

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии гена Российской академии наук
(ИБГ РАН)

СОГЛАСОВАНО:
Ученый совет ИБГ РАН
Протокол № 3
«15» марта 2022 г.



ПРОГРАММА

вступительного испытания для поступающих на программу подготовки
научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре ИБГ РАН
1.5.3. Молекулярная биология

МОСКВА 2022

Содержание

1. Общие положения
2. Содержание вступительного испытания
3. Основные разделы и вопросы к вступительному испытанию

1. Общее положение

Настоящая программа предназначена для поступающих в аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН) и содержит требования к вступительному испытанию по Молекулярной биологии для групп научных специальностей 1.5. Биологические науки.

Программа разработана в соответствии с Федеральными государственными образовательными стандартами высшего образования уровень магистра и специалиста и требований к их освоению.

2. Содержание вступительного испытания

Вступительное испытание проводится в формате устного экзамена с использованием экзаменационных вопросов.

На подготовку ответа дается не менее 60 минут. Ответ абитуриента оценивается по 5 балльной шкале:

5 баллов – развернутый, полный ответ по вопросы экзаменационного билета, дополнительные вопросы членов комиссии. Отвечающий, прекрасно ориентируется в дисциплине, знает и цитирует источники, свободно поддерживает дискуссию по теме.

4 балла – верный и содержательный ответ на вопросы билета, допускаются незначительные ошибки. Ответы на дополнительные вопросы точны, но не развернуты.

3 балла – неполный ответ на вопросы билета, слабое владение материалом, затруднения при ответе на дополнительные вопросы.

2 балла – отсутствие необходимых знаний.

3. Основные разделы и вопросы к вступительному испытанию

I. Молекула ДНК. Процессы репликации, рекомбинации, репарации, и транскрипции. **Регуляция экспрессии генов. Геномика**

1. Структура молекулы ДНК.

Нуклеозиды, нуклеотиды: их строение и конформация. Полинуклеотидная цепь. Физические свойства молекулы ДНК. Кривые плавления и температура плавления ДНК. Конформационные формы ДНК A, B, и Z, их физические параметры. Неканоническая H-форма ДНК. Денатурация и ренатурация ДНК. Нуклеотидные последовательности ДНК, определяющие конформацию ДНК, гибкость или жесткость молекулы. Комплементарные пары оснований Уотсона-Крика и Хугстона. Триплексы.

2. Доказательства генетической функции ДНК. Свойства колышевых молекул ДНК.

История доказательства генетической функции ДНК. Опыты Эвери, Херши и Чейз. Колышевые молекулы ДНК и понятие о сверхспирализации ДНК. Параметры сверхспирализованной ДНК и конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. Топоизомеразы I и II типа про- и эукариот, свойства, функции и механизм действия. ДНК-гираза бактерий.

3. ДНК-полимеразы прокариот.

Полимеразы, участвующие в репликации, характеристика их ферментативных активностей. Точность воспроизведения ДНК. Роль стерических взаимодействий междуарами оснований ДНК при репликации. Полимеразы I, II и III E. coli. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз. Полимеразы, обеспечивающие неточное воспроизведение ДНК («мутазы»).

4. Механизм репликации у прокариот.

Репликация ДНК. Матричный характер репликации. Доказательство полуконсервативного способа репликации ДНК. Вилка репликации, "ведущая" и "отстающая" нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Координации синтеза ДНК на комплементарных нитях. Комплекс белков в репликационной вилке. Регуляция инициации репликации у E. coli. Структура участка старта репликации (origin, ori). Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Терминация репликации у бактерий. Расхождение ori хромосом перед делением бактериальной клетки. Особенности регуляции репликации плазмид. Двунаправленная репликация и репликация по типу катящегося кольца.

5. Репликационная машина эукариот. Старты репликации.

Репликативные ДНК-полимеразы. Праймаза-ДНК-полимераза. Комплекс ORC и инициация репликации. Структура и свойства белков, участвующих в репликации: RPA, хеликаза A, RFC, PCNA. Старты репликации (ori) у дрожжей, их структурно-функциональная организация. Изменчивость сайтов ori у многоклеточных эукариот.

6. Механизм репликации у эукариот.

Фрагменты Оказаки и особенности их «процессинга». Репликоны эукариот, изменчивость их размеров. Понятие о стационарных «репликативных фабриках». Ошибки репликации, обусловленные скольжением нитей при репликации. Топология репликации.

7. Координация репликации ДНК и клеточного цикла.

Молекулярные механизмы, координирующие клеточный цикл и репликацию ДНК. Понятие о «сверочных точках» (checkpoints). Циклины и протеинкиназы. Протоонкогены, участвующие в регуляции клеточного цикла. Механизмы упаковки ДНК при подготовке к делению клетки. Когезины и конденсины в расхождении и упаковке хромосом.

8. Репликация ДНК в составе хроматина. «Расписание репликации» генов.

Загрузка новых нуклеосом на новосинтезированную ДНК. Наследование паттерна модификаций гистонов.

