

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии»  
Российской академии наук»

«ПРИНЯТО»

На заседании Ученого совета

ФИЦ Биотехнологии РАН

Протокол № 9 от 17.12.2021 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ФИЦ Биотехнологии РАН

А.Н. Федоров



**ПРОГРАММА-МИНИМУМ**  
кандидатского экзамена по специальности

**1.5.3. Молекулярная биология**

Москва, 2021 г.

## I. ОСНОВНАЯ ПРОГРАММА

### 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 жесткость 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. Полимеразы I, II и III *E.coli*. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз. Вилка репликации, "ведущая" и "отстающая" нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Координации синтеза ДНК на комплементарных нитях. Комплекс белков в репликационной вилке. Регуляция инициации репликации у *E.coil*. Структура участка старта репликации (origin, ori). Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Двухнаправленная 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. 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 "сверточных 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, конденсины, сепарины в упаковке и расхождении 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 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-мутаза) у прокариот и эукариот. Репарация двухнитевых разрывов: гомологичная пострепликативная рекомбинация и объединение негомологичных концов молекулы ДНК. Сигналы, обеспечивающие репарацию двухнитевых разрывов и задержку репликации ДНК до завершения репарации. 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. Обмен нитей 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. Синаптонемный комплекс. Генная конверсия, асимметричность генной конверсии.

### **7. Сайт-специфичная рекомбинация.**

Различия молекулярных механизмов общей и сайт-специфичной рекомбинации. Типы хромосомных перестроек, осуществляемых при сайт-специфичной рекомбинации. Регуляторная роль сайт-специфичной рекомбинации у бактерий.

### **8. Структура генома высших эукариот.**

Уникальные и повторяющиеся последовательности. Основные классы повторяющихся последовательностей в геномах про- и эукариот.

### **9. Подвижные элементы генома.**

Ретроэлементы и ДНК-транспозоны. Классификация ретроэлементов. Механизмы транспозиции ретроэлементов. Ретротранспозоны и эволюция геномов. Ретротранспозоны в геноме растений. LINE- и SINE- элементы в геноме человека. Элементы L1 и Alu в геноме человека.. Ретрогены, или “процессированные гены” и псевдогены. LINE элементы теломер в геноме дрозофилы. Подвижные интроны дрожжей. 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.

### **10. 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. Механизмы терминации транскрипции. 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.



## 11. Транскрипция у эукариот.

РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие разных полимераз в транскрипции различных клеточных РНК. Регуляция транскрипции полимеразой II. Понятие о цис- и трансрегуляции транскрипции. "Модули" промоторов полимеразы II у эукариот. Различные типы промоторов. Факторы транскрипции и их роль в инициации транскрипции. Этапы сборки преинициаторного комплекса. Минимальный базовый промотор. Узнавание ДНК фактором ТВР. 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. Принцип "дальнего действия" в регуляции транскрипции. Эхансерные последовательности и эхансерные белки. Модели, объясняющие механизм действия эхансеров. Инсуляторы и механизм их действия. РНК- полимеразы I и III. Особенности структуры промоторов генов, транскрибируемых с помощью этих полимераз.

## 12. Регуляция транскрипции в развитии эукариот.

Гомеодомены регуляторных белков. 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.. Механизмы возникновения пространственно ограниченных морфогенетических градиентов факторов транскрипции.

Особенности структуры промоторов генов, ответственных за сегментную экспрессию белков-морфогенов в развитии дрозофилы.

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

## 13. 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 механизмы ремоделирования хроматина. Структура 30 нм фибриллы. Роль гистона H1. Сборка нуклеосом при репликации ДНК. Переносчики гистонов. Не зависящая от репликации сборка нуклеосом. Замена обычных гистонов на вариантные формы.

## 14. Хроматин и регуляция активности генов.

Химические модификации гистонов: ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинилирование и АDP-рибозилирование. Понятие о "гистоновом коде". Активный хроматин. Способы выделения активного хроматина. Особенности нуклеосом в транскрипционно-активной фракции хроматина. 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. Неактивный хроматин. Различные механизмы формирования 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. Гетерохроматин. Распространение гетерохроматина по хромосоме. Механизм инактивации X хромосомы у млекопитающих. Роль Xist РНК. Некодирующая РНК как структурный компонент хроматина. Короткие РНК (21-23 нуклеотида) в организации структуры неактивного хроматина.

