

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Биологический факультет

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета,

академик

 М.Е. Кирпичников/
«_____» 20__ г.

ВРЕМЕННАЯ ПРОГРАММА-МИНИМУМ

кандидатского экзамена по специальности

1.5.3. молекулярная биология

Кафедра молекулярной биологии биологического факультета МГУ

Шифр и наименование области науки 1.5. Биологические науки

Наименование отраслей науки, по которым присуждаются ученые степени:

Биологические науки

Рабочая программа рассмотрена и одобрена
Ученым советом факультета
(протокол № 4 от 31 марта 2022 г.)

Москва 2022

I. Описание программы:

Настоящая программа охватывает основополагающие разделы и области знания молекулярной биологии, в основе данной программы лежат следующие дисциплины: общая биохимия, молекулярная биология, клеточная биология, генетика, физическая химия.

II. Основные разделы и вопросы к экзамену:

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

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. Комплементарные пары оснований Уотсона-Крика и Хугстина. Триплексы и параллельная ДНК. Понятие о сверхспирализации ДНК. Параметры сверхспирализованной молекулы ДНК и конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. ДНК топоизомеразы.

2. Репликация ДНК у бактерий.

Доказательство полуконсервативного характера репликации ДНК. Двунравленная репликация. Полимеразы I, II и III *E.coli*. Полимеразы, участвующие в репликации, характеристика их ферментативных активностей. Точность воспроизведения ДНК. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз. Вилка репликации, "ведущая" и "отстающая" нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Комплекс белков в репликационной вилке. Инициация репликации ДНК у *E.coli*. Структура участка начала репликации (*origin*, *ori*). Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Полимеразы ("мутазы"), обеспечивающие неточное воспроизведение ДНК.

3. Репликация ДНК у эукариот.

Репликативные ДНК-полимеразы. Комплекс белков в репликационной вилке. Особенности "процессинга" фрагментов Оказаки у эукариот. Автономно-реплицирующиеся последовательности (ARS) и участки начала репликации (*ori*) у дрожжей. Белки ORC и MCM. Методы установления позиций участков начала репликации в геномах низших и высших эукариот. Особенности участков начала репликации ДНК высших эукариот. Основные этапы инициации репликации ДНК 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.

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. Методы изучения организации индивидуальных областей генома в репликоны. Пространственная организация репликонов (фокусы репликации). Ранние и поздние репликоны. Методы определения времени репликации индивидуальных генов по ходу S-фазы. Механизмы, контролируемые время репликации.

4. Репликация ДНК и клеточный цикл.

Молекулярные механизмы, координирующие клеточный цикл и репликацию ДНК. Понятие о «сверточных точках» (checkpoints). Циклины и протеинкиназы. Значение контролируемой убиквитинилированием деградации белков в процессе выхода клеток из митоза. Механизмы упаковки ДНК при подготовке к делению клетки. Когезины и конденсины в расхождении и упаковке хромосом.

6. Репарация ДНК.

Типы повреждений ДНК и стратегии их репарации. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина. Вырезание оснований. Гликозилазы. 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 соединение негомологичных 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. Эпизимология рекомбинации у *E.coli*. RecBCD комплекс. RecA белок. 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. 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. Геномное редактирование с использованием ферментов сайт-специфичской рекомбинации.

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. Современная геномика. Методы секвенирования и анализа геномов.

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. 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. Различные механизмы перемещения элементов с длинными концевыми повторами (ретротранспозонов и ретровирусов) и LINE-элементов. Ту элементы в геноме дрожжей. SINE элементы в геномах позвоночных животных. Специфика распределения LINE и SINE элементов между активными и неактивными областями генома. Ретротранспозоны и эволюция геномов. Ретрогены, или “процессированные гены” и псевдогены. LINE элементы теломер в геноме дрозофилы.

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. Паузирование работы РНК полимеразы и механизмы выхода из паузы. Сверхспирализация и транскрипция. Аттenuация транскрипции. Лактозный оперон. Репрессор и индуктор, модель Жакоба и Моно. Регуляция работы анаболических оперонов. “Рибопереключатели”. Негативная и позитивная регуляция транскрипции.