«Расписание репликации» участков хромосомы в клеточном цикле. Молекулярные механизмы, препятствующие новой инициации репликации до завершения клеточного цикла. Случай локальной амплификации участков ДНК эукариот, ее возможные механизмы.

9. Структурно-функциональные элементы хромосом эукариот: теломера и центромера.

Проблема репликации линейного незамкнутого фрагмента ДНК. Теломера и теломерные повторы. Теломераза, ее РНК-компонент. Теория старения в связи с динамикой структуры теломеры. Регуляция длины теломеры. Структура ДНК (теломерная петля) и специфические белки в районе теломерных последовательностей. ДНК в районе центромеры, особенности структурной организации. Кинетохор. Искусственные хромосомы эукариот.

10. Основные пути репарации повреждений ДНК. Прямая и эксцизионная репарация.

Классификация типов репарации. Болезни, обусловленные дефектами разных систем репарации. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина.

Вырезание оснований. Гликозилазы. Урацилгликозилаза. «Внеспиральное узнавание» оснований ферментами репарации. Вырезание (эксизия) поврежденных нуклеотидов. Комплекс ферментов, осуществляющих эксцизионную репарацию. Механизм репарации, направленной на исправление активно транскрибируемых генов. Механизм репарации неспаренных нуклеотидов (mismatch репарация). Выбор репарируемой нити ДНК.

11. SOS-репарация. Репарация двухцепочных разрывов.

Свойства ДНК полимераз, участвующих в SOS-репарации (ДНК-мутазы), у прокариот и эукариот. Представление об «адаптивных мутациях» у бактерий. Репарация двухнитевых разрывов: гомологичная пострепликативная рекомбинация и объединение негомологичных концов молекулы ДНК. Сигналы, обеспечивающие репарацию двухнитевых разрывов и задержку репликации ДНК до завершения репарации.

12. Общая рекомбинация у прокариот.

Энзимология общей рекомбинации у *E. coli*. RecBCD комплекс. RecA белок. Пресинаптическая нить, параметры ее молекулярной структуры. Обмен нитей ДНК при синапсе. Особенности «миграции ветви». Ферменты, участвующие в миграции ветви и разрешении структуры Холлидея. Роль рекомбинации в обеспечении синтеза ДНК при повреждениях ДНК, прерывающих репликацию.

13. Общая рекомбинация у эукариот.

Двухнитевые разрывы ДНК, инициирующие рекомбинацию. Роль рекомбинации в пострепликативной репарации двухнитевых разрывов. Структура Холлидея в модели рекомбинации. Миграция ветви, гетеродуплексы, «разрешение» структуры Холлидея. Постмейотическая сегрегация у дрожжей как доказательство возникновения гетеродуплекса при рекомбинации.

Ферменты рекомбинации у эукариот. Ортологи RecA белка. Синаптонемный комплекс. Генная конверсия, асимметричность генной конверсии. Локус спаривания у дрожжей, переключение типов спаривания.

14. Сайт-специфичная рекомбинация.

Различия молекулярных механизмов общей и сайт-специфичной рекомбинации. Классификация рекомбиназ. Типы хромосомных перестроек, осуществляемых при сайт-

специфичной рекомбинации. Регуляторная роль сайт-специфичной рекомбинации у бактерий. Конструирование хромосом многоклеточных эукариот с помощью системы сайт-специфичной рекомбинации фага.

15. ДНК-транспозоны в геномах прокариот.

Перемещающиеся (мобильные) элементы бактерий (IS, Tn, эпизомы, m-подобные фаги), их характеристика, особенности. IS-последовательности бактерий, их структура. IS-последовательности как компонент F-фактора бактерий, определяющего способность передачи генетического материала при конъюгации. Транспозоны бактерий (Tn3, Tn5, Tn9 и Tn10). Прямой нерепликативный и репликативный механизмы транспозиций. Резольваза и ее функции при репликативной транспозиции. Регуляция транспозиций Tn10.

16. ДНК-транспозоны в геномах эукариот.

Классификация мобильных элементов, механизмы транспозиции, возможные функции и биологическая значимость. Мобильные диспергированные гены (МДГ), FB-элементы, P- и I-элементы дрозофилы. Влияние транспозонов на активность генов. Представление о горизонтальном переносе транспозонов и их роли в структурных перестройках (экточеская рекомбинация) и в эволюции генома. Представление о роли транспозонов в возникновении иммунной системы.

17. Ретроэлементы генома.

Классификация ретроэлементов. Различие механизмов перемещения элементов с длинными концевыми повторами (ретротранспозонов и ретровирусов) и LINE-элементов. Ту элементы в геноме дрожжей. Элементы L1 и Alu в геноме человека. Ретротранспозоны и эволюция геномов. Ретрогены, или "процессированные гены" и псевдогены. LINE элементы теломер в геноме дрозофилы. Подвижные интроны дрожжей.

18. Факторы транскрипции и промоторы генов у прокариот.

