875.
447. Эннерс, Эдвард; Порта, Анджела Р. (2012). "Определение температуры отжига для полимеразной цепной реакции". *The American Biology Teacher*. **74** (4): 256–260. doi:10.1525/abt.2012.74.4.9. S2CID 86708426.
448. Нинфа, Александр; Баллоу, Дэвид; Беноре, Марили (2009). *Фундаментальные лабораторные подходы для*

- биохимии и биотехнологии. Соединенные Штаты: Wiley. pp. 408-10. ISBN 978-0-47008766-4.
449. Cheng S, Fockler C, Barnes WM, Higuchi R (июнь 1994). "Эффективная амплификация длинных мишеней из клонированных вставок и геномной ДНК человека". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **91** (12): 56959. Bibcode:1994PNAS...91.5695C. doi:10.1073/pnas.91.12.5695. PMC 44063. PMID 8202550.
450. Carr AC, Moore SD (2012). Lucia A (ред.). "Надежная количественная оценка полимеразных цепных реакций с использованием глобальной подгонки". *PLOS ONE*. **7** (5): e37640. Bibcode:2012PLoSO...737640C. doi:10.1371/journal.pone.0037640. PMC 3365123. PMID 22701526.
451. Джозеф Сэмбрук и Дэвид В. Рассел (2001). Молекулярное клонирование: Лабораторное руководство (3-е изд.). Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN 978-0-879-69576-7. Глава 8: Амплификация ДНК *in vitro* с помощью полимеразной цепной реакции
452. "Полимеразная цепная реакция (ПЦР)". Национальный центр биотехнологической информации, Национальная медицинская библиотека США.

453. "ПЦР". Центр обучения генетическим наукам, Университет штата Юта.
454. Павлов AP, Павлова НВ, Козьявкин СА, Слесарев АИ (май 2004). "Последние достижения в оптимизации термостабильных ДНК-полимераз для эффективного применения". Тенденции в биотехнологии. **22** (5): 253–60. doi:10.1016/j.tibtech.2004.02.011. PMID 15109812.
455. Rychlik W, Spencer WJ, Rhoads RE (ноябрь 1990). "Оптимизация температуры отжига для амплификации ДНК in vitro". Nucleic Acids Research. **18** (21): 6409–12. doi:10.1093/nar/18.21.6409. PMC 332522. PMID 2243783.
456. Sharkey DJ, Scalice ER, Christy KG, Atwood SM, Daiss JL (May 1994). "Антитела как термолабильные переключатели: высокотемпературный триггер для полимеразной цепной реакции". Bio/Technology. **12** (5): 506–9. doi:10.1038/nbt0594-506. PMID 7764710. S2CID 2885453.
457. Chien A, Edgar DB, Trela JM (сентябрь 1976). "Полимераза дезоксирибонуклеиновой кислоты из экстремального термофила *Thermus aquaticus*". Journal of Bacteriology. **127** (3): 1550–7. doi:10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976. PMC 232952. PMID 8432.
458. Lawyer FC, Stoffel S, Saiki RK, Chang SY, Landre PA, Abramson RD, Gelfand DH (May 1993).

- "Высокоуровневая экспрессия, очистка и ферментативная характеристика полноразмерной ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* и усеченной формы, дефицитной по 5' - 3' экзонуклеазной активности". *PCR Methods and Applications*. **2** (4): 275–87. doi:10.1101/gr.2.4.275. PMID 8324500.
459. Schochetman G, Ou CY, Jones WK (декабрь 1988). "Полимеразная цепная реакция". *The Journal of Infectious Diseases*. **158** (6): 1154–7. doi:10.1093/infdis/158.6.1154. JSTOR 30137034. PMID 2461996.
460. Борман, Джон; Шустер, Дэвид; Ли, Ву-бо; Джесси, Джоэл; Раштчиан, Аюб (2000). "ПЦР из проблемных шаблонов" (PDF). *Focus*. **22** (1): 10. Архивировано из оригинала (PDF) 7 марта 2017 года.
461. Богетто, Прачи; Уэйдн, Лиза; Андерсон, Холли (2000). "Полезные советы по ПЦР" (PDF). *Focus*. **22** (1): 12. Архивировано из оригинала (PDF) 7 марта 2017 г.
462. Саркар Г, Капельнер С, Зоммер СС (декабрь 1990). "Формаид может значительно улучшить специфичность ПЦР". *Nucleic Acids Research*. **18**(24): 7465. doi:10.1093/nar/18.24.7465. PMC 332902. PMID
463. "Электронная ПЦР". NCBI - Национальный центр биотехнологической информации. Получено 13 марта 2012 года.