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. Особенности промоторов генов «домашнего хозяйства» и тканеспецифичных генов. CpG островки и расположенные в CpG островках промоторы. Общие факторы транскрипции, этапы сборки преинициаторного комплекса. TBP и TAF факторы. Узнавание ДНК фактором TBP. Медиатор. Фосфорилирование субъединицы РНК-полимеразы II и элонгация транскрипции. Регуляция транскрипции на стадии освобождения промотора (перехода к элонгации). Паузированные промоторы. Белки - активаторы и репрессоры транскрипции, их доменные структуры. ДНК-связывающий и эффекторный домены. Типы доменов, узнающих регуляторные цис-действующие элементы. Комбинаторный принцип в регуляции транскрипции. Коактиваторы и корепрессоры. Энхансеры. Модели, объясняющие механизм действия энхансеров. Суперэнхансеры. Сборка активаторного компартмента на энхансерах и суперэнхансерах посредством физико-химического процесса разделения жидких фаз. Установление пространственных контактов между энхансерами и промоторами. Домен бета-глобиновых генов человека как модель для изучения механизмов, контролирующих транскрипцию эукариотических генов. Полимеразы I и III. Особенности структуры промоторов генов, транскрибируемых с помощью этих полимераз. Транскриптом, методы анализа транскриптомов.

14. Регуляция транскрипции в развитии эукариот.

Гомеодомены регуляторных белков и явление гомейозиса. 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 экистерона, ретиноевой кислоты и ее метаболитов. Гете-

родимеры рецепторов, ответственных за разнообразие физиологических эффектов, индуцированных гормонами.

16. Структура хроматина.

Нуклеосома как единица структурной организации хроматина. Октамер гистонов в составе нуклеосомы. Вариантные формы гистонов. Линкер и линкерные гистоны. Расположение нуклеосом на молекуле ДНК, «фэйзинг» и «спейсинг». Последовательности ДНК, определяющие предпочтительную посадку нуклеосом. Предсказание наиболее вероятных позиций посадки нуклеосом на ДНК. Участки гиперчувствительности к ДНКазе I. Перемещение нуклеосом вдоль молекулы ДНК. АТР-зависимое "ремоделирование" хроматина. Молекулярные машины ремоделирования. Роль гистона H1 и взаимодействий между соседними нуклеосомами. Сборка нуклеосом при репликации ДНК. Переносчики гистонов. Не зависящая от репликации сборка нуклеосом. Замена обычных гистонов на варианты формы. Наднуклеосомные уровни организации хроматиновой фибриллы. Топологически-ассоциированные домены хроматина (ТАДы). Механизмы формирования ТАДов. Пространственная сегрегация активного и неактивного хроматиновых компартментов.

17. Хроматин и регуляция активности генов.

Химические модификации гистонов: ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинилирование и ADP-рибозилирование. Понятие о "гистоновом коде". Цветовая кодировка доменов хроматина. Активный хроматин. Роль ацетилирования гистонов в контроле компактизации хроматина. Предпочтительная чувствительностей активных доменов генома к обработке ДНКазой I. Способы выделения активного хроматина. Особенности нуклеосом в транскрипционно-активной фракции хроматина. Роль подвижности нуклеосомных частиц в обеспечении доступности ДНК для транскрипционной машины и регуляторных белков. Транскрипция «через нуклеосомы». Роль диссоциации димеров H2A-H2B. Роль белкового комплекса FACT в осуществлении транскрипции через нуклеосомы. Характерные для активного хроматина модификации гистонов. Вариантные формы гистонов, предпочтительно представленные в активном хроматине. Механизм гиперактивации X-хромосомы дрозофилы при посредстве комплекса MSL. Неактивный хроматин. Различные механизмы создания неактивных хроматиновых доменов. Роль метилирования ДНК и деацетилирования гистонов в инактивации генов. Характерные для неактивного хроматина модификации гистонов. Вариантные формы гистонов, предпочтительно представленные в неактивном хроматине. Роль белков HP1 и Polycomb в создании неактивного хроматина. Факультативный и конститутивный гетерохроматин. Распространение конститутивного гетерохроматина по хромосоме. Механизм инактивации X хромосомы у млекопитающих. Роль Xist РНК. Некодирующая РНК как структурный компонент хроматина. Доменная организация эукариотического генома. Инсуляторы и их роль в разграничении функциональных доменов генома. Топологически-ассоциированные домены хроматина, как струк-

турно-функциональные домены хромосомы.

18. Механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов.

Роль метилирования ДНК и модификаций гистонов в эпигенетической регуляции работы генов. Механизмы инактивации генов при метилировании ДНК. Репликативное (поддерживающее) метилирование ДНК. Деаминарование 5-метилцитозина и мутации. ДНК-метилтрансферазы эукариот. Механизмы удаления из генома 5-метилцитозина и метилирования *de novo*. Метилазы и деметилазы гистонов. Восстановление профилей эпигенетических модификаций гистонов после репликации генома. "Родительский" геномный импринтинг как эпигенетическая регуляция экспрессии генов.

19. Пространственная организация хромосом в ядре и структурно-функциональная компартиментализация клеточного ядра.

Хромосомные территории и интерхроматиновый домен. Особенности расположения в ядре богатых и бедных генами хромосом. Понятие об активных и неактивных доменах в ядре. Роль блоков конститутивного гетерохроматина и ядерной ламины в инактивации генов. Функциональная компартиментализация клеточного ядра. Ядрышко, как трехкомпонентный жидкофазный конденсат. Ядерные компартменты, содержащие факторы сплайсинга («спеклы»), тельца Кахаля, транскрипционные фабрики. Формирование функциональных ядерных компартментов посредством разделения жидких фаз. Архитектурные РНК их роль в инициации сборки ядерных компартментов.

20. Регуляция экспрессии генов посредством некодирующих РНК.

Система РНК-интерференции. Малые интерферирующие РНК и микро РНК. Индексированный посредством РНК интерференции сайленсинг генов. Роль РНК-интерференции в иницировании сборки гетерохроматиновых доменов. Роль энхансерных и промоторных РНК в формировании жидкофазных компартментов на энхансерах и промоторах и установлении коммуникации между энхансерами и промоторами. Привлечение репрессорных комплексов к определенным местам генома посредством некодирующих РНК. Роль некодирующих РНК в установлении геномного импринтинга.

21. Процессинг РНК.

Кепирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых полимеразой II. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсо-сома. 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.

Часть II. Рибосомы и биосинтез белков

1. Центральная догма молекулярной биологии Принцип комплементарности в структуре ДНК, ее редупликации и транскрипции. Центральная догма молекулярной биологии: поток генетической информации ДНК → РНК → белок.

2. Основные принципы структуры РНК.

Первичная структура. Модифицированные основания. Одноцепочечность. Вторичная структура: формирование коротких двойных спиралей. А-форма двойной спирали РНК. «Дефекты» двойных спиралей и отклонения от двуспиральной структуры. «Тетралупы». Псевдоузлы. Тройные взаимодействия. Третичная структура: компактное сворачивание полирибонуклеотидной цепи, дальние комплементарные взаимодействия, спираль-спиральные взаимодействия, рибозастёжки, роль магния. Формирование крупных доменов. Структура тРНК. Структура рибосомных РНК.

3. Функции РНК.

Генетические функции: репликация и обратная транскрипция, кодирование первичной структуры полипептидов. Пространственное структурообразование. Функции специфического узнавания и связывания лигандов. Каталитические функции.

4. Древний мир РНК и происхождение жизни.

Гипотеза А.И. Опарина о первичном возникновении белковых коацерватов. Абиотический синтез органических веществ. Гипотеза о первичном возникновении мира РНК. Гипотеза К. Вуза (С. Woese) о коммунальном универсальном предшественнике живых существ. Происхождение ДНК и возникновение биосинтеза белка на базе мира РНК.

5. Основные виды РНК. Генетический код.