РНК-полимераза прокариот, ее субъединичная и трехмерная структуры. Ингибиторы РНК-полимеразы. Разнообразие сигма-факторов. Сигма-54 и особенности регуляции гена глутаминсинтазы. Промотор генов прокариот, его структурные элементы: последовательности -10 (Прибнов-бокс) и -35. Стадии транскрипционного цикла. Инициация, образование "открытого комплекса", элонгация и терминация транскрипции. Факторы элонгации транскрипции *E. coli* (Gre A и Gre B). Особенности структуры терминаторов транскрипции, факторы терминации транскрипции (r-фактор, Nus-факторы); r-зависимая и r-независимая терминация.

19. Регуляция транскрипции у прокариот.

Сверхспирализация и транскрипция. Аттенюация транскрипции. Понятие оперона. Регуляция экспрессии триптофанового оперона. "Рибопереключатели". Механизмы терминации транскрипции. Полярные мутации. Негативная и позитивная регуляция транскрипции. Лактозный оперон. CAP-белок. Регуляция транскрипции в развитии фага лямбда. Принципы узнавания ДНК регуляторными белками (CAP-белок и репрессор фага лямбда). Принципы аутогенной регуляции и кооперативности на примере регуляции экспрессии репрессора фага лямбда.

20. РНК-полимеразы эукариот. Промоторы и базальные факторы генов, контролируемых РНК-полимеразами I и III.

РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие разных полимераз в транскрипции разных клеточных РНК. Чувствительность полимераз к а-аманитину. Открытая и закрытая конформации РНК-полимеразы и их роль в стабилизации связи фермента с ДНК-матрицей.

Полимеразы I и III. Особенности структуры промоторов генов, транскрибуемых с помощью этих полимераз. Базальные транскрипционные факторы (SL1 и UBF) генов класса I. Базальные транскрипционные факторы (TFIIB, TFIIB и TFIIC) генов класса III. Участие TBP в транскрипции генов всех трех классов.

- 21. Промоторы генов, контролируемых РНК-полимеразой II. Базальная транскрипция.** “Модули” промоторов полимеразы II у эукариот. Базальная транскрипция и общие факторы транскрипции. TBP и TAF факторы. Узнавание ДНК фактором TBP. Базальные транскрипционные факторы TFIIB, TFIIB, TFIIF, TFIIE. Энзиматические активности базального фактора TFIIN. Сборка преинициаторного комплекса на промоторе. Особая роль TAF в преинициаторном комплексе на промоторах, не содержащих ТАТА-бокс. Ковалентная модификация факторов транскрипции. Фосфорилирование субъединицы РНК-полимеразы II и elongация транскрипции.
- 22. Регуляция активности промоторов генов, контролируемых РНК-полимеразой II.** Регуляция транскрипции полимеразой II. Понятие о цис- и транс-регуляции транскрипции. Белки – активаторы транскрипции, их доменные структуры. Типы доменов, узнающих регуляторные цис-действующие элементы. Комбинаторный принцип в регуляции транскрипции. Коактиваторы и корепрессоры. Медиатор. Энхансеры и энхансесома. Принцип “даленодействия” в регуляции транскрипции. Тканеспецифичность энхансеров. Локус-контролирующие районы и инсулаторы.
- 23. Регуляция экспрессии генов внеклеточными сигналами.** Внешние сигналы (митогенные факторы, гормоны), регулирующие транскрипцию генов. Стадии процесса экспрессии генов, подверженные регуляции. Механизмы регуляции экспрессии генов в различных сигнальных каскадах. Семейства белков Jun и Fos, кодируемыхprotoонкогенами. STAT белки. AP1 и CRE сайты в промоторах генов. Белки-коактиваторы семейства p300/CBP.
- 24. Регуляция активности генов в развитии эукариот.** Дифференциальная активность генов в онтогенезе многоклеточных. Генетические каскады, регулирующие развитие. Гомеодомены регуляторных белков и явление гомеозиса. Принципы структурной организации и регуляции активности генов HOX-кластеров, определяющих план строения тела. Транскрипционные факторы как морфогены в развитии многоклеточных организмов. Понятие о позиционной информации. Белки группы поликомб и триторакс.
- 25. Ядерные рецепторы.** Ядерные рецепторы гормонов, их домены, особенности “узнавания” ими регуляторных последовательностей ДНК. Глюкокортикоидный и тиреоидный рецепторы, рецептор эндостерона, ретиноевой кислоты и ее метаболитов. Гетеродимеры рецепторов, ответственных за разнообразие физиологических эффектов, индуцированных гормонами. Рецепторы-сиrotы. Интеграция воздействий стероидных гормонов и митогенных факторов.
- 26. Нуклеосомная структура хроматина.** Уровни компактизации ДНК хроматина. Нуклеосома как единица структурной организации хроматина. Октамер гистонов в составе нуклеосомы. Линкер и линкерные гистоны. Нуклеосомы и транскрипция. Сборка нуклеосом при репликации ДНК, ее этапы, нуклеоплазмин. Варианты белков-гистонов. Замещение вариантов гистонов без репликации ДНК. Структура 10 нм (нуклеосомной) фибриллы. Роль гистона H1 в укладке нуклеосомного филамента.

