

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования**

**«Российский национальный исследовательский медицинский университет  
имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России)**

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. декана медико-биологического факультета

Шимановский Н.Л. /  /

«29» августа 2016 г.



**АННОТАЦИЯ РАБОЧЕЙ ПРОГРАММЫ ДИСЦИПЛИНЫ**

**«МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»**

Направление подготовки (специальность): 30.05.01 Медицинская биохимия

Направленность образовательной программы (профиль) Медицинская биохимия

Форма обучения: очная

Москва 2016

При разработке рабочей программы учебной дисциплины в основу положены:

- 1) ФГОС ВО по специальности 30.05.01 Медицинская биохимия, утвержденный Министерством образования и науки РФ «11» августа 2016 года № 1013
- 2) Учебный план по специальности 30.05.01 Медицинская биохимия

Составители:

Фаворова О.О., д.б.н., профессор, зав. каф.

Кулакова О.Г., к.б.н., доцент

Матвеева Н.А., к.б.н., доцент

Скамров А.В., к.б.н., доцент

Ответственный рецензент:

Мошковский С.А., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии Медико-биологического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Рабочая программа дисциплины рассмотрена и одобрена на заседании кафедры молекулярной биологии и медицинской биотехнологии МБФ, протокол № 1 от «29» августа 2016 г.

Заведующий кафедрой  /Фаворова О.О./

Рабочая программа дисциплины рассмотрена и одобрена Советом Медико-биологического факультета, протокол № 1 от «29» августа 2016 г.

Председатель Совета факультета



/Шимановский Н.И./

### 1. Целью изучения дисциплины является:

ознакомить студентов с современным состоянием науки «Молекулярная биология», дать им знания о фундаментальных понятиях молекулярной биологии и их значении для медицины, воспитать у них навыки анализа медико-биологические социально-значимые проблемы с точки зрения лежащих в их основе молекулярных процессов, способность использовать на практике методы молекулярно-биологических исследований, сформировать у студентов современное естественно-научное мировоззрение на основе знания механизмов передачи и реализации генетической информации для дальнейшего проведения лечебно-диагностической, медико-просветительской, научно-исследовательской, научно-методической, педагогической деятельности с целью сохранения и обеспечения здоровья населения, улучшения его качества.

### 2. Задачи, решаемые в ходе освоения программы дисциплины:

- приобретение студентами знаний в области фундаментальной и прикладной молекулярной биологии;
- формирование у студентов представлений о патологических состояниях как результате нарушения молекулярных механизмов внутриклеточных процессов;
- ознакомление студентов с основными технологиями структурного и функционального анализа биополимеров, включая компьютерные программы и алгоритмы исследования нуклеотидных и белковых последовательностей;
- обучение студентов важнейшим методам молекулярной биологии и геной инженерии, позволяющим проводить основные этапы молекулярной диагностики;
- формирование навыков изучения и анализа научной и практической медицинской и медико-биологической литературы.

### 3. Место дисциплины в структуре ООП:

Учебная дисциплина «Молекулярная биология» изучается в 9 семестре.

### 4. Перечень разделов и (или) тем дисциплины и их дидактическое содержание

№ п/п	№ компетенции	Наименование раздела (темы) дисциплины	Содержание раздела (темы) в дидактических единицах
1	2	3	4
<b>Раздел I. Нуклеиновые кислоты</b>			
1.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Введение в молекулярную биологию.	Молекулярная биология, ее характеристика как науки, занимающейся исследованием биополимеров, их компонентов и комплексов, структуры и функции генов и геномов. Задачи молекулярной биологии: познание основных закономерностей жизнедеятельности. Фундаментальное и прикладное значение молекулярной биологии в медицине. Задачи молекулярной биологии: познание основных закономерностей жизнедеятельности исходя из структуры макромолекул. Белки и нуклеиновые кислоты. Общее понятие об их функциях. ДНК как генетический материал. Природа генетической информации. Воспроизведение и сохранение ДНК в ряду поколений - репликация и репарация. Перераспределение генетического материала, приводящее к возникновению новых комбинаций генов - рекомбинация. Декодирование генетической информации молекулами РНК - транскрипция. Биосинтез белков по матрице РНК -

