

Федеральное государственное бюджетное учреждение
Институт молекулярной генетики
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
(НИЦ «Курчатовский институт» - ИМГ)

Утверждена решением Ученого совета
НИЦ «Курчатовский институт» - ИМГ
15 апреля 2022 г., протокол № 5

ПРОГРАММА
вступительного экзамена в аспирантуру
по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Макромолекулярная структура ДНК. Двойная спираль Уотсона–Крика. Принцип комплементарности и его биологическое назначение. Реализация водородных связей и гидрофобных взаимодействий. Регулярность структуры и кооперативность. Спирализация. Параметры спирали. В-, А-, Z- и Н-формы ДНК. Сверхспирализация. Топоизомеразы.

Неканонические структуры ДНК. Денатурация двухспиральной ДНК. Влияние ионной силы, гидрофобных растворителей, мочевины, рН, температуры. Температура “плавления”, ее связь с нуклеотидным составом.

Одноцепочечность РНК. Спирализация в РНК (вторичная структура). Внутрицепочечные комплементарные взаимодействия, узлы. Подвижность структуры РНК, РНК-хеликазы. Узнавание РНК белками. Пространственная структура тРНК. “Мир РНК” и рибозимы.

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БЕЛКОВ

Первичная структура белков. Аминокислотные остатки – мономеры белковых цепей. Различные типы аминокислот и их строение. Пептидная связь. Полипептидная цепь.

Основные типы конформаций полипептидной цепи. Вторичная структура белков. Спиральные и β -структурные участки в глобулярных белках. Структуры белковых доменов. Антипаралельные β -структуры. Изогнутость β -структурных слоев в глобулярных белках. Связь вторичной структуры с аминокислотной последовательностью.

Третичная структура белков. Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Солевые и водородные связи. Вандерваальсовы взаимодействия. Доменная структура. Пространственные структуры молекул миоглобина, цитохрома, рибонуклеазы, химотрипсина. Процесс укладки полипептидных цепей.

Четвертичная структура белков. Типы взаимодействий между субъединицами в олигомерных белках на примере молекулы гемоглобина. Симметричные олигомерные структуры из тождественных субъединиц.

Проверка гомогенности препаратов белков. Аналитическое ультрацентрифугирование. Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия. Изоэлектрофокусирование в полиакриламидном геле. Определение N- и C-концевых аминокислотных остатков.

Ферменты. Классификация ферментов. Кофакторы ферментов. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса–Ментен и Бриггса–Холдейна. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, кофактора, pH и температуры.

Представление о строении активного центра и механизме действия ферментов (лизоцим, карбоксипептидаза, химотрипсин и др.). Индуцированные изменения конформации субстрата и фермента.

Аллостерическая регуляция активности ферментов. Аллостерические белки и их биологическая роль. Значение четвертичной структуры белков. Аллостерические модели Кошланда и Моно, Уаймана, Шанже.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ХРОМОСОМ

Локализация генов в хромосомах. Принцип линейного расположения генов в хромосоме. Химическая природа генов. Отождествление генов с ДНК.

Трансформация бактерий с помощью чистой ДНК. Опыт Эвери, Мак-Леода и Мак-Карти (1944). Заражение бактерии фаговой ДНК. Опыт Херши и Чейз (1952).

Многочисленность генов на одной молекуле ДНК. Отождествление гена с ограниченным участком ДНК. Перекрывающиеся гены. Понятие генной карты в применении к молекуле ДНК. Определение границ гена. Цис-транс-тест. Принцип "один ген – один фермент", дискуссии об определении понятия ген.

Репликация ДНК. Полуконсервативный механизм редупликации (опыт Меселсона и Сталя, 1958). Механизм биосинтеза ДНК. Энзимология репликации. Аналоги обычных оснований, роль в мутагенезе, в ДНК фагов. Точность репликации ДНК и мутантные ДНК-полимеразы. ДНК-полимеразы (I, II, III) *E. coli*. Их ферментативные активности (полимеризующая, 3'-5' и 5'-3'-экзонуклеазные), их роль в синтезе ДНК.

