



Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): **«Современные проблемы по специальности молекулярная биология»**
2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
3. Направление подготовки – **06.06.01 Биологические науки**. Направленность (профиль) программы – **Молекулярная биология**.
4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (второй год обучения в аспирантуре осенний и весенний семестры), спецкурс обязательный для освоения аспирантами, обучающимися по направленности "молекулярная биология"
5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции (код компетенции)	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)
<i>УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях</i>	Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) Владеть:
	навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)

<p>УК-2 Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.</p>	<p>Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31 (УК-2)</p>
<p>УК-3: Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач</p>	<p>Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2 (УК-3)</p>
<p>УК-4: Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке</p>	<p>Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1 (УК-4) Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32 (УК-4)</p>
<p>ОПК-1 Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий</p>	<p>Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа</p>

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетных единицы, всего 108 академических часов, из которых 80 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (54 часа занятий лекционного типа) и 28 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий, работа с литературой).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: биохимию, биоорганическую химию, математические методы биологии (математический анализ, основы статистики и теории вероятности).

УМЕТЬ: выработать на основе рационального анализа литературных данных и экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах молекулярной биологии и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области молекулярной биологии, в том числе на английском языке, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, английским языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	Всего (часы)	В том числе								
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них						Самостоятельная работа обучающегося, часы из них		
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	Всего
Раздел 1. Молекула ДНК. Процессы репликации, рекомбинации, репарации, и транскрипции - последние достижения. Регуляция экспрессии генов - классические работы по исследованию и современные представления: молекула ДНК, процессы репликации, рекомбинации и репарации. Структура генома высших эукариот. Транскрипция у про- и эукариот. Гормональная регуляция и сигнальные системы, регулирующие экспрессию генов.	30	18	5	1	1	1 Письменная контрольная и/или устный опрос	26	4	4	8
Раздел 2. Биосинтез белка - классические работы и современные представления. Принцип комплементарности. Основные свойства кода. Основные принципы строения РНК.	30	18	5	1	1	1 Письменная контрольная и/или устный опрос	26	5	5	10

Транспептидация. Транслокация. Элонгация. Терминация. Нерибосомальный синтез пептидов.										
Раздел 3. Структура и функции белков. Современные проблемы исследования в области строения и биологических функций белков и пептидов.	48	18	5	1	1	1 Письменная контрольная и/или устный опрос	26	5	5	10
Промежуточная аттестация - зачет, экзамен кандидатского минимума						2	2			
Итого:	108						80			28

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература: статьи из журналов и сборников по выбору преподавателя, освещающие последние достижения в рассматриваемых областях.

Дополнительная литература подразделяется на две группы источников:

Группа А - источники, посвященные описанию знаний, ставших классическими.

1. «Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот», 1990.

2. М.Сингер, П.Берг. «Гены и геномы». Мир, 1998.

3. Льюин. «Гены», пер. 9-го англ. изд. И. А. Кофиади [и др.] под ред. Д. В. Ребрикова. М. : БИНОМ. Лаб. знаний, 2012.
4. Жимулев И.Ф. «Общая и молекулярная генетика», 2003.
5. Щелкунов С.Н. «Генетическая инженерия». 2-е изд. Новосибирск: Сиб.унив. изд-во, 2004.
6. Разин С.В., Быстрицкий А.А. «Хроматин: упакованный геном» изд. Бином, 2017.
7. Warson J.D., Baker T.A., Bell S.P., Gann F., Levine V., Losick R. «Molecular Biology of the gene» 2004, 5th edition Intern Edition.
8. А.С. Спирин «Структура рибосом и биосинтез белка», 2011.
9. A.S. Spirin "Ribosomes". Kluwer Academic/Plenum Press, 1999.
10. A.S. Spirin "The ribosome as a conveying thermal ratchet machine". J. Biol. Chem., 2009, vol. 284(32) p.p. 21103-19.
11. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. «Физика белка. Курс лекций». — М: Книжный дом «Университет», 2012.
12. C. Branden, J. Tooze. "Introduction to Protein Structure", 2-nd edition, Garland Publishing, 1999.
13. Шульц Г.Е., Ширмер Р.Х. — Принципы структурной организации белков. — М: Мир, 1982.
14. Степанов В.М. "Молекулярная биология. Структура и функции белков". Под ред. А.С. Спирина. М.: В.Ш., 1996.
15. Овчинников Ю.А. "Биоорганическая химия", М.: Просвещение, 1984.