			<p>трансляция. Регуляция этих процессов. Центральная догма молекулярной биологии. Обратная транскрипция. РНК как генетический материал ретровирусов.</p> <p>Локализация генов в хромосомах. Принцип линейного фиксированного расположения генов в хромосоме. Корреляция между воздействиями на ДНК и мутациями у высших организмов. Трансформация бактерий с помощью чистой ДНК. Опыт Эвери, Мак-Леода и Мак-Карти. Заражение бактерии бактериофаговой ДНК. Опыт Херши и Чейз. «Физическое» картирование генов.</p> <p>Белок заданной структуры как реализация специфичности гена. Колинеарность гена и полипептидной цепи. 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». Перекрывающиеся гены.</p> <p>Постгеномная эра биологии. Геномика. Протеомика. Стабильность генома и динамичность протеома. Биоинформатика: сравнение последовательностей нуклеотидов, сравнение последовательностей аминокислотных остатков. Идентификация функциональных областей генома на основе нуклеотидного состава. Выявление функционально значимых участков белков. Банки данных.</p> <p>Внедрение достижений молекулярной биологии в биомедицинские исследования. Возникновение и становление молекулярной медицины как науки. Создание принципиально новых подходов в диагностике, прогностике и лечении многих социально значимых заболеваний, а также в идентификации личности. Новые молекулярно-биологические медицинские биотехнологии.</p>
2.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Структура и свойства нуклеиновых кислот.	<p>Первичная структура нуклеиновых кислот. Нуклеотиды – мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания; кето-енольная таутомерия. Сахарный компонент нуклеотида; С'2-эндо- и С'3-эндо-конфигурации пентоз. Нуклеозиды; N-гликозидная связь, син- и анти-конформации. Нуклеотиды – фосфорные эфиры нуклеозидов. Различные типы нуклеотидов: нуклеозид-5' (или 3')-монофосфаты; дифосфаты; трифосфаты. Макроэргические связи между альфа- и бета-фосфатами, между бета- и гамма-фосфатами. Нейтрализация отрицательно заряженных фосфатных групп ионами металлов. Межнуклеотидные 5'-3'- фосфодиэфирные связи. Полярность линейной связи. Строение полинуклеотидной цепи как неразветвленного полимера. Энзиматическая деградация нуклеиновых кислот. Экзонуклеазы и эндонуклеазы. ДНКазы и РНКазы.</p> <p>Количественное соотношение азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Правила Чаргаффа. Первичная структура биологического полимера. Нуклеотидная последовательность нуклеиновых кислот. Минорные нуклеотиды РНК. Определение нуклеотидной последовательности ДНК химическим секвенированием по Максаму-Гилберту и методом дидезокситерминирования цепи по Сэнгеру. Флуоресцентная детекция. Автоматическое секвенирование. Физико-химические свойства функциональных групп нуклеиновых кислот и возможности нековалентных взаимодействий между ними. Влияние ионной силы на конформационные изменения полиэлектролита и на агрегацию цепей. Азотистые основания и водородные связи между ними. Уотсон-Криковские комплементарные пары оснований. Азотистые основания и</p>

			<p>гидрофобные взаимодействия плоскостей колец оснований. Гидрофобные взаимодействия в полинуклеотидах; «стопкообразование».</p> <p>Макромолекулярная структура ДНК. Двойная спираль Уотсона – Крика. Принцип комплементарности и его биологическое значение. Реализация водородных связей и гидрофобных взаимодействий. Антипараллельные цепи с идентичным информационным содержанием. Регулярность структуры и кооперативность. Спирализация. Параметры спирали. Правоспиральные В- и А- формы ДНК; конформации углеводного остатка и нуклеозида в них. Левоспиральная Z-форма ДНК; перемежающиеся конформации углеводных остатков и нуклеозидов. Условия взаимопереходов между разными формами ДНК. Жесткость молекулы ДНК.</p> <p>Денатурация двуспиральной ДНК. Природа кооперативности. Ренатурация ДНК. Молекулярная гибридизация ДНК. Установление сходства нуклеотидной последовательности цепей ДНК путем молекулярной гибридизации. Гибридизация РНК-ДНК.</p> <p>Макромолекулярная структура РНК. Одноцепочечность РНК. Спирализация в РНК (вторичная структура). Внутрицепочечные комплементарные взаимодействия. 3'-эндо-конформация рибозы. А-форма спирали РНК. Длина и количество спиральных участков. Неканонические типы спаривания оснований. Петли, дефекты и внутренние петли шпильки РНК. Расчет вероятности шпилькообразования по минимальной свободной энергии. Филогенетический анализ вторичной структуры РНК. Третичная структура одноцепочечных РНК. Взаимодействие между спиральными участками. Структурные домены в РНК. Рентгеноструктурный анализ тРНК. Максимальный стэкинг. Третичные взаимодействия. Стабилизация ионами двухвалентных металлов. Вторичная структура рибосомных РНК.</p>
<b>Раздел II. Манипуляция с генетическим материалом</b>			
3.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Генная инженерия	<p>Основные понятия генной инженерии: клонирование, трансформация, вектор. Основные свойства векторов, используемых в генной инженерии. Векторы замещения. Инсерционные векторы.</p> <p>Векторы на основе плазмид. Участок <i>ori</i>, селективные маркеры, полилинкер. Система модификации-рестрикции бактерий. Рестриктазы второго типа. Изошизомеры. Другие ферменты, используемые в генной инженерии: ДНК-лигазы, ДНК-полимеразы, полинуклеотидкиназа фага T4, фосфатазы. Способы встраивания чужеродной ДНК в вектор. Геномные клонотек. Представительность клонотек, минимальное число анализируемых клонов.</p> <p>Анализ нуклеиновых кислот с помощью электрофореза. Разрешающая способность геля. Агарозные и акриламидные гели. Методы визуализации нуклеиновых кислот в геле. Конформация молекул нуклеиновой кислоты при электрофорезе. Денатурирующий электрофорез. Капиллярный электрофорез. Импульс-электрофорез.</p> <p>Плавление ДНК. Температура плавления, интервал плавления. Гибридизация. Примеры «+» и «-»-гибридизации. Мембраны для иммобилизации нуклеиновых кислот. Получение ДНК- и РНК- зондов для гибридизации, Саузерн- и Нозерн-гибридизация. Использование изотопов и флюоресцентных красителей. Создание геномных клонотек, покрывающих геном. Скрининг геномных клонотек.</p> <p>Картирование. Физические карты, генетические карты.</p>

