

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ГЕНА**

РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

(ИБГ РАН)



Утверждаю _____

директор ИБГ РАН П.Г. Георгиев

«23» декабря 2025 г.

ПРОГРАММА

вступительного экзамена по научной специальности 1.5.3. Молекулярная биология

Утверждена на заседании Ученого Совета ИБГ РАН
Протокол № 7 от 23 декабря 2025 года

Москва 2025

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

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

1. Структура молекулы ДНК.

Азотистые основания и нуклеотиды, строение, конформация. Явление таутомерии. Свойства молекулы ДНК, понятие 5' и 3' концов, принцип комплементарности, кривые плавления ДНК, денатурация и ренатурация ДНК. Хугстиновские взаимодействия. Модификация азотистых оснований. Интеркаляты. Формы ДНК А, В, и Z, их физические параметры.

2. Свойства кольцевых молекул ДНК.

Кольцевые молекулы ДНК, понятие о сверхспирализации ДНК. Отрицательные и положительные витки, конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. Топоизомеразы I и II типа про- и эукариот, ДНК-гираза бактерий. Обратная гириза.

3. ДНК-полимеразы прокариот.

Репликативные ДНК-полимеразы бактерий, характеристика их ферментативных активностей, процессивность, исправление ошибок копирования ДНК. Роль стерических взаимодействий между парами оснований ДНК при репликации. Полимеразы I, II, III *E. coli*.

4. Механизм репликации у прокариот.

Матричный характер репликации ДНК. Доказательство полуконсервативного способа репликации ДНК. Строение репликативной вилки прокариот, "ведущая" и "отстающая" цепи ДНК, координация синтеза ДНК. Фрагменты Оказаки – синтез и удаление. Инициация репликации у *E. coli* и ее регуляция. Терминация репликации у бактерий. Двухнаправленная репликация и репликация по типу катящегося кольца.

5. Репликация у эукариот. Старты репликации.

Репликативные ДНК-полимеразы. Праймаза-ДНК-полимераза. Комплекс ORC и инициация репликации. Структура и свойства белков, участвующих в репликации: RPA, хеликаза А, RFC, PCNA. Старты репликации (*ori*) у дрожжей, их структурно-функциональная организация Особенности точек и зон инициации репликации 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. Организация репликативного аппарата в пространстве клеточного ядра».

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. Когезин 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. Случаи 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. 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.**
Причины повреждений ДНК, мутации, мутагены. Классификация систем репарации. Репарация тиминовых димеров, репарация оснований (BER), репарация поврежденных нуклеотидов (NER), репарация неспаренных нуклеотидов (MMR) на примере бактерий. Выбор репарируемой нити ДНК. Частота появления ошибок в ДНК у прокариот и эукариот. Болезни человека, обусловленные дефектами разных систем репарации.
- 11. SOS-репарация. Репарация двуцепочечных разрывов и рекомбинация у прокариот.**
Низкоточные (ошибочные) ДНК-полимеразы прокариот и эукариот, SOS-репарация. Репарация одно- и двунитевых разрывов в ДНК. Гомологичная рекомбинация и объединение негомологичных концов ДНК. Строение комплекса RecBCD и филаментов RecA.
- 12. Общая рекомбинация у эукариот.**
Двунитевые разрывы ДНК, инициирующие рекомбинацию. Роль рекомбинации в пострепликативной репарации двунитевых 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. Лocus спаривания у дрожжей, переключение типов спаривания.
- 13. ДНК-транспозоны в геномах прокариот.**
Горизонтальный перенос генов у бактерий. Перемещающиеся (мобильные) элементы бактерий (IS, Tn, эписомы, m-подобные фаги), их характеристика. Конъюгация, F-фактор и половой процесс у бактерий, роль в экосистемах. Прямой нерепликативный и репликативный механизмы транспозиций.
- 14. 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 (эктопическая рекомбинация) и в эволюции генома. Представление о роли транспозонов в возникновении иммунной системы.
- 15. 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.

16. Транскрипция у прокариот.

Строение РНК-полимеразы прокариот, понятие кор-фермента, гомология с эукариотической РНК-полимеразой. Строение бактериальных промоторов, механизм их узнавания. Стадии транскрипционного цикла: инициация, элонгация и терминация транскрипции, их характеристики. Транскрипционные факторы. Типы терминации транскрипции и факторы терминации. Взаимосвязь транскрипции и трансляции у прокариот.

