



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук

Принято на заседании
Объединенного ученого совета
ФГБНУ УФИЦ РАН
протокол №8 от 18.06.2019 г.

УТВЕРЖДАЮ

Ио Председателя УФИЦ РАН

Мустафин А.Г.

« 19 » июня 2019 г.



ПРОГРАММА

вступительных испытаний по специальной дисциплине при приеме
на обучение по образовательным программам высшего образования –
программам подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре

03.01.03 –Молекулярная биология

ПРОГРАММА ВСТУПИТЕЛЬНОГО ЭКЗАМЕНА В АСПИРАНТУРУ ПО ПРОФИЛЮ 03.01.03 –МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

I. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

I. Молекулярная биология, ее характеристика как науки

а) Задачи молекулярной биологии в познании основных закономерностей жизнедеятельности.

б) Белки и нуклеиновые кислоты. Общее понятие о функциях белков и нуклеиновых кислот.

в) Общая структурная характеристика белков и нуклеиновых кислот как биополимеров. Понятие о первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурах. Биологическое значение различных уровней структурной организации. Надмолекулярные структуры. Проблема узнавания и проблема катализа в функционировании биологических макромолекул.

II. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

I. Первичная структура нуклеиновых кислот

а) Нуклеотиды - мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания; кето-энольная таутомерия. Сахарный компонент нуклеотида; У- D - фуранозная конфигурация. Нуклеозид; гликозидная связь; Фосфатный остаток, его положение. Различие типы нуклеотидов; терминология.

б) Межнуклеотидные связи. Полярность линейной цепи. Схема полинуклеотидной цепи: пентозофосфатный каркас и боковые группы.

в) Химическая деградация нуклеиновых кислот. Щелочной и кислотный гидролиз. Специфическое расщепление по определенным нуклеотидам.

г) Энзиматическая деградация нуклеиновых кислот. Экзонуклеазы и эндонуклеазы. ДНКазы и РНКазы. Нуклеотид-специфические нуклеазы.

д) Принципы количественного определения нуклеиновых кислот. экстракция нуклеиновых кислот и разделение ДНК и РНК. Ультрафиолетовое поглощение нуклеиновых кислот и его применение.

е) Количественные соотношения азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Правило Чаргаффа. Специфичность количественных соотношений азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Химический метод определения. Видовая специфичность состава ДНК и РНК. Физический метод определения состава ДНК. Равновесное центрифугирование в градиенте плотности. Гетерогенность ДНК по составу.

ж) Нуклеотидная последовательность нуклеиновых кислот. Два принципиальных подхода к определению последовательности. Современные методы прямого определения нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК. Метод Сэнгера. Метод Максама-Джилберта.

з) Значение изучения первичной структуры ДНК для решения проблем эволюции и систематики организмов. Геносистематика.

2. Азотистые основания и водородные связи между ними.

3. Макромолекулярная структура ДНК.

а) Двойная спираль Уотсона-Крика. Принцип комплементарности и его биологическое значение. Реализация водородных связей и гидрофобных взаимодействий. Регулярность структуры и кооперативность. Спирализация. Параметры спирали.

б) Денатурация двуспиральной ДНК. Влияние ионной силы, гидрофобных растворителей, мочевины, рН, температуры. Понятие о "плавлении" спирали; температура "плавления"; связь ее о нуклеотидным составом. Гиперхромный эффект.

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

г) Молекулярная гибридизация ДНК. Установление сходства нуклеотидной последовательности цепей ДНК путем молекулярной гибридизации. Гибридизация РНК-ДНК, ДНК-ДНК.

4. Макромолекулярная структура РНК. Одноцепочечность РНК. Спирализация в РНК (вторичная структура). Внутрицепочечные комплементарные взаимодействия. Длина и количество спиральных участков. Неканонические типы спаривания оснований.

5. Одноцепочечная ДНК и дзучепочечная РНК вирусного происхождения.

111. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БЕЛКОВ

1. Первичная структура белков.

а) Аминокислотные остатки - мономеры белковых цепей. Различные типы аминокислот и их строение. Пептидная связь. Полипептидная цепь.

б) Выделение белков и пептидов.

в) Проверка гомогенности препаратов белков. Диск-электрофорез. Электрофорез в полиакриламидном геле о додецилсульфатом. Изоэлектрофокусирование в полиакриламидном геле. Определение N 'и C-концевых аминокислотных остатков.

