ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА
КАФЕДРАСЫ

Пән атауы: Молекулалық биология

Дәріс 4

Нуклеотидтердің ДНҚ тізбегіндегі орналасу тәртібін анықтау әдістері (Максам-Гильберт және Сэнгер әдістері)

Лектор: к.б.н., Алтыбаева Н.А.

Дәрістің мақсаты: ДНҚ-дағы нуклеотидтер ретін анықтаудың Максам–Гильберт және Сэнгер әдістерінің принциптері мен кезеңдерін түсіндіру, олардың артықшылықтары мен шектеулерін салыстыру.

Дәрістің жоспары:

1.ДНҚ-ны секвенирлеу ұғымы және оның геномдық зерттеулердегі маңызы.
2.Максам-Гильберт әдісі. ДНҚ фрагментін таңбалау, тізбекті таңдамалы химиялық үзу және фрагменттерді электрофорез арқылы бөлу.
3.Сэнгер әдісі. ДНҚ-ның матрицаға тәуелді синтезі, дидезоксинуклеотидтер арқылы тізбектің ұзаруын тоқтату және нуклеотидтік реттілікті оқу.
4.Максам-Гильберт және Сэнгер әдістерінің артықшылықтары, шектеулері және қолданылу салалары.

Оқыту нәтижелері

Дәрісті меңгеру нәтижесінде білім алушы:

1.ДНҚ-ны секвенирлеудің мақсатын және нуклеотидтік реттілік деректерінің геномдық зерттеулердегі маңызын сипаттай алады.

2.Максам-Гильберт әдісінің негізгі кезеңдерін және ДНҚ тізбегін азотты негіздерге байланысты таңдамалы химиялық үзу қағидасын сипаттай алады.

3.Сэнгер әдісінде праймердің, ДНҚ-полимеразаның және дидезоксинуклеозидтрифосфаттардың (ddNTP) қызметтерін ажырата алады.

4.Дидезоксинуклеотидтің құрамында 3′-гидроксил тобының болмауы ДНҚ тізбегінің ұзаруын қалай тоқтататынын молекулалық деңгейде негіздей алады.

5.Фрагменттердің ұзындығы мен соңғы нуклеотидіне берілген белгі бойынша секвенирлеу нәтижесінен ДНҚ-ның нуклеотидтік ретін анықтай алады.

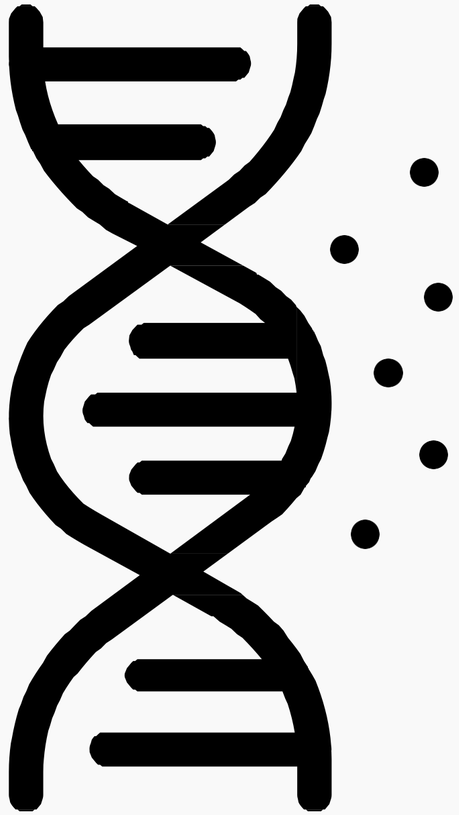
6.Максам-Гильберт және Сэнгер әдістерін фрагменттердің түзілу механизмі, автоматтандыру мүмкіндігі және практикалық қолданылуы бойынша салыстыра алады.

Қазіргі биология мен медицина ғылымында геномдық зерттеулер ерекше маңызға ие бағыттардың бірі болып табылады. Геном — тірі ағзаның барлық тұқым қуалаушылық ақпаратын қамтитын ДНҚ молекулаларының жиынтығы. Геномдық зерттеулер осы ақпаратты жан-жақты талдауға, гендердің құрылымы мен қызметін анықтауға және олардың өзара байланысын түсінуге мүмкіндік береді. Бұл зерттеулердің нәтижесінде тұқым қуалайтын ауруларды анықтау, емдеу әдістерін жетілдіру, ауыл шаруашылығында өнім сапасын арттыру және биотехнология саласында жаңа мүмкіндіктер ашу жүзеге асырылады.

Геномдық зерттеулердің басты мақсаты — ағзалардың генетикалық құрылымын тереңірек түсініп, сол арқылы биологиялық процестердің негізін ашу. Бұл бағыт ғылымның дамуына, сондай-ақ адам денсаулығын қорғау мен қоршаған ортаны жақсартуға зор үлес қосады.

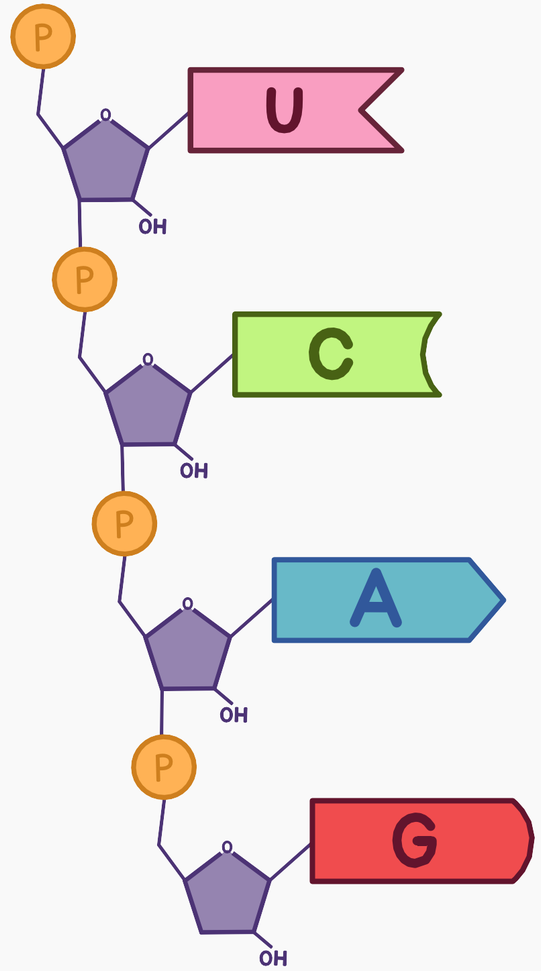
ГЕНОМДЫҚ ЗЕРТТЕУЛЕР ЖӘНЕ ОНЫҢ МАҚСАТЫ

Геномдық зерттеулер организмдердің геномдарын, жеке гендерді, олардың функцияларын және өзара әрекетін түсудегі кешенді сала. Нуклеин қышқылының секвенирленуі оның құрылымын және ақпараттық мазмұнын анықтауға бағытталған технологиялық процесстерді қамтиды. [1,32]Негізгі нысана: ДНК-дың нуклеотидтерінің тәртібін дәл анықтап, геномның карта-сынақтарын құру, гендердің орналасуын, вариацияларды және генетикалық ақпаратты түсіндіру.(1-сурет)