17. Регуляция транскрипции у прокариот.

Понятие оперона. Аттenuация транскрипции. Регуляция экспрессии триптофанового оперона и лактозного оперонов. CAP-белок. Полярные мутации. Репрессоры и активаторы транскрипции. Регуляция транскрипции в развитии фага лямбда. Принципы узнавания ДНК регуляторными белками.

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

РНК-полимеразы эукариот. Транскрипция 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 α -аманитину. Полимеразы I и III. Базальные транскрипционные факторы (TFIIIA, TFIIIB и TFIIIC) генов класса III. Участие TBP в транскрипции генов всех трех классов.

19. Промоторы генов, транскрибируемых РНК-полимеразой II. Базальная транскрипция.

Строение промоторов полимеразы II у эукариот (TATA-бокc и другие элементы). Базальная транскрипция и общие факторы транскрипции. Строение и функции факторов TFIIID, TFIIH. Узнавание промотора фактором TBP. Модель последовательной сборки преинициаторного комплекса на промоторе. Цикл фосфорилирования большой субъединицы РНК-полимеразы II в процессе транскрипции.

20. Регуляция активности промоторов генов, контролируемых РНК-полимеразой II.

Проксимальные и дистальные элементы гена. Синергизм действия регуляторных элементов. Свойства энхансеров и механизм их действия. Тканеспецифичность энхансеров. Инсуляторы, механизм их действия.

21. Роль гистонов и белков хроматина в регуляции экспрессии генов.

Коактиваторы транскрипции. Хроматин-модифицирующие и ремоделирующие факторы. Участие хроматина в регуляции экспрессии генов. Факторы группы поликомб и механизмы их действия. Роль метилирования ДНК в регуляции экспрессии генов. Геномный импринтинг. Эпигенетические часы.

22. Связь сигнальных каскадов и экспрессии генов.

Внеклеточные сигналы, регулирующие транскрипцию генов. Механизмы регуляции экспрессии генов в различных сигнальных каскадах. Примеры (Jak/Stat, cAMP/PKA). Ядерные рецепторы гормонов, их домены. Глюкокортикоидный и тиреоидный рецепторы. Гетеродимеры рецепторов, ответственных за разнообразие физиологических эффектов, индуцированных гормонами. Рецепторы-сироты.

23. Регуляция экспрессии генов в онтогенезе.

Дифференциальная активность генов в онтогенезе многоклеточных. Основные эпигенетические механизмы регуляции дифференциальной экспрессии. Генетические каскады, регулирующие развитие. Мастер-регуляторы.

Гомеодомены регуляторных белков и явление гомеозиса. Принципы структурной организации генов НОХ-кластеров, определяющих план строения тела.

Понятие дозовой компенсации.

24. 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 Н1 в укладке нуклеосомного филамента.

25. 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 метилирование гистонов и чтение меток.

26. 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 НMG-белков как архитектурных факторов в активации транскрипции.

27. 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: 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.

28. 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.

29. Геном прокариот.

Строение прокариотического генома на примере *E. coli*. Размеры, кольцевая хромосома, эписомы, F-фактор, копияность генома прокариот. Компактизация ДНК бактерий и ДНК-связывающие белки. Роль доменной организации в функционировании бактериального генома. Расположение генов прокариот относительно направления репликации. Генетические и физические карты, их соответствие, методы построения.

Часть II. РНК и биосинтез белков.

30. 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.

31. Сплайсинг мРНК.

Открытие интронов. Типы интронов. 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 интронов. Сплайсинг и его роль в определении специфичности функционирования мРНК в цитоплазме. Транс-сплайсинг, его распространение. "Самосплайсинг".

32. Процессинг тРНК и рРНК.

Процессинг тРНК и рРНК у про- и эукариот. РНКазы Р как рибозим при процессинге предшественников тРНК. Метилирование рибозы и образование псевдоуридина. Роль малых ядрышковых РНК. Интроны групп 1 и 2. Интроны группы 1 как рибозимы. Редактирование РНК. Типы редактирования. Инсерции уридилловых остатков, дезаминирование урацила и аденина. Редактирование двуцепочечных участков РНК.

33. РНК-интерференция. МикроРНК.

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

34. Иммунные системы прокариот.

Механизмы узнавания вирусов бактериями. Классификация иммунных систем бактерий, примеры врожденного и адаптивного иммунитета.Abortивная инфекция. Сходство белков иммунных систем бактерий с белками иммунитета эукариот. Антииммунные белки бактериофагов.