Информационная (матричная) РНК, или мРНК. Основные свойства генетического кода: коллинеарность, триплетность, код без запятых, вырожденность, универсальность. Отклонения от универсальности генетического кода в митохондриях и у некоторых бактерий и простейших эукариот. Особенности кодового словаря, семья кодонов, смысловые и «бессмысленные» кодоны. Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые не кодирующие РНК. Современный мир РНК.

6. Структура рибосом.

Локализация рибосом в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы. Подразделение на субъединицы; диссоциация.

Рибосомные РНК. Рибосомные белки. Четвертичная структура рибосомных субъединиц.

Структурные превращения рибосомных субъединиц.

Рентгеноструктурный анализ рибосомных субчастиц и полных 70S рибосом.

7. Активация аминокислот и образование аминоацил-тРНК.

Химические реакции, приводящие к образованию пептидной связи в процессе биосинтеза белка. Активация аминокислоты в реакции с АТФ; образование аминоациладенилата. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Активные центры синтетаз и их специфичность. Принцип «реактивности половины центров» при функционировании синтетаз. Два класса аминоацил-тРНК-синтетаз, их структурные и функциональные различия. Участки взаимодействия молекул тРНК с аминоацил-тРНК-синтетазами; различия двух классов.

8. Эпцикл трансляции и рабочий элонгационный цикл.

Эпцикл трансляции: инициация, элонгация и терминация. Полирибосома. Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот. Рабочий элонгационный цикл рибосомы. Локализация функциональных центров рибосомы. А, Р и Е участки связывания тРНК.

9. Кодон-зависимое связывание аминоацил-тРНК в элонгационном цикле.

Адаптерная гипотеза Ф. Крика. Кодон-антикодонное взаимодействие. Характер вырожденности генетического кода как основная предпосылка гипотезы Ф. Крика о неоднозначном взаимодействии антикодона с кодоном (wobble-гипотеза). Физические предпосылки гипотезы. Таблица взаимодействий первого положения антикодона. Роль фактора элонгации EF1 (EF-Tu) в связывании аминоацил-тРНК с рибосомой. Фактор элонгации EF1B (EF-Ts), его функция, последовательность реакций с его участием. Антибиотики, действующие на этапе кодон-зависимого связывания аминоацил-тРНК с рибосомой: аминогликозидные антибиотики, тетрациклины. Механизмы устойчивости к тетрациклинам. Ложное кодирование и сдвиги рамки считывания. Кинетические основы ложного кодирования. Кинетическая коррекция («редактирование») ложного кодирования. Особенности кодирования и включения селеноцистеина в полипептидную цепь белка в процессе элонгации.

10. Транспептидация.

Химия реакции. Пептидил-трансферазный центр большой рибосомной субчастицы; рибозимный катализ. Тетраэдрический интермедиат реакции транспептидации, стереохимия его образования и распада. Антибиотики - ингибиторы транспептидации. Механизм действия пурамицина.

11 Транслокация.

Определение транслокации, физические события транслокации, экспериментальные тесты. Участие фактора элонгации EF2 (EF-G) с ГТФ. Доменная структура EF-G; особенности домена IV. «Молекулярная мимикрия» сходство EF-G с комплексом EF-Tu:Aa-tRNA. Зависимость конформационного катализа от ГТФ. Ингибиторы транслокации их механизмы действия.

12. Ошибки транслокации.

Проскальзывание по гомополимерному участку мРНК, соскальзывание на смежный триплет, «прыжок» через несколько нуклеотидов мРНК. Транслокационный сдвиг рамки.

«Прыжок» с домена тРНК на домен мРНК в случае тмРНК («транс-трансляция»).

Транслокация как проявление транспортной функции рибосомы. Крупноблочная подвижность рибосомы. Принцип смыкания – размыкания. Подвижность доменов малой субчастицы рибосомы при кодоп-зависимом связывании аминоксил-тРНК. Подвижность в большой субъединице и межсубъединичные сдвиги при связывании аминоксил-тРНК и транслокации.

13. Инициация трансляции.