			<p>Масштаб физической и генетической карты. Рекомбинационные единицы. Клонотеки, представляющие отдельные хромосомы. "Шаги" и "прыжки" по хромосоме. Энциклопедии генов.</p> <p>Определение последовательности нуклеотидов. Метод полимеразной достройки ДНК с использованием модифицированных нуклеотидов-терминаторов (метод Сэнгера), метод специфической химической модификации оснований с последующим расщеплением ДНК (метод Максама-Гильберта). Автоматическое секвенирование. Определение последовательностей нуклеотидов длинных фрагментов ДНК.</p> <p>Полимеразная цепная реакция. Области применения. Основные параметры реакции. Термостабильные ДНК-полимеразы.</p>
<b>Раздел III. Сохранение ДНК в ряду поколений</b>			
4.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Репликация ДНК.	<p>Репликация ДНК – основа размножения живых организмов, передачи наследственных свойств из поколения в поколение и развития многоклеточного организма из зиготы. Жесткая связь между репликацией и сегрегацией генома. Блокировка повторной репликации ДНК. Единица репликации – репликон. Единственный репликон бактерий и множество репликонов эукариот. Контроль репликации на уровне инициации. Размеры репликонов. Рекомбинационные единицы. Упорядоченная инициация их репликации в S-фазе клеточного цикла.</p> <p>Полуконсервативный механизм репликации (опыт Мезельсона и Сталь, 1958 г.). Расхождение цепей ДНК. Точка начала репликации – участок связывания инициаторного белка. Ogi C <i>E.coli</i>. ARS дрожжей. Репликативная вилка. Одно- и двунаправленная репликация. Глазок. Дихотомическая репликация у бактерий. Репликация кольцевых двунитевых ДНК по схеме Кэрнса (образование тета-структуры), по типу «катящегося кольца», «разматывающегося рулона» и «D-петли».</p> <p>Принципы репликации ДНК. ДНК-полимеразы. Роль ДНК-матрицы и РНК-затравки. Дезоксинуклеозидтрифосфаты как субстраты. Ион <math>Zn^{2+}</math> в активном центре. Синтез ДНК как последовательное присоединение нуклеотидов к 3'-ОН-концу затравки. Образование комплементарного продукта. Расщепление неорганического пирофосфата пирофосфатазой. Уровень точности репликации ДНК. Корректирующая 3'-5' экзонуклеазная активность ДНК-полимераз. Праймазы – РНК-полимеразы, образующие РНК-затравки для инициации синтеза ДНК. Расплетение двойной спирали ДНК-матрицы хеликазами. Дестабилизирующие белки. Участие топоизомераз. Прерывистый синтез ДНК. Ассиметрия репликационной вилки. Фрагменты Оказаки.</p> <p>ДНК-полимеразы <i>E.coli</i> – I (фермент Корнберга), II и III. Их четвертичная структура, количество молекул на клетку. Универсальные ферментативные активности – 5'-3'-полимеризующая (элонгация) и 3'-5'-экзонуклеазная (корректирующая). Уникальная 5'-3'-экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы I. Фрагмент Кленова и малый субфрагмент РНК-полимеразы I. Реакция переноса однонитевого разрыва («ник-трансляция»). АТР-азная активность ДНК-полимеразы III. Функции ДНК-полимераз в клетке <i>E.coli</i>: роль ДНК-полимеразы I в удалении дефектов при репарации и РНК-затравки при репликации; II – в репарации; III – в репликации (репликаза с высокой процессивностью и скоростью полимеризации).</p>

			<p>Детальная картина синтеза ДНК в репликативной вилке <i>E.coli</i>. Хеликазы – «шагающие» аллостерические белки. Праймосома – комплекс хеликазы и праймазы на запаздывающей цепи. Хеликаза <i>rep</i> на ведущей цепи. Строение ДНК-полимеразы III и ее функционирование в репликативной вилке холофермента. Минимальный фермент, связывающий белок, гамма-комплекс, бета-зажим.</p> <p>Механизм обеспечения согласованного синтеза ведущей и отстающей цепи. Реплисома. Завершение синтеза запаздывающей цепи из фрагментов Оказаки. Совместное действие ДНК-полимеразы I и РНКазы N. ДНК-лигаза и механизмы ее действия. Энергетический баланс репликации.</p> <p>Инициация репликации у <i>E.coli</i>. Связывание инициаторного белка DnaA со сверхспирализованной ДНК участка <i>ori</i>. Расплетание ДНК: гистоподобный белок HU, связывание хеликазы и сборка праймосомы. Участие РНК-полимеразы, топоизомеразы I и РНКазы N.</p> <p>Репликация ДНК у эукариот. Пять эукариотических ДНК-полимераз. Ядерные альфа, бета-, дельта- и эpsilon--ДНК-полимеразы. Митохондриальная гамма-ДНК-полимераза. Высокопроцессивные репликазы ведущей (бета, эpsilon) и запаздывающей цепи (альфа). Связывание ДНК-полимеразы дельта с ядерным антигеном пролиферирующих клеток (PCNA). Праймаза – одна из субъединиц ДНК-полимеразы. Завершение синтеза запаздывающей цепи: удаление РНК-затравки РНКазой N и 5'-3' экзонуклеазой, заполнение бреши ДНК-полимеразами альфа и бета, сшивание фрагментов. Модель репликации нуклеосомной ДНК.</p> <p>Проблема репликации концов линейных ДНК хромосом (теломер). Построение теломер из коротких G-богатых повторов. Укорочение теломерной ДНК вследствие «недорепликации» 3'-концевых участков ДНК как счетчик времени, определяющей старение клетки. Функции теломер. Механизмы восстановления недореплицированных концов в гаметогенезе: транспозиция (у дрожофилы), участие теломеразы. Теломераза – обратная транскриптаза с РНК-компонентом (РНК-матрицей для наращивания 3'-конца теломеразы). Достраивание запаздывающей цепи ДНК-полимеразой.</p>
5.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Система рестрикции-модификации. Репарация ДНК.	<p>Система рестрикции-модификации у эубактерий. Ее значение для уничтожения чужеродной ДНК. S-аденозилметионин – донор метильных групп. Системы рестрикции трех типов. Метилазы и рестриктазы типа II – отдельные ферменты. Узнавание и разрезание рестриктазами типа II коротких специфических (обычно полиндромных) последовательностей (4-6 пар оснований) с образованием «липких» или «тупых» концов. Бифункциональные ферменты типа III и I; их ассиметричные участки узнавания. Различия их участков разрезания по степени удаленности от участка узнавания. Взаимоисключающие реакции рестрикции-метилирования у ферментов типа I: АТФ и S-аденозилметионин как альтернативные субстраты или эффекторы. Борьба бактериофагов с системами рестрикции хозяина.</p> <p>Репарация ДНК – механизм исправления повреждений в ней. Типы повреждающих изменений в ДНК (точковые мутации, структурные нарушения) и их последствия. Универсальность принципов репарации у про- и эукариот. Эффективность систем репарации. Некоторые типы спонтанных и индуцируемых повреждений ДНК и их прямой реактивации.</p> <p>Эксцизионная репарация (на примере <i>E.coli</i>), принцип использования информации ненарушенной цепи. Удаление</p>