ДНК-лигазы. Роль в образовании ДНК. Топоизомеразы. Роль в сверхспирализации.

Репликация хромосомы бактерий. Понятие о репликоне. Репликатор. Регуляция инициации репликации. Терминация репликации и сегрегация реплицировавшихся хромосом.

Плазмиды: эписомы, бактерицидные факторы, факторы резистентности и токсичности. Регуляция репликации плазмид.

Репликация хромосом высших организмов. Множественность репликонов в хромосомах. Амплификация генов рРНК. Геномы митохондрий и пластид, их репликация. Автономно реплицирующиеся последовательности дрожжей. Центромеры и теломеры. Искусственные хромосомы. Проблема репликации ДНК-палочки. Теломера и теломераза. Теломераза, бессмертные клетки и возникновение рака.

Экспериментальная расшифровка генетического кода. Понятие о кодовом отношении, о кодонах, о перекрываемости кодонов, о "запятых", о вырожденности. Экспериментальное доказательство неперекрываемости кодонов с помощью точечных мутаций. Экспериментальное доказательство триплетности кода без запятых с помощью мутаций, индуцированных акридиновыми красителями.

Модификация и рестрикция ДНК. Метилирование ДНК. Энзимология метилирования ДНК. Метилирование ДНК фагов и бактерий. Биологическая роль метилирования у прокариот и эукариот.

Генетическая рекомбинация. Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор – эписома. Автономное и интегрированное состояние полового фактора. Половые ворсинки. Генетическая структура полового фактора – tra-оперон. Передача ДНК от донорных клеток к реципиентным. Механизм встраивания эписомы, умеренного фага и участка хромосомы в геном реципиентных бактерий. Стадии процесса.

Модель рекомбинации Холлидея. Белки и ферменты рекомбинации. Пост-репликативная репарация ДНК. Коррекция при образовании гетеродуплексных молекул ДНК.

Сайт-специфическая рекомбинация, ее механизм и биологическая роль. Сайт-специфическая рекомбинация и реконструирование геномов эукариот.

Генная инженерия. Методы клонирования генов. Векторы, используемые для клонирования. Создание геномных библиотек и способы их скрининга. Векторы для генной экспрессии. Библиотеки кДНК. Сайт-специфический мутагенез. Методы обратной генетики. Трансгенные животные и растения, их роль в решении общебиологических проблем. Способы оценки экспрессии генов. Использование эндогенных вирусов для переноса генов в клетки животных.

ТРАНСКРИПЦИЯ И БИОСИНТЕЗ РНК

Транскрипция. Открытие информационной РНК. Состав новообразованных РНК при развитии бактериофагов. Выделение мРНК из рибосомы (опыты Бреннера и др., Гро и др). Понятие об оперонах и полицистронных мРНК. Процессинг РНК у бактерий. РНКазы Р.

Матричный синтез РНК. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Антибиотики – ингибиторы транскрипции.

Структура РНК-полимеразы. Роль субъединиц РНК-полимеразы в транскрипции. Регуляция транскрипции у бактерий. Структура промоторов генов бактерий.

"Классическая" схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и репрессия синтеза ферментов. Репрессор лактозного оперона. Эффекторы. Генетическое изучение структуры оперона. Оператор. Структура промоторов генов бактерий.

Слияние оперонов. Случаи авторегуляции оперонов. Позитивная регуляция арабинозного оперона. Катаболитная репрессия, циклический АМФ и белок-рецептор цАМФ. Изучение регуляции активности оперонов в системе сопряженной транскрипции и трансляции. Белки-активаторы и их акцепторные зоны в опероне, его нуклеотидная последовательность и структурные взаимоотношения с промотором и оператором.

"Антисмысловая" РНК в регуляции экспрессии генов.

Терминация транскрипции (ро-зависимая и ро-независимая). Аттенуация. Антитерминаторы.

Регуляция транскрипции у эукариот. Три типа РНК-полимераз (I, II и III) животных, особенности структурной организации промоторов транскрибируемых ими генов.