Функциональное назначение инициации трансляции. Участники процесса инициации. Основные этапы процесса инициации. Инициация трансляции у прокариот: факторы инициации, инициаторные кодоны, последовательность Шайна- Дальгарно в мРНК; «сила» мРНК. Независимая инициация и трансляционное сопряжение (индуцированная инициация и скольжение-реинициация) на полицистронных мРНК прокариот. 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; 43S и 48S инициаторные комплексы рибосомы. Цикл инициаторных факторов eIF2-GDP/GTP и eIF2B. 3'-концевые усилители инициации трансляции у эукариот; роль полиаденилового «хвоста» мРНК; циркуляризация эукариотических полирибосом.

14. 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.

15. Регуляция трансляции у эукариот.

Особая роль регуляции на уровне трансляции у эукариот. Тотальная регуляция трансляции путем фосфорилирования фактора инициации eIF2. Регуляция инициации короткими рамками считывания, предшествующими основной кодирующей последовательности мРНК. Трансляционная репрессия индивидуальных мРНК. Регуляция трансляции с помощью микро-РНК: РНК-интерференция; механизм подавления трансляции через воздействие на 3'-нетранслируемую область.

16. Маскирование – демаскирование мРНК в процессах оогенеза, сперматогенеза и клеточной дифференцировки.

Маскирование мРНК, ее особенности. Маскированные рибонуклеопротеидные частицы (информосомы). Основные белки информосом и их роль в переходах из маскированного состояния в активное и обратно. Роль специальных последовательностей («маскирующих элементов») 3'-нетранслируемой области и их узнающего белка («маскирующего» белка). Маскирование мРНК в оогенезе *Spisula solidissima* и ее демаскирование после оплодотво-

рения и другие примеры регуляции трансляции маскированием-демаскированием. Наличие сигналов внутриклеточного транспорта и локализации в 3'-нетранслируемой области мРНК. Возможная роль циркуляризации мРНК и конденсации мРНК (информосом) в маскировании.

17. Регуляция скорости элонгации.

Время элонгации полипептидной цепи на рибосоме; экспериментальное определение «транзитного времени». Профиль распределения полирибосом как отражение соотношения скоростей инициации и элонгации. Неравномерность скорости элонгации; трансляционные паузы. Минорные синонимные тРНК и редкие кодоны; паузы на редких («модулирующих») кодонах мРНК. Структурные барьеры вдоль цепи мРНК как возможная причина трансляционных пауз. Ингибиторные аминокислотные последовательности растущих полипептидов.

18. 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. Фактор освобождения рибосом (RRF, RF4) прокариот.

19. Альтернативные пути новосинтезированного полипептида.

Котрансляционное сворачивание в компактную глобулу. Трансмембранная транслокация растущего пептида. Сигнальный пептид. Взаимодействие сигнал-узнающей частицы (SRP) с сигнальным пептидом, остановка трансляции, взаимодействие с сигнальным рецептором мембраны эндоплазматического ретикулума. Котрансляционное прохождение растущего пептида через канал.

Часть III. Физика белка. Структура и функция белков.

1. Белки: предварительный обзор.

Общее строение и основные функции белков. Первичная, вторичная, третичная, четвертичная структура белка. Глобулярные, фибриллярные и мембранные белки. Понятие о биосинтезе белка, о его сворачивании *in vivo* и *in vitro*. Пост-трансляционные модификации.

2. Элементарные взаимодействия в белках и вокруг них.

Стереохимия аминокислотных остатков. L- и D-аминокислотные остатки. Валентные связи и углы между ними. Вращение вокруг валентных связей (примеры). Пептидная группа. История изучения пептидной связи. Химическое строение пептидной связи. Транс- и цис-пролины. Ван-дер-Ваальсово взаимодействие: притяжение на больших расстояниях, оттал-

