

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
Лимнологический институт
Сибирского отделения Российской академии наук
(ЛИН СО РАН)

УТВЕРЖДАЮ
председатель Ученого совета,
академик РАН

_____ М.А. Грачев
«___» февраля 2013 г.

ПРОГРАММА
вступительного экзамена по специальности
03.01.03 «Молекулярная биология»

г. Иркутск

1. Общие положения

Настоящая программа экзаменов для поступления в аспирантуру по специальности по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология» составлена в соответствии с Федеральными государственными требованиями к структуре основной профессиональной образовательной программе послевузовского профессионального образования (аспирантура), предъявляемым Министерством образования и науки Российской Федерации (Приказ № 1365 от 16.03.2011, Положением о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 30 января 2002 года №74 в действующей редакции), Приказа №59 «Об утверждении Номенклатуры специальностей научных работников» Министерства образования и науки РФ от 25 февраля 2009 года с изменениями на основании приказа №294 от 11 августа 2009 года, а также паспортом научной специальности.

Программу составил

зав. лаб. биоорганической аналитической химии

ЛИН СО РАН д.б.н., профессор

_____ Беликов С.И.

Программа рассмотрена и утверждена на заседании Ученого совета ЛИН СО РАН

(протокол № _____ от « ____ » февраля 2013 г.).

И.о. ученого секретаря ЛИН СО РАН

к.г.н.

_____ Троицкая Е.С.

2. Формула специальности (в соответствии с паспортом научной специальности).

Молекулярная биология – область науки, занимающаяся исследованием биополимеров, их компонентов и комплексов, структуры и функции генов и геномов.

3. Область исследований исследования (в соответствии с паспортом научной специальности):

1. Физико-химия биополимеров, их компонентов и комплексов.
2. Геномы, их структура и функция.
3. Биосинтез нуклеиновых кислот и белка.
4. Молекулярная биология клетки.
5. Молекулярная энзимология.
6. Молекулярная вирусология и противовирусные вещества.
7. Генная, белковая и клеточная инженерия.
8. Биоинформатика.

Перечень вопросов к экзамену:

1. Введение

1.1. Этапы развития и становления молекулярной биологии как науки, изучающей естествознание на молекулярном уровне. Задачи молекулярной биологии в познании закономерностей жизнедеятельности биологических систем. Влияние достижений молекулярной биологии на фундаментальную биологию, медицину и промышленность.

2. Структура и свойства нуклеиновых кислот

2.1. Первичная структура нуклеиновых кислот. Номенклатура нуклеиновых кислот и их компонентов. Гетероциклические основания нуклеиновых кислот: структура, химические и физические свойства. Углеводные компоненты нуклеиновых кислот: структура и стереохимия. Нуклеозиды: β-гликозидная связь и факторы, влияющие на ее устойчивость. Нуклеотиды: фосфатный остаток и его положение. Различные типы нуклеотидов. Межнуклеотидные связи. Схема полинуклеотидной цепи и ее полярность. Различие структур и свойств РНК и ДНК. Химическая неравноценность 3'- и 5'- концевых групп. Химические и ферментативные методы деградации нуклеиновых кислот. Щелочной и кислотный гидролиз. ДНК-азы и РНК-азы. Экзо- и эндонуклеазы. Ферменты рестрикции и модификации. Методы определения первичной структуры нуклеиновых кислот. Мечение 3'- и 5'-концевых групп. Метод Максама- Гилберта. Метод Сенгера. Определение последовательности РНК. Блочный принцип определения последовательности полинуклеотидов. Значение изучения первичной структуры ДНК для решения проблем эволюции и систематики организмов.