464. Павлов AP, Павлова НВ, Козьявкин СА, Слесарев АИ (2006). "Термостабильные ДНК-полимеразы для широкого спектра применения: Сравнение надежного гибрида ТороТаq с другими ферментами". In Kieleczawa J (ed.). Секвенирование ДНК II: оптимизация подготовки и очистки. Jones & Bartlett. pp. 241-57. ISBN 978-0-7637-3383-4.
465. Pombert JF, Sistek V, Boissinot M, Frenette M (октябрь 2009). "Эволюционные взаимоотношения между стрептококками *Salivarius* на основе многолокусных филогений, основанных на 16S рРНК-кодирующих, *recA*, *secA* и *secY* генных последовательностях". *BMC Microbiology*. 9: 232. doi:10.1186/1471-2180-9-232. PMC 2777182. PMID 19878555.
466. "Химический синтез, секвенирование и амплификация ДНК (конспекты занятий по МВВ/БИО 343)". Университет штата Аризона. Архивировано из первоисточника 9 октября 1997 года. Получено 29 октября 2007 года.
467. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. (April 2009). "Руководство MIQE: минимальная информация для публикации результатов количественной ПЦР в реальном времени" (PDF).

- Clinical Chemistry. **55** (4): 611–22.  
doi:10.1373/clinchem.2008.112797. PMID 19246619.
468. Гарибян Л, Авашия Н (март 2013). "Полимеразная цепная реакция". *Journal of Investigative Dermatology*. **133** (3): 1-4. doi:10.1038/jid.2013.1. PMC 4102308. PMID 23399825.
469. Шнелл, С.; Мендоза, К. (октябрь 1997). "Теоретическое описание полимеразной цепной реакции". *Журнал теоретической биологии*. **188** (3): 313–318. doi:10.1006/jtbi.1997.0473. PMID 9344735.
470. Шнелл, С.; Мендоза, К. (21 февраля 1997 г.). "Энзимологические соображения для теоретического описания количественной конкурентной полимеразной цепной реакции (КК-ПЦР)". *Journal of Theoretical Biology*. **184**(4): 433–440. doi:10.1006/jtbi.1996.0283. ISSN 0022-5193. PMID 9082073.
471. Беккер, Свен; Бёгер, Петер; Оэльманн, Ральфх; Эрнст, Аннелизе (1 ноября 2000 г.). "Погрешность ПЦР в экологическом анализе: пример количественного анализа Taq-нуклеазы в анализе микробных сообществ". *Прикладная и экологическая микробиология*. **66** (11): 4945-4953. doi:10.1128/AEM.66.11.4945-4953.2000. ISSN 1098-5336. PMC 92404. PMID 11055948.

472. Соломон, Энтони В.; Пилинг, Розанна В.; Фостер, Аллен; Мейби, Дэвид К. В. (1 октября 2004). "Диагностика и оценка трахомы". *Обзоры по клинической микробиологии*. **17** (4): 982–1011. doi:10.1128/CMR.17.4.982-1011.2004. ISSN 0893-8512. PMC 523557. PMID 15489358.
473. Рамзи, Реда М.Р. (апрель 2002). "Последние достижения в области молекулярных методов диагностики лимфатического филяриатоза человека и их использование в эпидемиологических исследованиях". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **96**: S225-S229. doi:10.1016/S0035-9203(02)90080-5. PMID 12055843.
474. Заксе, Конрад (2003). Sachse, Konrad; Frey, Joachim (eds.). Специфичность и эффективность диагностических ПЦР-анализов. ПЦР-детекция микробных патогенов. Методы в молекулярной биологии. **216**. Тотова, Нью-Джерси: Humana Press. pp. 3–29. doi:10.1385/1-59259-344-5:03. ISBN 978-1-59259-344-6. PMID 12512353.
475. Куилл Э (март 2008). "Медицина. Сопоставление крови становится генетическим". *Science*. **319** (5869): 1478–9. doi:10.1126/science.319.5869.1478. PMID 18339916. S2CID 36945291.

476. Томар, Рукам (2010). Молекулярные маркеры и биотехнология растений. Pitman Pura, New Delhi: New India Publishing Agency. p. 188. ISBN 978-93-80235-25-7.
477. Cai HY, Caswell JL, Prescott JF (март 2014). "Некультурные молекулярные методы диагностики бактериальных заболеваний у животных: перспективы диагностической лаборатории". Ветеринарная патология. **51** (2): 341–50. doi:10.1177/0300985813511132. PMID 24569613.
478. Салис А.Д. (2009). "Применение в клинической микробиологии". ПЦР в реальном времени: Current Technology and Applications. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-39-4.
479. Kwok S, Mack DH, Mullis KB, Poiesz B, Ehrlich G, Blair D, et al. (May 1987). "Идентификация последовательностей вируса иммунодефицита человека с помощью ферментативной амплификации *in vitro* и обнаружения расщепления олигомеров". Journal of Virology. **61** (5): 1690–4. doi:10.1128/jvi.61.5.1690-1694.1987. PMC 254157. PMID 2437321.
480. "Коронавирус: путешествие по тестам". Istituto Superiore di Sanità.
481. Фингер, Хорст; фон Кениг, Карл Хайнц Вирсинг (1996). Барон, Самуэль (ред.). Медицинская