Базальная и индуцированная транскрипция у эукариот. Энхансеры (усилители) работы генов. "Сайленсеры". Белковые факторы транскрипции, их типы. Структурные мотивы эукариотических факторов транскрипции. Активные транскрипционные комплексы.

Процессинг предшественников мРНК эукариот. Вырезание "интронов" ("сплайсинг"). Образование 3'-концевой полиА- и 5'-метил-гуаниловой группы. Роль малых ядерных РНК. Сплайсосома. Альтернативный сплайсинг и его роль в регуляции экспрессии генов. Выбор сигналов полиаденилирования в регуляции процессинга. Само-"сплайсинг". Транс-сплайсинг. Редактирование РНК.

Электронно-микроскопическое исследование транскрипции. Нуклеосомная организация хроматина. Гистоны и негистоновые белки хроматина. Модификации гистонов, свойственные активному и неактивному хроматину. Гистоновый код. Эухроматин и гетерохроматин, эффект положения гена. Комплексы ремоделинга хроматина. Компарментализация хроматина в ядре как способ регуляции транскрипции. РНК-сайленсинг на уровне хроматина.

Особенности строения генома эукариот. Уникальные и повторяющиеся последовательности ДНК. Сателлитные ДНК. Экзоны и интроны. Мультигенные семейства, их эволюция.

Эволюция эукариотического генома, представление о перетасовке экзонов. Процессированные гены и псевдогены. Синтез ДНК на матрице РНК ("обратная транскрипция"). Роль обратной транскрипции в эволюции генома. Псевдогены.

Подвижные генетические элементы генома эукариот, их типы. Ретротранспозоны и транспозоны. Р-элемент. Роль подвижных элементов в возникновении мутаций и геномных перестроек.

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Активация аминокислоты. Реакция первичной активации аминокислот. Химия процесса. Тип образующейся химической связи. Ферменты, их выделение, названия. Специфичность ферментов по отношению к различным аминокислотам. Акцептирование аминокислоты на тРНК. Аминоацил-тРНК как форма поступления аминокислоты в рибосому. Индивидуальные тРНК. Специфичность тРНК по отношению к различным аминокислотам. Узнавание ферментами индивидуальных тРНК.

Адапторная гипотеза Крика (1956-1957). Принцип комплементарности оснований как основа гипотезы. Экспериментальное доказательство адапторной гипотезы: опыт с превращением цистеинил-тРНК в аланил-тРНК (Шапвиль–Липманн–Вензер, 1962).

Расшифровка генетического кода на уровне трансляции. Искусственные полирибонуклеотиды как матрицы для синтеза полипептидов. Открытие Ниренбергом и Маттей эффекта полиуридилевой кислоты (1961). Принцип метода экспериментальной расшифровки состава кодонов при использовании искусственных матричных полирибонуклеотидов. Использование гомополимеров и гетерополимеров различного состава. Состав кодонов и вырожденность кода. Принцип метода экспериментальной расшифровки последовательности нуклеотидов в кодонах. Открытие Ниренберга и Ледера (1964).

Функциональные центры рибосомы. Рибосома как рибозим, мРНК-связывающий участок, его локализация на 30S-субчастице. Аминоацил-тРНК-связывающий участок рибосомы и его локализация. Пептидил-тРНК-связывающий участок рибосомы и его локализация. Пептидил-трансферазный каталитический центр.

Понятие об этапах трансляции: инициация, элонгация (полимеризация) и терминация. Механизм действия некоторых антибиотиков на рабочий цикл трансляции. Полирибосомы.

Регуляция трансляции, роль микроРНК. Понятие об интерферирующих РНК (РНКи).

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Спирин А.С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. М.: Академия, 2011.
2. Льюин Б. Гены. М.: Бином, 2011.
(Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick. Lewin's GENES XI. Jones & Bartlett Learning, 2012, 940 p.)
3. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки. В 3-х томах. М.: R&D Dynamics, 2013.
4. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. “Сибирское университетское издательство”, 2007.
5. Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков. М.: Изд-во МГУ, Наука, 2005.