27. Гистоновый код.

Химические модификации гистонов: ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинилирование и АДФ-рибозилирование. Понятие о "гистоновом коде". Активный и неактивный хроматин. Механизмы репрессии генов, обусловленные деацетилированием и метилированием гистонов. Белковые домены, осуществляющие мечение гистонов и чтение меток.

28. Позиционирование нуклеосом на ДНК. Ремоделирование хроматина.

Динамика хроматина и регуляция его компактизации. Фазирование нуклеосом. Подвижность (скольжение) нуклеосом.

Роль структуры хроматина на уровне нуклеосом в регуляции транскрипции. Чувствительность хроматина к ДНКазе I. Возможные варианты декомпактизации хроматина для обеспечения инициации и элонгации транскрипции. Белковые ферментативные комплексы, осуществляющие АТФ-зависимое ремоделирование. Роль нуклеосомного позиционирования в связывании ТВР. Участие HMG-белков как архитектурных факторов в активации транскрипции.

29. Организация хроматина в ядре клетки.

Структура 30-нм фибриллы хроматина. Роль отдельных доменов гистонов в ее образовании. Модели укладки 30 нм фибриллы. Высшие уровни организации хроматина: доменно-петлевой (60-80 нм) и фибрилла 100-130 нм, интерфазный хроматин, хромосома. Представление о петельной организации хромосом. Функциональная компартментализация клеточного ядра. Хромосомные территории в интерфазном ядре. Особенности пространственной структуры интерфазных хромосом и активность генов. Политенные хромосомы.

30. Роль структуры хроматина в регуляции активности генов.

Роль нуклеосомных структур в активации экспрессии гена. Эухроматин и гетерохроматин. Распространение гетерохроматинизации по хромосоме. Эффекты положения генов. Роль ядерной ламины в инактивации генов.

31. Регуляция экспрессии генов посредством метилирования ДНК.

Механизмы инактивации генов при метилировании ДНК. Репликативное метилирование ДНК. Дезаминирование 5-метилцитозина и мутации. ДНК-метилтрансферазы эукариот. Наследование метилированного состояния и метилирование de novo. "Родительский" геномный импринтинг как эпигенетическая регуляция экспрессии генов. Динамика метилирования ДНК в ходе развития у млекопитающих.

32. Созревание и транспорт мРНК.

Кепирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых полимеразой II. Процессинг 3'-конца транскрипта: участие цис-регуляторных последовательностей и транс-факторов в этом процессе; эндонуклеазы процессинга и polyA-полимераза. Альтернативные промоторы и сайты полиаденилирования. Формирование рибонуклеопротеиновых частиц. "Контроль качества" пре-мРНК в ядре. Транспорт мРНК через ядерную мембрану. Сопряжение транскрипции, сплайсинга и транспорта РНК из ядра в цитоплазму. Ядерные поры.

33. Сплайсинг мРНК.

Открытие инtronов. Типы инtronов. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Альтернативный сплайсинг, примеры. Энхансеры сплайсинга. Биологическая роль альтернативного сплайсинга, примеры. Роль белков,

связывающихся с РНК-полимеразой на промоторе, в определении специфичности сплайсинга. Механизмы узнавания/обозначения экзонов и инtronов. Сплайсинг и его роль в определении специфичности функционирования мРНК в цитоплазме. Транс-сплайсинг, его распространение. “Самосплайсинг”.

34. Процессинг тРНК и рРНК.

Процессинг тРНК и рРНК у про- и эукариот. РНКаза Р как рибозим при процессинге предшественников тРНК. Метилирование рибозы и образование псевдоуридуина. Роль малых ядрышковых РНК. Интраны групп 1 и 2. Интраны группы 1 как рибозимы. Редактирование РНК. Типы редактирования. Инсерции уридиловых остатков, дезаминирование урацила и аденина. Редактирование двухцепочечных участков РНК.

35. РНК-интерференция. МикроРНК.

Биологические функции и механизм РНК-интерференции. Участники процесса. Короткие интерфеiriующие РНК. RISC. Особенности РНК-интерференции у разных организмов. Участие в формировании структуры гетерохроматина. Конструирование интерфеiriющих РНК. Неспецифические эффекты. МикроРНК. Процессинг. Механизм действия.

36. Геном прокариот.

Строение прокариотического генома на примере *E. coli*. Размеры, кольцевая хромосома, эпизомы, F-фактор. Характеристика геномной ДНК. Компактизация ДНК бактерий. Суперспирализованные петли нуклеоида. ДНК-связывающие белки петель, структура и функции. Роль доменной организации в функционировании бактериального генома. Генетические и физические карты, их соответствие, методы построения.

37. Структура геномов эукариот.

Основные свойства генома эукариот: избыточность, компактность, компартментализация и нестабильность. Характерные отличия от прокариотического генома. Основные компоненты эукариотического генома. Кинетика реассоциации ДНК. Уникальные и повторяющиеся нуклеотидные последовательности. Гены, кодирующие белки. Мультигенные семейства. Тканеспецифичные гены и гены «домашнего хозяйства». Псевдогены.