			<p>аномального основания специфической ДНК-N-гликозидазой с последующей репарацией AP-сайта. Репарация повреждений, заметно нарушающих вторичную структуру: удаление тимидиновых димеров белками системы Uvr ABC.</p> <p>Индукцируемая репарация. Включение SOS-системы при УФ-облучении: возрастание активности генов <i>Uvr ABC</i>, блокирование деления клеток, индукция синтеза белка <i>гесА</i>, индукция генов <i>umuDC</i>. Репарация с участием продуктов <i>umuDC</i> определяет мутагенный эффект УФ-облучения и многих химических мутагенов. Роль активного репрессора <i>lex A</i> в индукции SOS-системы. Взаимодействие <i>lex A</i> и <i>гесА</i>. Высокая энергоёмкость SOS-системы.</p> <p>Репарация неспаренных нуклеотидов, механизмы их появления (ошибки полимераз, гетеродуплексы при гомологичной рекомбинации). Зависящая от метилирования метилазой <i>dam</i> репарация дочерней цепи; действие продуктов генов <i>mut HLS</i> только на полуметилированную ДНК. Репарация, зависящая от одноцепочечных разрывов или брешей.</p> <p>Другие функции метилирования. Метилирование может облегчить мутагенез. 5-метилцитозин как «горячая точка» мутагенеза. Функция метилирования у эукариот: распознавание функционального состояния генов.</p>
6.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Генетическая рекомбинация	<p>Понятие генетической рекомбинации - перераспределение генетического материала, приводящее к возникновению новых комбинаций генов. Обеспечение генетической изменчивости. Типы рекомбинации. Гомологичные молекулы ДНК.</p> <p>Гомологичная, или общая рекомбинация (кроссинговер). Ее единые принципы, наличие общей гомологии между рекомбинирующими ДНК и участие большого набора специальных белков. Разрыв – перевоссоединение цепей. Формирование гетеродуплекса. Случаи гомологичной рекомбинации – в профазе первого деления мейоза, в соматической клетке на стадии G1, после конъюгации или трансдукции бактериофагом у <i>E.coli</i> (вблизи обеих концов линейного фрагмента).</p> <p>Эктопическая рекомбинация между гомологичными участками одного генома как частный случай гомологичной рекомбинации. Возникновение делеций, инверсий и дупликаций.</p> <p>Общая модель кроссинговера (модель Холидея). Полухиазма Холидея, ее удлинение («миграция ветвления»), изомеризация и разрешение. Равная вероятность образования некрссоверных (с внутренним гетеродуплексом) и крссоверных хроматид. Универсальность модели Холидея. Ее экспериментальное подтверждение. Резолвазы и белки, осуществляющие миграцию ветвления. Конверсия гена – коррекция гетеродуплекса по типу эксцизионной репарации.</p> <p>Общая рекомбинация у <i>E.coli</i>. Генетический контроль и молекулярный механизм. Функция главного рекомбинационного белка Rec A (продукт гена <i>rec A</i>) <i>in vitro</i> – приводит во взаимодействие одноцепочечную ДНК с гомологичным дуплексом. Rec A как ДНК-зависимая АТФаза, имеющая два сайта связывания ДНК. Rec A – ДНК-филамент: его последующее связывание с «голой» ДНК; образование D-петли.</p> <p>Основной путь рекомбинации у <i>E.coli</i>: Rec BCD. Инициация рекомбинаций Rec BCD-нуклеазой (ДНК-зависимая АТФаза, хеликаза, экзо- и эндонуклеаза). Образование рекомбиногенного одноцепочечного 3'-конца в хи-сайте, роль SSD белков; связывание Rec A. Разрезание D-петли, образование полухиазмы. Залечивание бреши и</p>