- микробиология (4-е изд.). Галвестон, штат Техас: Медицинский филиал Техасского университета в Галвестоне. ISBN 978-0-96311721-2. PMID 21413270.
482. Yeh, Sylvia H.; Mink, ChrisAnna M. (2012). "Bordetella pertussis и коклюш (коклюш)". Netter's Infectious Diseases. Netter's Infectious Diseases. pp. 11-14. doi:10.1016/B978-1-4377-0126-5.00003-3. ISBN 978-1-43770126-5.
483. Алонсо А, Мартин П, Альбарран С, Гарсия П, Гарсия О, де Симон ЛФ, и др. (январь 2004). "ПЦР в реальном времени для оценки числа копий ядерной и митохондриальной ДНК в судебной экспертизе и исследованиях древней ДНК". Forensic Science International. **139** (2-3): 141–9. doi:10.1016/j.forsciint.2003.10.008. PMID 15040907.
484. Boehnke M, Arnheim N, Li H, Collins FS (July 1989). "Тонкоструктурное генетическое картирование хромосом человека с помощью полимеразной цепной реакции на одиночных сперматозоидах: соображения экспериментального дизайна". Американский журнал генетики человека. **45** (1): 21-32. PMC 1683385. PMID 2568090.
485. Zhou YH, Zhang XP, Ebright RH (ноябрь 1991). "Случайный мутагенез молекул ДНК размером с ген с

- помощью ПЦР с ДНК-полимеразой Taq". *Nucleic Acids Research*. **19** (21): 6052. doi:10.1093/nar/19.21.6052. PMC 329070. PMID 1658751.
486. Стурсберг, Стефани (2021). "Создание лаборатории ПЦР с нуля". INTEGRA Biosciences.
487. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, et al. (April 1989). "Анализ любой точечной мутации в ДНК. Система амплификации рефрактерных мутаций (ARMS)". *Nucleic Acids Research*. **17** (7): 2503–16. doi:10.1093/nar/17.7.2503. PMC 317639. PMID 2785681.
488. Stemmer WP, Cramer A, Ha KD, Brennan TM, Heuvelink HL (октябрь 1995). "Одноэтапная сборка гена и всей плазмиды из большого количества олигонуклеотидов". *Gene*. **164** (1): 49–53. doi:10.1016/0378-1119(95)00511-4. PMID 7590320.
489. Иннис МА, Мямбо КБ, Гельфанд ДХ, Броу МА (декабрь 1988). "Секвенирование ДНК с помощью ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* и прямое секвенирование амплифицированной полимеразной цепной реакцией ДНК". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **85** (24): 9436-40. Bibcode:1988PNAS...85.9436I.

- doi:10.1073/pnas.85.24.9436. PMC 282767. PMID 3200828.
490. Пирс К.Е., Ванг Л.Дж. (2007). Линейно-последующая экспоненциальная полимеразная цепная реакция и смежные технологии Стратегии обнаружения в реальном времени для быстрой, надежной диагностики из единичных клеток. Методы в молекулярной медицине. **132**. pp. 65-85. doi:10.1007/978-1-59745-298-4\_7. ISBN 978-1-58829-578-1. PMID 17876077.
491. Кришнан М, Угаз В.М., Бернс М.А. (октябрь 2002). "ПЦР в конвективной ячейке Рэлея-Бенара". Science. **298** (5594): 793. doi:10.1126/science.298.5594.793. PMID 12399582.
492. Priye A, Hassan YA, Ugaz VM (ноябрь 2013). "Микромасштабная хаотическая адвекция обеспечивает надежную конвективную репликацию ДНК". Аналитическая химия. **85** (21): 10536–41. doi:10.1021/ac402611s. PMID 24083802.
493. Schwartz JJ, Lee C, Shendure J (сентябрь 2012). "Точный синтез генов с помощью направленного извлечения молекул ДНК с проверенной последовательностью". Nature Methods. **9** (9): 9135. doi:10.1038/nmeth.2137. PMC 3433648. PMID 22886093.

494. Винсент М, Сюй Й, Конг Х (август 2004). "Хеликазозависимая изотермическая амплификация ДНК". *EMBO Reports*. **5** (8): 795–800. doi:10.1038/sj.embor.7400200. PMC 1249482. PMID 15247927.
495. Chou Q, Russell M, Birch DE, Raymond J, Bloch W (April 1992). "Предотвращение неправильного прайминга и димеризации праймеров перед ПЦР улучшает амплификацию с низким числом копий". *Nucleic Acids Research*. **20** (7): 1717–23. doi:10.1093/nar/20.7.1717. PMC 312262. PMID 1579465.
496. Келлогг Дэ, Рыбалкин И, Чен С, Мухамедова Н, Власик Т, Зиберт ПД, Ченчик А (июнь 1994). "TaqStart Antibody": "горячий старт" ПЦР, облегченный нейтрализующим моноклональным антителом, направленным против ДНК-полимеразы Taq". *BioTechniques*. **16** (6): 1134-7. PMID 8074881.
497. San Millán RM, Martínez-Ballesteros I, Rementeria A, Garaizar J, Bikandi J (декабрь 2013). "Онлайн-упражнение для проектирования и моделирования экспериментов ПЦР и ПЦР-РФЛП". *BMC Research Notes*. **6**: 513. doi:10.1186/1756-0500-6-513. PMC 4029544. PMID 24314313.

498. Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D (март 1994). "Геномная дактилоскопия с помощью амплификации полимеразной цепной реакции с использованием повторов простых последовательностей (SSR)". Геномика. **20** (2): 176–83. doi:10.1006/geno.1994.1151. PMID 8020964.
499. Очман Х, Гербер АС, Хартл ДЛ (ноябрь 1988). "Генетическое применение инверсной полимеразной цепной реакции". Генетика. **120** (3): 621–3. doi:10.1093/genetics/120.3.621. PMC 1203539. PMID 2852134.
500. Мюллер ПР, Вольд Б (ноябрь 1989). "In vivo footprinting of a muscle specific enhancer by ligation mediated PCR". Science. **246** (4931): 780-6. Bibcode:1989Sci...246.. 780M. doi:10.1126/science.2814500. PMID 2814500.
501. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB (September 1996). "Метилирование-специфическая ПЦР: новый ПЦР-анализ для определения статуса метилирования островов CpG". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **93** (18): 9821-6. Bibcode:1996PNAS...93.9821H. doi:10.1073/pnas.93.18.9821. PMC 38513. PMID 8790415.

502. Isenbarger TA, Finney M, Ríos-Velázquez C, Handelsman J, Ruvkun G (февраль 2008). "Минипраймерная ПЦР - новая линза для просмотра микробного мира". Прикладная и экологическая микробиология. **74** (3): 840–9. doi:10.1128/AEM.01933-07. PMC 2227730. PMID 18083877.
503. Shen C, Yang W, Ji Q, Maki H, Dong A, Zhang Z (ноябрь 2009). "Наблюдение за NanoPCR: различные уровни верности репликации ДНК в полимеразных цепных реакциях, усиленных наночастицами". Nanotechnology. **20** (45): 455103. Bibcode:2009Nanot..20S5103S. doi:10.1088/0957-4484/20/45/455103. PMID 19822925. S2CID 3393115.
504. Шен, Ценчао (2013). "Обзор технологии полимеразной цепной реакции с использованием наночастиц". An Overview of Nanoparticle-Assisted Polymerase Chain Reaction Technology. США: Wiley-Blackwell Publishing Ltd. pp. 97-106. doi:10.1002/9781118451915.ch5. ISBN 9781118451915.
505. Horton RM, Hunt HD, Ho SN, Pullen JK, Pease LR (April 1989). "Инженерия гибридных генов без использования ферментов рестрикции: сплайсинг генов путем расширения перекрытия". Gene. **77** (1): 61–8. doi:10.1016/0378-1119(89)90359-4. PMID 2744488.

506. Моллер, Саймон (2006). ПЦР: The Basics. US: Taylor & Francis Group. p. 144. ISBN 9780415355476.
507. Дэвид Ф, Турлотт Э (ноябрь 1998). "[Метод изотермической амплификации генов]" [Метод изотермической амплификации]. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Série III*. **321** (11): 909-14. Bibcode:1998CRASG.321.. 909D. doi:10.1016/S0764-4469(99)80005-5. PMID 9879470.
508. Фабрис Давид (сентябрь-октябрь 2002). "Utiliser les propriétés topologiques de l'ADN: une nouvelle arme contre les agents pathogènes"(PDF). *Fusion*. Архивировано из оригинала (PDF) 28 ноября 2007 г. (на французском языке).
509. Dobosy JR, Rose SD, Beltz KR, Rupp SM, Powers KM, Behlke MA, Walder JA (август 2011). "RNase H-зависимая ПЦР (rhPCR): улучшенная специфичность и обнаружение однонуклеотидных полиморфизмов с использованием блокируемых расщепляемых праймеров". *BMC Biotechnology*. **11**: 80. doi:10.1186/1472-6750-11-80. PMC 3224242. PMID 21831278.
510. Шьямала, В.; Ферро-Луцци, Эймс Г. (1993). Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction (SSP-PCR) and Genome Walking. *Методы в молекулярной биологии*. **15**.

- pp. 339–48. doi:10.1385/0-89603-244-2:339. ISBN 978-0-89603-244-6. PMID 21400290.
511. Bing DH, Boles C, Rehman FN, Audeh M, Belmarsh M, Kelley B, Adams CP (1996). "Мостовая амплификация: система твердофазной ПЦР для амплификации и обнаружения аллельных различий в однокопийных генах". Genetic Identity Conference Proceedings, Seventh International Symposium on Human Identification. Архивировано из оригинала 7 мая 2001 года.
512. Khan Z, Poetter K, Park DJ (апрель 2008). "Усовершенствованная твердофазная ПЦР: механизмы увеличения прайминга праймерами на твердой основе". Аналитическая биохимия. **375** (2): 391–3. doi:10.1016/j.ab.2008.01.021. PMID 18267099.
513. Raoult D, Aboudharam G, Crubézy E, Larrouy G, Ludes B, Drancourt M (November 2000). "Молекулярная идентификация методом "самоубийственной ПЦР" *Yersinia pestis* как возбудителя средневековой черной смерти". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **97** (23): 12800-3. Bibcode:2000PNAS...9712800R. doi:10.1073/pnas.220225197. PMC 18844. PMID 11058154.