38. Повторяющиеся последовательности геномов эукариот.

Высоко-, средне- и редко-повторяющиеся последовательности. Классы повторяющихся последовательностей. Тандемные повторы. Механизмы образования и эволюции тандемных повторов. "Экспансия триплетов" и "динамичные мутации". Сателлитные ДНК. Мини- и микросателлиты. Сегментные дупликации. Диспергированные повторы. Центромерные повторы. Теломерные повторы.

39. Сравнительная геномика.

Сравнение последовательностей геномов. Ортологи. Паралоги. Ксенологи. Размер генома и парадокс величины С. Гипотеза эгоистической ДНК. Общее количество и распределение генов в геноме. Происхождение и эволюция эукариотического генома. Генные дупликации и «тасующиеся» экзоны. Мультигенные семейства. Филогенетические деревья. Молекулярная систематика. Роль дупликаций генов в эволюционном процессе. Механизмы геномных перестроек, увеличения и уменьшения размеров геномов. Горизонтальный и вертикальный перенос генов.

40. Картирование геномов. Полиморфизм геномов.

Представление о различных видах карт генома. Методы картирования: генетические, метод расщепления рестриктазами, прямое секвенирование. Гаплотипы. Наследование гаплотипов и рекомбинации. Единицы генетического расстояния.

Полиморфизм геномов. Полиморфизм длин рестриктных фрагментов (ПДРФ). Мононуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Гипервариабельные ДНК. Молекулярно-генетические маркеры (МГМ), определение, информативность, использование для построения генетической карты. Интегрированные карты геномов. Позиционное картирование генов.

41. Геном человека.

Общие и характерные особенности организации. Типы сателлитных ДНК. Альфоидные ДНК. Суперсемейство повторов АІu: содержание, строение, транскрипция, происхождение. Суперсемейство повторов Крп I: содержание, строение, транскрипция, происхождение. Генные семейства. Системы глобиновых генов: кластерная организация, особенности функционирования в онтогенезе.

42. Наследственные заболевания человека.

Моногенные наследственные заболевания. Принципы картирования генов наследственных болезней. Молекулярная диагностика. Примеры моногенных заболеваний. Фенилкетонурия. Муковисцидоз. Мышечная дистрофия Дюшена. Талассемии. Понятие о хромосомных аберрациях. Транслокации. Делеции. Молекулярные основы генотерапии.

II. РНК и биосинтез белков

43. Основные принципы структуры РНК.

Первичная структура. Модифицированные основания. Одноцепочечность. Вторичная структура: формирование коротких двойных спиралей за счет взаимодействия смежных участков внутри цепи. А-форма двойной спирали РНК. Третичная структура: компактное сворачивание полирибонуклеотидной цепи, дальнние комплементарные взаимодействия, спираль-спиральные взаимодействия, формирование крупных доменов. Структура тРНК, структура антикодоновой петли тРНК. Структура рибосомных РНК.

44. Центральная догма молекулярной биологии. Генетический код.

Принцип комплементарности в структуре ДНК, ее редупликации и транскрипции. Поток генетической информации ДНК → РНК → белок. Информационная РНК.

История расшифровки генетического кода. Основные свойства кода: триплетность, код без запятых, вырожденность. Особенности кодового словаря, семьи кодонов, смысловые и «бессмысличные» кодоны. Кодон-антикодоновое взаимодействие, «гипотеза качаний» Ф. Крика. Основные закономерности ложного кодирования. Кодирование сelenоцистеина.

45. Генетические и негенетические функции РНК. Обратная транскрипция.

Комплементарное воспроизведение первичной структуры в реакциях репликации и обратной транскрипции. Кодирование первичной структуры белков. Пространственное структурообразование. Функции специфического узнавания и связывания лигандов. Катализитические функции. Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые некодирующие РНК.

Открытие обратной транскрипции. Особенности генома ретровирусов (на примере вируса саркомы птиц и ВИЧ). РНК-зависимая ДНК-полимераза, этапы обратной транскрипции. Образование провирусной ДНК, механизмы интеграции в геном хозяйской клетки.

46. Структура рибосом.

Локализация рибосом в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы. Подразделение на субчастицы (субъединицы); диссоциация. Функциональные сайты рибосомы: сайты связывания аминоацил-тРНК, пептидил-тРНК и деацилированной тРНК (A-, P-, E-сайты); сайты связывания факторов элонгации трансляции (EF-Tu и EF-G), сайт выхода синтезированного белка. Рибосомные белки: разнообразие, разделение, номенклатура, особенности структуры. Самосборка, ее последовательные этапы, независимое формирование РНП-доменов. Основные экспериментальные подходы к изучению топографии рибосомных белков.

47. Эпикл трансляции и рабочий элонгационный цикл рибосомы.