2.2. Вторичная структура нуклеиновых кислот. Двухцепочечные нуклеиновые кислоты. Пары оснований, полярность и комплементарность цепей. Положение Чаргаффа. Двойная спираль ДНК Уотсона и Крика. Регулярность структуры и кооперативность. Различные формы двухцепочечных молекул, их конформационные характеристики и взаимные переходы. Денатурация и ренатурация двойных спиралей. Одноцепочечные нуклеиновые кислоты. сходство и отличия конформационных свойств РНК и ДНК. Представление о вторичной и третичной структуре тРНК и высокомолекулярных РНК. Химические и ферментативные методы изучения вторичной структуры рибонуклеиновых кислот.

3. Структура и свойства белков

3.1. Первичная структура белков. Аминокислоты. Номенклатура, строение и свойства. Аминокислотные остатки - мономеры белковых цепей. Природа пептидной связи. Методы

выделения белков и пептидов. Общая стратегия определения структуры белков. Анализ аминокислотного состава. Ферментативные и химические методы расщепления полипептидной цепи.

3.2. Пространственная структура белков. Основные типы взаимодействий, определяющие пространственную структуру полипептидов. Связь пространственной структуры белка с последовательностью аминокислотных остатков. Вторичная структура пептидов и белков. Сверхвторичная структура белков. Понятие о доменах. Третичная структура белков. Денатурация и ренатурация. Четвертичная структура белков.

3.3. Биологическая роль белков. Ферменты. Классификация. Представление о биокатализе. Принципы ферментативной кинетики. Регуляция ферментативной активности. Аллостерическая регуляция активности. Изоферменты. Полиферментные комплексы. Защитные белки крови - иммуноглобулины. Антигены тканевой совместимости. Система комплемента. Медиаторы иммунного ответа: интерфероны, цитокинины. Белки - гормоны: инсулин, гормоны роста. Структурные белки: белки мышц и соединительных тканей. Актомиозиновый комплекс: тропонины. Коллаген. Рецепторные белки: бактериородопсин. Зрительный родопсин. Ацетилхолиновый рецептор постсинаптических мембран. Транспортные белки: АТФазы. Белки токсины микробного и растительного происхождения.

4. Биосинтез нуклеиновых кислот

4.1. Развитие представлений о ДНК как носителе и источнике генетической информации.

4.2. Репликация ДНК. Матричный синтез ДНК. ДНК-полимеразы. Точность синтеза ДНК и механизм коррекции. Основные принципы репликации. Инициация цепей ДНК. ДНК-праймаза. Расплетание двойной спирали ДНК. Репликационная вилка. Точки начала репликации. ДНК-геликазы и дестабилизирующие белки. ДНК-топоизомеразы. Прерывистый синтез ДНК. Фрагменты Оказаки. Инициаторные белки. Кооперативность действия белков репликационной вилки.

4.3. Репарация ДНК. Основные принципы различных реакций репарации. Фотореактивация и другие виды «прямой» репарации. Фотолиаза. Репарация Об - алкилированного гуанина и О4 -алкилтимина. Метилтрансфераза. Репарация односторонних разрывов ДНК. Репарация АП-сайтов. Инсертказы. Эксцизионная репарация. Репарация неспаренных оснований («мисмэтчей»). Пострепликативная и рекомбинационная репарация. SOS-репарация. Ферменты репарации. Роль процессов репарации в эволюции жизни на Земле.

4.4. Рекомбинация. Гомологичная рекомбинация. (Общая рекомбинация). Типы генетической рекомбинации у бактерий и фагов. Сайт-специфическая рекомбинация.

4.5. Плазмиды и мобильные генетические элементы бактерий. Бактериальные плазмиды. Репликация плазмид. Механизмы передачи ДНК от донорных клеток к реципиентным. IS-элементы и транспозоны бактерий. Коинтегратаы. Механизм перемещения мобильных элементов бактерий. Функциональная роль плазмид и мобильных элементов бактерий. Концепция «эгоистичной» ДНК. Плазмиды, мобильные элементы и генетическая изменчивость бактерий. Сходство процессов репликации, репарации и рекомбинации ДНК. Энцимология генетических процессов: системы ферментов и белковых факторов, работающих на ДНК.