Группа Б - источники литературы, способствующие лучшему освоению основного материала, привлекаемые преподавателем по необходимости и по результатам промежуточной аттестации.

1. Фершт Э. — Структура и механизм действия ферментов, гл. 1, 8—12. — М: Мир, 1980.
2. Fersht A. — Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding. — NY: W.H.Freeman & Co., 1999.
3. Волькенштейн М.В. — Биофизика. СПб. [и др.]: Лань, 2012.
4. Кантор Ч., Шиммель П. — Биофизическая химия, т. 1, гл. 2, 5; т.3, гл. 17, 20, 21. М: Мир, 1982.
5. T. Creighton. "Proteins", 2-nd edition: "Structures and Molecular Properties", Freeman and Company, NY, 1993.

6. Perutz M.F. — Protein structure. — NY: W.H.Freeman & Co., 1992.
7. Ленинджер А. — Основы биохимии, в 3-х т., гл.4—8, 23, 29. — М: Мир, 1985.
8. Страйер Л. — Биохимия, в 3-х т., гл.1—9, 27, 33—34. — М: Мир, 1984 (т.1) – 1985 (т.2,3).
9. Рубин А.Б. — Биофизика. т.1, гл. 7—14. — М: Книжный дом "Университет", 2004.
10. Полинг Л. — Общая химия, гл. 1—6, 9—13, 16, 24. — М: Мир, 1974.
11. Эмануэль Н. М., Кнорре Д. Г. Курс химической кинетики. 4-е изд. — М: Высшая Школа, 1984.
12. Howard J. «Mechanics of motor proteins and the cytoskeleton». — Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., 2001. Part III.
13. G. Karp. "Cell and Molecular Biology", 2-nd edition, John Willey & Sons Inc., 1999.
14. R. Weaver. "Molecular Biology", 2-nd edition. International ed., 2002.
15. D. Voet, J. Voet, Ch. Pratt. "Fundamentals of Biochemistry", John Willey & Sons Inc., 1999.
16. J. Berg, J. Tomoczko, L. Stryer. "Biochemistry", 5-nd edition, International ed., 2002.
17. D. Metzler. "Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells", 2-nd edition, v1, v2, Academic Press, 2003.
18. D.G. Hardie, J.R. Coggins. "Multidomain proteins: structures and evolution", Elsevier, 1986.
19. H. Lodish et al. "Molecular and Cell Biology", Freeman and Company, 4-nd edition, 2000; 5-nd edition, 2003.
20. B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. "Molecular Biology of the Cell", 2015.

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

Базы данных PubMed (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)

Доступ к вычислительным ресурсам (кластеру с предустановленным необходимым ПО) для выполнения домашних

заданий.

Описание материально-технической базы.

Кафедра молекулярной биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватели: профессор кафедры молекулярной биологии Каменский П.А. ведущий научный сотрудник кафедры молекулярной биологии Колесников А.А., ведущий научный сотрудник кафедры молекулярной биологии Калбина Т.С.



The image shows three handwritten signatures in black ink, arranged horizontally from left to right. The first signature is a stylized, vertical mark. The second signature is a cursive name, likely 'Каменский'. The third signature is a cursive name, likely 'Колесников'.

Приложение

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Современные проблемы по специальности молекулярная биология» на основе карт компетенций выпускников

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС	ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА				
		1	2	3	4	5
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код З1(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)						
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

**Процедуры оценивания результатов обучения по дисциплине (модулю) зависят от того какая форма промежуточной аттестации используется - традиционная (зачет, экзамен) или иная (балльно-рейтинговая система, портфолио и др.).*

Для оценивания результатов обучения в виде знаний используются следующие типы контроля:

- тестирование;
- индивидуальное собеседование,
- письменные ответы на вопросы.
- т.п.

Для оценивания результатов обучения в виде умений и владений используются следующие типы контроля:

- практические контрольные задания (далее – ПКЗ), включающих одну или несколько задач (вопросов) в виде краткой формулировки действий (комплекса действий), которые следует выполнить, или описание результата, который нужно получить.

По сложности ПКЗ разделяются на простые и комплексные задания.