514. Liu YG, Whittier RF (февраль 1995). "Термическая асимметричная чередующаяся ПЦР: автоматизируемая амплификация и секвенирование концевых фрагментов вставок из клонов P1 и YAC для хромосомной прогулки". *Genomics*. **25** (3): 674–81. doi:10.1016/0888-7543(95)80010-J. PMID 7759102.
515. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS (July 1991). "'Touchdown' PCR для обхода ложного прайминга во время амплификации генов". *Nucleic Acids Research*. **19** (14): 4008. doi:10.1093/nar/19.14.4008. PMC 328507. PMID 1861999.
516. Майрик К. В., Гельбарт В. М. (февраль 2002). "Универсальный Fast Walking для прямого и универсального определения фланкирующей последовательности". *Gene*. **284** (1-2): 125–31. doi:10.1016/S0378-1119(02)00384-0. PMID 11891053.
517. "Полный текст - LaNe RAGE: новый инструмент для определения фланкирующей последовательности геномной ДНК". [www.ejbiotechnology.info](http://www.ejbiotechnology.info).
518. Park DJ (январь 2005). "Новый 5' терминальный экзон мышинового GAPDH идентифицирован с помощью 5'RACE LaNe". *Молекулярная биотехнология*. **29** (1): 39-46. doi:10.1385/MB:29:1:39. PMID 15668518. S2CID 45702164.

519. Park DJ (апрель 2004). "3' RACE LaNe: простой и быстрый метод полностью вложенной ПЦР для определения 3'-терминальной последовательности кДНК". *BioTechniques*. **36** (4): 586-8, 590. doi:10.2144/04364BM04. PMID 15088375.
520. "Ключевой ингредиент для тестов на коронавирус поступает из озер Йеллоустоуна". Наука. 31 марта 2020 года. Получено 13 мая 2020 года.
521. Клеппе К, Охцук Е, Клеппе Р, Молинекс И, Хорана ХГ (март 1971). "Исследования полинуклеотидов. ХСVI. Восстановительные репликации коротких синтетических ДНК, катализируемые ДНК-полимеразами". *Журнал молекулярной биологии*. **56**(2): 341–61. doi:10.1016/0022-2836(71)90469-4. PMID 4927950.
522. Рабинов, Пол (1996). *Создание ПЦР: A Story of Biotechnology*. Чикаго: Издательство Чикагского университета. ISBN 978-0-226-70146-2.
523. Маллис, Кэри (1998). *Танцы нагишом в поле разума*. Нью-Йорк: Pantheon Books. ISBN 978-0-679-44255-4.
524. Маллис К. Б. (апрель 1990 года). "Необычное происхождение полимеразной цепной реакции". *Scientific American*. **262** (4): 56-61, 64-5.

- Bibcode:1990SciAm.262d..56M.  
doi:10.1038/scientificamerican0490-56. PMID 2315679.
525. Patidar M, Agrawal S, Parveen F, Khare P (2015). "Молекулярная экспертиза слюны в решении споров об отцовстве". *Journal of Forensic Dental Sciences*. **7**(1): 76–9. doi:10.4103/0975-1475.150325. PMC 4330625. PMID 25709326.
526. Николс Д, Баркер Е (2016). "Психоделики". *Pharmacological Reviews*. **68**(2): 356. doi:10.1124/pr.115.011478. PMC 4813425. PMID 26841800. "Нобелевская премия по химии 1993 года". NobelPrize.org. "Нобелевская премия по химии 1993 года". NobelPrize.org.
527. "Цитаты лауреатов премии Chemical Breakthrough Awards 2017". Отдел истории химии. Retrieved 12 March 2018.
528. "Советы о том, как выжить в Таq-войнах". *GEN Новости геной инженерии - канал Биобизнес*. **26** (9). 1 мая 2006 года.
529. Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE (январь 1999). "Количественная RT-PCR: подводные камни и потенциал". *BioTechniques*. **26** (1): 112-22, 124-5. doi:10.2144/99261rv01. PMID .

530. Маккей, Иэн (2007). ПЦР в реальном времени в микробиологии: От диагностики к определению характеристик. Норфолк, Англия: Caister Academic Press. стр. 440. ISBN 978-1-904455-18-9.
531. Джойс С (2002). Количественная RT-PCR. Обзор современных методологий. *Methods Mol. Biol.* **193**. pp. 83-92. doi:10.1385/1-59259-283-X:083. ISBN 978-1-59259-283-8. PMID 12325527.
532. Kang XP, Jiang T, Li YQ, et al. (2010). "Дуплексный анализ RT-PCR в реальном времени для выявления вируса птичьего гриппа H5N1 и пандемического вируса гриппа H1N1". *Virolog. J.* **7**: 113. doi:10.1186/1743-422X-7-113. PMC 2892456. PMID 20515509.
533. Bustin SA, Benes V, Nolan T, Pfaffl MW (июнь 2005). "Количественный RT-PCR в реальном времени - перспективы". *J. Mol. Endocrinol.* **34** (3): 597-601. CiteSeerX 10.1.1.528.6638. doi:10.1677/jme.1.01755. PMID 15956331.
534. Varkonyi-Gasic E, Hellens RP (2010). "qRT-PCR малых РНК". *Эпигенетика растений. Методы в молекулярной биологии.* **631**. pp. 109-22. doi:10.1007/978-1-60761-646-7\_10. ISBN 978-1-60761-645-0. PMID 20204872.