4.6. Рестрикция и модификация ДНК. Метилирование ДНК. Системы рестрикции, их классы, структурные особенности.

4.7. Транскрипция. Транскриптон - единица транскрипции. Структура РНК-полимераз прокариот и эукариот. Цикл транскрипции. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Антибиотики - ингибиторы транскрипции. Регуляция транскрипции у бактерий. Схема оперона Жакоба-Мано. Индукция и репрессия синтеза ферментов. Репрессор. Эффекторы. Оператор.

Катаболическая репрессия. Циклическая АМР и белок-репрессор цАМР. Регуляция синтеза рибосомных РНК и белков. Факторы терминации транскрипции.

4.8. Процессинг первичных транскриптов. Процессинг у прокариот. Процессинг у эукариот. Интроны и экзоны. Сплайсинг. Процессинг предшественников тРНК у про- и эукариот. Рибозимы. Процессинг РНК, синтезируемой с помощью РНК-полимеразы II у эукариот. Модификация 5'-конца РНК и сплайсинг. Кэп-сайт. Процессинг 3'-конца транскрипта. Полиаденилирование.

4.9. Геном эукариот. Общая структура генома. Кинетика реассоциации денатурированного ДНК. Сателлитные ДНК. Умеренно повторяющиеся последовательности. Уникальные последовательности генома. Прерванные гены эукариот.

4.10. Регуляторные элементы генов у эукариот. Регуляция транскрипции у эукариот. Гены рибосомных РНК у эукариот. Подвижные генетические элементы генома эукариот. Ретропозоны. Псевдогены. Ретропозоны.

4.11. Структура хромосом. Два уровня организации упаковки ДНК в живой природе: "свободная" (вирусы, бактерии) и нуклеопротеидная (высшие организмы) форма. Фаговая "хромосома". Размеры, молекулярный вес, цикличность ДНК. Активная развернутая форма фаговой "хромосомы" при инфекции. Бактериальная «хромосома». Размеры, тождественность с ДНК, проблема непрерывности цепей ДНК. Цикличность. Структура хроматина. Структурная организация генетического материала в эукариотических клетках. Хромосома как клеточный дезоксирибонуклеопротеид (ДНП). Фрагментация хромосом на элементарные ДНП-частицы. Гистон как специфический белковый компонент ДНК-частиц. Типы гистонов. Структурная организация молекул гистонов. Молекулярный вес, особенности аминокислотного состава. Нуклеопротамины. Негистоновые белки. Основной регуляторный элемент хроматина - нуклеосома. Организация нуклеосомных фибрилл. Фейзинг нуклеосом. Конденсация хроматина. Доменная организация хроматина. Метафазные хромосомы. Регуляторные белки хроматина. Структура активного хроматина.

4.12. Вирусы. Вирусный нуклеопротеид как форма сохранения инфекционного начала - молекулы нуклеиновой кислоты. Химический состав вирусов и вирусных нуклеопротеидов. ДНК- и РНК-содержащие вирусы. Типы вирусных нуклеиновых кислот. Защитная и ферментативная функции вирусной нуклеиновой кислоты. Механизм проникновения в клетку. Структура вирусов как следствие функции вирусного белка. Устойчивая равновесная четвертичная структура белковой оболочки вируса. Дополнительные компоненты сложных вирусов. Принципы сборки вирусов. Самосборка и другие механизмы. Ферментативный синтез РНК на матрице РНК при вирусной инфекции. Проблема репликации вирусной РНК. Специфичность фермента по отношению к матрице. Характер продукта РНК-синтеза реакции. этапы вирусной инфекции при заражении РНК-содержащими бактериофагами.

5. Структура рибосомы и биосинтез белка

5.1. Общая схема биосинтеза белка. Химические реакции и общий энергетический баланс биосинтеза белка

5.2. Информационная РНК и генетический код. Открытие мРНК. Расшифровка кода. Кодовый словарь. Универсальность кода. Вырожденность кода и некоторые закономерности этой вырожденности. Структура мРНК. Первичная структура. Функциональные участки. Инициаторные кодоны. Понятие об моноцистронных и полицистронных мРНК. Терминаторные кодоны. Пространственная структура.