Простые ПКЗ предполагают решение в одно или два действия. К ним можно отнести: простые ситуационные задачи с коротким ответом или простым действием; несложные задания по выполнению конкретных действий. Простые задания применяются для оценки умений. Комплексные задания требуют многоходовых решений как в типичной, так и в нестандартной ситуациях. Это задания в открытой форме, требующие поэтапного решения и развернутого ответа, в т.ч. задания на индивидуальное или коллективное выполнение проектов, на выполнение практических действий или лабораторных работ. Комплексные практические задания применяются для оценки владений.

Типы практических контрольных заданий:

- задания на установление правильной последовательности, взаимосвязанности действий, выяснения влияния различных факторов на результаты выполнения задания;*
- установление последовательности (описать алгоритм выполнения действия),*
- нахождение ошибок в последовательности (определить правильный вариант последовательности действий);*
- указать возможное влияние факторов на последствия реализации умения и т.д.*
- задания на принятие решения в нестандартной ситуации (ситуации выбора, многоальтернативности решений, проблемной ситуации);*
- задания на оценку последствий принятых решений;*
- задания на оценку эффективности выполнения действия*
- т.п.*

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования): Примерный список вопросов для проведения текущей и промежуточной аттестации (темы для докладов, рефератов, презентаций и др.)

- Кольцевые молекулы ДНК и понятие о сверхспирализации ДНК. Параметры сверхспирализованной ДНК и конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. Топоизомеры ДНК. Топоизомеразы и их типы. Механизм действия топоизомераз.
- Сплайсинг и его роль в определении специфичности функционирования мРНК в цитоплазме. «Контроль качества» пре-мРНК в ядре. Сопряжение транскрипции, сплайсинга и транспорта РНК из ядра в цитоплазму. Транс-сплайсинг, его распространение. «Самосплайсинг».
- История доказательства генетической функции ДНК. Опыты Эвери, Херши и Чейз.
- Комплементарные пары оснований Уотсона-Крика. Физические свойства молекулы ДНК.

- Конформационные формы ДНК А, В и Z, их физические параметры.
- Внешние сигналы (митогенные факторы, гормоны), регулирующие транскрипцию генов. Примеры систем передачи сигналов. Комбинаторика факторов транскрипции, воспринимающих сигналы.
- Неканоническая Н-форма ДНК. Денатурация и ренатурация ДНК. Нуклеотидные последовательности ДНК, определяющие ее конформацию, гибкость и жесткость молекулы ДНК. Комплементарные пары оснований Уотсона-Крика и Хугстина. Триплексы.
- Химические модификации гистонов нуклеосом. Взаимосвязь отдельных модификаций и их обратимость. Понятие о «гистоновом коде». Активный и неактивный хроматин. Механизмы репрессии генов, обусловленные деацетилированием и метилированием гистонов.
- Особенности регуляции репликации плазмид. Двунправленная репликация и репликация по типу катящегося кольца.
- АТФ-зависимое «ремоделирование» хроматина. Понятия о трансляционном и ротационном расположениях нуклеосом на ДНК. Химические модификации гистонов.
- Связь модификаций гистонов с метилированием ДНК.
- Вилка репликации, «ведущая» и «отстающая» нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Координация синтеза ДНК на комплементарных нитях. Комплекс белков в репликационной вилке.
- Классификация типов репарации. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина. Вырезание оснований. Гликозилазы. Урацилгликозилаза.
- «Внеспиральное узнавание» оснований ферментами репарации.
- Полимеразы, участвующие в репликации, характеристика их ферментативных активностей. Точность воспроизведения ДНК. Полимеразы I, II и III *E. coli*. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз. Полимеразы («мутазы»), обеспечивающие неточное воспроизведение ДНК.
- Репликативные ДНК-полимеразы. Праймаза-ДНК-полимераза. Фрагменты Оказаки и особенности их «процессинга». Репликоны эукариот, изменчивость их размеров. Понятие о стационарных «репликативных фабриках». Старты репликации (*ori*) у дрожжей, их структурно-функциональная организация. Изменчивость сайтов *ori* у многоклеточных эукариот.
- Посттрансляционные химические модификации белков при транскрипции, репликации, репарации и их роль в регуляции этих процессов/
- Транскрипционные факторы как морфогены в развитии многоклеточных организмов. Понятие о позиционной информации. Механизмы возникновения пространственно ограниченных морфогенетических градиентов факторов транскрипции. Особенности структуры промоторов генов, ответственных за сегментную экспрессию белков-морфогенов в развитии дрозофилы.
- РНК-полимераза прокариот, ее субъединичная и трёхмерная структуры. Разнообразие сигма-факторов. Сигма-54 и особенности регуляции гена глутаминсинтазы.
- Регуляция инициации репликации у *E. coli*. Структура участка старта репликации (*origin, ori*). Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Репликатор. Понятие о репликоне. Роль метилирования ДНК в регуляции репликации. Терминация репликации у бактерий. Расхождение *ori* хромосом перед делением бактериальной клетки.
- Роль сигнальных путей в регуляции транскрипции и сплайсинга
- ДНК-транспозоны и механизмы их перемещений.