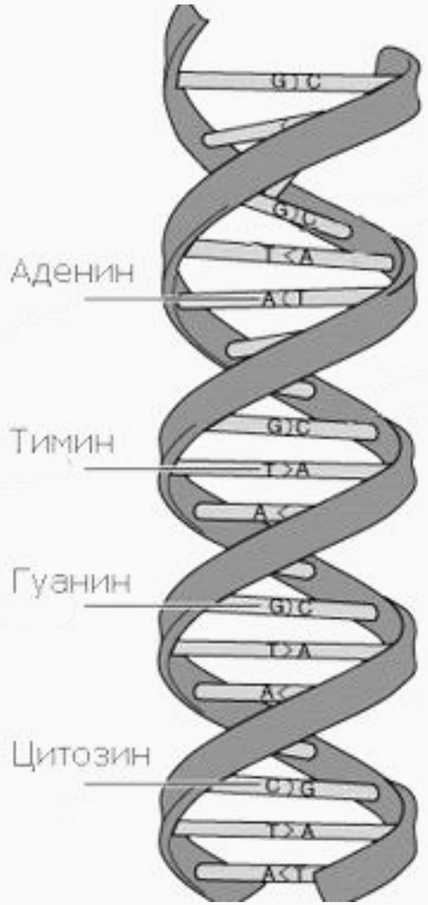
НУКЛЕИН ҚЫШҚЫЛЫНЫҢ СЕКВЕНИРЛЕНУІ

Нуклеин қышқылдарын секвенирлеу - (басқаша айтқанда, полинуклеотидтік тізбегіндегі нуклеотидтер ретін анықтау) - бұл «әріптер» яғни нуклеозидтрифосфаттардың: dATP, dGTP, dCTP, dTTP және UTP бірізділігінен тұратын сызықтық ДНҚ немесе РНҚ молекулаларының бірінші реттік құрылымын анықтау әдісі. Бұл «әріптер» көбінесе олардың құрамына кіретін азотты негіз арқылы аталады - аденин (A), гуанин (G), цитозин (C), тимин (T), сондай-ақ РНҚ жағдайында урацил (U).



ДНҚ **СЕКВЕНИРЛЕНУІ**

- Тұқымқуалаушылық пен өзгергіштіктің бірлігі ген болып табылады.
- **Ген** – нәруыздың бірінші реттік құрылымын (полипептид), тРНҚ немесе рРНҚ-ны кодтайтын ДНҚ молекуласының бөлігі.
- **ДНҚ** — тірі ағзалардың тұқым қуалау ақпаратын сақтайтын негізгі молекула. Оның құрамындағы нуклеотидтердің нақты орналасу реті әрбір ағзаның генетикалық ерекшелігін анықтайды.



ДНҚ молекуласын секвенирлеуі **ӘДІСТЕРІ**

ДНҚ-ны секвенирлеу – дезоксирибонуклеин қышқылының бірінші реттік құрылымындағы нуклеотидтер ретін оқу.

Тарихи тұрғыдан ДНҚ секвенирлеудің **екі әдісі** бар :

1. Максам–Гильберт (Maxam–Gilbert) әдісі
Бұл химиялық деградация әдісі, 1977 жылы Алан Максам мен Уолтер Гильберт ұсынған.

2. Сэнгер әдісі (тізбекті тоқтату әдісі)
1977 жылы Фредерик Сэнгер ұсынған, қазіргі заманғы секвенирлеудің негізін қалаған әдіс.

МАКСАМ ЖӘНЕ ГИЛЬБЕРТ ӘДІСІ: ХИМИЯЛЫҚ ДЕГРАДАЦИЯ ӘДІСІ

1977 жылы молекулалық биология әлемінде екі түрлі секвенирлеу әдісі пайда болды.

А.Максам мен В.Гилберт бір ұшында радиоактивті таңбаланған ДНҚ фрагментінің спецификалық химиялық ыдырауына негізделген секвенирлеу әдісін ұсынды.

Бұл әдіс ДНҚ молекуласының біріншілік құрылымын, яғни нуклеотидтердің нақты ретін (тізбегін) анықтау үшін жасалған.

Әдіс “Максам-Гильберт әдісі” деп аталды.



Уолтер Гилберт

Максам - Гильберт әдісінің мәні

Максам–Гильберт әдісінің мәні – ДНҚ молекуласының нуклеотидтер ретін химиялық жолмен анықтау. Бұл әдіс химиялық деградация принципіне негізделген, яғни ДНҚ тізбегі арнайы реактивтердің әсерінен белгілі бір нуклеотидтер орналасқан жерлерде үзіледі.

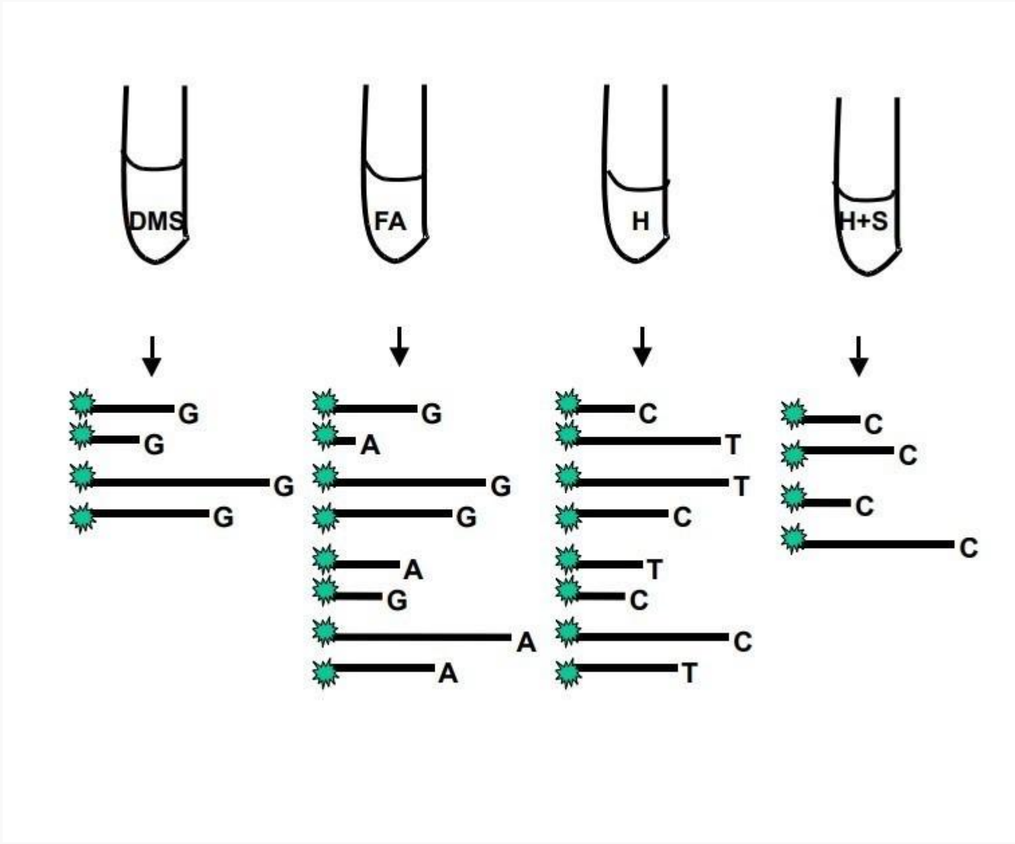
Әр реакция белгілі бір нуклеотид түрін (аденин, гуанин, цитозин немесе тимин) ғана бұзатын арнайы реагентпен жүргізіледі.