5.3. Транспортные РНК и аминоацил-тРНК-синтетазы. Открытие тРНК и процесса акцептирования аминокислот. Структура тРНК. Первичная структура тРНК. Универсальная 3'-концевая последовательность. Пространственная структура тРНК. Вторичная и третичная структуры. Четвертичные структуры аминоацил-тРНК-синтетаз прокариотических и эукариотических клеток.

5.4. Аминоцилирование тРНК. Активация аминокислоты. Реакция акцептирования аминокислоты. Специфичность аминоцилирования тРНК. Сверхспецифичность по отношению к аминокислоте и к тРНК.

5.5. Рибосомы и трансляция. Локализация рибосом в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Полирибосомы. Стадии трансляции: инициация, элонгация, терминация.

5.6. Структура рибосомы. Морфология рибосомы: размер, внешний вид и подразделение на две субчастицы. Малая и большая субчастицы. Диссоциация и реассоциация рибосомы. Специфичность реассоциации: контактирующие поверхности субчастиц.

5.7. Рибосомные РНК. Значение рибосомной РНК. Виды рибосомных РНК. Высокополимерная РНК малой субчастицы. Высокополимерная РНК большой субчастицы. 5S РНК большой субчастицы. Первичные и вторичные структуры 16S (18 S) РНК, 23 S (28 S) РНК и 5 S РНК. Структурные домены и компактная самоупкладка молекулы РНК.

5.8. Рибосомные белки. Разнообразие и номенклатура. Первичные структуры. Пространственные структуры. Белковые комплексы. Взаимодействие с рибосомными РНК.

5.9. Взаиморасположение рибосомной РНК и белков (четвертичная структура). Периферическое положение белков на ядре РНК. Топография белков. Топография РНК. Четвертичная структура.

5.10. Структурные превращения рибосом (*in vitro*). Диссоциация рибосом на субчастицы. Разворачивание субчастиц. Разборка и обратная сборка субчастиц.

5.11. Функционирование рибосомы.

5.12. Функциональные активности и функциональные участки рибосомы. Рабочий цикл рибосомы. Функции связывания. Связывание и удержание матричного полинуклеотида (мРНК - связывающий участок). Удержание пептидил - мРНК или деацилированной - мРНК (мРНК-связывающий Р-участок). Связывание аминоацил-мРНК (мРНК-связывающий А-участок). Е-участок и его функции. Связывание белковых факторов трансляции и ГТФ (факторсвязывающий участок). Каталитические функции. ГТФ-аза. Пептидилтрансфераза. Функции перемещений лигандов (транслокация).

5.13. Элонгация: поступление аминоацил-тРНК в рибосому. Кодон - антикодонное взаимодействие. Адапторная гипотеза Ф.Крика и ее доказательство. Концепция антикодона. Гипотеза нестрогого соответствия при кодон-антикодонном спаривании. Поправки к правилам нестрогого соответствия. Стереохимия кодон-антикодонного спаривания. Участие фактора элонгации (EF-Tu или EF-1) в связывании аминоацил-тРНК. EF-Tu и его взаимодействия. Связывание тройственного комплекса с рибосомой. Роль гидролизата ГТФ. Неэнзиматическое (бесфакторное) связывание аминоацил-тРНК. Ингибиторы. Механизм действия некоторых антибиотиков на рабочий цикл трансляции. Пуромицин, тетрациклин. Хлорамфеникол. Эритромицины. Киромидин. Фузидиевая кислота. Ложное кодирование. Ложное считывание поли (u). Основные типы ложного спаривания. Факторы, способствующие ложному кодированию. Уровень ошибок *in vivo* в нормальных условиях. Кинетические механизмы ложного кодирования и его коррекции. Последовательность событий и молекулярные

механизмы. Перебор мРНК. Узнавание антикодона. Гидролиз ГТФ. Коррекция выбора аминоксил-мРНК. Запирание аминоксил-мРНК в А-участок. Общая схема.

