

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики  
Российской академии наук (ИТЭБ РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор Института

Белецкий И.П.

» \_\_\_\_\_ 2016 г.



Принято Ученым Советом ИТЭБ РАН

Протокол № 1 от 15 декабря 2016 г.

# ПРОГРАММА

вступительных экзаменов в аспирантуру  
по специальности

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

03.01.03

# 1. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БЕЛКОВ

**1. Первичная структура белков.** Аминокислотные остатки - мономеры белковых цепей. Различные типы аминокислот и их строение. Пептидная связь. Полипептидная цепь. Основные типы конформаций дипептидной единицы. Стерические карты Рамачандрана и потенциальные карты дипептида.

**2. Вторичная структура белков.**  $\alpha$ -Спиральные и  $\beta$ -структурные участки в глобулярных белках. Статистические закономерности в распределении аминокислотных остатков в  $\alpha$ -спиральных,  $\beta$ -структурных и нерегулярных участках глобулярных белков. Экспериментальные методы изучения вторичной структуры белков: кривые циркулярного дихроизма, оптическое вращение, инфракрасная спектроскопия, ЯМР-спектроскопия.

**3. Третичная структура белков.** Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Солевые и водородные связи, Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия.

**4. Четвертичная структура белков.** Типы взаимодействий между субъединицами в олигомерных белках на примере молекулы гемоглобина. Симметричные олигомерные структуры из тождественных субъединиц. Структуры инсулина, лактатдегидрогеназы. Биологические преимущества крупного белка, составленного из субъединиц, перед крупным мономерным белком: меньшая вероятность ошибок при биосинтезе; возможность регуляторных взаимодействий.

**5. Фибриллярные белковые структуры.** Фиброин шелка, кератин, коллаген.

**6. Выделение белков и их характеристика.** Фракционное осаждение белков, ионообменная хроматография; аффинная хроматография, гель-фильтрация, изоэлектрофокусирование в градиенте сахарозы. Проверка гомогенности препаратов белков: аналитическое ультрацентрифугирование, электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия, изоэлектрофокусирование в полиакриламидном геле. Определение N и C-концевых аминокислотных остатков. Определение аминокислотной последовательности: гидролитическое расщепление белка с помощью протеолитических ферментов, расщепление белковой цепи по метиониновому остатку бромистым цианом, разделение пептидов, идентификация пептидов. ДНФ-метод Сэнгера. Метод Эдмана. Секвенатор. Стыковка пептидов.

**7. Денатурация и ренатурация белков.** Разрушение нативной конформации белков изменением температуры, pH, обработкой мочевины, гуанидинхлоридом. Действие детергентов, спиртов, электролитов. Опыты Анфинсена по ренатурации молекулы рибонуклеазы. Влияние солей, субстратов на скорость ренатурации белка. Ускорение ренатурации белка в присутствии других глобулярных белков.

**8. Некоторые функции белков.** а) Классификация белков, основанная на их биологической функции: ферменты, транспортные белки, запасные белки, сократительные белки, защитные белки крови, токсины, гормоны, структурные белки.

б) Классификация ферментов. Коферменты и витамины. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Бриггса-Холдейна. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, кофактора, pH и температуры. Определение активационных параметров.

в) Функционирование ферментов. Активные центры ферментов. Строение субстрат-связывающих участков (трипсин, химотрипсин). Объяснение субстратной специфичности

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

г) Регуляция ферментативной активности. Ингибирование. Активация путем химической (ферментативной) модификации. Аллостерическая регуляция активности ферментов. Аллостерические белки и их биологическая роль. Значение четвертичной структуры белков. Аллостерические модели Кошланда и Моно, Уаймана, Шанже. Регуляция по принципу обратной связи. Особенности кинетики реакций с участием аллостерических ферментов.

## II. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

**1. Первичная структура нуклеиновых кислот.** (а) Нуклеотиды - мономеры нуклеиновых кислот; различные типы нуклеотидов; пуриновые и пиримидиновые основания; сахарный компонент нуклеотида; нуклеозид, гликозидная связь, фосфатный остаток, его положение.

(б) Фосфодиэфирная связь. Водородные связи между основаниями и гидрофобные взаимодействия плоскостей колец оснований. Количественные соотношения оснований в ДНК; правила Чаргаффа.

**2. Структура ДНК.** (а) Двойная спираль Уотсона-Крика. Принцип комплементарности и его биологическое значение. Реализация водородных связей и гидрофобных взаимодействий. Параметры спирали. В- и А-форм ДНК. Условия взаимопереходов между разными формам ДНК.