#### **15. Механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов.**

Модификация гистонов как сигнал для метилирования ДНК. Механизмы инактивации генов при метилировании ДНК. Репликативное (поддерживающее) метилирование ДНК. Дезаминирование 5-метилцитозина и мутации. ДНК-метилтрансферазы эукариот. Деметилазы гистонов. Наследование метилированного состояния и метилирование de novo. Геномный импринтинг как эпигенетическая регуляция экспрессии генов. Характер метилирования ДНК, его изменчивость в развитии млекопитающих. Белковые комплексы в определении эпигеномного наследования.

#### **16. Пространственная организация хромосом в ядре и регуляция генной активности.**

Понятие об активных и неактивных доменах в ядре. Роль блоков конститутивного гетерохроматина и белков ядерной ламинаы в инактивации генов. Хромосомные территории. Особенности расположения в ядре богатых и бедных генами хромосом. Выпетливание активно транскрибирующихся генов за пределы хромосомных территорий. Функциональная компартиментализация клеточного ядра.

#### **17. Процессинг РНК.**

Кепирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых РНК полимеразой II. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Альтернативный сплайсинг, примеры. Энхансеры сплайсинга. Биологическая роль альтернативного сплайсинга, примеры. Сопряжения транскрипции, сплайсинга и транспорта РНК из ядра в цитоплазму. Ядерные поры. Транс-сплайсинг, его распространение. «Автосплайсинг». Процессинг тРНК и рРНК у про- и эукариот. РНКазы Р как рибозим при процессинге предшественников тРНК. Роль малых ядрышковых РНК. Интроны групп 1 и 2. Интроны группы 1 как рибозимы. Редактирование РНК. Типы редактирования. Инсерции уридилых остатков, дезаминирование урацила и аденина. Редактирование двухцепочечных участков РНК. Редактирование и регуляция сплайсинга.

#### **18. Центральная догма молекулярной биологии и генетический код.**

Принцип комплементарности в структуре ДНК, редупликация и транскрипция. Поток генетической информации ДНК → РНК → белок. Информационная (кодирующая) РНК, или мРНК. История расшифровки генетического кода. Основные свойства кода. Особенности кодового словаря, семьи кодонов, смысловые и «бессмысленные» кодоны. Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые некодирующие РНК. Современный мир РНК.

#### **19. 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. «Тетрапетли». Псевдоузлы. Тройные взаимодействия. Третичная структура: компактное сворачивание полирибонуклеотидной цепи, дальние комплементарные взаимодействия, спираль-спиральные взаимодействия, формирование крупных доменов. Структура тРНК. Структура рибосомных РНК.



## **20. Генетические и негенетические функции РНК.**

Комплементарное воспроизведение первичной структуры в реакциях репликации и обратной транскрипции. Кодирование первичной структуры полипептидов (белков). Пространственное структурообразование. Функции специфического узнавания и связывания лигандов. Каталитические функции.

## **21. Структура рибосом.**

Локализация рибосом в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы. Морфология рибосом. Подразделение на субчастицы (субъединицы); диссоциация. Тонкая морфология субчастиц. Рибосомные белки, разнообразие, разделение, номенклатура, особенности структуры. Разборка («раздевание») субчастиц; кооперативный характер диссоциации белков. Самосборка, ее последовательные этапы, независимое формирование РНП-доменов. Разворачивание субчастиц; ступенчатый характер разворачивания. Периферийное расположение белков на компактных ядрах РНК. РНК-РНК-контакты при ассоциации рибосомных субчастиц. Рентгеноструктурный анализ рибосомных субчастиц и полных 70S рибосом.

## **22. 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. Перенос аминоацильного остатка на тРНК. 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.