535. Taylor S, Wakem M, Dijkman G, Alsarraj M, Nguyen M (апрель 2010). "Практический подход к RT-qPCR-публикации данных, соответствующих руководству MIQE". *Methods*. **50** (4): S1–5. doi:10.1016/j.ymeth.2010.01.005. PMID 20215014.
536. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, et al. (September 2002). "Разработка анализа ПЦР с обратной транскриптазой в реальном времени для вируса гриппа типа А и птичьих подтипов гемагглютинина H5 и H7". *J. Clin. Microbiol.* **40** (9): 3256–60. doi:10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002. PMC 130722. PMID 12202562.
537. "УСКОРЕННОЕ РАЗРЕШЕНИЕ НА ЭКСТРЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ (EUA) РЕЗЮМЕ COVID-19 RT-PCR TEST (LABORATORY CORPORATION OF AMERICA)". FDA. Получено 3 апреля 2020 года.
538. Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR (декабрь 1977). "Метод обнаружения специфических РНК в агарозных гелях путем переноса на диазобензилоксиметилбумагу и гибридизации с ДНК-зондами". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **74** (12): 5350-4. Bibcode:1977PNAS...74.5350A. doi:10.1073/pnas.74.12.5350. PMC 431715. PMID 414220.

539. Streit S, Michalski CW, Erkan M, Kleeff J, Friess H (2009). "Северный блот-анализ для обнаружения и количественного определения РНК в клетках и тканях рака поджелудочной железы". *Nat Protoc.* **4** (1): 37–43. doi:10.1038/nprot.2008.216. PMID 19131955.
540. Bustin SA (октябрь 2000). "Абсолютное количественное определение мРНК с помощью анализов полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени". *J. Mol. Endocrinol.* **25** (2): 169–93. doi:10.1677/jme.0.0250169. PMID 11013345.
541. Hierro N, Esteve-Zarzoso B, González A, Mas A, Guillamón JM (November 2006). "Количественная ПЦР в реальном времени (QPCR) и обратная транскрипция-QPCR для обнаружения и подсчета общего количества дрожжей в вине". *Appl. Environ. Microbiol.* **72** (11): 7148-55. doi:10.1128/AEM.00388-06. PMC 1636171. PMID 17088381.
542. Slomka MJ, Pavlidis T, Coward VJ, et al. (July 2009). "Валидированные методы ПЦР с обратной транскриптазой в режиме реального времени для диагностики и патотипирования вирусов евразийского птичьего гриппа H7". *Influenza and Other Respiratory*

- Viruses. **3** (4): 151-64. doi:10.1111/j.1750-2659.2009.00083.x. PMC 4634683. PMID 19627372.
543. Резюме миссии: Полевой визит ВОЗ в Ухань, Китай 20-21 января 2020 года: <https://www.who.int/china/news/detail/22-01-2020-field-visit-wuhan-china-jan-2020>
544. Дипак С, Коттапалли К, Раквал Р, и др. (июнь 2007). "ПЦР в реальном времени: Революционное обнаружение и анализ экспрессии генов". *Curr. Genomics*. **8** (4): 234–51. doi:10.2174/138920207781386960. PMC 2430684. PMID 18645596.
545. Бустин СА (август 2002). "Количественное определение мРНК с помощью ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени (RT-PCR): тенденции и проблемы". *J. Mol. Endocrinol.* **29** (1): 23–39. doi:10.1677/jme.0.0290023. PMID 12200227.
546. Souazé F, Ntodou-Thomé A, Tran CY, Rostène W, Forgez P (август 1996). "Количественная RT-PCR: пределы и точность". *BioTechniques*. **21** (2): 280-5. doi:10.2144/96212rr01. PMID 8862813.
547. Вонг МЛ, Медрано ЖФ (июль 2005). "ПЦР в реальном времени для количественного определения

- мРНК". *BioTechniques*. **39** (1): 75-85. doi:10.2144/05391rv01. PMID 16060372.
548. Li, Lang; He, Jian-an; Wang, Wei; Xia, Yun; Song, Li; Chen, Ze-han; Zuo, Hang-zhi; Tan, Xuan-Ping; Ho, Aaron Ho-Pui; Kong, Siu-Kai; Loo, Jacky Fong-Chuen (2019-08-01). "Разработка анализа прямой количественной ПЦР с обратной транскрипцией (dirRT-qPCR) для клинической диагностики Зика". *International Journal of Infectious Diseases*. **85**: 167-174. doi:10.1016/j.ijid.2019.06.007. ISSN 1201-9712. PMID 31202908.
549. Бахофен, Клаудия; Уиллоуби, Ким; Задокс, Рут; Бурр, Пол; Меллор, Доминик; Рассел, Джордж К. (2013-06-01). "Прямая RT-PCR из сыворотки позволяет проводить быстрый и экономически эффективный филогенетический анализ вируса вирусной диареи крупного рогатого скота". *Journal of Virological Methods*. **190** (1): 1–3. doi:10.1016/j.jviromet.2013.03.015. ISSN 0166-0934. PMID 23541784.
550. Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, Gorn V, Singer MJ, Reed MW (October 2000). "Количественная обратная транскрипция-полимеразная цепная реакция для изучения распада мРНК: сравнение методов конечной точки и реального времени". *Anal. Biochem*.