5.14. Элонгация: транспептидация (образование пептидной связи). Химия реакции. Образование пептидной связи. Энергетика реакции. Ингибиторы пептидилтрансферазной реакции. Стереохимия.

5.15. Элонгация: транслокация. Определение транслокации и экспериментальные тесты. Участие фактора элонгации (EF-G или EF-2). Роль EF-G-опосредованного гидролиза ГТФ. Последовательность событий в EF-G катализируемой транслокации. Фузидиевая кислота - ингибитор, воздействующий на EF-G. Неэнзиматическая (бесфакторная) транслокация. Передвижение матрицы при транслокации. Энергетика и молекулярный механизм транслокации.

5.16. Элонгация: регуляция. Неравномерность элонгации. Избирательная регуляция скорости элонгации на различных мРНК. Тотальная регуляция скорости элонгации. Замедление элонгации при вирусных инфекциях. Блокирование элонгации токсинами бактериального и растительного происхождения.

5.17. Инициация трансляции и ее регуляция у прокариот. Иницирующие кодоны. Инициаторная формилметионил - тРНК. Белковые факторы инициации и их функции. Образование начального комплекса (ассоциация рибосомы) с матричным полинуклеотидом. Последовательность событий в процессе инициации. Образование инициаторного комплекса без компонентов инициации. Регуляция синтеза белка на уровне трансляции. Регуляция трансляции РНК фага MS2. Регуляция синтеза рибосомных белков.

5.18. Инициация трансляции и ее регуляция у эукариот. Особенности эукариотической мРНК. Информосомы. Особенности инициации в эукариотических системах. Иницирующий кодон. Инициаторная тРНК. Белковые факторы инициации и ГТФ. Состояние рибосомы перед инициацией. Образование комплекса рибосомной 40S субчастицы с инициаторной тРНК. Ассоциация рибосомной 40S субчастицы с мРНК. Узнавание иницирующего кодона. Образование иницирующего рибосомного 80S комплекса. Регуляция инициации: избирательная дискриминация мРНК и тотальная репрессия инициации. Общая схема рабочего цикла трансляции. Механизм действия некоторых антибиотиков на рабочий цикл трансляции. (Пуромицин, хлорамфеникол, эритромицин, тетрациклин, стрептомицин, фузидиевая кислота).

5.19. Терминация трансляции. Кодоны терминации. Белковые факторы терминации. Последовательность событий в процессе терминации.

5.20. Биосинтез белка в прокариотической и эукариотической клетках. Биосинтез секреторных и мембранных белков. Сигнальная гипотеза. Ко- и посттрансляционная модификация белков. Ко-трансляционная сборка олигомерных белков (иммуноглобулин, β -галактозидаза).

6. Биосинтез белка в искусственных генетических системах. Принципы генной инженерии

6.1. Ферменты, используемые в генной инженерии. Рестриктазы - эндонуклеазы рестрикции. Классификация рестриктаз. Универсальные рестриктазы для одноцепочечных ДНК. Изошизомеры. ДНК-метилазы, ДНК- и РНК-лигазы. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы, ревертазы). Полинуклеотидкиназы. Терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза. Щелочная фосфатаза. Нуклеазы.

6.2. Векторы. Плазмидные векторы для клонирования фрагментов ДНК. Векторы на основе фага λ . Космиды и фазмиды. УАС - сверхемкий вектор для клонирования ДНК.

Интегрирующие векторы грам-положительной бактерии *B. subtilis*. Челночные векторы. Конструирование экспрессирующих векторов и их функционирование. Факторы, влияющие на эффективность экспрессии рекомбинантных генов. Векторы, используемые в клетках животных и растений.