## **23. Эпицикл трансляции и рабочий элонгационный цикл.**

Эпицикл трансляции: инициация, элонгация и терминация. Полирибосома. Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот. Рабочий элонгационный цикл рибосомы; три основных этапа цикла. Парциальные функции рибосомы в ходе трансляции. Локализация функциональных центров рибосомы. А, Р и Е участки связывания тРНК. Полярность считывания матрицы (мРНК) в ходе трансляции.

Бесклеточные системы биосинтеза белка.

История бесклеточных систем. Системы трансляции, сопряженной транскрипции-трансляции и совмещенной транскрипции-трансляции. Прокариотические и эукариотические системы. Основные компоненты систем. Системы непрерывного действия (проточные, обменные).

Кодон-зависимое связывание аминоацил-тРНК в элонгационном цикле.

## **24. Кодон-антикодонное взаимодействие.**

Физические предпосылки гипотезы. Таблица взаимодействий первого положения антикодона. Особенности митохондриального кода и взаимодействий первого положения антикодона. Отклонения от универсальности генетического кода в митохондриях и у некоторых бактерий и простейших эукариот. Участие фактора элонгации EF1 (EF-Tu) в связывании аминоацил-тРНК с рибосомой. Структура EF1 (EF-Tu), его взаимодействия с ГТФ и ГДФ и его структурные переходы («закрытая» и «открытая» конформации). Связывание аминоацил-тРНК комплексом EF1 (EF-Tu) с ГТФ, образование тройственного комплекса. EF1 (EF-Tu) как катализатор этапа связывания аминоацил-тРНК. Нерасщепляемые и медленно расщепляемые аналоги ГТФ; их эффект на этап связывания аминоацил-тРНК с рибосомой. Роль гидролиза ГТФ в процессе связывания. Фактор элонгации EF-Ts, его функция, последовательность реакций с его участием. Антибиотики, воздействующие на этап кодон-зависимого связывания аминоацил-тРНК с рибосомой. Аминогликозидные антибиотики (стрептомицин, неомицин, канамицин, гентамицин и др.),



механизм их действия. Тетрациклины как ингибиторы связывания аминоксил-тРНК с рибосомой; механизмы устойчивости.

Ложное кодирование и сдвиги рамки считывания на этапе кодон-зависимого связывания аминоксил-тРНК с рибосомой. Прочитывание «бессмысленных» (терминирующих) кодонов. Основные закономерности ложного кодирования. Кинетическая коррекция («редактирование») ложного кодирования. Факторы, стимулирующие ложное кодирование. Сдвиг рамки считывания: +1 и -1 сдвиги. Последствия сдвига. Сдвиг рамки при синтезе антиметаболита орнитин-декарбоксилазы.

Особенности кодирования и включения селеноцистеина в полипептидную цепь белка в процессе элонгации. Необходимость специального структурного элемента - специальной «шпильки» на мРНК вслед за UGA у прокариот или специальной структуры в 3'-нетранслируемой области мРНК у эукариот. Участие специального фактора элонгации SELB - аналога и гомолога EF1 (EF-Tu).

## **25. Транспептидация.**

Химия реакции. Пептидил-трансферазный центр большой рибосомной субчастицы; рибозимный катализ. Тетраэдрический интермедиат реакции транспептидации, стереохимия его образования и распада. Ингибиторы транспептидации: хлорамфеникол, линкомицин, амицетин, стрептограмин, анизомицин. 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:Аа-tRNA). «Энзиматическая» и «неэнзиматическая» (бесфакторная) транслокация. Ингибиторы транслокации: фусидовая кислота, виомицин, их механизмы действия.

Ошибки транслокации. «Непотриплетная» транслокация: проскальзывание по гомополимерному участку мРНК, соскальзывание на смежный триплет, «прыжок» через несколько нуклеотидов мРНК. Транслокационный сдвиг рамки. Соскальзывание и сдвиг рамки при трансляции RF2- мРНК.

## **26. Рибосома как молекулярная машина.**

Транслокация как проявление транспортной функции рибосомы. Крупноблочная подвижность рибосомы. Принцип смыкания - размыкания. Подвижность доменов малой субчастицы рибосомы при кодон-зависимом связывании аминоксил-тРНК (рентгеноструктурный анализ). Подвижность в большой субъединице и межсубъединичные сдвиги при связывании аминоксил-тРНК и транслокации. Роль связывания ГТФ и его гидролиза в отборе движений. Полный рабочий цикл рибосомы как единого молекулярного механизма.