- Молекулярные механизмы, координирующие клеточный цикл и репликацию ДНК.
- Понятие о «сверточных точках» (checkpoints). Циклины и протеинкиназы. Протоонкогены, участвующие в регуляции клеточного цикла. «Расписание репликации» участков хромосомы в клеточном цикле.
- Проблема репликации линейного незамкнутого фрагмента ДНК. Теломера и теломерные повторы. Теломераза, ее РНК-компонента. Теория старения в связи с динамикой структуры теломеры. Регуляция длины теломеры. Структура ДНК (теломерная петля) и специфические белки в районе теломерных последовательностей.
- Промотор генов прокариот, его структурные элементы. Стадии транскрипционного цикла. Инициация, образование «открытого комплекса», элонгация и терминация транскрипции. Сверхспирализация и транскрипция.
- Репарация двунитевых разрывов: гомологичная пострепликативная рекомбинация и объединение негомологичных концов молекулы ДНК. Сигналы, обеспечивающие репарацию двунитевых разрывов и задержку репликации ДНК до завершения репарации. Комплекс MRN и киназа АТМ.
- Аттенюация транскрипции. Регуляция экспрессии триптофанового оперона. «Рибопереклюватели». Механизмы терминации транскрипции. Полярные мутации.
- Вырезание (эксцизия) 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.
- Репликативный механизм транспозиций. Резольваза и ее функции при репликативной транспозиции. Роль сверхспирализации при транспозиции. Регуляция транспозиций Tn10.
- SOS-репарация. Свойства ДНК-полимераз, участвующих в SOS-репарации (ДНК-мутазы) у про- и эукариот. Роль RecA белка. Представление об «активных мутациях» у бактерий.
- Болезни, обусловленные дефектами разных систем репарации. РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие разных полимераз в транскрипции разных клеточных РНК.
- Особенности структуры промоторов генов, транскрибируемых с помощью РНК-полимераз I и III.
- IS-последовательности бактерий, их структура. IS- последовательности как компонента F-фактора бактерий, определяющего способность передачи генетического материала при конъюгации. Транспозоны бактерий (Tn3, и Tn10). Прямой нерепликативный механизм транспозиций.
- Негативная и позитивная регуляция транскрипции у прокариот. 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.
- Двухкомпонентная система ДНК-транспозонов: автономный и дефектный транспозоны. Транспозоны кукурузы и 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.
- Редактирование РНК. Типы редактирования. Инсерции уридилловых остатков, дезаминирование урацила и аденина. Редактирование двухцепочечных участков РНК.