г) Определение аминокислотной последовательности. Гидролитическое расщепление белка с помощью протеолитических ферментов. ДНФ-метод Сэнгера. Метод Эдмана. Секвенатор.

д) Значение изучения первичной структуры белков для решения проблем эволюции и систематики организмов. Эволюция первичных структур глобинов, цитохромов, иммуноглобулинов.

2. Пространственная структура белков.

а) Первичная структура белков

б) Вторичная структура белков.

в) Третичная структура белков. Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Солевые и водородные связи. Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. Доменная структура. Пространственные структуры молекул миоглобина, лизоцима, цитохрома, рибонуклеазы, химотрипсина.

г) 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.

д) Фибриллярные белковые структуры. Фиброин шелка, кератин, коллаген, инозин.

3. Денатурация белков. Разрушение нативной конформации белков изменением температуры, рН, обработкой мочевиной, гуанидинхлоридом. Действие детергентов, спиртов, электролитов.

4. Самоорганизация пространственной структуры белковых молекул. Формирование пространственной структуры белковой молекулы - процесс, определяемый только ее первичной структурой.

5. 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) Транспортные белки. Гемоглобин. Механизм его взаимодействия с молекулами кислорода.

в) Защитные белки крови. Иммуноглобулины. Их структура. Иммунная реакция. Видовая специфичность.

г) Сократительные белки. Миозин, актин, тропомиозин. Флагеллин. Динеин, тубулин. АТФазная активность актомиозинового комплекса. Структура мышечных волокон. Представление о механизме мышечного сокращения.

д) Ферменты. Классификация ферментов. Коферменты и витамины. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Бриггса-Холдейна.

е) Функционирование ферментов. Активные центры ферментов. Строение субстратсвязывающих участков (трипсин, химотрипсин, эластаза). Объяснение субстратной специфичности ферментов. Представление о строении активного центра и механизме действия ферментов (лизоцим, карбоксипептидаза, химотрипсин и др.).

ж) Регуляция ферментативной активности. Ингибирование. Активация путем химической (ферментативной) модификации.

з) Аллостерическая регуляция активности ферментов. Аллостерические белки и их биологическая роль. Значение четвертичной структуры белков.

и) Изоферменты. Четвертичная структура изоферментов (лактатдегидрогеназа). Изоферментная регуляция метаболизма на примере изоферментов лактатдегидрогеназы.

к) Полиферментные комплексы. Пируватдегидрогеназный комплекс.

I У. СТРУКТУРА РИБОСОМЫ

1. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Рибосомы митохондрий и хлоропластов. Локализация рибосом в клетке.

2. Размер, внешний вид и подразделение рибосом на две субчастицы. Детальная форма рибосомных субчастиц. Объединение субчастиц в целую рибосому.

3. Рибосомные РНК.

а) Значение рибосомной РНК.

б) Виды рибосомных РНК: высокомолекулярная и низкомолекулярная РНК.

Гомология первичной структуры рРНК разных организмов и систематика,

4. Рибосомные белки.

а) Разнообразие, номенклатура.

б) Первичные структуры.

в) Пространственные структуры.

г) Белковые комплексы.

д) Взаимодействие с рибосомными РНК.

У. СТРУКТУРА ВИРУСОВ

1. Вирусный нуклеопротеид как форма сохранения инфекционного начала - молекулы нуклеиновой кислоты.

2. Химический состав вирусов и вирусных нуклеопротеидов. ДНК-содержащие и РНК-содержащие вирусы. Типы вирусных нуклеиновых кислот (одноцепочечные и двухцепочечные ДНК и РНК, линейные и кольцевые молекулы). Аномальные основания в ДНК бактериофагов. Количественные соотношения нуклеиновой кислоты и белка. Количество молекул нуклеиновой кислоты на одну вирусную частицу. Количество молекул белка. Разнообразие молекул белка.

3. Функции вирусной нуклеиновой кислоты.

4. Функции вирусного белка.

- а) Защитная функция.
 - б) Инвазивная функция. Т-четные фаги, способность проникновения в клетку (механизм).
 - в) Ферментативная функция; полимеразы нуклеиновых кислот, входящие в состав вирусных частиц; другие ферменты.
5. Структура вирусов.
6. Принципы сборки вирусов. Самосборка и другие механизмы.