## **27. Инициация трансляции.**

Функциональное назначение инициации трансляции. Участники процесса инициации. Основные этапы процесса инициации.

Инициация трансляции у прокариот: факторы инициации, инициаторные кодоны, 3'-конец РНК малой рибосомной субчастицы и последовательность Шайна-Дальгарно в 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. «Внутренняя» инициация трансляции вирусных РНК (IRES-модули). «Внутренняя» инициация без факторов инициации (РНК вируса паралича сверчка). Последовательность событий эукариотической инициации. Цикл инициаторных факторов eIF2:GDP/GTP и eIF2B. 3'-концевые усилители инициации трансляции у эукариот; роль полиаденилового



«хвоста» мРНК; циркуляризация эукариотических полирибосом. «Внутренняя» инициация без факторов инициации (РНК вируса паралича сверчка).

## **28. Регуляция трансляции у прокариот.**

Трансляционная репрессия. Регуляция синтеза рибосомных белков. Авторегуляция синтеза треонил-тРНК-синтетазы. Регуляция трансляции РНК бактериофага MS-2. Трансляционная регуляция антисмысловыми РНК. «Рибопереключатели» - аптамерные модули 5'-нетранслируемых областей мРНК как регуляторы трансляции. Эволюция механизмов регуляции инициации трансляции.

## **29. Регуляция трансляции у эукариот.**

Особая роль регуляции на уровне трансляции у эукариот. Тотальная регуляция трансляции путем фосфорилирования фактора инициации eIF2 (гем-регулируемая фосфокиназа, dsРНК-регулируемая фосфокиназа, фосфокиназа, индуцируемая голоданием, стресс-индуцируемая фосфокиназа). Механизм тотального подавления трансляции при фосфорилировании eIF2. Регуляция инициации короткими рамками считывания, предшествующими основной кодирующей последовательности мРНК. Трансляционная репрессия индивидуальных мРНК. Регуляция трансляции с помощью микроРНК: деградационный механизм через комплементарное связывание с кодирующей областью мРНК («РНК-интерференция»); механизм подавления трансляции через воздействие на 3'-нетранслируемую область.

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. Ингибиторные аминокислотные последовательности растущих полипептидов.

## **30. 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. Схема доменной структуры фактора терминации 1-го класса. Индукция гидролиза сложноэфирной связи пептидил-тРНК в пептидил-трансферазном центре. Эвакуация деацилированной 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.

## **31. Альтернативные пути новосинтезированного полипептида.**

Котрансляционное сворачивание в компактную глобулу. Экспериментальные подходы к изучению котрансляционного сворачивания. Взаимодействие недосвернутого или неправильно свернутого белка с шаперонами. Шапероны и шаперонины прокариот и эукариот - основные типы. Сигнальный пептид. Сигнал-узнающая частица (SRP), ее нуклеопротеидная природа. Взаимодействие сигнал-узнающей частицы с сигнальным пептидом, остановка трансляции, взаимодействие с сигнальным рецептором мембраны эндоплазматического ретикулума. Транслокационный (полипептид-проводящий) канал мембраны эндоплазматического ретикулума - схема строения. Пост-трансляционная трансмембранная транслокация белков у бактерий.

## **32. Предсказание и дизайн белковых структур.**

Опознавание сходства пространственных структур белков по сходству их аминокислотных последовательностей. Попытки предсказания пространственных структур белков их аминокислотным последовательностям *ab initio*.

Свойства аминокислотных остатков. 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..

### **33. 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. Сопряжение элементарных функций белка и гибкость его структуры. Индуцированное соответствие. Подвижность доменов белка. Доменная структура: киназы, дегидрогеназы. Аллостерическая регулировка функции белка. Гемоглобин и миоглобин. 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.