(б) Денатурация двуспиральной ДНК. Понятие о "плавлении" спирали; температура "плавления"; связь ее с нуклеотидным составом; влияние ионной силы, гидрофобных растворителей, мочевины, рН, температуры. Энтальпия и энтропия перехода спираль-клубок. Свободная энергия стабилизации нативной структуры.

(в) Ренатурация ДНК. Условия ренатурации. Зависимость ренатурации от гомогенности препарата.

**3. Упаковка ДНК в хромосомах.** (а) Хромосома как клеточный дезоксирибонуклеопротеид (ДНП). Гистоны как специфические белковые компоненты ДНП. Типы гистонов и особенности их аминокислотного состава.

(б) Три уровня структурной организации хроматина эукариот: нуклеосомная фибрилла, соленид и петельно-доменная структура. Негистоновые белки хроматина. Понятие об активной интерфазной и неактивной конденсированной хромосоме. Их структурное различие. Эухроматин и гетерохроматин. Сателлитные ДНК. «Избыточная» ДНК. Роль ДНК-топоизомераз в обеспечении структуры и функционировании хроматина.

**4. Структура РНК.** Типы РНК и функциональная роль и распространенность. Вторичная структура РНК. Неканонические типы спаривания оснований. Гибридные спирали ДНК-РНК. Структура тРНК и функциональная роль ее элементов. Структурные домены в РНК. Антисмысловые РНК. Каталитическая активность РНК (рибозимы).

## III. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ХРОМОСОМ

**1. Локализация генов в хромосомах.** Принцип линейного расположения генов в хромосоме. Фиксированное расположение генов вдоль молекулы ДНК. Понятие генной карты в применении к молекуле ДНК. Использование явления кроссинговера с последующим определением частоты рекомбинантов для установления относительной локализации генов вдоль хромосомы (ДНК). "Физическое" картирование генов: гетеродуплексный делеционный и рестрикционный анализ.

**2. Понятие о мутации как точечном изменении в определенной участке ДНК.** Фенотипическое выражение мутации: изменение, ослабление или выпадение функции. Мутации разных генов. Мутации внутри одного гена. Транзиции и трансверсии. Многочисленность различных внутригенных мутаций. Внутригенная карта и ее линейность.

**3. Белок заданной структуры как реализация специфичности гена.** Гипотеза "один ген - один белок" как следствие развития молекулярной генетики. Дальнейшее развитие гипотезы: «один ген – одна полипептидная цепь». Перекрывающиеся гены. Некодирующие вставки (интроны) внутри кодирующей последовательности генов. Один ген – несколько полипептидов.

**4. Типы повторяющихся последовательностей в геномах.** Кластеры функциональных генов (глобинов, гистонов, рРНК и тРНК). Семейство Alu-повторов. Диспергированные повторяющиеся последовательности (SINE и LINE).

**5. Мобильные элементы геномов.** Мобильные элементы прокариот (транспозоны), их структурная организация и механизмы транспозиции. Мобильные элементы эукариот: Ту элемент дрожжей, сориа дрозофилы.

#### IV. РЕПЛИКАЦИЯ И РЕКОМБИНАЦИЯ ДНК. РЕПЛИКАЦИЯ РНК

**1. Репликация ДНК.** Репликон. Точки начала репликации (ori). Репликативная вилка. Однонаправленная и двунаправленная репликация. Репликация по типу «катящегося кольца». Белки, входящие в репликативный комплекс, и их функции. Ферментативные активности ДНК-зависимой ДНК-полимеразы E.coli. Механизм репликации отстающей цепи ДНК.

**2. Рекомбинация ДНК.** Гомологичная рекомбинация, сайт-специфическая рекомбинация. Негомологичная рекомбинация. Белки, участвующие в рекомбинации. ResA белок.

**3. Репликация РНК.** Репликация РНК бактериальных вирусов. Репликация РНК ретровирусов.

#### V. ТРАНСКРИПЦИЯ И БИОСИНТЕЗ РНК

**1. ДНК-зависимые РНК-полимеразы.** РНК-полимераза E.coli, роль ее субъединиц в транскрипции,  $\sigma$ -фактор. Три типа РНК-полимераз эукариот. Единицы транскрипции (транскриптоны). Промоторы прокариот. Промоторы РНК-полимеразы II эукариот, энхансеры, сайленсеры. Промоторы РНК-полимераз I и III.