Түзілген жолақтардың орналасу тәртібі ДНҚ тізбегіндегі нуклеотидтердің ретін көрсетеді. Осылайша, Максам–Гильберт әдісі ДНҚ тізбегін химиялық жолмен үзіп, әр нуклеотидтің орналасуын анықтау арқылы генетикалық ақпаратты “оқуға” мүмкіндік береді.

Максам-Гильберт әдісінің кезеңдері

ДНҚ фрагментінің ұштарының бірі фосфор изотопы 32р көмегімен белгіленеді. Тек бір шеті (3' немесе 5') белгіленеді. Оны нуклеотидтерге "жабыстыруға" болады және нуклеотидтердің әр түрі үшін әртүрлі түстерді таңдауға болады. Реагентке әсер ету концентрациясы мен ұзақтығы нуклеотидтің тек бір түрі өзгертілетін етіп таңдалады (C; C + T; G; G + A) .

Белгіленген ДНҚ препараты төрт бөлікке бөлінеді(5-сурет) және олардың әрқайсысы төрт негіздің біреуін немесе екеуін бұзатын реагентпен өңделеді, ал реакция шарттары әр ДНҚ молекуласына бірнеше зақым болатындай етіп таңдалады.



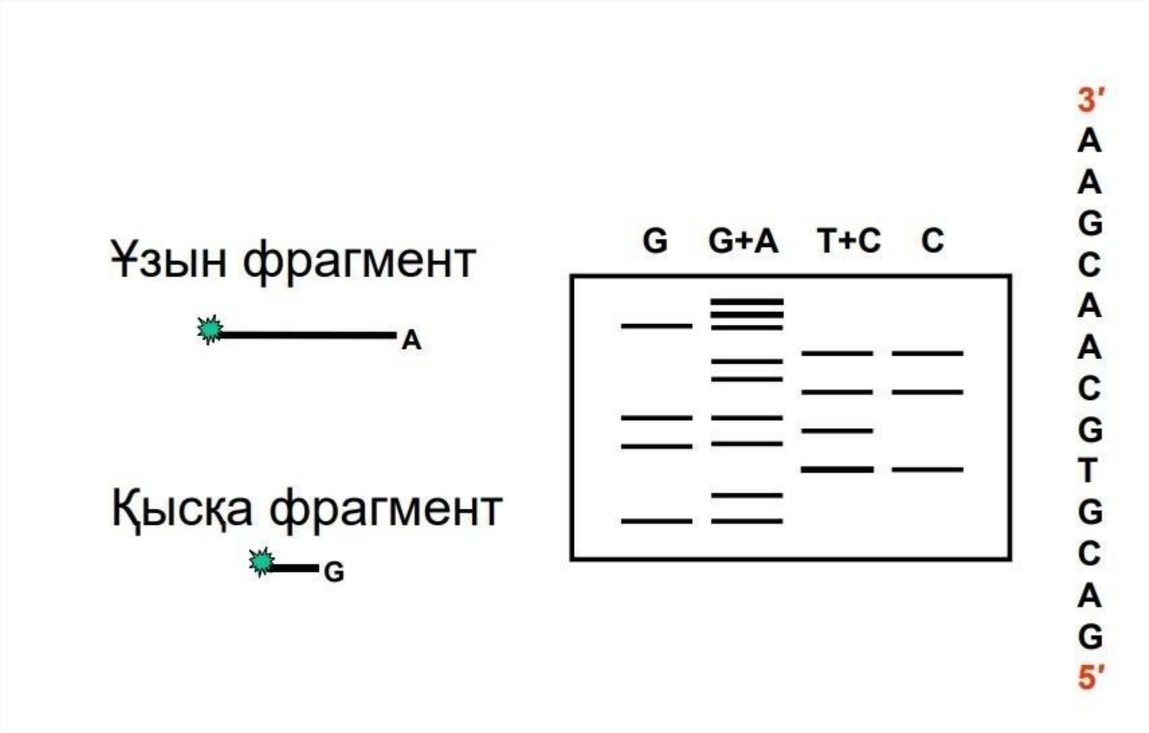
ДНҚ препаратының төрт бөлікке бөлінуі

Дәл осындай жолмен басқа үш бөлікті де ДНҚ-ны тиминнен, гуаниннен және цитозиннен кейін үзетін реагенттермен өңдейді.(6-сурет) Барлық төрт үлгідегі ДНҚ үзінділері бір-біріне параллель орналасып, полиакриламид гелінде электрофорез арқылы айырады: молекуласы аз кесінділер жоғары молекулалы кесінділерге қарағанда гельде жылдам қозғалады

.

Максам Гилбертті секвенирлеу әдісі келесі бірнеше қадамдармен орындалады:

- Шектеу эндонуклеазаларын қолдана отырып, ДНҚ тізбегін тазарту;
- ДНҚ фрагменттерінің ұштарын радиоактивті фосфаттармен таңбалау;
- Әр түтіктің құрамындағы электрофорезді гельдегі жеке сызықтар мен фрагменттердің ұзындығына қарай бөлу;
- Автографограф арқылы фрагменттерді анықтау:;



ДНҚ-ның реагенттермен өңделуі

Максам-Гильберт әдісінің артықшылықтары мен кемшіліктері

Артықшылықтары:

– ДНҚ тізбегін анықтауда жоғары дәлдік береді.