### **34. Аминокислоты как строительные блоки белковой молекулы.**

Классификация, строение и физико-химические свойства аминокислот. Оптическая изомерия. Физико-химические свойства боковых радикалов (боковых цепей) аминокислот. Свойства боковых радикалов аминокислот в составе белков, важные для формирования молекулы. Биохимические методы определения аминокислот и белков. Принципы выделения и очистки белков. Доказательства индивидуальности белка. Микрогетерогенность белков.

### **35. 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.

### **36. Пептидная связь.**

Химическое строение пептидной связи. Цис-транс- изомерия. Стехиометрические параметры пептидной связи, стерические ограничения.. Регулярная и нерегулярная структура белка.

### **37. Вторичная структура белка.**

Роль водородных связей в формировании вторичной структуры. альфа-спираль как важнейший элемент регулярной вторичной структуры белка. Основные свойства альфа-спиралей: формирование дипольного момента, роль боковых радикалов аминокислотных остатков. Виды спиральных структур. Р-структура: параллельное и антипараллельное расположение цепей при формировании слоев. Петли, их локализация на поверхности белков. Р-шпилька как элемент вторичной структуры белков. Топологические диаграммы.

### **38. Принцип модульной организации белковой молекулы.**

Основные мотивы, формируемые элементами вторичной структуры белков. Мотив греческого ключа, Р-а-Р - мотив, цинковые "пальцы", Р-шпилька и т.д. Структурные модули белковой молекулы: Россман-фолд, бета-баррель, бета-пропеллер и др. Биологические функции структурных модулей. Домены, их формирование и значение.



### **39. 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.

### **40. 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.

### **41. альфа-спиральные белки.**

Взаимодействие между двумя альфа-спиралями. Суперспираль - способ упаковки составляющих спиралей. Гептады аминокислот. Лейциновые "молнии". Формирование олигомеризационного домена из 4х  $\alpha$ -спиралей. Семейства альфа-спиральных белков: глобины, цитохромы, циклины, аннексины. Гистоны и строение нуклеосомы.

### **42. 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.

### **43. $\alpha/\beta$ -Структурные белки.**

Способы упаковки параллельных  $\beta$ -структур в белковом домене.  $\alpha/\beta$ -баррели. Роль  $\alpha/\beta$ -структур в формировании гидрофобного ядра, активных центров ферментов. Триозофосфатизомеразы. Расположение  $\alpha$ -спиралей в открытых изогнутых  $\alpha/\beta$ -слоях. НАД-связывающий домен. Возможность предсказания места расположения активных центров ферментов в  $\alpha/\beta$ -структурах. Пируваткиназа, аллостерическая регуляция фермента. "Подковообразный" фолд  $\beta$ -Структурные белки.

Антипараллельные  $\beta$ -тяжи как основной структурный элемент  $\beta$ -белков. Типы образуемых доменов. Белки, связывающие гидрофобные лиганды. Ретинол-связывающий белок. Структура нейраминидазы и G- $\beta$  белка. Мотив греческого ключа в структуре у-кристаллинов. Строение и биологические функции фибронектина. Иммуноглобулиновый и фибронектиновый фолды. Структура гемагглютинаина и его структурные перестройки. Белки с  $\beta$ -спиральными доменами: бактериальные протеазы, пектатлиаза.

### **44. Транскрипционные факторы прокариот.**

Узнавание ДНК белками в прокариотических системах. Факторы, обуславливающие высокую специфичность узнавания ДНК белками. Роль структурного мотива "спираль-поворот-спираль" в узнавании белками нуклеотидной последовательности.  $\lambda$ -Репрессор и  $\sigma$ -белок. Аллостерический контроль связывания белков с ДНК. Репрессор триптофанового оперона, Lac- репрессор, репрессор метионинового оперона: участие  $\beta$ -тяжей в его взаимодействии с ДНК. CAP- белок и его взаимодействие с ДНК.

### **45. 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. HMG- белки, их роль в регуляции работы РНК-полимераз.



#### **46. Специфические транскрипционные факторы эукариот.**

Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых пальцев: структура, специфичность взаимодействия с ДНК. 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 "лейциновых молний". Взаимодействие с ДНК. Трансактивационные домены. Формирование гомо- и гетеродимеров, взаимодействие с факторами модификации хроматина.