Эпикл трансляции: инициация, элонгация и терминация. Полирибосома. Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот. Рабочий элонгационный цикл рибосомы; три основных этапа цикла. Парциальные функции рибосомы в ходе трансляции. Полярность считывания матрицы (мРНК) в ходе трансляции.

48. Образование пептидной связи в процессе биосинтеза белка.

Синтез аминоацил-тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Два класса аминоацил-тРНК-синтетаз, их структурные и функциональные различия. Связывание аминоацил-тРНК с рибосомой, участие фактора элонгации EF1 (EF-Tu). Фактор элонгации EF1B (EF-Ts), его функция. Реакция транспептидации. Пептидил-трансферазный центр большой рибосомной субчастицы; рибозимный катализ. Транслокация. Участие фактора элонгации EF2 (EF-G) с ГТФ. Транслокация как свойство рибосомы, термодинамическая спонтанность транслокации, каталитическая функция EF-G, зависимость конформационного катализа от ГТФ.

49. Инициация трансляции у прокариот.

Участники процесса инициации. Основные этапы процесса инициации. Инициация трансляции у прокариот: факторы инициации, инициаторные кодоны, 3'-конец РНК малой рибосомной субчастицы и последовательность Шайн-Дальгарно в мРНК; «сила» мРНК. Независимая инициация и трансляционное сопряжение (индивидуированная инициация и скольжение-реинициация) на полицистронных мРНК прокариот.

50. Инициация трансляции у эукариот.

Факторы инициации, инициаторные кодоны, 5'-нетранслируемая область и кэп-зависимая «концевая» инициация. Сканирование 5'-нетранслируемой области. «Внутренняя» кэп-независимая инициация у эукариот. Последовательность событий эукариотической инициации. 3'-концевые усилители инициации трансляции у эукариот; роль полиденилового «хвоста» мРНК; циркуляризация эукариотических полирибосом.

51. Регуляция трансляции у прокариот.

Трансляционная репрессия. Регуляция синтеза рибосомных белков. Ауторегуляция синтеза треонил-тРНК-синтетазы. Регуляция трансляции РНК бактериофага MS-2. Трансляционная регуляция антисмысловыми РНК.

52. Регуляция трансляции у эукариот.

Тотальная регуляция трансляции путем фосфорилирования фактора инициации eIF2. Тотальная регуляция синтеза белка у эукариот через фосфорилирование фактора инициации eIF-4 и связывающего его белка 4E-BP. Регуляция инициации короткими рамками считывания, предшествующими основной кодирующей последовательности мРНК. Трансляционная репрессия индивидуальных мРНК. Регуляция трансляции с помощью микроРНК.

53. Терминация трансляции.

Терминирующие кодоны. Белковые факторы терминации прокариот и эукариот; два класса факторов терминации. Узнавание терминирующего кодона фактором терминации 1-го класса в А-участке рибосомы. Индукция гидролиза сложноэфирной связи пептидил-tРНК в пептидил-трансферазном центре. Эвакуация деацилированной тРНК из Р-участка и факторов терминации из А-участка с участием факторов терминации 2-го класса и ГТФ/ГДФ. Фактор освобождения рибосом (RRF, RF4) прокариот.

54. Сворачивание новосинтезированного полипептида. Локализация белков в клетке.

Котрансляционное сворачивание в компактную глобулу. Шапероны и шаперонины прокариот и эукариот – основные типы. Локализация белков в клетке. Сигналы, определяющие локализацию. Транспорт белков через ядерную мембрану. Внутриклеточный транспорт белков.

Трансмембранные транслокации растущего пептида. Сигнальный пептид. Сигнал-узнавая частица (SRP), ее нуклеопротеидная природа. Формирование транслокационного канала мембранных эндоплазматического ретикулума; котрансляционное прохождение растущего пептида через канал.

III. Структура и функции белков

55. Биологические функции белков и пептидов. Первичная структура белков.

Общие свойства белков и принципы их организации. Принципы классификации белков, их разнообразие. Уровни структурной организации белковой молекулы.

Аминокислоты как строительные блоки белковой молекулы. Классификация, строение и физико-химические свойства аминокислот. Химическое строение пептидной связи. Цис-, транс-изомерия. Стехиометрические параметры пептидной связи, стерические ограничения. Карты Рамачандрана.

56. Вторичная структура белка.

Роль водородных связей для формирования вторичной структуры. α -спираль как важнейший элемент регулярной вторичной структуры белка. Основные свойства α -спиралей: формирование дипольного момента, роль боковых радикалов аминокислотных остатков. Виды спиральных структур. β -структур: параллельное и антипараллельное расположение цепей при формировании слоев. Петли, их локализация на поверхности белков. β -шпилька как элемент вторичной структуры белков. Топологические диаграммы.

57. Принцип модульной организации белковой молекулы.

Основные мотивы, формируемые элементами вторичной структуры белков. Мотив греческого ключа, β - α - β - мотив, цинковые пальцы, β -шпилька и т.д. Структурные модули белковой молекулы: Россман-фолд, бета-баррель, бета-пропеллер и др. Биологические функции структурных модулей. Домены, их формирование и значение.