У1. СТРУКТУРА ХРОМОСОМ

1. Два уровня организации упаковки ДНК в живой природе: -свободная (вирусы, бактерии) и нуклеопротеидная (высшие организмы) форма. Проблема компактной упаковки на обоих уровнях.
- 2. Фаговая "хромосома".
 - 3. Бактериальная хромосома.
 - 4. Хромосомы высших организмов.
- а) Структурная организация молекул гистонов на ДНК (возможная четвертичная структура). Структура хроматина. Фрагментация хромосом. Нуклеосома. Реконструкция хроматина.
 - б) Негистоновый белок в хромосомах.
 - в) Понятие об активной интерфазной и неактивной конденсированной хромосоме. Их структурное различие. Строение митотической хромосомы. Интерфазная хромосома как сочетание функционирующего и нефункционирующего состояния нуклеопротеида. Дифференцированность хромосомы по длине. Хромомеры, эухроматин и гетерохроматин.
 - г) Сателлитные ДНК и организатор ядрышек как компоненты гетерохроматина.

У1. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ХРОМОСОМ

1. Локализация генов в хромосомах. Принцип линейного расположения генов в хромосоме.
2. Химическая природа генов. Отождествление генов с ДНК.
- а) Корреляция между воздействиями на ДНК и мутациями у высших организмов.
 - б) Трансформация бактерий с помощью чистой ДНК. Опыт Эвери, Мак-Леода и Мак-Карти (1944).
 - в) Заражение бактерия бактериофаговой ДНК. Опыт Херши и Чейз (1952).
3. Многочисленность генов на одной молекуле ДНК. Пример с ДНК бактериофага. Отождествление гена с ограниченным участком ДНК.
4. Фиксированное расположение генов вдоль молекулы ДНК.
5. Понятие о мутации как точечном изменении в определенном участке ДНК. Фенотипическое выражение мутации: изменение, ослабление или выпадение функции. Мутации разных генов. Мутации внутри одного гена. Транзиции и трансверсии.
- б. Белок заданной структуры как реализация специфичности гена.
 - а) Гипотеза "один ген - один фермент" как следствие развития молекулярной генетики. Дальнейшее развитие гипотезы: "один ген - одна полипептидная цепь". Предшественники белков и случаи "один ген - несколько полипептидов" (например, нейрогомоны).
 - б) замена аминокислоты как структурное проявление мутации гена. Гемоглобиновые мутанты человека.
 - в) Перекрывающиеся гены. Некодирующие вставки ("интроны") внутри кодирующей последовательности в генах эукариот. Процессинг и сплайсинг про-мРНК.

УШ. РЕДУПЛИКАЦИЯ, РЕКОМБИНАЦИЯ И МОДИФИКАЦИЯ ДНК

I. Редупликация ДНК.

- а) Полуконсервативный механизм редупликации (опыт Меселсона и Сталя, 1958).
 - б) Механизм биосинтеза ДНК. Роль матрицы, дНТФ, образование комплементарного продукта. Аналоги обычных оснований, роль в мутагенезе, в ДНК фагов. Точность редупликации ДНК и измененные ДНК-полимеразы как мутаторы. Синтез ДНК как последовательное присоединение нуклеотидов к 5'-ОН-концу затравки. Направление редупликации хромосомы и парных нитей ДНК-матрицы. Расплетение двойной спирали ДНК-матрицы. "Расплетающие" белки. Инициация с ДНК-затравкой, фрагменты Оказаки.
 - в) ДНК-полимераза I (Корнберга). Ее ферментативные активности (полимеризующая, 3'-5*, 5,3 экзонуклеотические), их роль в синтезе ДНК.
 - г) ДНК-лигазы. Роль в образовании ДНК.
 - д) Мутации по ДНК-полимеразе I и открытие ДНК-полимераз II и III. Гены *E. coli*, кодирующие ДНК-полимеразы. Механизм образования второй нити на одностранных ДНК бактериофагов M13 и ФХ174. Синтез одностранной ДНК на репликативной форме вирусных ДНК. РНК-полимеразы, образующие РНК-затравки для инициации синтеза ДНК. Инициационный комплекс: ДНК-полимераза III, белковые кофакторы, ДНК-зависимая АТФаза, "расплетающий" белок, АТФ. Элонгация ДНК. Роль ДНК-полимеразы I.
 - е) Белки, катализирующие разрыв-воссоединение нитей ДНК: ДНК-топоизомераза I ("ДНК-релаксаза") и II ("ДНК-гираза"). Образование и снятие сверхспирали. Роль в редупликации ДНК. Сверхспирализация ДНК при сборке нуклеосом.
 - ж) Регуляция редупликации хромосом бактерий. Понятие о репликоне.
 - и) Плазмиды, эписомы, бактериогенные факторы, факторы резистентности и токсичности. Значение для бактериологии.
 - к) Схема репликаона. Белок гена А фага ФХ174 как инициатор репликации ДНК. Нуклеотидная последовательность места начала репликации.
2. Синтез ДНК на матрице РНК ("обратная" транскрипция). Роль затравки.
 3. Молекулярный механизм мутаций.
 - а) Мутации, возникающие в процессе редупликации ДНК.
 - б) Точечные мутации, вызываемые прямым химическим изменением нуклеотидов в ДНК. Генетические и структурные последствия точечных мутаций (аминокислотные замены).
 - в) Мутации со "сдвигом фазы" (делетии и вставки нуклеотидов). Акридиновые красители как мутагены. Генетические и структурные последствия мутаций со "сдвигом фазы".
 - г) Полярные мутации в результате вставок IS -элементов и фагов типа Мю.
 4. Экспериментальная расшифровка общих черт генетического кода.