- Редактирование и регуляция сплайсинга.
- 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.
- Кеппирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых полимеразой II. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Транс-сплайсинг.
- Рекомбинация у эукариот. Инициация рекомбинации. Ферменты рекомбинации у эукариот. Ортологи RecA белка. Синаптонемный комплекс. Генная конверсия, асимметричность генной конверсии. Лocus спаривания у дрожжей, переключение типов спаривания.
- Регуляция транскрипции полимеразой II. Понятие о цис- и транс-регуляции транскрипции. «Модули» промоторов полимеразы II у эукариот. Базальная транскрипция и ее факторы. TBP и TAF факторы. Узнавание ДНК фактором TBP. Медиатор. Ковалентная модификация факторов транскрипции. Фосфорилирование субъединицы РНК-полимеразы II и элонгация транскрипции.
- Расшифровка генетического кода. Основные свойства генетического кода. Особенности кодового словаря.
- Информационная РНК, ее структура и функциональные участки.
- Открытие тРНК. Их первичная, вторичная и третичная структура. Модифицированные нуклеотиды.
- Аминоацилирование тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы, их структура и механизм действия. Специфичность аминоацилирования.
- Рибосомы, их локализация в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Последовательное считывание мРНК рибосомами, полирибосомы.
- Энзимология общей рекомбинации у E. coli. RecBCD комплекс. RecA белок. Пресинаптическая нить, параметры ее молекулярной структуры. Обмен нитей ДНК при синапсисе. Особенности «миграции ветви». Ферменты, участвующие в миграции ветви и разрешении структуры Холлидея.
- Белки – активаторы транскрипции, их доменные структуры. Типы доменов, узнающих регуляторные цис-действующие элементы. Комбинаторный принцип в регуляции транскрипции. Коактиваторы и корепрессоры. Энхансеры и энхансеосома. Принцип «дальнодействия» в регуляции транскрипции. Инсуляторы.
- Вилка репликации, «ведущая» и «отстающая» нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Координация синтеза ДНК на комплементарных нитях. Комплекс белков в репликационной вилке.
- Ядерные рецепторы гормонов, их домены, особенности «узнавания» ими регуляторных последовательностей ДНК. Глюкокортикоидный и тиреоидный рецепторы, рецептор ретиноевой кислоты и ее метаболитов. Гетеродимеры рецепторов, ответственных за разнообразие физиологических эффектов, индуцированных гормонами. Рецепторы-сироты. Интеграция воздействий стероидных гормонов и митогенных факторов.
- Модификация гистонов как сигнал для метилирования ДНК. Механизмы инактивации генов при метилировании ДНК. Репликативное метилирование ДНК. Дезаминирование 5-метилцитозина и мутации. ДНК-метилтрансферазы эукариот.
- Процессинг тРНК и рРНК у про- и эукариот. РНКазы Р как рибозим при процессинге предшественников тРНК.
- Центральная догма молекулярной биологии. Общая схема биосинтеза белка, роль РНК в этом процессе. Общие принципы структуры РНК.

ПРОГРАММА экзамена по спецкурсу «Современные проблемы по специальности молекулярная биология»

Раздел I. Молекула ДНК, процессы репликации, рекомбинации, репарации, транскрипции, регуляция экспрессии генов. Последние достижения.

1. Молекула ДНК.

История доказательства генетической функции ДНК. Опыты Эвери, Херши и Чейз. Физические свойства молекулы ДНК. Конформационные формы ДНК А, В, и Z, их физические параметры. Денатурация и ренатурация ДНК. Нуклеотидные последовательности ДНК, определяющие конформацию ДНК, гибкость или жёсткость молекулы. Комплементарные пары оснований Уотсона-Крика и Хугстина. Триплексы и параллельная ДНК. Кольцевые молекулы ДНК и понятие о сверхспирализации ДНК. Параметры сверхспирализованной молекулы ДНК и конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. ДНК топоизомеры. I и II типов. Механизмы действия топоизомераз. ДНК-гираза бактерий.

2. Репликация ДНК у бактерий.

Доказательство полуконсервативного характера репликации ДНК. Полимеразы, участвующие в репликации, характеристика их ферментативных активностей. Точность воспроизведения ДНК. Роль стерических взаимодействий между парами оснований ДНК при репликации. Полимеразы I, II и III *E.coli*. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз. Полимеразы ("мутазы"), обеспечивающие неточное воспроизведение ДНК. Вилка репликации, "ведущая" и "отстающая" нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Координация 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. Двунправленная репликация.

3. Репликация ДНК у эукариот.

Репликативные ДНК-полимеразы. Праймаза-ДНК-полимераза. Фрагменты Оказаки и особенности их "процессинга". Автономно-реплицирующиеся последовательности (ARS) и участки начала репликации (*ori*) у дрожжей, их структурно-функциональная организация. Белки ORC и MCM. Методы установления позиций участков начала репликации в геномах низших и высших эукариот. Особенности участков начала репликации ДНК высших эукариот. Методические подходы, используемые для функционального анализа участков начала репликации. Основные этапы инициации репликации у высших эукариот. Молекулярные механизмы, препятствующие новой инициации репликации до завершения клеточного цикла. Репликация концевых участков линейных хромосом. Теломера, теломераза и комплексы белков, регулирующих активность теломеразы.

4. Репликация ДНК и клеточный цикл.

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

5. Репликоны и «расписание репликации» отдельных участков генома по ходу клеточного цикла.