			<p>разрывов ДНК-полимеразой и ДНК-лигазой. Миграция ветвления и разрешение полухиазмы с участием белков RuvA, RuvB, RuvC.</p> <p>Роль гомологичной рекомбинации. Пострепликативная, или рекомбинационная репарация прокариот: незастроенная брешь против повреждения. Митотическая рекомбинация у эукариот: репарация двуцепочечного разрыва, генная конверсия протяженных вставок (или делеций) у дрожжей. Мейотическая рекомбинация в профазе первого деления. Синаптонемный комплекс. Рекомбинационный узелок. Хиазмы – морфологический результат произошедшего кроссинговера. Неравный кроссинговер. Модель мейотической рекомбинации. Ее экспериментальное подтверждение.</p> <p>Биологическое значение гомологичной рекомбинации. Рекомбинационная репарация. Вклад в генетическую изменчивость путем перекомбинации генов. Перестройки хромосом (в первую очередь дупликации) за счет эктопической рекомбинации. Возникновение новых генов за счет дивергенции. Мультигенные семейства.</p> <p>Онтогенетические перестройки генетического материала, участвующие в регуляции работы генов. Специализированные системы гомологичной рекомбинации. Борьба паразитов с иммунной системой хозяина. Смена типа спаривания у гаплоидных дрожжей.</p> <p>Сайт-специфическая рекомбинация. Наличие коротких участков гомологии (15-30 п.н.). Интеграция умеренных фагов в хромосомы бактерий. Переключение активности генов в результате инверсии участков ДНК: штаммовая специфичность фага MU за счет инверсии G-сегмента; смена фаз у сальмонеллы в результате фазовой вариации генов <i>H1-H2</i>. Участие сайт-специфичных изомераз типа I. Единственный случай сайт-специфической рекомбинации у многоклеточных животных – перестройки в иммуноглобулиновых ДНК у позвоночных, приводящие к перестройкам в ДНК.</p> <p>Другие типы рекомбинации без гомологии. Транспозиции: перемещение подвижных генетических элементов, содержащих гены транспозазы, в ДНК-мишени. Незаконная рекомбинация: соединение разорванных концов негомологичных молекул ДНК. «Закономерные перестройки» как механизм регуляции работы генов (в основном у одноклеточных). Структурная организация некоторых подвижных элементов: IS-элементы и транспозоны, ретротранспозоны. Их повсеместная распространенность среди всех систематических групп живого мира. Их участие в инактивации и изменении активности генов, в «горизонтальном» переносе генов, в хромосомных перестройках. Общая схема рекомбинации при транспозициях. Основные механизмы транспозиций: репликативная транспозиция, перемещение ретротранспозонов.</p>
<b>Раздел IV. Транскрипция</b>			
7.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Экспрессия генов.	<p>Транскрипция как основа регуляции экспрессии генов. Матричный синтез РНК. Комплементарность продукта РНК-полимеразной реакции матрице. Стадии транскрипции: инициация, элонгация и терминация. РНК-полимераза – основной фермент транскрипции. Синтез предшественников мРНК, рРНК, тРНК и малых ядерных РНК (мя РНК). Судьба РНК в клетках прокариот и эукариот.</p> <p>Транскрипция у зубактерий. Понятие оперонов и полицистронных мРНК. Строение РНК-полимеразы</p>

			<p>зубактерий. Понятия «полного» и «соге» фермента. Семейство сигма-субъединиц РНК-полимеразы прокариот. Промотор и терминатор транскрипции. Примеры регуляции активности генов с использованием набора сигма-субъединиц. Структура промоторов: области нуклеотидов (–35) и (–10). Структура терминаторов.</p> <p>Инициация транскрипции: этапы. Понятие abortивного синтеза. Оперон как способ регуляции транскрипции. Примеры оперонов: оперон рРНК, опероны рибосомных белков и «лишние» гены в составе этих оперонов. Регуляция активности генов <i>E.coli</i>, утилизирующих лактозу. Лас-оперон <i>E.coli</i>. Схема Жакоба-Моно. Понятия “репрессор”, “активатор”, “оператор”. Способы изменения активности репрессоров и активаторов. Примеры регуляции активности оперонов на стадии инициации. Факторы, действующие на значительном расстоянии. Сопряжение транскрипции и трансляции. Понятие «аттенюации». Элонгация: факторы элонгации. Понятие «паузы элонгации». Терминация: фактор-зависимая и фактор-независимая. Фактор терминации ро.</p> <p>Постановка задачи об изучении регуляции транскрипции на уровне целой клетки. Современные подходы к ее решению.</p> <p>Транскрипция у эукариот. Транскрипционная активность гетеро- и эухроматина. Созревание РНК и транспорт РНК из ядра в цитоплазму. РНК-полимеразы клеток эукариот. Функции РНК-полимераз I, II и III в клетке. Субъединичный состав РНК-полимераз I, II и III. Общие субъединицы. Промоторы РНК-полимеразы II. Типы промоторов, особенности их строения. Понятие: «основные факторы инициации» транскрипции. Основные факторы инициации транскрипции РНК-полимеразы II. Этапы инициации транскрипции на примере РНК-полимеразы II. Взаимодействие основных факторов транскрипции при инициации. Дополнительные факторы инициации, места связывания факторов транскрипции. Удаленные места связывания факторов.</p> <p>Способы изменения активности факторов. Транскрипционная активность гена есть результат взаимодействия активаторов и ингибиторов транскрипции. Особенности регуляции транскрипции в многоклеточных организмах. Гены «домашнего хозяйства». Элонгация. Факторы элонгации. Терминация транскрипции. Примеры нарушения регуляции транскрипции генов в многоклеточных организмах. Постановка задачи об изучении регуляции транскрипции на уровне целой клетки. Современные подходы к ее решению.</p>
8.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Процессинг первичных транскриптов.	<p>Понятие процессинга. Редактирование как частный случай процессинга. Некоторые типы редактирования РНК. Разрезание и подравнивание рРНК и тРНК бактерий; участие рибозима. Процессинг рРНК эукариот - метилирование рибозы, образование рибонуклеопротеида, расщепление по концам спейсеров. Обнаружение интрона в 28S-рРНК инфузории; сплайсинг. Механизм самосплайсинга; интрон как рибозим. Созревание тРНК эукариот: процессинг как у прокариот, самосплайсинг.</p> <p>Процессинг мРНК эукариот из гетерогенной ядерной РНК (гяРНК). Кэпирование 5'-концевой области: повышение эффективности трансляции и защита транскрипта от деградации. Строение «кэпа». Расщепление и полиаденилирование 3'- области. Сигнал полиаденилирования. ПолиА-полимераза- фермент расщепления и полиаденилирования. Деградация 3'-концевой</p>