**2. Этапы синтеза РНК.** Инициация, элонгация и терминация транскрипции. Биохимические особенности элонгации. Структура элонгирующего комплекса. Терминация транскрипции у бактерий: фактор терминации транскрипции ( $\rho$ -фактор). Нуклеотидная последовательность терминаторов,  $\rho$ -зависимая и  $\rho$ -независимая терминация. Атенуаторы в оперонах бактерий. Терминация транскрипции у эукариот. Антибиотики – ингибиторы транскрипции. 5' и 3'-концевые нетранслируемые области мРНК эукариот.

Регуляция транскрипции у бактерий: «классическая» схема оперона по Жакобу и Моно; индукция и репрессия синтеза ферментов. Регуляция транскрипции у эукариот: механизм позитивной и негативной регуляции транскрипции, метилирование ДНК в регуляции транскрипции.

**4. Котранскрипционные и посттранскрипционные модификации РНК.** Полиаденилирование РНК у бактерий: классы поли(А)-содержащих РНК, поли(А)-

полимеразы, возможная функциональная роль полиаденилирования РНК. Редактирование пре-мРНК за счет изменения первичной последовательности мРНК. Кэпирование и полиаденилирование эукариотических мРНК, устранение интронов (сплайсинг). Предшественники рРНК и тРНК и их созревание.

## VI. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

**1. Генетический код.** Расшифровка генетического кода: триплетность и непекрываемость; состав кодонов; нуклеотидная последовательность кодонов; подтверждение на основе синтетических регулярных матриц. Некоторые особенности кодового словаря: вырожденность, кодоновые семьи; универсальность.

**2. Структура рибосом.** Локализация рибосом в клетке. Свободные и мембраносвязанные рибосомы. Состав и строение рибосом: прокариотический и эукариотический типы рибосом, рибосомы митохондрий и хлоропластов. Рибосомные РНК, рибосомные белки и их взаиморасположение. Структурные превращения рибосом *in vitro*.

**3. Функционирование рибосомы.** Функциональные активности и функциональные участки рибосомы. Этапы синтеза полипептидной цепи: элонгация (поступление аминокил тРНК в рибосому, образование пептидной связи, транслокация, регуляция элонгации), инициация трансляции и ее регуляция у про- и эукариот, терминация трансляции.

**4. Взаимодействие рибосомы и растущего пептида с мембраной.** Котрансляционный трансмембранный транспорт. Синтез белков свободными и мембранно-связанными полирибосомами. Способы соединения рибосомы с мембраной. N-концевая сигнальная последовательность растущего полипептида. Сигнал-узнающие частицы и их мембранные рецепторы.

**5. Котрансляционные модификации белка.** Посттрансляционный транспорт, компарментализация и модификация белков.

## VII. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

**1. Векторные молекулы ДНК.** Определение понятия «вектор». Емкость вектора. Плазмидные векторы. Векторы на основе ДНК фага  $\lambda$ . Челночные векторы. Принципы конструирования экспрессионных векторов.

**2. Ферменты генной инженерии.** Эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы), ДНК-метилтрансферазы, ДНК-зависимая ДНК-полимераза *E.coli*, фрагмент Кленова, ДНК-лигаза фага T4, РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза), полинуклеотидкиназа фага T4, концевая нуклеотидилтрансфераза.

**3. Получение и клонирование фрагментов ДНК.** Получение рестрикционных фрагментов, наработка ПЦР-продуктов, получение кДНК. Введение клонируемых фрагментов ДНК в векторную молекулу. Введение рекомбинантных векторных ДНК (плазмид и фага  $\lambda$ ) в клетки *E.coli*. Отбор рекомбинантных клонов.

**4. Полимеразная цепная реакция.** Общая схема реакции. Конструирование праймеров. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. ПЦР, сопряженная с обратной транскрипцией. ПЦР в реальном времени. Определение нуклеотидной последовательности ДНК по методу Сэнгера.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Уотсон Дж., Туз Дж., Куп Д. Рекомбинантные ДНК. М.: Мир. 1986.
2. Спирин А.С. Молекулярная биология: Структура рибосомы и биосинтез белка. М.: Высшая школа, 1986.
3. Льюин Б. Гены. М.: Мир. 1987.
4. Молекулярная биология: Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. (Ред. А.С Спирин)  
М.: Высшая школа, 1990
5. Степанов В.М. Молекулярная биология: Структура и функции белков. М.: Мир. 1996.
6. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998.
7. Спирин А.С. Принципы функционирования рибосом. Соросовский образовательный журнал, 1999, №4 (продолжение в №№ 5 и 6).
8. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. М.: Наука, 2000.
9. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. М.: Наука, 2004.
10. Молекулярная биология - <http://humbio.ru/humbio/molbio.htm>