Понятие о репликонах. Доказательство одновременной инициации ДНК в нескольких местах эукариотической хромосомы. Размер репликонов, скорость движения репликативных вилок. Симметричные и асимметричные репликоны. Методы изучения организации индивидуальных

областей генома в репликоны. Изменение размера репликонов в ответ на изменение условий культивирования клеток. Кластеры репликонов и репликативные фабрики. Ранние и поздние репликоны. Методы определения времени репликации индивидуальных генов по ходу S-фазы. Корреляция между временем репликации различных участков генома и транскрипционной активностью генов.

6. Репарация ДНК.

Классификация типов репарации. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина. Вырезание оснований. Гликозилазы. Урацилгликозилаза. “Внеспиральное узнавание” оснований ферментами репарации. Вырезание (эксцизия) поврежденных нуклеотидов. Ферменты, осуществляющие эксцизионную репарацию у прокариот и эукариот. Механизм репарации, направленный на исправление активно транскрибируемых генов. Механизм репарации неспаренных нуклеотидов (mismatch репарация). Выбор репарируемой нити ДНК. SOS-репарация. Свойства ДНК полимераз, участвующих в SOS-репарации (ДНК-мутазы) у прокариот и эукариот. Репарация двухнитевых разрывов: гомологичная пострепликативная рекомбинация и объединение нехомологичных концов молекулы ДНК. Сигналы, обеспечивающие репарацию двухнитевых разрывов и задержку репликации ДНК до завершения репарации. Болезни, обусловленные дефектами разных систем репарации.

7. Общая, или гомологичная рекомбинация.

Двухнитевые разрывы ДНК, инициирующие рекомбинацию. Роль рекомбинации в пострепликативной репарации двухнитевых разрывов. Структура Холлидея в модели рекомбинации. Миграция ветви, гетеродуплексы, “разрешение” структуры Холлидея. Энзимология рекомбинации у *E. coli*. RecBCD комплекс. RecA белок. Пресинаптическая нить, параметры ее молекулярной структуры. Обмен нитями 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. Рекомбинация у эукариот. Ферменты рекомбинации у эукариот. Ортологи RecA белка. Синаптономный комплекс. Генная конверсия, асимметричность генной конверсии. Локус спаривания у дрожжей, переключение типов спаривания.

8. 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.

9. Структура генома высших эукариот.

Кинетика ренатурации прокариотической и эукариотической ДНК. Определение размеров генома с использованием анализа кинетики ренатурации. Уникальные и повторяющиеся последовательности. Основные классы повторяющихся последовательностей в геномах позвоночных животных.

10. ДНК-транспозоны в геномах прокариот и эукариот.

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. Роль сверхспирализации при транспозиции. Регуляция транспозиций Tn10. ДНК-транспозоны у эукариот. Двухкомпонентная система ДНК-транспозонов: автономный и

дефектный транспозоны. Представление о горизонтальном переносе транспозонов и их роли в структурных перестройках (эктопическая рекомбинация) и в эволюции генома.

11. Подвижные элементы, перемещающиеся с помощью обратной транскрипции (ретроэлементы).

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 дрожифилы. Подвижные интроны дрожжей.

12. Транскрипция у прокариот.

РНК-полимераза прокариот, ее субъединичная и трехмерная структуры. Разнообразие сигма-факторов. Промотор генов прокариот, его структурные элементы. Стадии транскрипционного цикла. Инициация, образование “открытого комплекса”, элонгация и терминация транскрипции. Сверхспирализация и транскрипция. Атенуация транскрипции. Лактозный оперон. Репрессор и индуктор, модель Жакоба и Моно. Регуляция экспрессии триптофанового оперона. “Рибопереключатели”. Механизмы терминация транскрипции. Полярные мутации. Негативная и позитивная регуляция транскрипции. Принципы узнавания ДНК регуляторными белками (CAP-белок и репрессор фага лямбда). Принципы аутогенной регуляции и кооперативности на примере регуляции экспрессии репрессора фага лямбда.

13. Транскрипция у эукариот.

РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие разных полимераз в транскрипции разных клеточных РНК. Регуляция транскрипции полимеразой II. Понятие о цис- и транс-регуляции транскрипции. “Модули” промоторов полимеразы II у эукариот. Общие факторы транскрипции, этапы сборки преинициаторного комплекса. TBP и TAF факторы. Узнавание ДНК фактором TBP. Медиатор. Фосфорилирование субъединицы РНК-полимеразы II и элонгация транскрипции. Белки - активаторы транскрипции, их доменные структуры. Типы доменов, узнающих регуляторные цис-действующие элементы. Комбинаторный принцип в регуляции транскрипции. Коактиваторы и корепрессоры. Энхансеры и энхансеосома. Принцип “дальнодействия” в регуляции транскрипции. Модели, объясняющие механизм действия энхансеров. Области контроля локуса, инсуляторы. Домен бета-глобиновых генов человека как модель для изучения механизмов, контролирующей транскрипцию эукариотических генов. Полимеразы I и III. Особенности структуры промоторов генов, транскрибируемых с помощью этих полимераз.