Понятие о кодовом отношении, о кодонах, о перекрываемости кодонов, о "запятых", о вырожденности кодонов с помощью точечных мутаций.
 5. Модификация и рестрикция ДНК.
 - а) Метилирование ДНК. Донатор -S -аденозил-метионин; акцепторные азотистые основания, роль последовательности нуклеотидов. Энзимология метилирования ДНК. Метилирование ДНК фагов и бактерий.
 - в) Рестрикция неметилированной ДНК. Ферменты рестрикции и модификации. Генетические и биохимические данные об их структуре. Последовательность нуклеотидов, специфичность рестриктаз, механизм их действия. Рестриктазы I, II и III классов.
 6. Репарация повреждений ДНК.
 - а) Система световой репарации ДНК.

б) Темновая репарация ДНК. Вырезание тиминовых димеров и застройка бреши. Этапы процесса. Роль ферментов: эндонуклеазы, ДНКазы, ДНК-полимеразы I, лигазы.

7. Генетическая рекомбинация.

а) Типы генетической рекомбинации у бактерий и фагов.

б) Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор - эписома. Автономное и интегрированное состояние полового фактора. Половые ворсинки. Пиллин.. Генетическая структура полового фактора. Передача ДНК от донорных клеток реципиентным.

в) Транспозоны: перемещающиеся элементы, содержащие гены устойчивости к ядам, заключенные между IS -элементами. Роль повторяющихся последовательностей ДНК в рекомбинации. Роль повторяющихся элементов генома (IS , *Tn*, плазмид) в эволюции бактерий.

г) Молекулярные механизмы трансдукции, трансформации, рекомбинации фагов и эписом.

д) неравный кроссинговер как основа удвоения участков ДНК. Его роль в эволюции белков.

з) Перемещающиеся генетические элементы эукариот и генетическая нестабильность: Ту-элементы дрожжей, МДГ дрозофилы. Общность строения перемещающихся элементов. Ретровирусы как перемещающиеся элементы ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.

8. Генная инженерия.

а) Создание специфических трансдуцирующих фагов, несущих заданные гены.

б) Химический синтез гена по Корана. Использование лигазы. Олигонуклеотиды.

в) Синтез генов на информационных РНК РНК-зависимыми ДНК-полимеразами.

г) Включение фрагментов в состав плазмид и фагов *ин витро*. Использование рестриктаз и ДНК-лигазы. Трансформация (трансфекция) бактерий гибридными плазмидами и фагами. Селекция трансформантов.

д) Присоединение к плазмидам и фагам генов животных. Транскрипция и трансляция чужеродных генов в клетках бактерий.

з) Трансгенные растения и животные.

IX. ТРАНСКРИПЦИЯ И БИОСИНТЕЗ РНК

1. Открытие информационной РНК.

2. Матричный синтез РНК.

а) РНК-полимеразная реакция. Условия и ход реакции. Комплементарность продукта матрице. "Скользкий" синтез полиА.

б) Этапы синтеза РНК. Присоединение РНК-полимеразы к ДНК. Понятие о промоторах. Последовательность нуклеотидов в промоторах. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Антибиотики - ингибиторы транскрипции .

в) Структура РНК-полимеразы. Роль ее субъединиц в транскрипции. Сигма -фактор инициации. Модификация РНК-полимеразы при развитии бактериофагов. Новые полипептиды в РНК-полимеразе при фаговой инфекции и специфичность синтеза РНК.

4. Регуляция транскрипции у бактерий.