#### **47. Белки - факторы элонгации.**

Структура факторов белкового синтеза. EF-Tu - конформационные перестройки в процессе функционирования. EF-G - "молекулярная" мимикрия. РНК-связывающий фолд.

#### **48. Белки в клеточной сигнализации.**

Классы рецепторов. Организация рецепторов, способы их заякоривания в мембране. Структура белков, принимающих участие в клеточной сигнализации. G-белки: структура, функции. ГТФ-азный домен. Трансдуктин. Ras-белок: мутантные формы, онкогенез. Малые G-белки, их разнообразие и функции. SRP-частицы эукариотических клеток и их прокариотические аналоги. Строение пептидных гормонов. Взаимодействие гормона роста с рецептором. Фермент-ассоциированные рецепторы, тирозин-киназные рецепторы. Киназные домены: SH2 и SH3 модули - структура и функция. Структура Src-тирозинкиназы. Инсулиновый рецептор и механизм передачи сигнала: инсулин/ IGF-сигнальный путь. Интегрины - доменная организация, взаимодействие с фибронектином и компонентами внеклеточного матрикса, каскадная передача сигнала.

#### **49. Мембранные белки.**

Биологические функции интегральных мембранных белков, их структурное разнообразие. Особенности выделения и исследования пространственной структуры. Принципы закрепления белков внутри или на поверхности мембраны. Трансмембранные домены рецепторов гормонов. Бактериородопсин, его строение и функционирование. Родопсин - пространственная структура и зрительный каскад. Кристаллические структуры других G-белокзависимых рецепторов (адренергические рецепторы). Порины и родственные им по структуре белки внешней мембраны бактерий. Особенности строения поринов, важные для их транспортной функции. Регуляция биосинтеза и функционирования поринов. Порины как рецепторы связывания колицинов и бактериофагов. Omp-белки. Структура и механизм действия колицинов. Аквапорины. Основные типы ионных каналов. Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы и другие лиганд-управляемые каналы. Структура и механизм действия. Водорастворимые белки, модулирующие лиганд-связывающие домены рецепторов. Калиевые каналы, строение, механизм обеспечения селективности. Нейротоксические белки (и пептиды) из ядов животных (змей, пауков, скорпионов, ядовитых морских моллюсков и др.) в исследованиях рецепторов и ионных каналов.

#### **50. Посттрансляционные модификации белков.**

Образование дисульфидных связей. Йодирование и сульфирование остатков тирозина. N- и O- гликозилирование белков, особенности процессов. Кальнексин и кальретикулин. Гликопротеины. Особый тип белков - протеогликаны. Муцины. Физиологическое значение углеводного компонента. Белки-антифризы. Обратимое гликозилирование цитоплазматических белков. Фосфорилирование белков. АДФ-рибозилирование белков. Липопротеины. LDL- рецепторы. Пренилирование и миристоилирование белков. Белки ядерной оболочки - ламины. Ограниченный протеолиз. Каскады фосфорилирования и протеолиза в клеточной сигнализации (примеры: хемотаксис, апоптоз Белковый сплайсинг).

#### **51. Механизм белкового сплайсинга. Процессы N-O- и N-S-ацильных перестроек,**



трансеэтерификация Структура интеинов. Биологическое значение белкового сплайсинга.

#### **52. Аминоацил-тРНК-синтетазы.**

Два класса АРСаз - особенности структурной организации. Строение сайта связывания тРНК, обеспечивающее специфичность фермента. Участки тРНК, ответственные за специфическое связывание. Взаимодействие белка с аминоацил-тРНК. Функция редактирования.

#### **53. Рибосомные белки.**

Общие черты строения рибосомных белков. РНК-связывающий домен, его взаимодействие с РНК. Полифункциональность рибосомных белков.

#### **54. Фибриллярные белки.**

Коллаген, эластин, кератины, фибронектин, ламинин.