			<p>области. Значение полиаденилирования для стабилизации транскрипта и его транспорта в цитоплазму. Регуляция экспрессии гена на стадии процессинга 3'-конца: наличие нескольких сигналов полиаденилирования. Процессинг 3'-конца транскриптов гистоновых генов с участием U7РНК.</p> <p>Экзон-интронное строение кодирующей области предшественника мРНК эукариот. Сплайсинг экзонов. Правило сплайсинга. Фенилкетонурия и талассемия как результат нарушения сплайсинга. Механизм сплайсинга с образованием лассо-интрона. Сплайс(е)осома. Участие РНК-полимеразы II в процессинге гяРНК в ядре; ферменты экзирования и полиаденилирования как факторы элонгации. Высокая скорость распада гяРНК в ядре; присоединение РНК-связывающих белков и мяРНК. Механизм сплайсинга с участием нескольких мяРНК; пространственная структура взаимодействующих участков РНК обеспечивает катализ разрыва – воссоединения связей. Экспорт мРНК в цитоплазму после завершения сплайсинга. 5'-нетранслируемая лидерная область, открытая рамка считывания и 3'-нетранслируемая область зрелой мРНК. Значение нетранслируемых областей мРНК: присутствие регуляторных элементов матричной активности; определение времени жизни мРНК и ее внутриклеточной локализации.</p> <p>Регуляция экспрессии генов путем альтернативного сплайсинга. Образование тканеспецифических изоформ белка. Экономичное использование РНК-предшественника. Включение и выключение генов. Регулируемый белками каскад процессов альтернативного сплайсинга, определяющий становление пола у дрозофил. Интроны как предшественники мяРНК. Пересмотр понятия «один ген – один белок». Современное определение гена.</p> <p>Трансплайсинг фрагментов РНК, синтезированных на разных генах. Миниэкзоны трипаносом и нематод. Механизм трансплайсинга с участием Y-интермедиата.</p>
<b>Раздел V. Биосинтез белков.</b>			
9.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Генетический код. Трансляция.	<p>Биосинтез белков как наиболее сложный и энергоемкий процесс реализации генетической информации, протекающий с высокой скоростью и точностью. Фундаментальные открытия 50-х годов: рибосомы как место синтеза белков; активация аминокислот путем образования аминоацил-тРНК; адапторная гипотеза Крика.</p> <p>Генетический код. Экспериментальная расшифровка генетического кода в опытах Бреннера и Крика на мутантах бактериофага T4 (1961 г.). Понятие кодона. Триплетность, вырожденность, неперекрываемость кода без запятых. Установление «универсального» кодового словаря (бактерии, цитоплазма эукариот). Терминаторные кодоны. Семьи кодонов. Различия между «универсальным» и митохондриальными генетическими кодами. Особенности митохондриального кода млекопитающих, дрозофилы, дрожжей, растений. Краткая характеристика митохондриальных геномов.</p> <p>Транспортные РНК. Доказательство Шапвиллем адапторной гипотезы Крика. Понятие антикодона тРНК. Его расположение во вторичной и третичной структуре тРНК. Кодон-антикодонные взаимодействия. Стереохимия кодон-антикодонного комплементарного комплекса. Минорные нуклеотиды тРНК. Гипотеза нестроого соответствия Крика: неоднозначное спаривание первого нуклеотида антикодона с третьим нуклеотидом кодона. Особенности этих положений антикодона и кодона. Правила кодон-антикодонного спаривания Крика и их некоторые следствия.</p>