– Ферменттер қолданылмайды, сондықтан реакция химиялық тұрғыдан толық бақыланады.

– Әр нуклеотидке бағытталған реакциялар арқылы нақты бақылау мен талдау жүргізуге мүмкіндік бар.

– Күрделі ферменттік жүйелерге тәуелсіз болғандықтан, бастапқыда химиялық секвенирлеудің негізгі стандарты ретінде қабылданды.

Кемшіліктері:

– Процесс өте күрделі және көп сатылы, тәжірибені дәл жүргізуді талап етеді.

– Қауіпті химиялық заттар (диметилсульфат, гидразин, пиперидин) қолданылады, олар адам денсаулығына зиян және арнайы қауіпсіздік жағдайларын қажет етеді.

– Радиоактивті таңбалау биологиялық және экологиялық қауіп тудырады.

– Ұзын ДНҚ тізбектерін секвенирлеуге жарамайды, көбінесе 200–300 нуклеотид аралығында ғана тиімді.

– Автоматтандыруға келмейді, себебі әр реакция бөлек дайындалады және қолмен орындалады.

Максам - Гильберт әдісінің маңызы

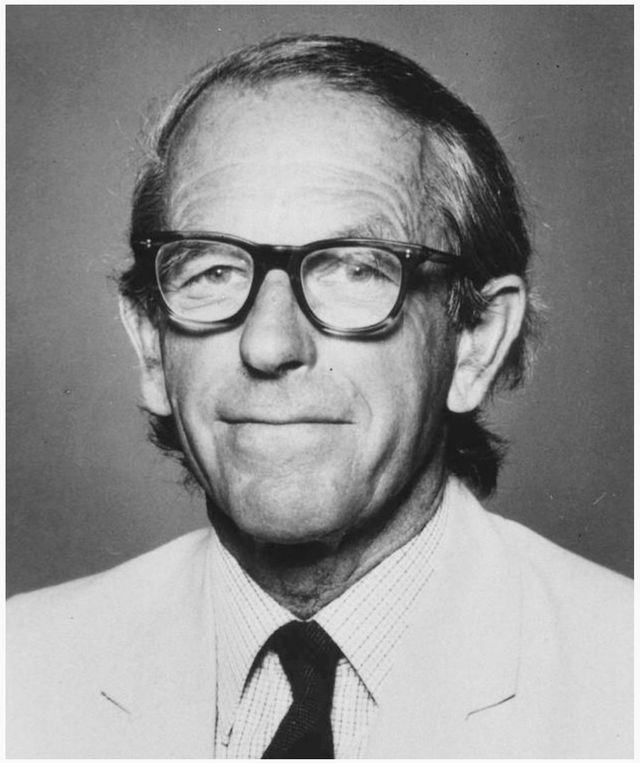
Максам–Гильберт әдісінің ғылыми маңызы — ДНҚ тізбегін жоғары дәлдікпен анықтауға мүмкіндік берген алғашқы химиялық тәсіл болуы. Бұл әдіс генетикалық ақпараттың нақты құрылымын анықтап, тұқымқуалаушылықтың молекулалық негізін түсінуде маңызды рөл атқарды. Алынған фрагменттердің ұзындығы мен орналасуын талдау арқылы ДНҚ тізбегінің нуклеотидтік реті анықталады.

Бұл тәсіл алғаш рет бактериофаг φX174 ДНҚ-сын толық секвенирлеуге мүмкіндік беріп, генетикалық кодты нақты “оқудың” жолын ашты.

Максам–Гильберт әдісінің маңызы оның ферменттерсіз, яғни таза химиялық жолмен жүзеге асуында. Осы әдіс молекулалық генетика мен биотехнология салаларында ДНҚ-ның құрылымдық және функционалдық ерекшеліктерін танудың негізін қалады.

СЭНГЕР ӘДІСІ

Қазіргі заманғы биология мен медицинаның маңызды бағыттарының бірі — геномдық зерттеулер. Геном — тірі ағзаның барлық тұқым қуалайтын ақпаратын қамтитын ДНҚ жиынтығы. Геномды зерттеу үшін ең алдымен оның нуклеотидтік тізбегін анықтау қажет. Осы мақсатта XX ғасырдың екінші жартысында молекулалық биологияда ерекше жаңалық орын алды — Фредерик Сэнгер ұсынған ДНҚ секвенирлеу әдісі. Бұл әдіс ғылымда төңкеріс жасап, адам мен басқа да ағзалардың геномын анықтауға жол ашты.