35. Структура РНК.

Строение молекулы РНК и отличия от ДНК. Первичная, вторичная, третичная структуры РНК. Модифицированные основания РНК – типы и роль. Структура тРНК, структура рибосомных РНК.

36. Центральная догма молекулярной биологии. Генетический код.

Поток генетической информации ДНК → РНК → белок. История расшифровки генетического кода, понятие универсальности генетического кода и исключения из него. Основные свойства генетического кода: триплетность, отсутствие запятых, вырожденность. Типы РНК и их роль в реализации генетической информации. Кодон-антикодонное взаимодействие, «гипотеза качаний» Ф. Крика.

37. Генетические и негенетические функции РНК. Обратная транскрипция.

Передача генетической информации. Котранскрипционное сворачивание РНК и РНК-связывающие белки. Функции специфического узнавания и связывания лигандов молекулами РНК. Некодирующие РНК бактерий и эукариот. Открытие обратной транскрипции, её механизм, строение обратных транскриптаз. Особенности генома ретровирусов (на примере вируса саркомы птиц и ВИЧ).

38. Структура рибосом.

Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы, понятие коэффициента седиментации, рибосомы митохондрий и пластид. Рибосомные РНК и белки: номенклатура, особенности структуры. Функциональные сайты рибосомы: сайты связывания аминоксил-тРНК, пептидил-тРНК и деацелированной тРНК; сайты связывания факторов трансляции, сайт выхода синтезированного белка.

39. Механизм и регуляция трансляции.

Эпцикл трансляции: инициация, элонгация и терминация. Полирибосома. Инициация трансляции у прокариот: последовательность Шайн-Дальгарно в мРНК, факторы инициации, инициаторные кодоны. Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот. Трансляционная репрессия.

40. Образование пептидной связи в процессе биосинтеза белка.

Аминоксил-тРНК – структура и роль в трансляции. Два класса аминоксил-тРНК-синтетаз, их структурные и функциональные различия. Связывание аминоксил-тРНК с рибосомой. Рабочий элонгационный цикл рибосомы: три основных этапа цикла. Факторы элонгации EF-Ts, EF-Tu. Реакция транспептидации. Пептидил-трансферазный центр большой рибосомной субчастицы; рибозимный катализ. Регуляция элонгации трансляции у прокариот. Факторы терминации трансляции.

41. 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 полиаденилового «хвоста» мРНК; циркуляризация эукариотических полирибосом.

42. 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.

43. 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-тРНК в пептидил-трансферазном центре. Эвакуация деацелированной тРНК из Р-участка и факторов терминации из А-участка с участием факторов терминации 2-го класса и ГТФ/ГДФ.

44. 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.

Трансмембранная транслокация растущего пептида. Сигнальный пептид. Сигнал-узнающая частица (SRP), ее нуклеопротеидная природа. Формирование транслокационного канала мембраны эндоплазматического ретикулула; котрансляционное прохождение растущего пептида через канал.

Часть III. Структура и функции белков.

45. 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.

46. 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 -структура: параллельное и антипараллельное расположение цепей при формировании слоев.

47. 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.

48. Четвертичная структура белка

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.

49. Транскрипционные факторы эукариот. Узнавание ДНК эукариотическими факторами транскрипции. Структура ТАТА-бокс-связывающего белка, его взаимодействие с ДНК. Специфические факторы транскрипции эукариот. Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых "пальцев" 1-го класса. Транскрипционные факторы с бинуклеарными цинковыми кластерами.

50. Полимеризующиеся и транспортные белки цитоскелета.

Структура актина, структура актинового филамента.. Структура тубулина. Разнообразие семейства тубулинов. Структура микротрубочки. ГТФазная активность тубулина.

Полярность и динамика микротрубочек. Белки, взаимодействующие с микротрубочками. Строение белков семейства миозинов. Структура АТФазного домена миозина. Строение белков семейства кинезинов. «Шагание» кинезинов по микротрубочке. Митотические кинезины. Строение белков семейства динеинов.

51. 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- и В-клеточные рецепторы.

52. Сигнальные каскады клетки.

Представление о передачи внешних сигналов в клетку (ростовые факторы, молекулы адгезии, стероидные гормоны). Каскад MAP-киназ. Jak-Stat путь и импорт активатора в ядро. Рецептор Notch и его участие в регуляции активности генов. Интеграция действия различных сигнальных путей в клетке.