кивание на малых. Разрешенные конформации аминокислотного остатка (карты Рамачандрана для глицина, аланина, валина, пролина). Водородные связи. Их электрическая природа. Их энергия и геометрия в кристаллах. Разболтанность водородных связей в воде (как это показано на опыте?). Водородные связи в водном окружении имеют энтропийную природу. Гидрофобные взаимодействия (в чем их особенность проявляется на опыте?). Их связь с необходимостью насыщения водородных связей в воде. Гидрофобность и доступная воде неполярная поверхность. Гидрофобность аминокислот. Влияние окружения, в особенности водного, на электростатические взаимодействия. Электрическое поле у поверхности и внутри белка. Измерение электрических полей в белках при помощи белковой инженерии. Дисульфидные связи. Координационные связи. Энергия, энтропия, свободная энергия и химический потенциал. Связь температуры с изменением энергии и энтропии. Вероятности состояний с различной энергией и энтропией (распределение Больцмана-Гиббса). Конформационные превращения. Понятие о фазовом переходе первого рода (переходе "все-или-ничего") и о не-фазовых переходах. Кинетика преодоления свободно-энергетического барьера при конформационных превращениях. Понятие о теории абсолютных скоростей реакций. Влияние вязкости. Диффузия.

3. Вторичная структура полипептидных цепей.

Вторичная структура полипептидов. Спирали: 2₇, 3₁₀, α , poly(Pro) II. Антипараллельная и параллельная β -структура, β -изгибы. Методы экспериментального обнаружения вторичной структуры. Что такое "клубок"? Что такое "нативно-развернутые" белки?

Теорема Ландау и не-фазовость перехода спираль-клубок. Размер кооперативного участка при переходе спираль-клубок. Стабильность α -спирали и β -структуры в воде. Скорость образования β -структуры (шпильки и листы) и α -спиралей.

4. Пространственное строение белков.

Фибриллы, сложенные из глобул и «истинно» фибриллярные белки; функции и периодичные первичные и вторичные структуры последних; примеры. Упаковка длинных α -спиралей и обширных β -листов. Белки, образующие матрикс; эластин. Амилоиды. Прионы. Мембранные белки, особенности их строения и функции. Бактериородопсин, порин, фотосинтетический центр. Селективная проницаемость мембранных пор. Работа фотосинтетического центра. Понятие о туннельном эффекте. Глобулярные белки. Упрощенное представление структур белковых глобул; структурные классы. Аминокислотная последовательность определяет пространственную структуру, пространственная структура — функцию. Обратное — неверно. Строение β -белков: β -слои, их продольная и перпендикулярная укладка; β -призмы. Правопропеллерная скрученность β -листов. Примеры. Строение α -белков. Пучки и слои спиралей. Укладка α -спиралей вокруг квазишарового ядра.

Примеры. Плотная упаковка при контакте α -спиралей. Строение α/β -белков: параллельный β -слой, прикрытый α -спиралями (укладка Россмана) и α/β -цилиндр. Топология β - α - β субъединиц. Строение $\alpha+\beta$ белков. Примеры.

Классификация структур белков. Топологические диаграммы. “Стандартные” третичные структуры (примеры). Отсутствие прямой связи архитектуры белка с его функцией (примеры). Есть ли эволюция белковых структур? Дупликация гена и специализация. Биологические функции некоторых структурных модулей. Эволюция путем перемешивания доменов. Основные закономерности, наблюдаемые в структурах белковых глобул:

наличие отдельно α - и отдельно β -слоев; редкость перекрывания петель; редкость параллельности соседних по цепи структурных сегментов; редкость левых β - α - β суперспиралей. Физические причины этих феноменов. Связь частоты встречаемости разнообразных структурных элементов в нативных глобулярных белках с собственной свободной энергией этих элементов. Примеры.

5. Кооперативные переходы в белковых молекулах.

Кооперативные переходы. Обратимость денатурации белков. Денатурация глобулярного белка — переход типа “все-или-ничего”. Критерий Вант-Гоффа для перехода “все-или-ничего”. Тепловая и холодная денатурация, денатурация растворителем. Диаграмма фазовых состояний белковой молекулы. Как выглядит денатурированный белок? Клубок и расплавленная глобула. Почему денатурация глобулярного белка — переход типа “все-или-ничего”? Распад плотной упаковки ядра белка и раскрепощение боковых групп.