58. Третичная структура белка.

Стабильность пространственной структуры белка. Формирование третичной структуры белка в процессе синтеза. Гидрофобное ядро. Форма, компактность и динамика молекулы белка. Роль дисульфидных связей в стабилизации третичной структуры некоторых белков и пептидов. Взаимосвязь элементов вторичной структуры в составе белковой глобулы. Консенсусные последовательности аминокислот в предсказании третичной структуры. Понятие структурной классификации белков.

59. Четвертичная структура белка. Белковые комплексы.

Стехиометрия и геометрия четвертичной структуры. Взаимодействия между субъединицами, стабилизирующие четвертичную структуру. Структурная организация контактов между субъединицами. Биологическое значение четвертичной структуры. Основные классы белков.

Организация белков в комплексы. Структурные, функциональные, регуляторные субъединицы. Белковые комплексы как молекулярные машины.

60. α -спиральные белки.

Взаимодействие между двумя α -спиралями. Суперспираль – способ упаковки составляющих спиралей. Гептады аминокислот. Лейциновые "молнии". Формирование олигомеризационного домена из четырех α -спиралей. Семейства альфа-спиральных белков: глобины, цитохромы, циклины, аннексины. Гистоны и строение нуклеосомы.

61. α/β -структурные белки.

Способы упаковки параллельных β -структур в белковом домене. α/β -баррели. Роль α/β -структур в формировании гидрофобного ядра, активных центров ферментов. Триозофосфатизомераза. Расположение α -спиралей в открытых изогнутых α/β -слоях. НАД-связывающий домен. Возможность предсказания места расположения активных центров ферментов в α/β -структурах. Пиruваткиназа, аллостерическая регуляция фермента. "Подковообразный" фолд. Арабинозо-связывающий белок: структура сахаросвязывающего домена.

62. β -структурные белки.

Антипараллельные β -тяжки как основной структурный элемент β -белков. Типы образуемых доменов. Белки, связывающие гидрофобные лиганды. Ретинол-связывающий белок. Структура нейраминидазы и G- β белка. Мотив греческого ключа в структуре γ -кристаллинов. Строение и биологические функции фибронектина. Иммуноглобулиновый и фибронектиновый фолды. Структура гемагглютинина и его структурные перестройки. Белки с β -спиральными доменами: бактериальные протеазы, пектатлиаза.

63. Транскрипционные факторы прокариот.

Узнавание ДНК белками в прокариотических системах. Роль структурного мотива "спираль-поворот-спираль" в узнавании белками нуклеотидной последовательности. Факторы, обуславливающие высокую специфичность узнавания ДНК белками. Lac-репрессор и Cro-белок. Аллостерический контроль связывания белков с ДНК. Репрессор триптофанового оперона, Lac-репрессор, репрессор метионинового оперона: участие β -тяжей в его взаимодействии с ДНК. CAP-белок и его взаимодействие с ДНК.

64. Транскрипционные факторы эукариот.

Узнавание ДНК эукариотическими факторами транскрипции. Структура ТАТА-бокс-связывающего белка, его взаимодействие с ДНК. Белок p53 - его структура и взаимодействие с ДНК. Специфические факторы транскрипции эукариот. Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых "пальцев" 1-го класса. Транскрипционные факторы с бинуклеарными цинковыми кластерами. Строение GAL4. Димеризация транскрипционных факторов с участием "лейциновых молний". Взаимодействие с ДНК и строение GCN4, MyoD, Max. Трансактивационные домены.

65. Полимеризующиеся и транспортные белки цитоскелета.

Структура актина, структура актинового филамента. Профилин и гельзолин. Структура тубулина. Разнообразие семейства тубулинов. Структура микротрубочки. Участок

связывания таксола в тубулине. ГТФазная активность тубулина. Полярность и динамика микротрубочек. Белки, взаимодействующие с микротрубочками. Строение белков семейства миозинов. Структура АТФазного домена миозина. Механохимический цикл миозина, роль в нем актина. Строение белков семейства кинезинов. «Шагание» кинезинов по микротрубочке. Строение белков семейства динеинов.

66. Антитела: структура, формирование разнообразия.

Антитела. Структура. Антиген-узнающие центры. Классы антител. Взаимодействие антиген-антитело. Гены, кодирующие антитела. Механизм возникновения разнообразия антиген-узнающих центров. V(D)J-рекомбинация, соматическая гипермутабельность V-генов. Аллельное исключение. Т-клеточные рецепторы.

67. Посттрансляционные модификации белков.

Фосфорилирование белков. Протеинкиназы и протеинфосфатазы, классификация. N- и O-гликозилирование белков. Углеводные сигналы сортинга белков. Йодирование и сульфатирование остатков тирозина. Образование остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты. АДФ-рибозилирование белков. Липопротеины.

68. Сигнальные каскады клетки.