			<p>Понятие трансляции. Химические реакции биосинтеза белков. Типы образующихся связей. Энзимология процесса. Энергетический баланс биосинтеза белков. Энергетическая избыточность реакций обеспечивает высокие скорости и надежность синтеза белков.</p> <p>Транспортные РНК. Адапторная гипотеза Крика и ее доказательство. Изоакцепторные тРНК. 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: L-форма, влияние комплексообразования с аминоацил-тРНК-синтетазой. Дорибосомный этап белкового синтеза. Реакции аминоацилирования тРНК: активирование аминокислот с образованием аминоациладенилатов и перенос аминоацильных остатков на тРНК.</p> <p>Аминоацил-тРНК-синтазы: специфичность, разнообразие, субъединичная структура. Особенности эукариотических синтетаз. Позиционная (2', 3') специфичность синтетаз по отношению к гидроксилам концевой аденозина тРНК и деление синтетаз на два класса. Консервативные мотивы в каждом из классов. Субстрат-связывающие центры ферментов и их взаимодействие. Специфичность аминоацилирования тРНК по отношению к аминокислоте и по отношению к тРНК. Ошибки при активации аминокислот и механизмы коррекции. Каскадное усиление специфичности в отношении аминокислот. Отбор «правильных» тРНК. «Второй генетический код» – уникальная структура тРНК, обеспечивающая ее акцепторные функции. Элементы, определяющие «индивидуальность» отдельных тРНК. Роль антикодона, нуклеотида-дискриминатора, первых трех пар нуклеотидов акцепторного стебля, некоторых неконсервативных нуклеотидов D- и T-петель тРНК. Структурная комплементарность тРНК и аминоацил-тРНК-синтетаз.</p> <p>Рибосомный этап трансляции. Стадии трансляции: инициация, элонгация и терминация. Последовательное считывание мРНК рибосомами. Полирибосомы. Рабочий (элонгационный) цикл рибосомы.</p> <p>Структура рибосомы. Локализация рибосом в клетке. Свободные и мембраносвязанные рибосомы. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Рибосомы митохондрий и хлоропластов. Размер и подразделение рибосом на две субчастицы. Детальная форма рибосомных субчастиц. Модели объединения субчастиц в целую рибосому.</p> <p>Рибосомные РНК. Значение рибосомной РНК. Виды рибосомных РНК: высокополимерная РНК большой и малой субчастиц; 5S РНК большой субчастицы. Первичные и вторичные структуры. Гомология первичной структуры рРНК различных организмов и систематика. Структурные домены и компактная самоупкладка молекул РНК. Рибосомные белки. Разнообразие, номенклатура. Кооперативные группы рибосомных белков. Взаимодействие с рибосомными РНК. Взаиморасположение рибосомной РНК и белков. Периферическое расположение белков на ядре РНК.</p> <p>Функциональные активности и функциональные участки рибосом. Функции связывания: связывание и удержание матричного полинуклеотида (мРНК-связывающий участок); удержание пептидил-тРНК или деацилированной тРНК (тРНК-связывающий Р-участок); связывание аминоацил-</p>
--	--	--	--

		<p>тРНК (тРНК-связывающий А-участок), связывание белковых факторов трансляции и ГТФ (фактор-связывающий участок). Каталитические функции: ГТФаза; пептидил-трансфераза. Функции перемещений лигандов (транслокация).</p> <p>Элонгационный цикл рибосомы. Участие фактора элонгации (EF-Tu эубактерий или EF-I эукариот) в связывании тРНК. EF-Tu и его взаимодействия; связывание тройного комплекса с рибосомой; роль гидролиза ГТФ. Последовательность событий и молекулярные механизмы: перебор тРНК; узнавание антикодона; отбор правильного кодон-антикодонного комплекса. Транспептидация (образование пептидной связи). Транслокация. Участие фактора элонгации (EF-G эубактерий или EF-2 эукариот) в транслокации. Сопряжение транслокации с EF-G - опосредованным гидролизом ГТФ (Винтермайер, 1997 г.). Пре- и посттранслокационное состояние рибосомы. Передвижение матрицы при транслокации. Данные рентгеноструктурного анализа факторов элонгации. РНК-белковая мимикрия. Модель динамической работы рибосомы в элонгационном цикле.</p> <p>Инициация трансляции. Значение инициации трансляции. Иницирующие кодоны и их положение в мРНК про- и эукариот. Инициаторные тРНК и инициаторы трансляции. Белковые факторы инициации. Состояние рибосом перед инициацией. Инициация трансляции у прокариот. Ассоциация прокариотической 30S-субчастицы рибосомы с матричным полинуклеотидом. Последовательность событий в процессе инициации у прокариот. Инициация трансляции у эукариот. Образование прединициаторного 40S-комплекса эукариотической малой субчастицы. Связывание 40S субчастицы с инициаторной тРНК. Ассоциация рибосомной 40S субчастицы с мРНК. Образование инициаторного 48S-комплекса.</p> <p>Терминация трансляции. Про- и эукариотические белковые факторы терминации; узнаваемые ими терминирующие кодоны. Связывание факторов терминации в А-участке рибосомы. Гидролиз пептидил-тРНК. Освобождение лигандов. Диссоциация субчастиц.</p> <p>Регуляция трансляции у прокариот. Скорость распада мРНК в изменяющихся условиях среды и регуляция использования мРНК на стадии инициации. Участок связывания рибосомы (RBS) мРНК: инициаторный кодон; последовательность Шайна-Дальгарно, связывающая 3'-конец 16S-РНК малой субчастицы рибосомы. Энхансеры за пределами RBS. Изменение вторичной структуры мРНК: трансляционное сопряжение, вовлечение в шпильки инициаторных и терминирующих кодонов. Трансляционные репрессоры: аутогенная регуляция трансляции структурными белками рибосом <i>E.coli</i>.</p> <p>Регуляция трансляции у эукариот на стадии инициации. Включение активности кэп-связывающего инициаторного белка 4E путем фосфорилирования его самого и его репрессора; зависимость активности соответствующих киназ от условий и фазы роста клеток. Регуляция активности метионил-тРНК-связывающего фактора инициации 2 по механизму фосфорилирования его альфа-субъединицы протеинкиназой R. Подавление трансляции в ответ на вирусную инфекцию. РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК и микроРНК.</p> <p>Взаимодействие рибосомы и растущего пептида с мембраной. Котрансляционный трансмембранный транспорт секреторных и интегральных мембранных белков. Синтез белков свободными и мембрано-связанными</p>
--	--	--