6.3. Общие принципы химико-ферментативного синтеза двуцепочечных ДНК. Реализация принципа комплементарности гетероциклических оснований нуклеиновых кислот. Пути получения двуцепочечных ДНК. Ферментативные методы сборки двуцепочечных ДНК. Химические методы сборки двуцепочечных ДНК. Способы получения рекомбинантных РНК.

6.4. Библиотеки генов. Получение геномных библиотек и библиотек кДНК. Введение рекомбинантных ДНК в бактериальные и эукариотические клетки. Методы скрининга библиотек генов.

6.5. Бесклеточные белоксинтезирующие системы. Прокариотические белоксинтезирующие системы. Эукариотические белоксинтезирующие системы. Проточные бесклеточные белоксинтезирующие системы.

6.7. Достижения генной инженерии и ее перспективы. Изменение концепции гена под влиянием генной инженерии. Методические достижения генной инженерии в исследовании генов: рестрикционное картирование и построение физических карт. Прогулки и прыжки по хромосомам. S1-картирование РНК и ДНК. Футпринтинг в исследовании ДНК - белковых взаимодействий.

6.8. Направленный мутагенез и белковая инженерия. Методы получения направленных мутаций: делеции и вставки. Химический мутагенез как метод получения множественных сайт-специфических мутаций. Сайт-специфический мутагенез с использованием синтетических олигонуклеотидов. Полимеразная цепная реакция в направленном мутагенезе.

6.9. Белковая инженерия. Белки репортеры в гибридных белках. Гибридные токсины. Пути создания новых ферментов.

6.10. Антисмысловые РНК (miRNA) и рибозимы. Антисмысловые олигонуклеотиды, как ингибиторы экспрессии генов. Механизмы ингибирующего действия miRNA. Использование антисмысловых РНК в фундаментальных и прикладных исследованиях: рибозимы в составе антисмысловых РНК. Использование антисмысловых РНК для получения фенокопий; в исследованиях клеточного цикла и пролиферации клеток, а также в борьбе с вирусными заболеваниями.

6.11. Биосинтез рекомбинантных белков в многоклеточных организмах. Трансгенные животные и растения. Экспрессия трансгенов у трансгенных животных. Способы получения трансгенных животных. Трансгенные животные в исследованиях механизмов экспрессии генов. Трансгенные растения. Генотерапия наследственных заболеваний.

Рекомендуемая литература

1. Степанов В.М.. Молекулярная биология. Структура и функции белков. М.: Высшая школа, 1996 г.
2. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот под ред. Спирина А.С.. М.: Высшая школа, 1986 г.
3. Спирин А.С. Молекулярная биология. Биосинтез белка. М.: Высшая школа, 1984 г.
4. Страйер Л. Биохимия. М.: Мир, 1984 г.
5. Уотсон Д. Молекулярная биология гена. М.: Мир, 1980 г.
6. Альбертс Д. и др. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1994 г.
7. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998 г.

8. Льюин Б. Гены. М.: Мир. 1987 г.
9. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М.: Просвещение, 1986 г.
10. Практическая химия белка. Под ред. Дарбре А. М.: Мир, 1989 г.
11. Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков. М.: Мир, 1983 г.
12. Клонирование ДНК. Методы. Под ред. Гловера Д. М.: Мир, 1988 г.
13. Новое в клонировании ДНК. Методы. Под ред. Гловера Д. М.: Мир, 1989г
14. Анализ генома. Методы. Под ред. Дейвиса К. М.: Мир, 1990 г.
15. Методы генетики соматических клеток. Под ред. Шей Дж. М.: Мир, 1985г
16. Свердлов Е.Д. Очерки молекулярной генетики в журнале «Молекулярная генетика, микробиология и вирусология»: 1995 г. (N 2, 3, 4), 1996 г. (N4), 1997 г. (N2), 1998 г. (N1), 1999 г. (N2), 2000 г. (N 1, 2).