53. Структура белков, участвующих в клеточной сигнализации.

Классы белковых рецепторов, расположенных на поверхности клетки. Организация рецепторов, способы их заякоривания на мембране. Структура белков, принимающих участие в передаче сигнала в клетку. G-белки, структура, функции (G α , G β , G γ). ГТФ-азный домен. Фермент-ассоциированные рецепторы, тирозин-киназные рецепторы.

54. 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. PROTAS. Сигнальные пути клетки, регулируемые убиквитилованием: Wnt, Hedgehog и NF- κ B.

55. Канцерогенез.

Фенотипические особенности опухолевой клетки (Hallmarks of Cancer). Онкогены и гены-супрессоры опухолевого роста. Причины возникновения опухоли, канцерогены (вирусные, химические). Генетическая нестабильность раковой клетки. Роль белка p53. Иммунный ответ против опухолей.

56. 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. Бинум: 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) Жимулев 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: учебное пособие / А.С. Спирин. - 3-е изд. - Москва: Лаборатория знаний, 2023. - 594 с.
- 5) Степанов В. М. **Молекулярная биология. Структура и функции белков**. Изд. МГУ, Наука, 336 с., 2005.
Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков: Учеб. для биол. спец., вузов / Под ред. А.С. Спирина. – М.: Высш. Шк., 2002 – 335 с.: ил.
- 6) Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс, К. Хопкин, А. Джонсон и др. ; пер. с англ. — 3-е изд., полн. перераб. и расш. — М. : Лаборатория знаний, 2023. — 796 с.
Дополнительная
- 7) 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.
- 8) Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. **Molecular Biology of the Cell** (5th ed.). Garland Science, 1392 p., 2007.
- 9) Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. **Хромосомы. Структура и функции**. Издательство СО РАН, Новосибирск, 258 с., 2009.
- 10) Под ред. С. Дэвида Эллиса, Томаса Дженювейна, 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.
- 11) Разин С.В., Быстрицкий А.А. **Хроматин: упакованный геном**. Бином: Лаборатория знаний, 192 с., 2009.
- 12) 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.
- 13) Свердлов Е.Д. **Взгляд на жизнь через окно генома**. В 3 томах. Наука, 2009.
- 14) Браун Т.А. **Геномы**. ИКИ, 944 с., 2011.
T.A. Brown. **Genomes 3**. Garland Science, 736 p., 2006.
- 15) Gerald Karp., **Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments** (7th Ed.). Wiley, 864 p., 2013.
- 16) Попов В.В. **Геномика с молекулярно-генетическими основами** (Изд. 2-е). Либроком, 298 с., 2012.
- 17) Патрушев Л.И. **Экспрессия генов**. Наука, 830 с., 2000.
- 18) Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. **Физика белка**. КДУ, 524 с., 2012.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

57. Биоинформатический анализ первичных последовательностей биомолекул.

Анализ первичных последовательностей белков и нуклеиновых кислот, выравнивание последовательностей. Базы данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Идентификация генов в геноме. Аннотация генов. Построение филогенетических деревьев. Предсказание структуры белков. Каталогизация белков и их доменов.

58. Электрофоретический метод разделения биомолекул.

Принцип метода, виды гелей и характеристики биомолекул, которые можно разделять таким способом, применение метода в молекулярной биологии. Электрофорез в нативных и денатурирующих условиях. Визуализация образцов. Изоэлектрофокусирование, двумерный электрофорез. Пульс-электрофорез.

59. Методы детекции и измерения количества белков и нуклеиновых кислот.

Способы детекции белков в полиакриламидном геле (окрашивание анионными красителями и серебром). Детекция белков на нитроцеллюлозной мембране и PVDF (красители, авидин-биотиновый метод, иммуноокрашивание). Методы измерения концентрации белков. Детекция ДНК с помощью интеркалирующих красителей. Спектрофотометрическая детекция белков и нуклеиновых кислот, оценка чистоты ДНК и РНК.

60. Методы исследования первичной структуры белков. Идентификация белков.

Методы определения аминокислотного состава и первичной структуры белков. Реакции химической модификации функциональных групп аминокислот. Автоматическое секвенирование белков по Эдману. Масс-спектрометрия белков, ее разновидности, использование в протеомике. Белковый фингерпринтинг. Изучение посттрансляционных модификаций.

61. Методы изучения пространственной структуры белков.