Самоорганизация белка *in vivo* и *in vitro*. Вспомогательные механизмы при самоорганизации *in vivo*: ко-трансляционное сворачивание, шапероны, и т.д. Спонтанная самоорганизация возможна *in vitro*. Понятие о “парадоксе Левинтала”. Опыты по сворачиванию белка *in vitro*. Обнаружение метастабильных (накапливающихся) интермедиатов сворачивания многих белков. Расплавленная глобула — обычно (но не обязательно) наблюдаемый интермедиат сворачивания белка в нативных условиях. Одностадийное сворачивание малых белков. Теория переходных состояний. Ядро сворачивания нативной структуры белка. Его экспериментальное обнаружение *in vitro* методами белковой инженерии. Решение “парадокса Левинтала”: к стабильной структуре цепи автоматически ведет сеть быстрых путей сворачивания. Оценка времени сворачивания белка.

6. Предсказание и дизайн белковых структур. Биоинформатика.

Опознавание сходства пространственных структур белков по сходству их аминокислотных последовательностей. Попытки предсказания *ab initio* и современные биоинформатические подходы к опознаванию пространственных структур белков их аминокислотным последовательностям.

Свойства аминокислотных остатков (примеры: аланин, глицин, пролин, валин). Неполлярные и полярные боковые группы. Заряженные боковые группы. Предпочтительные места

для включения тех или иных аминокислотных остатков во вторичную и в третичную структуру. Гидрофобные поверхности на вторичных структурах в белках. Белковая инженерия (с примерами) и дизайн (с примерами). Подтверждение теории переходного состояния в катализе методами белковой инженерии. Абзимы.

7. Физические основы функционирования белков.

Элементарные функции белков. Связывающие белки: ДНК-связывающие белки, иммуноглобины. Ферменты и катализ. Каталитический и субстрат-связывающий центры. Ингибирование. Кофакторы. Механизм ферментативного катализа (на примере сериновых протеаз). Переходные состояния и интермедиаты. Почему твердость белка важна для элементарной ферментативной функции? Сопряжение элементарных функций белка и гибкость его структуры. Индуцированное соответствие. Подвижность доменов белка. Доменная структура: киназы, дегидрогеназы. Когда белку нужна (и когда не нужна) гибкость? Аллостерическая регулировка функции белка. Гемоглобин и миоглобин. Понятие о механохимическом цикле. Пример: движение кинезина.

8. Посттрансляционные модификации белков.

Образование дисульфидных связей. Йодирование и сульфирование остатков тирозина. Образование остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты. N- и O- гликозилирование белков, особенности процессов. Кальнексин и кальретикулин. Гликопротеины. Особый тип белков - протеогликаны. Муцины. Физиологическое значение углеводного компонента. Углеводные сигналы сортировки белков. Белки- антифризы. Обратимое гликозилирование цитоплазматических белков. C-C гликозилирование. Фосфорилирование белков. АДФ-рибозилирование белков. Липопротеины. LDL-рецепторы. Пренилирование и миристилирование белков. Белки ядерной оболочки - ламины. Ограниченный протеолиз. Каскады фосфорилирования и протеолиза в клеточной сигнализации (примеры: хемотаксис, апоптоз). Формирование неканонической структуры - биосинтез инсулина. Разъединение белковых глобул в полибелках. Фосфатидилинозитолгликановые мостики для связывания мембранных белков. Клатрин-независимый эндоцитоз.

9. Белковый сплайсинг.

Механизм белкового сплайсинга. Процессы N-O- и N-S-ацильных перестроек, трансэтерификация. Образование пируватильных остатков в ферментах азотного обмена и другие процессы. Структура интенов. Биологическое значение белкового сплайсинга.

III. Критерии оценивания

Критерии и показатели оценивания ответа на экзамене			
1	2	3	4
Неудовлетворительно	Удовлетворительно	Хорошо	Отлично
Фрагментарные знания по всем заданным вопросам, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов молекулярной биологии.	Неполные знания по нескольким заданным вопросам, слабое ориентирование в материале, трудности в сопоставлении и анализе сведений из нескольких разделов молекулярной биологии.	Полные знания, но содержащие отдельные пробелы в областях биологии микроорганизмов, незначительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.	Исчерпывающие знания по всем заданным вопросам, свободное владение материалом, грамотные сопоставление и анализ сведений из различных тем по биологии микроорганизмов в широком смысле.