14. Регуляция транскрипции в развитии эукариот.

Гомеодомены регуляторных белков и явление гомеозиса. Комбинаторные механизмы, обеспечивающие специфичность взаимодействий гомеодоменов с регуляторными модулями ДНК. Гены-мишени гомеодоменных белков. Принципы структурной организации и регуляции активности генов НОХ-кластеров, определяющих план строения тела. Транскрипционные факторы как морфогены в развитии многоклеточных организмов. Понятие о позиционной информации. Механизмы возникновения пространственно ограниченных морфогенетических градиентов факторов транскрипции. Особенности структуры промоторов генов, ответственных за сегментную экспрессию белков-морфогенов в развитии дрозофилы.

15. Гормональная регуляция и сигнальные системы, регулирующие экспрессию генов.

Внешние сигналы (митогенные факторы, гормоны), регулирующие транскрипцию генов. Примеры систем передачи сигналов. Ядерные рецепторы гормонов, их домены, особенности “узнавания” ими регуляторных последовательностей ДНК. Глюкокортикоидный и тиреоидный

рецепторы, рецептор эрдистерона, ретиноевой кислоты и ее метаболитов. Гетеродимеры рецепторов, ответственных за разнообразие физиологических эффектов, индуцированных гормонами.

16. Процессинг РНК.

Кепирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых полимеразой II. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Альтернативный сплайсинг, примеры. Энхансеры сплайсинга. Биологическая роль альтернативного сплайсинга, примеры. “Контроль качества” пре-мРНК в ядре. Сопряжение транскрипции, сплайсинга и транспорта РНК из ядра в цитоплазму. Ядерные поры. Транс-сплайсинг, его распространение. “Самосплайсинг”. 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 двухцепочечных участков РНК. Редактирование и регуляция сплайсинга.

Раздел 2. Биосинтез белка.

17. Принцип комплементарности в структуре ДНК, ее редупликации и ее транскрипции.

История расшифровки генетического кода. Основные свойства кода: триплетность, код без запятых, вырожденность. Особенности кодового словаря, семьи кодонов, смысловые и «бессмысленные» кодоны. Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые не кодирующие РНК. Современный мир РНК.

18. 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. Принцип комплементарности и отклонения от него. «Дефекты» коротких двойных спиралей и отклонения от двуспиральной структуры. «Тетралупы». Псевдоузлы. Тройные взаимодействия. Третичная структура: компактное сворачивание полирибонуклеотидной цепи, дальние комплементарные взаимодействия, спираль-спиральные взаимодействия, формирование крупных доменов. Транспептидация. Транслокация. Элонгация. Терминация.

19. Маскирование – демаскирование мРНК в процессах оогенеза, сперматогенеза и клеточной дифференцировка.

Маскирование мРНК, ее особенности. Маскированные рибонуклеопротеидные частицы (информосомы). Основные белки информосом и их роль в переходах из маскированного состояния в активное и обратно. Маскирование мРНК в оогенезе *Spisula solidissima* и ее демаскирование после оплодотворения. Маскирование *fem-3* мРНК *Caenorhabditis elegans* при переходе из личиночной стадии самца во взрослую стадию самки (смена сперматогенеза на оогенез). Маскирование и демаскирование мРНК в оогенезе и раннем эмбриогенезе лягушки и дрозофилы; роль белков, контролирующих полиаденилирование и блокирующих инициацию трансляции. Маскирование и демаскирование мРНК липоксигеназы в процессе эритропоэза млекопитающих. Маскирование и демаскирование мРНК антериоральных (*bicoid*, *hunchback*) и постериоральных (*nanos*) детерминант яйца дрозофилы в оогенезе и после оплодотворения: демаскирование *nanos* мРНК путем «заякоривания» в заднем отделе яйца и установление задне-переднего градиента Nos-белка, являющегося маскирующим белком *hunchback* мРНК. Возможная роль циркуляризации мРНК и конденсации мРНК (информосом) в маскировании. Конденсация и олигомеризация мРНК (информосом) как заключительная фаза маскирования.