#### **55. Белки, организующие транспортные системы клетки.**

Микротрубочки и микрофиламенты - два типа линейных полимерных треков. Структурные единицы полимеров. Разнообразие актинов и тубулинов, их пост-трансляционные модификации. Процесс полимеризации актина и тубулина. Особенности полимеров, важные для осуществления направленного транспорта. Белки, образующие из линейных филаментов структуры более высокого порядка и связывающие их с мембраной.. Моторные белки, осуществляющие транспорт по микротрубочкам и микрофиламентам, их разнообразие. Механохимический цикл миозина и кинезина. Взаимодействие моторных белков с линейными треками. Направленность и процессивность моторного белка Взаимодействие моторных белков между собой. Белки, контролирующие активность моторных белков.

## **II. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА**

1. Обоснование соответствие направления научного исследования избранному разделу паспорта научной специальности.
2. Обоснование актуальности диссертационного исследования и научно-практической значимости проблемы, решаемой в диссертационном исследовании.
3. Научно-теоретические взгляды российских и зарубежных ученых, известных в избранной предметной области.
4. Информационно-статистические источники расчетов и выводов диссертационного исследования и методы их обработки.
5. Характеристика степени изученности разрабатываемой проблемы с приведением основных результатов предшествующих исследований.
6. Приемы и методы исследования, используемые в работе над диссертационным исследованием.
7. Рабочая гипотеза, цель, задачи и научная новизна диссертационного исследования, их взаимосвязь друг с другом.
8. Значимость полученных в процессе проведения научного исследования результатов для дальнейшего развития научного направления.
9. Практическая значимость и возможность применения в практической деятельности экономических субъектов результатов диссертационного исследования.
10. Результаты доведения результатов исследования до широкой научной общественности в публикациях и выступлениях на конференциях.
11. Апробация результатов диссертационного исследования и личный вклад исследователя в полученные результаты.
12. Постановка задач исследования и результаты их решения в главах диссертационной работы.



13. Логика структуры диссертации и ее соответствие цели и задачам диссертационного исследования.
14. Конкретизация обобщенного решения научной задачи на примере предприятия, группы предприятий, отрасли.
15. Количественная и качественная оценка результатов диссертационного исследования и его сравнение с известными решениями.

#### **Основная литература**

- Альбертс Б., Брей Д., Хопкин К. и др. Основы молекулярной биологии клетки; пер. с англ. — 2-е изд., испр. — М. : Лаборатория знаний, 2018. — 768 с. : ил.
- Кребс Дж., Голдштейн Э., Килпатрик С. Гены по Льюину; пер. 10-го англ. изд. — М. : Лаборатория знаний, 2017. — 919 с. : цв. ил.
- Кассимерис Л. [и др.] Клетки по Льюину; пер. 2-го англ. изд. — М. : Лаборатория знаний, 2016. — 1056 с. : цв. ил.
- Жимулев И. Ф. Общая и молекулярная генетика: учебное пособие / И.Ф. Жимулёв; отв. ред. Е.С. Беляева, А.П. Акифьев - Новосибирск: Сиб. унив. изд-во - 478, [1] с. – 2006
- Ридли М. Геном. М.:Эксмо, 2008.-423с.:с илл..
- Разин С.В., Быстрицкий А.А. Хроматин: упакованный геном — 3-е изд. — М. : БИНОМ

#### **Дополнительная литература**

1. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. / Биология: в 3-х томах (комплект) Т. 1; под ред. Р. Сопера ; пер. 3-го англ. изд. — 9-е изд. — М. : Лаборатория знаний, 2018. — 454 с. : ил.
2. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. / Биология: в 3-х томах (комплект) Т. 2; под ред. Р. Сопера ; пер. 3-го англ. изд. — 9-е изд. — М. : Лаборатория знаний, 2018. — 454 с. : ил.
3. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. / Биология: в 3-х томах (комплект) Т. 3; под ред. Р. Сопера ; пер. 3-го англ. изд. — 9-е изд. — М. : Лаборатория знаний, 2018. — 454 с. : ил.
4. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток : практическое руководство; пер. 5-го англ. изд. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2017. — 691 с. : ил., [24] с. цв. вкл.
5. Новиков А.М., Новиков Д.А. Методология научного исследования. - М.: ЛИБРОКОМ, 2015

Руководитель профиля  
1.5.3. Молекулярная биология  
д.б.н., профессор

*Кочиева*

Е.З. Кочиева