а) "Классическая" схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и репрессия синтеза ферментов. Репрессор лактозного оперона. Эфффекторы. Генетическое изучение структуры оперона. Оператор. Разные типы мутаций по репрессору и оператору. Последовательность нуклеотидов в операторе, его структурные взаимоотношения с промотором и структурными генами.

б) Взаимодействие и роль разных механизмов регуляции транскрипции у прокариот.

5. Регуляция транскрипции у эукариот.

а) Стабильность мРНК. Дифференцировка без синтеза РНК у ацетабулярии.

Субстратная индукция.

б) Данные о регуляторных участках генов. Гемоглобины в онтогенезе. Телассемия. Генетика соматических клеток: методы, взаимное влияние геномов в гибридах, онкогенные вирусы в гибридах. Позитивная и негативная регуляция в клетках эукариот.

в) Возможная роль гистонов и негистоновых белков хроматина. Модификация гистонов. Матричная активность хроматина. Изменение структуры хроматина как механизм регуляции транскрипции. Пуффы на хромосомах, петли на хромосомах типа "ламповых щеток", структура и активность половых хромосом, гетерохроматин и эухроматин, эффект положения гена. Гипотеза "один ген -один хромомер".

г) Уникальные и повторяющиеся структурные гены белков. Псевдогены.

д) Общая структура генома; уникальные и повторяющиеся последовательности в ДНК.

е) Гены рибосомных РНК у эукариот. Предшественники рРНК и их созревание.

Организаторы ядрышек.

ж) Три типа РНК-полимераз животных.

з) Гигантские предшественники мРНК, их структура и созревание. Устранение "интронов" ("сплайсинг"). Образование 5'-концевой полиА и 5-метил-гуаниловой группы.

6. Ферментативный синтез РНК на матрице РНК при вирусной инфекции (РНК-содержащими вирусами).

а) Проблема редупликации вирусной РНК. РНК-зависимая РНК-полимераза. "Вирусная" природа фермента. Бактериальные РНК-содержащие вирусы.

б) Этапы вирусной инфекции при заражении РНК-содержащими бактериофагами, у которых геном представляет собой "+" РНК: депротенинизация вирусной РНК в клетке, соединение вирусной РНК с рибосомами клетки хозяина, синтез РНК-синтетазы, репликация "+" и "-" цепи вирусной РНК и дальнейший синтез белков, самосборка вирусных частиц.

в) Особенности репликации РНК у вирусов, у которых геном представляет собой "-" РНК и двуцепочечную РНК.

Х. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

I. Информационная РНК и генетический код.

а) Открытие мРНК.

б) Расшифровка генетического кода: триплетность и неперекрываемость; состав кодонов; нуклеотидная последовательность кодонов; подтверждение на основе синтетических регулярных матриц.

в) Некоторые особенности кодового словаря: вырожденность, кодоновые семьи; универсальность.

г) Структура мРНК: первичная структура; Функциональные участки; пространственная структура и ее роль в синтезе белка.

2. Транспортные РНК и аминоксил-тРНК-синтетазы.

а) Открытие тРНК. Адапторная гипотеза Крика и ее доказательство. Изоакцепторные тРНК.

б) Структура тРНК.

первичная структура: длина цепей, 3'-конец, "минорные" нуклеотиды, консервативные участки; вторичная структура: "клеверный лист", двуспиральные и односпиральные

участки, каноническое и неканоническое спаривание оснований; третичная структура.

в) Аминоацил-тРНК-синтетазы: специфичность, разнообразие, субъединичная структура. Особенности эукариотических синтетаз.

3. Общее представление о трансляции.

а) Стадии трансляции: инициация, элонгация и терминация.

б) Последовательное считывание мРНК рибосомами. Полирибосомы.

в) Рабочий (элонгационный) цикл рибосомы.

г) Химические реакции и энергетический баланс биосинтеза белка.

д) Бесклеточные системы.

X1. СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ.

а) Клонирование ДНК.

б) Полимеразная цепная реакция.

в) Сайт-направленный мутагенез.

ЛИТЕРАТУРА

Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. - М., 1978.

Ленинджер. Основы биохимии. М., 1985.

Страйер Л. Биохимия. - М., 1985.

Спирин А.С. Структура рибосом и биосинтез белка. - Пушкино, 1984.

Ичас М. Биологический код. - М., 1971.

Стент Г. Молекулярная генетика. - М., 1974.

Хесин Р.Б. Непостоянство генома. - М., 1985.

Льюин Б. Гены. - М., 1987.