Раздел 3. Структура и функции белков.

20. Биологические функции белков и пептидов.

История изучения химии белка. Представления о белках как о биополимерах. Общие свойства белков и принципы их организации. Основные функции белков. Принципы классификации белков, их разнообразие. Белки, включающие небелковые компоненты: металлопротеиды, хромопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды. Уровни структурной организации белковой молекулы.

21. Аминокислоты как строительные блоки белковой молекулы.

Классификация, строение и физико-химические свойства аминокислот. Биохимические методы определения аминокислот и белков. Принципы выделения и очистки белков. Доказательства индивидуальности белка. Микрорегетерогенность белка.

22. Методы исследования структуры белков.

Методы определения аминокислотного состава и первичной структуры белков. Масс-спектрометрия белков. Принципы метода, подготовка образцов к анализу. Реакции химической модификации функциональных групп аминокислот. Методы специфической и неспецифической фрагментации полипептидной цепи - химические и ферментативные. Области применения метода. Разделение пептидов, получаемых при расщеплении белков. Определение N-концевых аминокислот. Метод Сэнгера. Определение C-концевых аминокислот и последовательностей. Автоматическое секвенирование белков по Эдману. Локализация дисульфидных связей в белках. Пептидное картирование; идентификация белков сравнением результатов масс-спектрометрии и баз данных. Методы изучения молекулярных комплексов. Методы и задачи протеомики.

23. Пептидная связь.

История изучения пептидной связи. Химическое строение пептидной связи. Цис-транс-изомерия. Регулярная и нерегулярная структура белка.

24. Вторичная структура белка.

Роль водородных связей в формировании 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. Петли, их локализация на поверхности белков. β -шпилька как элемент вторичной структуры белков. Топологические диаграммы.

25. 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. Биологические функции структурных модулей. Домены, их формирование и значение.

26. 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.

27. Четвертичная структура белка.

Стехиометрия и геометрия четвертичной структуры. Взаимодействия между субъединицами, стабилизирующие четвертичную структуру. Структурная организация контактов между субъединицами. Методы исследования четвертичной структуры. Биологическое значение четвертичной структуры. Основные классы белков. α -Спиральные белки. Взаимодействие между двумя α -спиралями. Суперспираль - способ упаковки составляющих спиралей. Гептады аминокислот. Лейциновые "молнии". Формирование олигомеризационного домена из 4х α -спиралей. Семейства альфа-спиральных белков: глобины, цитохромы, циклины, аннексины. Гистоны и строение нуклеосомы. Глобины. Миоглобин. Гемоглобин. Связывание кислорода миоглобином и важная роль третичной структуры в этом процессе. Функциональная роль четвертичной структуры гемоглобина. Аллостерическая регуляция функции гемоглобина. Аномальные и фетальные гемоглобины. Мультигенное семейство глобинов. 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. Расположение α -спиралей в открытых изогнутых α/β -слоях. НАД-связывающий домен. β -Структурные белки. Антипараллельные β -тяжи как основной структурный элемент β -белков. Типы образуемых доменов. Белки, связывающие гидрофобные лиганды.

28. 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. λ -Репрессор и σ -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.

29. Транскрипционные факторы эукариот.

Особенности строения генома эукариот и связанные с этим особенности строения и функционирования регуляторов транскрипции. Активация хроматина, модификации гистонов. Бромодомены. Узнавание ДНК эукариотическими факторами транскрипции. Структура ТАТА-бокс-связывающего белка, его взаимодействие с ДНК. Гомеодоменные белки, формирование гетеродимеров. Белок p53 - его функциональная роль, структура и взаимодействие с ДНК. HMG- белки, их роль в регуляции работы РНК- полимераз. Специфические транскрипционные факторы эукариот. Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых "пальцев" 1-го класса: структура, специфичность взаимодействия с ДНК. Zif 268. Глюкокортикоидные рецепторы, рецепторы стероидных гормонов, димеризация и связывание с ДНК. Ретиноид X-рецепторы. Транскрипционные факторы с бинуклеарными цинковыми кластерами. Строение GAL4. Димеризация транскрипционных факторов с участием "лекционных молний". Взаимодействие с ДНК и строение GCN4, MyoD, Max. Трансактивационные домены. Формирование гомо- и гетеродимеров, взаимодействие с факторами модификации хроматина.