- 285** (2): 194–204. doi:10.1006/abio.2000.4753. PMID 11017702. S2CID 258810.
551. Rajeevan MS, Vernon SD, Taysavang N, Unger ER (февраль 2001). "Валидация профилей экспрессии генов на основе массивов с помощью (кинетической) RT-PCR в реальном времени". *J Mol Diagn.* **3** (1): 26–31. doi:10.1016/S1525-1578(10)60646-0. PMC 1907344. PMID 11227069.
552. Stone-Marschat M, Carville A, Skowronek A, Laegreid WW (March 1994). "Обнаружение вируса африканской лошадиной болезни методом обратной транскрипции-ПЦР". *J. Clin. Microbiol.* **32** (3): 697–700. doi:10.1128/JCM.32.3.697-700.1994. PMC 263109. PMID 8195381.
553. Минтон А.П. (апрель 1995). "Конфайнмент как детерминанта макромолекулярной структуры и реакционной способности. II. Эффекты слабопривлекательных взаимодействий между ограниченными макросолями и ограничивающими структурами". *Biophys. J.* **68** (4): 1311-22. Bibcode:1995BpJ....68.1311M. doi:10.1016/S0006-3495(95)80304-8. PMC 1282026. PMID 7787020.
554. Hsu M, Yu EY, Sprušanský O, McEachern MJ, Lue NF (July 2012). "Функциональный анализ единственного

- гомолога Est1/Ebs1 в *Kluyveromyces lactis* выявляет роль в поддержании теломера и устойчивости к рапамицину". *Eukaryotic Cell*. **11** (7): 932–42. doi:10.1128/EC.05319-11. PMC 3416500. PMID 22544908.
555. Шмиттген ТД, Ливак КДж (2008). "Анализ данных ПЦР в реальном времени методом сравнительной C(T)". *Nat Protoc*. **3** (6): 1101–8. doi:10.1038/nprot.2008.73. PMID 18546601.
556. Tang, Yi-Wei (2012-09-13), *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*, ISBN 978-1461439691
557. Gause WC, Adamovicz J (июнь 1994). "Использование ПЦР для количественной оценки экспрессии генов". *PCR Methods Appl*. **3** (6): S123–35. doi:10.1101/gr.3.6.s123. PMID 7522722.
558. Tsai SJ, Wiltbank MC (ноябрь 1996). "Количественное определение мРНК с помощью конкурентной RT-PCR с использованием методологии стандартных кривых". *BioTechniques*. **21**(5): 862–6. doi:10.2144/96215st04. PMID 8922627.
559. Ramakers C, Ruijter JM, Deprez RH, Moorman AF (март 2003). "Анализ количественных данных полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени без допущений". *Neurosci. Lett*. **339** (1): 62–6. doi:10.1016/S0304-3940(02)01423-4. PMID 12618301.

560. Halford WP, Falco VC, Gebhardt BM, Carr DJ (January 1999). "Присущая количественная способность обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции". *Anal. Biochem.* **266** (2): 181–91. doi:10.1006/abio.1998.2913. PMID 9888974.
561. King N (2010). "Использование сравнительной количественной RT-PCR для изучения влияния инкубации цистеина на экспрессию GPx1 в свежевыделенных кардиомиоцитах". *Протоколы RT-PCR. Methods in Molecular Biology.* **630**. pp. 215-32. doi:10.1007/978-1-60761-629-0\_14. ISBN 978-1-60761-628-3. PMID 20301000.
562. Chang JT, Chen IH, Liao CT, et al. (November 2002). "Метод сравнительной ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией для количественного определения ангиогенных факторов роста у больных раком головы и шеи". *Clin. Biochem.* **35** (8): 591–6. doi:10.1016/S0009-9120(02)00403-4. PMID 12498992.
563. Холден, М. Дж.; Ванг, Л. (2008). "Количественная ПЦР в реальном времени: Fluorescent Probe Options and Issues". *Стандартизация и обеспечение качества в измерениях флуоресценции II. Springer Series on Fluorescence.* **6**. p. 489. doi:10.1007/4243\_2008\_046. ISBN 978-3-540-70570-3.