			<p>полирибосомами; их локализация. Способы соединения рибосомы с мембраной. N-концевая сигнальная последовательность растущего полипептида. Сигнализующие частицы и их мембранные рецепторы.</p>
10.	<p>ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13</p>	<p>Посттрансляционная модификация, структура и сборка белков.</p>	<p>Роль белковых молекул в функционировании живых организмов. Первичная структура белков. Аминокислотные остатки – мономеры белковых цепей. Аминокислоты, входящие в состав белков, их строение. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Редкие аминокислоты, входящие в состав белков. Аминокислоты, не встречающиеся в белках. Пептидная связь. Полипептидная цепь. Структура и кислотно-основные свойства пептидов. Природные пептиды.</p> <p>Уровни организации белковой молекулы. Первичная структура как уровень организации белка. Доказательство индивидуальности белка. Микрогетерогенность белков. Количественное определение аминокислотного состава белков. Использование автоматических анализаторов. Гидролитическое расщепление белка с помощью протеолитических ферментов. Расщепление белковой цепи по метиониновому остатку бромистым цианом. Разделение и анализ пептидов. Идентификация N- и C-концевых остатков в белках и пептидах. Определение первичной структуры пептидов. ДНФ метод Сенгера. Метод Эдмана. Автоматические секвенаторы. Стыковка пептидов.</p> <p>Значение изучения первичной структуры белков для решения проблем эволюции и систематики организмов. Эволюция первичных структур глобинов, цитохромов, иммуноглобулинов.</p> <p>Вторичная структура белка. Структурные особенности пептидной связи, определяющие формирование регулярной вторичной структуры. Стерические ограничения и вторичная структура пептидной связи. Роль водородных связей в формировании вторичной структуры. Виды регулярной вторичной структуры. Спиральные и бета-структурные участки в глобулярных белках. Соотношение между первичной и вторичной структурами. Статистические закономерности в распределении аминокислотных остатков в спиральных, бета-структурных и нерегулярных участках глобулярных белков. Возможность предсказания вторичной структуры. Проблема стабильности вторичной структуры. Экспериментальные методы изучения вторичной структуры белков. Рентгеноструктурный анализ. Оптические методы изучения вторичной структуры. Метод кругового дихроизма. Дисперсия оптического вращения.</p> <p>Третичная структура белков. Стабильность пространственной структуры белка.</p> <p>Компактность формы. Наличие гидрофобных ядер и полярной оболочки. Присутствие гидрофобных аминокислот в оболочке, их функциональное значение. Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Водородные и солевые связи. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Роль дисульфидных связей в стабилизации третичной структуры некоторых белков. Форма, компактность и динамика молекулы белка. Методы исследования пространственной структуры белка. Особенности рентгеноструктурного анализа как главного источника информации о пространственной структуре белка. Ядерный магнитный резонанс. Доменная структура белков. Образование третичной структуры белка из элементов вторичной структуры. Топология полипептидных цепей в белках и классификация пространственных структур. Соотношение между пространственной структурой белка и аминокислотной последовательностью. Схематическое</p>

			<p>представление пространственной структуры белка. Трехмерная структура некоторых белковых модулей (доменов). Особенности структуры мембранных белков. Фибриллярные белковые структуры.</p> <p>Четвертичная структура белка. Геометрия четвертичной структуры белка. Гомомерные и гетеромерные белки. Формирование множественных форм гетеромерных белков. Взаимодействия между субъединицами, стабилизирующие четвертичную структуру. Структурная организация контактов между субъединицами. Способы исследования четвертичной структуры белка. Функциональное значение четвертичной структуры белка.</p> <p>Денатурация белков. Разрушение нативной конформации белков изменением температуры, pH, обработкой мочевиной, гуанидинхлоридом. Действие детергентов, спиртов, электролитов.</p> <p>Выделение и очистка белков и пептидов. Характерные свойства белков, на которых основано их разделение. Фракционное осаждение. Хроматографические методы. Гель-фильтрация. Ионнообменная хроматография белков. Гидрофобная хроматография белков. Аффинная хроматография белков. Проверка гомогенности препаратов белков. Методы ультрацентрифугирования. Электрофорез в полиакриламидном геле. Нативный электрофорез. Электрофорез в денатурирующих условиях. Диск-электрофорез. Изоэлектрофокусирование в полиакриламидном геле. Использование белковой инженерии в для выделения белков.</p> <p>Котрансляционные модификации белка: деформилирование, диметионилирование, отщепление N-концевой последовательности, тиол-дисульфидный обмен (образование дисульфидных связей), N-гликозилирование, гидроксिलирование, сплайсинг, ограниченный протеолиз белков и др. Самоорганизация пространственной структуры белковых молекул. Ренатурация белка <i>in vitro</i>. Предопределенность пространственной структуры белка его аминокислотной последовательностью. Сворачивание полипептидной цепи в нативную конформацию Этапы пространственной сборки белка <i>in vivo</i>. Интермедиат («расплавленная глобула»). Сверхсинтез чужеродных белков в бактериальных клетках. Тела включения. Белки теплового шока. Ферменты, облегчающие свертывание полипептидных цепей в компактную структуру. Роль шаперонов и шаперонинов в формировании нативной структуры белков.</p>
11.	ОК-1 ОК-5 ОПК-1 ОПК-5 ПК-6 ПК-13	Транспорт белков в клетке, механизмы деградации белков.	<p>Транспорт белков в различные компартменты эукариотической клетки. Методические подходы для изучения транспорта белков в различные компартменты клетки. Сигнальная гипотеза транспорта белков в клетке. Способы транспортировки белков между компартментами в клетке: трансмембранный, канальный, везикулярный транспорт. Молекулярные механизмы транспорта. Система контроля качества белков в клетке. Механизмы деградации белков. Убиквитин-зависимая система протеолиза белков.</p>

**5. Общая трудоемкость дисциплины: 6 зачетных единиц (216 часов).**