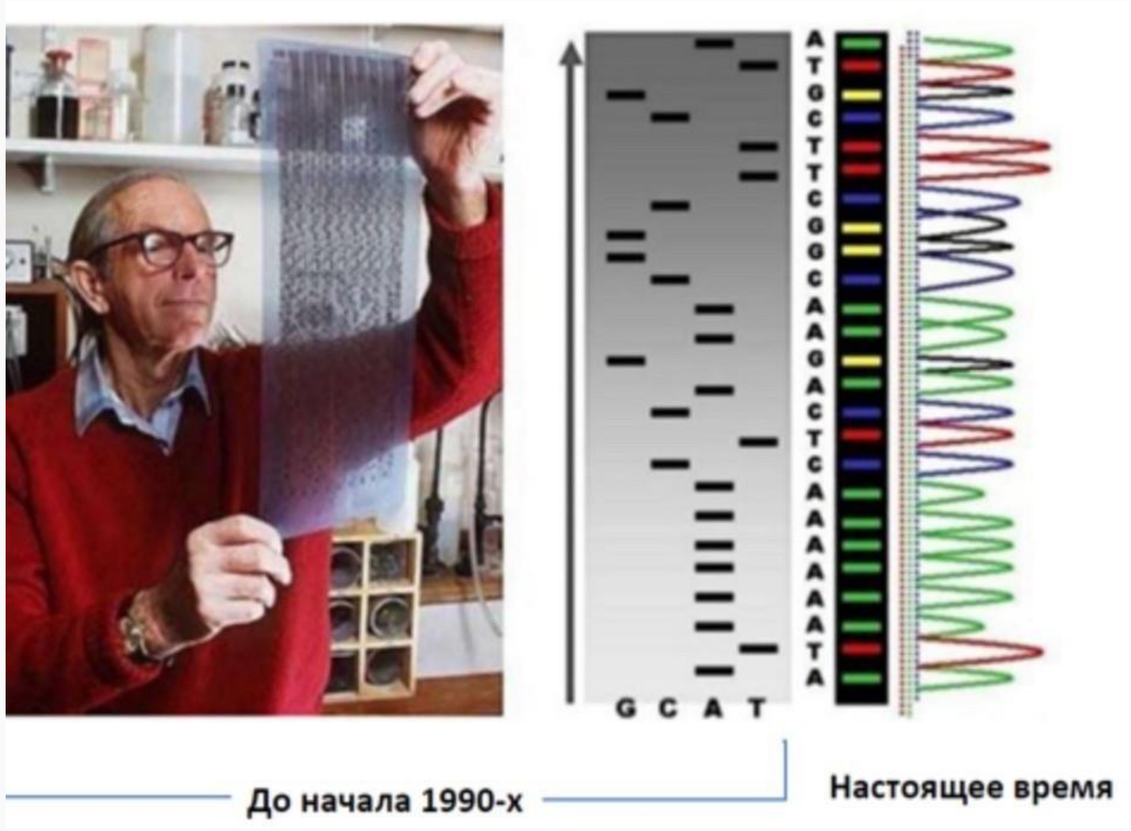


Фредерик Сэнгер

Сэнгер әдісі (немесе дидезоксинуклеотидтік тізбектеу әдісі) — ДНҚ тізбегіндегі нуклеотидтердің (A, T, G, C) нақты ретін анықтауға арналған биохимиялық әдіс.

1977 жылы ағылшын ғалымы Фредерик Сэнгер бұл әдісті жасап, ДНҚ молекуласының құрылымын тікелей анықтауға мүмкіндік берді. Бұл жаңалықтың арқасында ол 1980 жылы Нобель сыйлығын иеленді.

Сэнгер әдісі кейін адам геномының толық секвенирленуіне негіз болды және бүгінгі күнде де көптеген зерттеу лабораторияларында қолданылады.



Сэнгер әдістерін

Сэнгер әдісінің принципі

Сэнгер әдісі ДНҚ синтезінің табиғи процесіне негізделеді. ДНҚ-полимераза ферменті жаңа тізбекті матрица негізінде құрастырады. Бірақ синтез кезінде арнайы дидезоксинуклеотидтер (ddNTP) енгізілсе, тізбек дәл сол жерде тоқтайды, себебі олардың құрамында 3’-OH тобы болмайды.

Әрбір ddNTP белгілі бір бояумен таңбаланады:

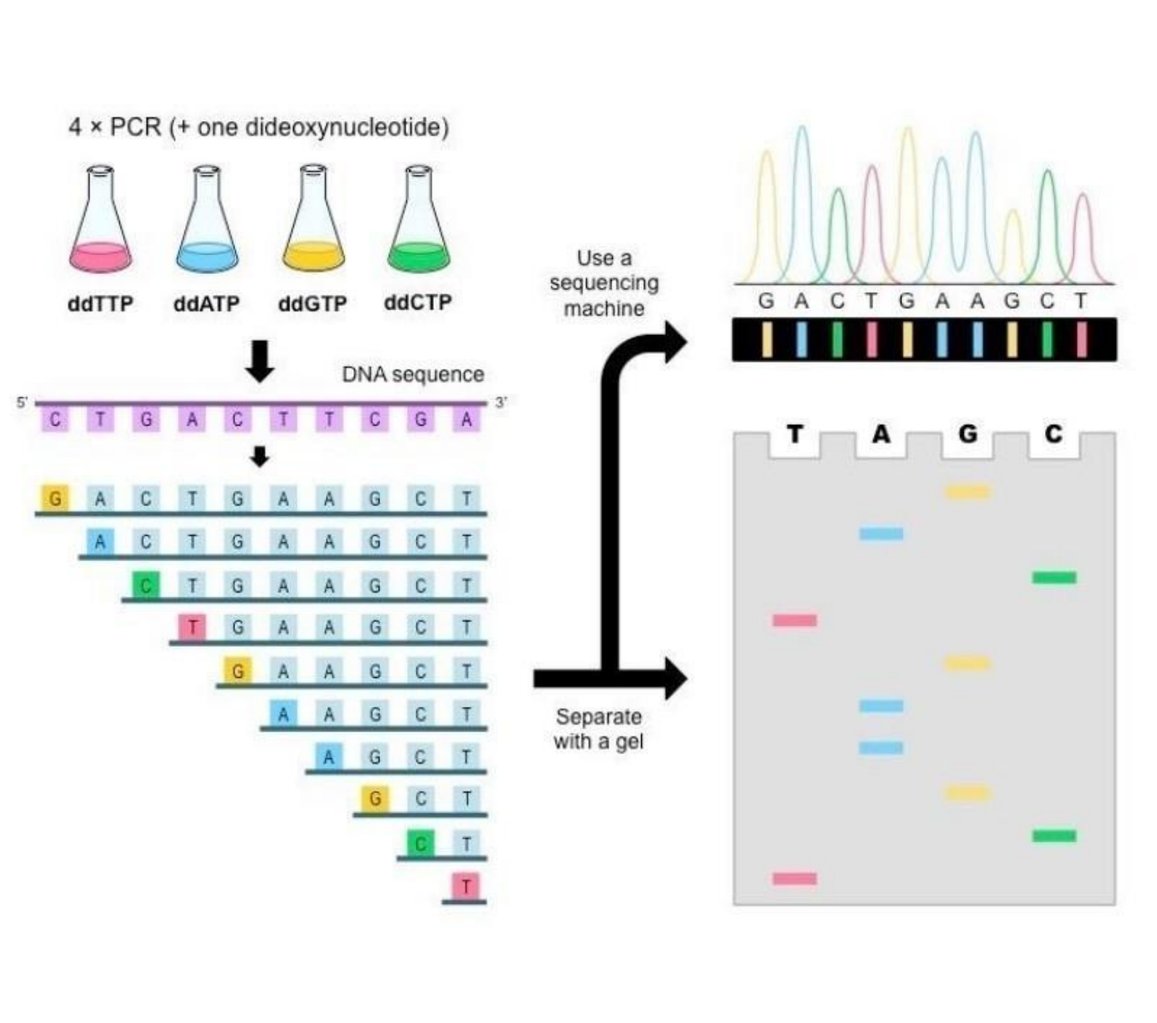
ddATP – жасыл,

ddTTP – қызыл,

ddCTP – көк,

ddGTP – сары (мысалы).

Нәтижесінде түрлі ұзындықтағы және түрлі соңғы нуклеотидпен аяқталған фрагменттер түзіледі.