IV. Рекомендуемая основная литература:

1. А. С. Спири́н. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. Москва. Лаборатория знаний. 2019.
2. «Альбертс, Брей, Хопкин: Основы молекулярной биологии клетки. Лаборатория знаний, 2018.
3. Д Нельсон, М. Кокс. Основы биохимии Ленинджера, т. 3. Москва, БИНОМ Лаборатория знаний, 2015.
4. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. Курс лекций. — М: Книжный дом «Университет», 2014 или 2012.
5. Брюс Альбертс и соавт. Молекулярная биология клетки. Учебник. В 3 томах, 2013
6. Жимулев И.Ф. «Общая и молекулярная генетика». 2007
7. Овчинников Ю.А. "Биоорганическая химия", М.: Просвещение, 1984.
8. Finkelstein A.V., Ptitsyn O.B. *Protein Physics. A Course of Lectures*. 2-nd edition, Academic Press, An Imprint of Elsevier Science; Amsterdam • ... • Tokyo; 2016
9. A.M. Lesk. "Introduction to Bioinformatics", 3-rd edition, Oxford University Press, Oxford, 2008.
10. A.S. Spirin «Ribosomes». Cellular organells. Series Editor: Philip Sickevitz. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1999.
11. C. Branden, J. Tooze. "Introduction to Protein Structure", 2-nd edition, Garland Publishing, 1999.

V. Дополнительная литература:

1. А.В. Финкельштейн, Л.П. Гаврилова "Коррекция биосинтеза белка тесно связана с наличием бесфакторного рибосомного синтеза". Мол. Биол., 2019, т. 53(2), с.с. 349-352.
2. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. Курс лекций. — М: Книжный дом «Университет», 2005 или 2002.
3. Рубин А.Б. — Биофизика. т.1, гл. 7—14. — М: Книжный дом "Университет", 1999.
4. Ленинджер А. — Основы биохимии, в 3-х т., гл.4—8, 23, 29. — М: Мир, 1985.
5. Кантор Ч., Шиммель П. — Биофизическая химия, т. 1, гл. 2, 5; т.3, гл. 17, 20, 21. М: Мир, 1982.
6. Полинг Л. — Общая химия, гл. 1—6, 9—13, 16, 24. — М: Мир, 1974.
7. Finkelstein A.V. et al., There and back again: Two views on the protein folding puzzle. Phys. Life Rev., 2017, 21: 56-71, 77-79.
8. A.S. Spirin, A.V. Finkelstein "The ribosome as a Brownian ratchet machine", In: "Molecular Machines in Biology" (J. Frank, ed.), Cambridge University Press. 2011, p.p, 158-190.
9. B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P.Walter. "Molecular Biology of the Cell", Fifth edition, 2007 or Fourth edition, 2002.
10. H. Lodish et al. "Molecular and Cell Biology", Freeman and Company, Fifth edition, 2003 or Fourth edition, 2000.
11. D. Metzler. "Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells", Second edition, v1, v2, Academic Press, 2003.
12. R. Weaver. "Molecular Biology", Second edition. International ed., 2002.
13. J. Berg, J. Tomoczko, L. Stryer. "Biochemistry", Fifth edition. International ed., 2002.
14. Howard J. Mechanics of motor proteins and the cytoskeleton. — Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., 2001. Part III.
15. G. Karp. "Cell and Molecular Biology", Second edition, John Willey & Sons Inc., 1999.
16. D. Voet, J. Voet, Ch. Pratt. "Fundamentals of Biochemistry", John Willey & Sons Inc., 1999.
17. Fersht A. — Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding. — NY: W.H.Freeman & Co., 1999.
18. D.G. Hardie, J.R. Coggins. "Multidomain proteins: structures and evolution", Elsevier, 1986.

VI. Авторы временной программы:

1. Член-корреспондент РАН профессор С.В.Разин



2. Член-корреспондент РАН профессор А.В.Финкельштейн



3. Кандидат биологических наук доцент В.В.Асеев