564. Yang DK, Kweon CH, Kim BH, et al. (December 2004). "Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией TaqMan для обнаружения вируса японского энцефалита". *J. Vet. Sci.* **5** (4): 345–51. doi:10.4142/jvs.2004.5.4.345. PMID 15613819.
565. Sharkey FH, Banat IM, Marchant R (июль 2004). "Обнаружение и количественная оценка экспрессии генов в бактериологии окружающей среды". *Appl. Environ. Microbiol.* **70** (7): 3795–806. doi:10.1128/AEM.70.7.3795-3806.2004. PMC 444812. PMID 15240248.
566. Ratcliff RM, Chang G, Kok T, Sloots TP (июль 2007). "Молекулярная диагностика медицинских вирусов". *Curr Issues Mol Biol.* **9** (2): 87-102. PMID 17489437.
567. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE (октябрь 2000). "Мультиплексная ПЦР: оптимизация и применение в диагностической вирусологии". *Клин. Microbiol. Rev.* **13** (4): 559–70. doi:10.1128/cmr.13.4.559-570.2000. PMC 88949. PMID 11023957.
568. Bustin SA (июль 2005). "Количественная ПЦР в реальном времени на основе флуоресценции: обзор современных процедур и предпочтений". *Expert Rev. Mol. Diagn.* **5**(4): 493–8. doi:10.1586/14737159.5.4.493. PMID 16013967. S2CID 1833811.

569. Lin L, Chamberlain L, Zhu LJ, Green MR (февраль 2012). "Анализ Gal4-направленной активации транскрипции с использованием мутантов Tra1, селективно дефектных по взаимодействию с Gal4". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109** (6): 1997-2002. Bibcode:2012PNAS... 109.1997L. doi:10.1073/pnas.1116340109. PMC 3277556. PMID 22308403.
570. Torres RJ, Garcia MG, Puig JG (декабрь 2012). "Носительство и пренатальная диагностика болезни Леша-Нихана из-за дефекта в регуляции экспрессии гена HPRT". *Gene*. **511** (2): 306–7. doi:10.1016/j.gene.2012.09.121. PMID 23046577.
571. Xi L, Nicastrì DG, El-Hefnawy T, Hughes SJ, Luketich JD, Godfrey TE (July 2007). "Оптимальные маркеры для количественной ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени для выявления циркулирующих опухолевых клеток из меланомы, рака молочной железы, толстой кишки, пищевода, головы и шеи и легких". *Clin. Chem.* **53** (7): 1206–15. doi:10.1373/clinchem.2006.081828. PMID 17525108.
572. "Коронавирус: путешествие по тестам". Istituto Superiore di Sanità.

573. Shiao YH (декабрь 2003). "Новый метод обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции для точного количественного определения". *BMC Biotechnol.* **3**: 22. doi:10.1186/1472-6750-3-22. PMC 317330. PMID 14664723.
574. Gettemy JM, Ma B, Alic M, Gold MH (февраль 1998). "Анализ регуляции семейства генов марганцевой пероксидазы методом обратной транскрипции-ПЦР". *Appl. Environ. Microbiol.* **64** (2): 569–74. doi:10.1128/AEM.64.2.569-574.1998. PMC 106084. PMID 9464395.
575. Мартель, Фатима; Дирк Грундеманн; Эдгар Шёйг (2002-03-31). "Простой метод устранения ложноположительных результатов в RT-PCR". *J Biochem Mol Biol.* **35** (2): 248–250. doi:10.5483/BMBRep.2002.35.2.248. PMID 12297038.
576. "Высокотранскрипционные инструменты OneStep Kit". *Biotoools*. Архивировано из первоисточника 20 мая 2013 года. Retrieved 12 December 2012.
577. Деген, Ханс-Йоахим; Дойфель, Аннетт; Эйзель, Дорис; Грюневальд-Янхо, Стефани; Кизи, Джо (2006). *Руководство по применению ПЦР (PDF) (3 изд.)*. Roche Diagnostics. pp. 135-137.

578. "Двухэтапный протокол RT-PCR" (PDF). МАССАЧУСЕТСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ. Retrieved 12 December 2012.
579. "www.microarrays.ca" (PDF).
580. Bustin SA (апрель 2010). "Зачем нужны руководящие принципы по публикации результатов qPCR? Methods. **50** (4): 217–26. doi:10.1016/j.ymeth.2009.12.006. PMID 20025972.
581. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. (April 2009). "Руководство MIQE: минимальная информация для публикации результатов количественной ПЦР в реальном времени". Clin. Chem. **55** (4): 611–22. doi:10.1373/clinchem.2008.112797. PMID 19246619.

FOR AUTHOR USE ONLY

**More  
Books!**



yes  
**I want morebooks!**

Buy your books fast and straightforward online - at one of world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at  
**[www.morebooks.shop](http://www.morebooks.shop)**

Покупайте Ваши книги быстро и без посредников он-лайн – в одном из самых быстрорастущих книжных он-лайн магазинов! окружающей среде благодаря технологии Печати-на-Заказ.

Покупайте Ваши книги на  
**[www.morebooks.shop](http://www.morebooks.shop)**

KS OmniScriptum Publishing  
Brivibas gatve 197  
LV-1039 Riga, Latvia  
Telefax: +371 686 20455

[info@omniscryptum.com](mailto:info@omniscryptum.com)  
[www.omniscryptum.com](http://www.omniscryptum.com)

OMNIScriptum



FOR AUTHOR USE ONLY