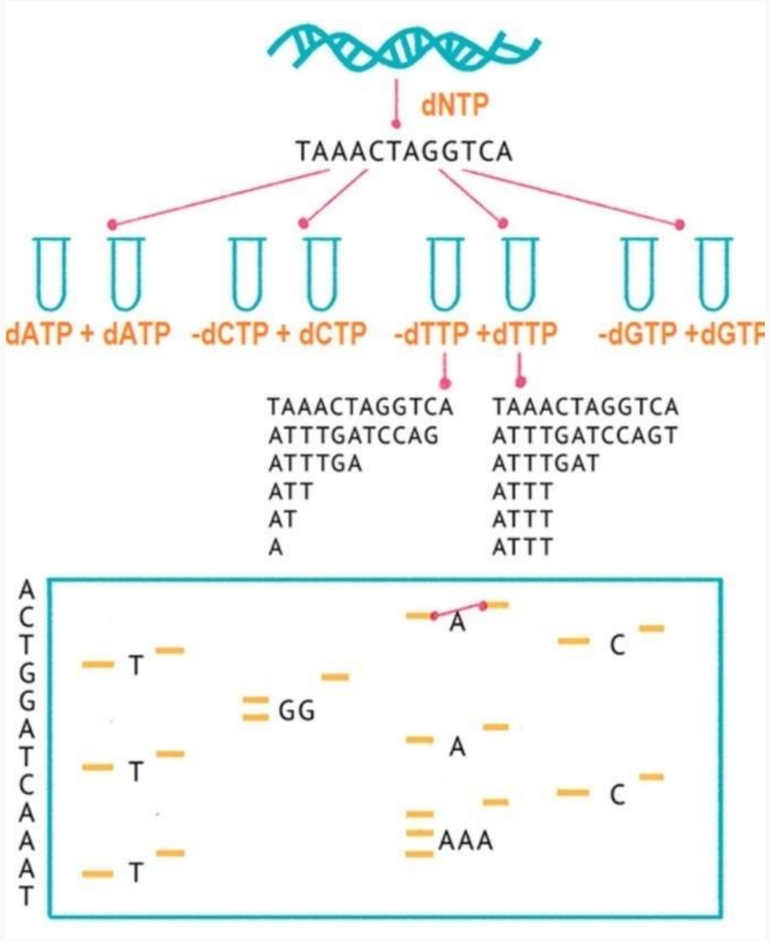


«ПЛЮС-МИНУС» ӘДІСІ

ДНҚ-мен жұмыс істеудің ең маңызды әдістері қазіргі уақытта толық сипатталған деп айтуға болады.

Келесі кезең — молекуладағы тізбектегі нуклеотидтердің нақты ретін анықтау, яғни секвенирлеу процесі. ДНҚ секвенирлеу — бұл ДНҚ молекуласындағы аденин (A), гуанин (G), цитозин (C) және тимин (T) нуклеотидтерінің орналасу тәртібін анықтауға арналған әдістер жиынтығы.

Секвенирлеудің ең танымал әдістерінің бірі — ағылшын биофизигі Фредерик Сэнгердің (1918–2013) есімімен байланысты. Ол әлемдік ғылым тарихында химия саласы бойынша екі рет Нобель сыйлығын алған жалғыз ғалым.



- Бірінші Нобель сыйлығы (1958 ж.) ақуыздардың құрылымын, әсіресе инсулин молекуласының құрылымын анықтағаны үшін берілді.
- Екінші Нобель сыйлығы (1980 ж.) нуклеин қышқылдарының алғашқы реттілігін анықтау әдістерін жасағаны үшін табысталды.

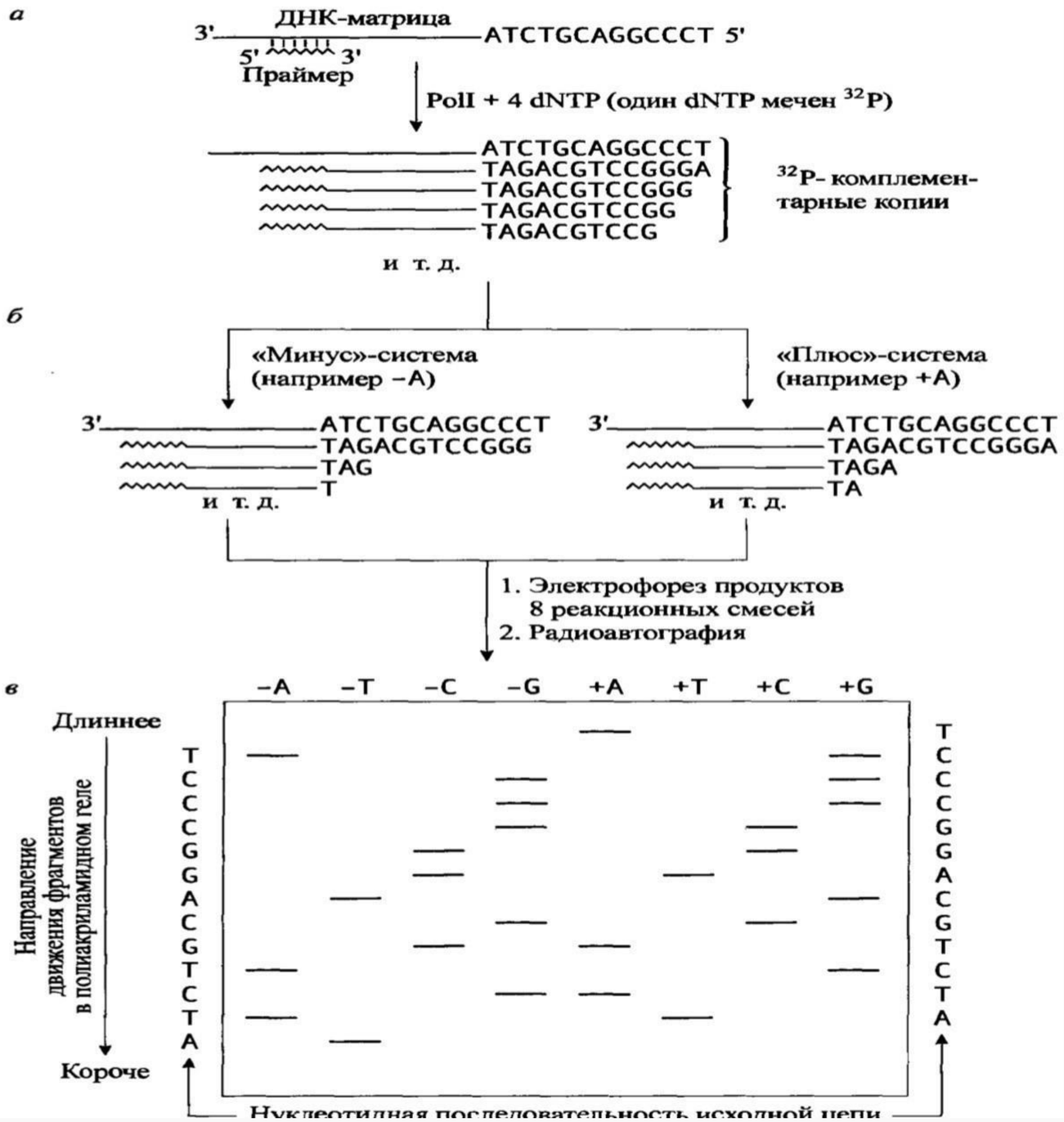
1977 жылы Фредерик Сэнгер және оның әріптестері радиоактивті таңбаланған нуклеотидтер мен ДНҚ-полимеразаны пайдалану арқылы ДНҚ секвенирлеу әдісін ұсынды. Уақыт өте келе бұл әдіс бірнеше рет жетілдіріліп, қазіргі таңда заманауи секвенирлеудің “алтын стандарты” ретінде танылды.