Представление о передачи внешних сигналов в клетку (ростовые факторы, молекулы адгезии, стероидные гормоны). Каскад MAP-киназ. Фосфоинозитидный путь, PI-3-киназа, киназа Akt. Jak-Stat путь и импорт активатора в ядро. Сигнальные белки TGF β и транскрипционные факторы Smads. Рецептор Notch и его участие в регуляции активности генов. Интеграция действия различных сигнальных путей в клетке.

69. Структура белков, участвующих в клеточной сигнализации.

Классы белковых рецепторов, расположенных на поверхности клетки. Организация рецепторов, способы их закрепления на мембране. Структура белков, принимающих участие в передаче сигнала в клетку. G-белки, структура, функции ($G\alpha$, $G\beta$, $G\gamma$). ГТФазный домен. Трансдуцин. Ras-белок. Малые G-белки, их разнообразие и функции.

Фермент-ассоциированные рецепторы, тирозин-киназные рецепторы. Киназные домены. SH2 и SH3 модули – структура и функция. Структура Src-тироzin киназы.

70. Избирательная деградация белков.

АТФ-зависимый протеолиз. Убиквитин и его участие в модификации белков и в процессе деградации. Убиквитин-конъюгирующая система клетки. Убиквитин-подобные модификации белков. Протеасомы, их строение. Сигнальные пути клетки, регулируемые убиквитилированием: Wnt, Hedgehog и NF-kB.

71. Канцерогенез.

Фенотипические особенности опухолевой клетки. Причины возникновения опухоли, канцерогены. Генетическая нестабильность раковой клетки. Канцерогенез как микроэволюционный процесс. Стволовые опухолевые клетки. Онкогены и гены-супрессоры опухолевого роста. Роль белка p53. Метастазирование. Защита организма от опухолевых клеток.

72. Стволовые клетки.

Понятие о стволовых клетках. Отличительные особенности стволовых клеток, их классификация. Потентность. Ниша стволовой клетки. Индуцированные стволовые клетки, транскрипционные факторы, программирующие индукцию. Эпигенетика стволовых клеток. Индукция дифференцировки в культуре клеток.

Литература
Основная

- 1) Льюин Б. **Гены** (перевод 9 изд.). Изд. Бином: Лаборатория знаний, 896 с., 2011.
Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick. **Lewin's GENES XI**. Jones & Bartlett Learning, 940 p., 2012.
- 2) Harvey Lodish, Arnold Berk, Chris A. Kaiser, Monty Krieger, Anthony Bretscher, Hidde Ploegh, Angelika Amon, Matthew P. Scott. **Molecular Cell Biology** (7th ed.). W. H. Freeman, 973 p., 2012.
- 3) Жимулов И.Ф. **Общая и молекулярная генетика** (Изд. 4-е). Сибирское университетское издательство, Новосибирск, 479 с., 2007.
- 4) Спирин А.С. **Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка**. Изд. Академия, 512 с., 2011.
- 5) Степанов В. М. **Молекулярная биология. Структура и функции белков**. Изд. МГУ, Наука, 336 с., 2005.

Дополнительная

- 6) Alexander Gann, James D. Watson, Michael Levine, Stephen P. Bell, Tania A. Baker. **Molecular Biology of the Gene** (7th ed.). Benjamin-Cummings Publishing Company, 912 p., 2013.
- 7) Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. **Molecular Biology of the Cell** (5th ed.). Garland Science, 1392 p., 2007.
- 8) Коряков Д.Е., Жимулов И.Ф. **Хромосомы. Структура и функции**. Издательство СО РАН, Новосибирск, 258 с., 2009.
- 9) Под ред. С. Дэвида Эллиса, Томаса Дженюэйна, Дэнни Рейнберг. **Эпигенетика**. Техносфера, 496 с., 2010.
Ed. by C. David Allis, Thomas Jenuwein, Danny Reinberg, Marie-Laure Caparros. **Epigenetics**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 502 p., 2007.
- 10) Разин С.В., Быстрицкий А.А. **Хроматин: упакованный геном**. Бином: Лаборатория знаний, 192 с., 2009.
- 11) Под ред. Б. Льюина, Л. Кассимериса, В. П. Лингаппа, Д. Плоппер. **Клетки**. Бином: Лаборатория знаний, 952 с., 2011.
Lynne Cassimeris, Vishwanath R. Lingappa, George Plopper. **Lewin's Cells** (2nd Ed.). Jones & Bartlett Learning, 1056 p., 2011.
- 12) Свердлов Е.Д. **Взгляд на жизнь через окно генома**. В 3 томах. Наука, 2009.
- 13) Браун Т.А. **Геномы**. ИКИ, 944 с., 2011.
T.A. Brown. **Genomes 3**. Garland Science, 736 p., 2006.
- 14) Gerald Karp., **Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments** (7th Ed.). Wiley, 864 p., 2013.
- 15) Попов В.В. **Геномика с молекулярно-генетическими основами** (Изд. 2-е). Либроком, 298 с., 2012.
- 16) Патрушев Л.И. **Экспрессия генов**. Наука, 830 с., 2000.
- 17) Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. **Физика белка**. КДУ, 524 с., 2012.