ЯМР. Рентгеноструктурный анализ. Криоэлектронная микроскопия. Локализация дисульфидных связей в белках. Методы изучения структуры белковых комплексов. Метод молекулярного моделирования.

62. Синтетические олигонуклеотиды. Мутагенез.

Синтез олигонуклеотидов. ДНК-микроматрицы (чипы), их применение. Модификации олигонуклеотидов. Применение олигонуклеотидов в терапии заболеваний. Аптамеры. Способы введения мутаций в последовательность ДНК. Ненаправленный мутагенез. Сайт-направленный мутагенез, основные методы молекулярного клонирования.

63. Микроорганизмы и плазмидные векторы для молекулярного клонирования.

Микроорганизмы, используемые в генетической инженерии. Основные компоненты векторов, используемых для молекулярного клонирования. Группы несовместимости плазмид. Бело-голубая селекция. Введение чужеродной ДНК в клетку: натуральная компетентность, химическая трансформация электропорация. Отбор рекомбинантных клонов.

64. Фаговые векторы. Векторы для клонирования больших фрагментов ДНК.

Фаги λ и M13. Фагмиды, космиды, емкость и применение. Искусственные хромосомы ВАС и YAC, их емкость и применение. P1-трандукция.

65. Нуклеазы в генетической инженерии.

Системы рестрикции и модификации бактерий как компонент иммунитета, классификация. Понятие палиндрома, специфичность, механизм действия ферментов данных систем. Эндонуклеазы рестрикции I и II типов. Метилазы. Использование рестриктаз для физического картирования ДНК. Нуклеаза FocI и ее использование в редактировании генома, мегануклеазы дрожжей, нуклеаза S1, ДНКаза I, экзонуклеаза III E.coli, РНКаза H, гид-направляемые нуклеазы: Cas-белки и белки-Аргонавты.

66. Ферменты в генетической инженерии.

ДНК-полимеразы для ПЦР (точность, процессивность, ТА-клонирование), LAMP и ее применение, ДНК-полимераза I и ее свойства, фрагмент Кленова. РНК-полимеразы фагов T3, T7, SP6. Фосфатазы, киназы, ДНК и РНК-лигазы – их свойства и механизм работы. Сборка по Гибсону – свойства ферментов.

67. Получение генетически-модифицированных штаммов бактерий.

Способы внесения делеций, инсерций и замены в геномы различных микроорганизмов. Red-рекомбиназа, субъединицы фермента и принцип работы. Применение Cas9 для модификации штаммов бактерий и удаления нежелательных клонов. Примеры использования модификации геномов бактерий.

68. Методы получения и анализа кДНК.

Синтез кДНК обратной транскриптазой. Обратная транскрипция-ПЦР. Схема приготовления двухцепочечной кДНК. Приготовление кДНК по технологии SMART. Амплификация фрагментов кДНК, фланкирующих участков с известной последовательностью (RACE). RACE по технологии SMART. Step-Out PCR.

69. ДНК-библиотеки: геномные и кДНК-библиотеки, принципы создания и скрининга

Понятие о геномной и кДНК-библиотеках как совокупностях клонированных фрагментов ДНК. Принципы создания геномной библиотеки. Принципы создания кДНК-библиотеки. Основные методы скрининга: гибридизационный; иммунологический; скрининг по функциональной активности белка; ПЦР-скрининг. Понятие о контигах клонов как наборах клонированных фрагментов ДНК с перекрывающимися последовательностями. Принцип «прогулки по геному» как итеративный процесс скрининга библиотеки. Понятие о вычитающей гибридизации как методе обогащения библиотеки редкими или специфическими последовательностями.

70. Блоттинг нуклеиновых кислот и белков.

Методы Саузерну и Нозерн блот-гибридизации, дот-блот гибридизация и определение констант связывания. Мембраны для иммобилизации. Детекция нуклеиновых кислот на мембране. Задачи, в которых применяется блоттинг.

71. Методы анализа экспрессии генов.

Серийный анализ генной экспрессии (SAGE). Методы исследования экспрессии генов с помощью количественного ПЦР. «Нормировочные» гены. Использование чипов и микрочипов для анализа профилей экспрессии генов. EST-маркеры. Дифференциальный дисплей. Метод вычитающей гибридизации в анализе экспрессии генов.

72. Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Основные компоненты ПЦР и принцип метода. Термостабильные ДНК-полимеразы. Температура отжига праймеров. Влияние различных компонентов на эффективность ПЦР. Специфичность ПЦР: ПЦР с «горячим стартом», варианты классической ПЦР, ПЦР в

каплях. Синтез генов с помощью ПЦР. ПЦР в реальном времени. Методы детекции продуктов классической ПЦР и ПЦР в реальном времени. Изотермическая амплификация.

73. Секвенирование ДНК.

Метод секвенирования Сэнгера – принцип и основные стадии. Ферменты, используемые для секвенирования по методу Сэнгера. Автоматическое секвенирование. Длина чтения. Стратегия секвенирования больших геномов методом shotgun. Высокопроизводительное секвенирование ДНК. Создание библиотек нуклеиновых кислот. Типы высокопроизводительного секвенирования: пиросеквенирование, флуоресцентное секвенирование, нанопоровое секвенирование. Длина и точность прочтения. Сборка геномов *de novo*, аннотация генома.

74. Методы экстракции биомолекул из тканей и клеток. Центрифугирование

Основные методы разрушения клеток и тканей: механические, химические и ферментативные способы дезинтеграции биологических материалов. Выделение ДНК (фенол-хлороформная экстракция, сорбционные методы), РНК (метод фенол-гуанидинтиоцианат) и белков. Принципы центрифугирования. Низкоскоростное центрифугирование. Понятие константы седиментации (S). Основные типы ультрацентрифугирования: дифференциальное, зонально-скоростное и равновесное в градиенте плотности. Назначение основных типов роторов: угловые, бакет-роторы, зональные.

75. Антитела как инструмент молекулярной биологии.

Получение антител. Антигенность, выбор эпитопа для получения антител. Поли- и моноклональные антитела. Изотипы антител. Иммуноблоттинг. Первичные и вторичные антитела. Иммунопреципитация. Мечение антител. Иммуноокрашивание. Иммуноферментный анализ.

76. Хроматографические методы разделения биологических молекул.

Параметры, по которым осуществляется разделение макромолекул при различных типах хроматографии: молекулярная масса, растворимость, адсорбционные характеристики, соотношение гидрофильных/гидрофобных участков, электрический заряд, характер и количество ионогенных групп, биоспецифические взаимодействия. Ионообменная, гидрофобная и аффинная жидкостная хроматография, гель-фильтрация. Способы элюции. Основные сорбенты, используемые в хроматографии. FPLC и HPLC. Очистка олигонуклеотидов.

77. Методы локализации биомолекул.

In situ гибридизация. Политенные хромосомы насекомых. Иммуноцитохимический анализ. Мечение белков тагами. Анализ функций белков *in vivo* с помощью методов FRET и FRAP. Томография.

78. Световая и флуоресцентная микроскопия.

Приготовление препаратов. Метод светлого поля, метод темного поля, поляризационная микроскопия, метод фазового контраста, метод интерференционного контраста. Разрешающая способность метода. Флуоресцентные красители в молекулярных исследованиях. Использование флуоресцентных белков.

79. Культуры клеток высших эукариот. Цитометрия.

Источники культур клеток. Первичные культуры. Культивирование клеток. Пассажиrowание клеток. Иммуортализация. Гибридомы. Проточная цитометрия.

Измеряемые клеточные параметры. Сортировка клеток. Оценка пролиферативной активности культуры клеток. Оценка клеточного цикла. Оценка цитотоксичности.

80. ДНК-векторные системы высших эукариот.

Векторы на основе вирусов: вирус SV40, ретровирусы, аденовирусы, бакуловирусы. Векторы на основе транспозонов. Методы трансфекции. Селективные маркеры и гены-репортеры. Системы интеграции трансгенов у дрозофилы с использованием P-элемента, Cre-loxP-системы, ФС31-системы.

81. Трансгенез у животных.

Методы введения ДНК в клетки и получения линий трансгенных животных. Инъекция ДНК в зиготу. Получение эмбриональных стволовых клеток. Клонирование животных. Экспрессия генов в трансгенных животных. Тканеспецифичная экспрессия.

82. Методы регуляции экспрессии генов у высших эукариот.

Нокаун гена. Использование РНК-интерференции для нокаунта. Нокаут гена в организме. Кондиционный нокаут. Таргетинг (замена) гена. Системы Cre-Lox, FLP-FRT. Трансгенные животные как система для изучения экспрессии генов млекопитающих. Система GAL4/UAS.

83. Получение рекомбинантных белков в культуре клеток.