Әдіс екі кезеңнен тұрады:

1. Біріншіден, шектеулі жағдайда полимеразалық реакция барлық төрт дезоксинуклеотидтің (dNTPs) (A,T,G,C) қатысуымен жүргізілді, dNTP біреуі фосфаттың α-позициясында (^{32}P) радиобелгіленген. Нәтижесінде матрицалық фрагменттің толық амплификацияланбаған өнімдері пайда болады.

2. Келесі ретте бұл қоспаны байланыспаған дезоксинуклеотидтерден тазартады және оны 8 пробиркаға бөледі. Ары қарай «плюс» жүйеде 4 пробиркада төрт нуклеотидтің қатысында реакция жүргізеді. Келесі «минус» жүйеде 4 пробиркада бір нуклеотидті қоспай жүргізеді. Нәтижесінде "минус" жүйеде терминация процесі dNTP алдында, ал «плюс» жүйеде қоспаға қосылмаған нуклеотидтен кейін жүрген. Осындай жолмен алынған 8 үлгілер электрофорез арқылы ажыратылып, ніклеотидтер тізбектері анықталған

фХ174 бактериофагының ДНҚ молекуласы осы тәсілмен анықталған (5386 н.ж.)



“Трифосфаттардың терминдеуші аналогтары әдісі”

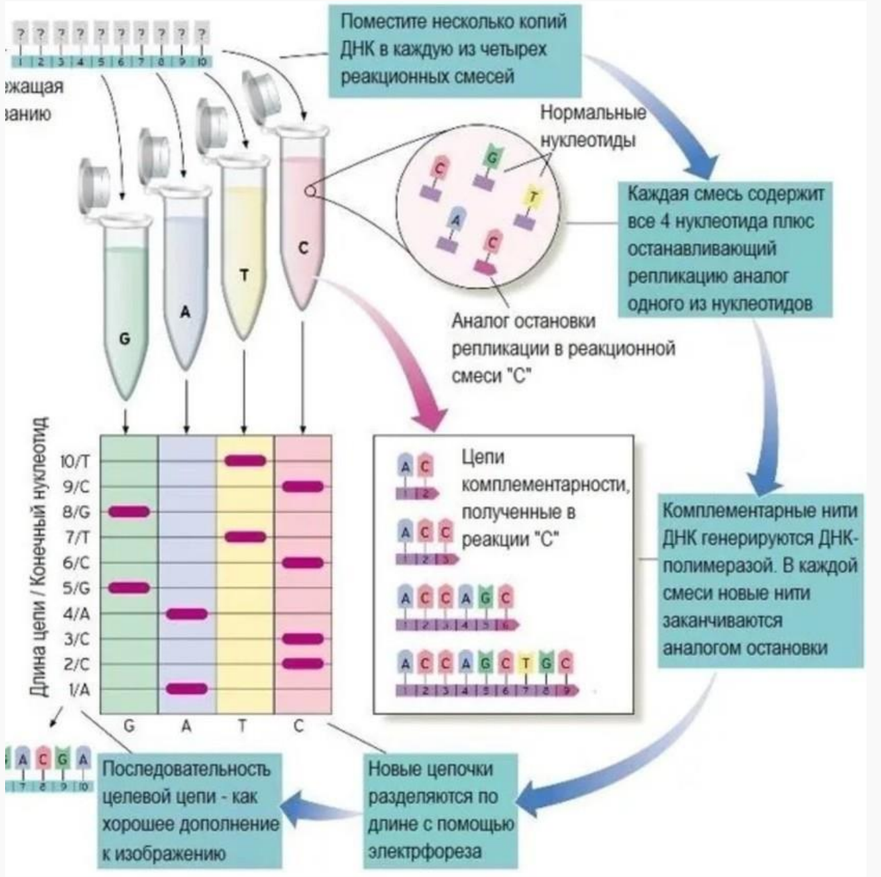
Сэнгердің ферментативтік секвенирлеу әдісі (дидезокси-тізбекті тоқтату әдісі)

Сэнгердің ферментативтік секвенирлеу әдісі — біртізбекті матрицалық ДНҚ-ның сызықтық амплификациясына негізделген. Бұл әдісте 5’-флуоресцентті таңбаланған праймер және модификацияланған Taq-полимераза қолданылады.

Комплементарлы ДНҚ тізбегінің синтезі праймердің матрица тізбегіне байланысқан аймағынан басталады. Тізбектің ұзаруы кездейсоқ сәтте тізбекті тоқтатушы дидезоксинуклеотидтің (ddNTP) қосылуымен тоқтайды. Бұл ddNTP тиісті қалыпты нуклеотидтің (dNTP) орнына кездейсоқ енгізіледі.

Төрт түрлі дидезоксинуклеотидтер — ddATP, ddTTP, ddCTP және ddGTP — жеке төрт реакциялық пробиркада қолданылады. Нәтижесінде әр пробиркада сәйкес A, T, C немесе G нуклеотидімен аяқталған әртүрлі ұзындықтағы ДНҚ фрагменттері түзіледі.

Алынған фрагменттер полиакриламидті гель сияқты арнайы гельдік матрицада электрофорез әдісі арқылы бөлінеді. Электрофорез нәтижесінде жолақтардың төменнен жоғары қарай орналасу тәртібі бойынша ДНҚ тізбегінің нуклеотидтік реттілігі анықталады.