Основные системы наработки рекомбинантных белков. Векторы для экспрессии генов в микроорганизмах. Бакуловирусная система экспрессии в клетках насекомых. Системы экспрессии в клетках млекопитающих. Используемые линии клеток (CHO, HEK, COS). Промоторы вирусов CMV, SV40. Факторы, влияющие на выход рекомбинантного белка: копияность гена, сила промотора, наличие регуляторных элементов, стабильность мРНК, частота использования кодонов, стабильность белка. Нарботка и очистка белка. Сигналы секреции.

84. Инженерия белков. Фаговый дисплей.

Методы рационального дизайна (rational design) и направленной эволюции белков. Получение мутантных белков методами сайт-направленного мутагенеза. Получение химерных белков и их применение. Синтез белка в бесклеточной системе. Принцип метода фагового дисплея.

85. Методы изучения белок-белковых взаимодействий.

Методы поиска белков, взаимодействующих с изучаемым. Соосаждение белков, Co-IP. Метод TAP. Аффинная очистка. Сшивка белков. Поверхностный плазмонный резонанс. Изотермическая калориметрия титрования. FRET. Белковая комплементация (protein-fragment complementation assay). Принцип метода дрожжевой и бактериальной двугибридной системы, применение и ограничения.

86. Методы изучения взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами *in vitro*.

Метод задержки в геле (EMSA). Дрожжевая одно-гибридная система. Соосаждение белков и нуклеиновых кислот (Pull-down Assay). Анализ на микроматрицах. Метод SELEX. Измерение констант связывания белков и нуклеиновых кислот.

87. Методы изучения взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами *in vivo*.

Поиск и изучение свойств регуляторных элементов ДНК. Репортерные гены. Анализ гиперчувствительности к ДНКазе I (DNase I footprinting). Метод DamID. Метод хроматин-иммунопреципитации. Метод 3C и его модификации. Re-ChIP. ChIP-on-chip, ChIP-seq, ChIP-exo. РНК-иммунопреципитация. RIP-seq.

Литература

Основная

- 1) **Wikipedia**
<http://en.wikipedia.org/wiki/>
- 2) Jeremy W. Dale, Malcolm von Schantz, Nicholas Plant. **From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology** (3rd Ed.). John Wiley & Sons, 408 p., 2012.
Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии: учебное пособие / под редакцией К. Уилсон, Дж. Уолкер; перевод с английского Т.П. Мосоловой Е.Ю. Бозелек-Решетняк. - 3-е изд. - Москва: Лаборатория знаний, 2020. - 855 с. - ISBN 978-5- 00101-786-8.
- 3) Щелкунов С. Н. **Генетическая инженерия**: Учеб.-справ. пособие. Сиб. унив. изд-во, 514 с., 2010.
- 4) Б. Глик, Дж. Пастернак. **Молекулярная биотехнология. Принципы и применение**. М.: Мир, 589 с., 2002.
Bernard R. Glick, Jack J. Pasternak. **Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA**. ASM Press, 1020 p., 2010.
- 6) ПЦР в реальном времени / Д. В. Ребриков, Г. А. Саматов, Д. Ю. Трофимов [и др.] ; под ред. д. б. н. Д. В. Ребрикова. - 13-е изд., электрон. - М. : Лаборатория знаний, 2025. — 226 с.
- 7) Current Protocols in Molecular Biology
<https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/journal/19343647>

Дополнительная

- 5) Terry A. Brown. **Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction** (6th Ed.). Wiley-Blackwell , 336 p., 2010.
- 6) Gerald Karp. **Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments** (7th Ed.). Wiley, 864 p., 2013.
- 7) Richard J. Reece. **Analysis of Genes and Genomes**. John Wiley & Sons, 490 p., 2004.
- 8) Патрушев Л.И. **Искусственные генетические системы**. М.: Наука, 530 с., 2004.
- 9) Рыбчин В.Н. **Основы генетической инженерии**. Изд. СПбГТУ, 522 с., 2002.
- 10) Sambrook J., Russel D. **Molecular cloning: a laboratory manual**, 3rd ed. (v.1), Cold Spring Harbor Lab. Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001
- 11) Pinto, Murillo & Borges, Isabela & Fontoura, Luiz & Lilian, Carla & Filho, Aroldo. (2023). **Molecular biology - Some techniques and applications: Literature review**. 10.56238/uniknowindevolp-075