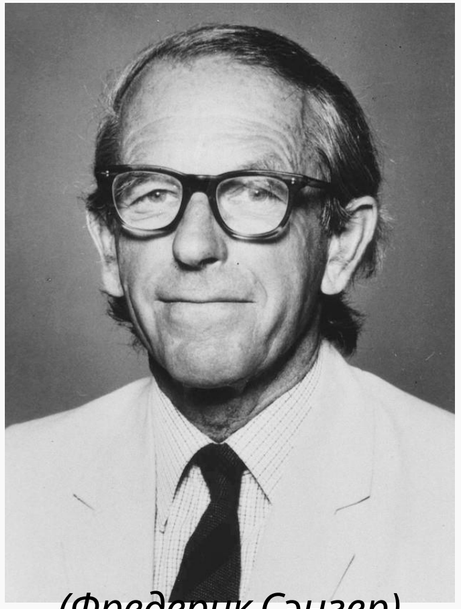
(12-сурет)

Сэнгер әдісі мен Максам және Гильберт әдістерін салыстыру

Салыстыру критерийі	Сэнгер әдісі	Максам–Гильберт әдісі
Әдістің негізі	Ферментативтік әдіс (ДНҚ-полимераза арқылы синтез және ddNTP енгізу арқылы тізбекті тоқтату).	Химиялық әдіс (ДНҚ арнайы реагенттермен ыдыратылады).
ДНҚ түрі	Бір тізбекті ДНҚ (матрица қажет).	Екі немесе бір тізбекті ДНҚ.
Қолданылатын заттар	ДНҚ-полимераза, праймер, dNTP, ddNTP, флуоресцентті таңбалар.	Радиоактивті таңбаланған ДНҚ және химиялық реагенттер (гидразин, диметилсульфат).
Реакция түрі	Ферменттік синтез.	Химиялық ыдырату.
Қауіпсіздік	Қауіпсіз, уытты реагенттер қолданылмайды.	Улы және канцерогенді реагенттер қолданылады.
Дәлдік	Өте жоғары (≈99%).	Жоғары, бірақ Сэнгер әдісінен төмен.
Фрагменттерді бөлу тәсілі	Капиллярлы немесе гельдік электрофорез.	Гельдік электрофорез.
Нәтижені оқу	Флуоресцентті бояулармен автоматты түрде.	Радиоактивті таспа арқылы қолмен.
Артықшылықтары	Қауіпсіз, дәл, автоматтандыруға қолайлы.	ДНҚ химиялық қасиеттерін зерттеуге мүмкіндік береді.
Кемшіліктері	Бір уақытта аз үлгі талданады.	Көп уақыт алады, қауіпті реагенттер қолданылады.
Қолданылуы	Геномдық зерттеулерде, клиникалық диагностикада.	Қазіргі таңда сирек қолданылады.



(Давид Гильберд)
(1862-1943)



(Фредерик Сэнгер)
(1918-2013)

ДНК секвенирлеудің классикалық әдістері — Сэнгер әдісі мен Максам–Гильберт әдісі — молекулалық биология мен генетика саласында іргелі зерттеулер жүргізуге жол ашқан жаңалықтар болып табылады.

Сэнгер әдісі қазіргі заманғы секвенирлеудің “алтын стандарты” ретінде бағаланады. Оның артықшылығы — жоғары дәлдік, қауіпсіздік және автоматтандыруға қолайлығы, сонымен қатар геномдық зерттеулерде, клиникалық диагностикада және биотехнологиялық зерттеулерде кеңінен қолданылуы.

Максам–Гильберт әдісі тарихи тұрғыдан ерекше мәнге ие. Бұл әдіс химиялық принципке негізделгендіктен, ДНҚ-ны зерттеу мен секвенирлеу тарихындағы іргелі қадам ретінде бағаланады. Дегенмен, оның қолданылуы күрделі, улы реагенттерді қажет етеді және қазіргі заманда практикалық зерттеулерде сирек қолданылады.

Қорытындылай келе, Сэнгер әдісі — биология мен медицинадағы секвенирлеудің заманауи және сенімді әдісі болса, Максам–Гильберт әдісі — молекулалық генетика тарихындағы маңызды ғылыми жетістік ретінде есте қалады.

Қорытынды

ДНҚ-ны секвенирлеу полинуклеотидтік тізбектегі нуклеотидтердің орналасу ретін анықтауға мүмкіндік береді. Максам-Гильберт әдісінде бір ұшы таңбаланған ДНҚ тізбегі белгілі бір азотты негіздер орналасқан тұстарда таңдамалы химиялық жолмен үзіледі. Сэнгер әдісінде ДНҚ-полимераза синтездеп жатқан тізбекке 3′-гидроксил тобы жоқ дидезоксинуклеотид қосылғанда, тізбектің ұзаруы тоқтайды. Екі әдісте де әртүрлі ұзындықтағы фрагменттер электрофорез арқылы бөлініп, алынған сигналдар негізінде нуклеотидтер реті анықталады.

Максам-Гильберт әдісінің қолданылуын улы реагенттер, радиоактивті таңбалау және қолмен орындалатын кезеңдердің көптігі шектейді. Сэнгер әдісінің флуоресценттік таңбалау мен капиллярлық электрофорезге негізделген нұсқасы нәтижені автоматты түрде оқуға мүмкіндік береді және жекелеген ДНҚ фрагменттерінің ретін анықтау мен генетикалық варианттарды растауда қолданылады.

Өзін-өзі тексеруге арналған сұрақтар:

1.ДНҚ-ны секвенирлеу барысында қандай ақпарат анықталады және ол геномдық зерттеулерде қалай қолданылады?

2.Максам-Гильберт әдісінде ДНҚ фрагментінің бір ұшы қандай мақсатпен таңбаланады және әртүрлі ұзындықтағы фрагменттер қалай түзіледі?

3.Сэнгер әдісінде праймер мен ДНҚ-полимераза қандай қызмет атқарады?

4.Дидезоксинуклеотидтің құрамында 3′-гидроксил тобының болмауы ДНҚ тізбегінің одан әрі ұзаруын неліктен тоқтатады?

5.Сэнгер әдісінде фрагменттер ұзындығы бойынша қалай бөлінеді және олардың соңғы нуклеотидтерінің белгілері арқылы жаңа тізбектің 5′-тен 3′-ке қарай реттілігі қалай анықталады?

6.Максам-Гильберт және Сэнгер әдістері фрагменттердің түзілу механизмі, зертханалық қауіпсіздігі және автоматтандыру мүмкіндігі бойынша қалай ерекшеленеді?

Пайдаланылған әдебиеттер тізімі:

1. Берсімбаев РІ Молекулалық биология – 2016, Қазақ университеті, Алматы
2. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний. 2012. – 896 с.
3. Т. А. Муминов, Е. У. Куандыко. Основы молекулярной биологии: курс лекций // Алматы: ССК, 2017. - 222 с.
4. Огурцов А.Н., Близнюк О.Н., Масалитина Н.Ю. Основы генной инженерии и биоинженерии. Учебное пособие. Часть 1.: Молекулярные основы генных технологий. Харьков: НТУ "ХПИ", 2018. 288 с.
5. Уилсон К., Уолкер Дж.: Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Серия: Методы в биологии. Издательство: Лаборатория знаний, 2021 г.

Ғаламтор ресурстары:

1. http://elibrary.kaznu.kz/ru
2. http://molbiol.ru/