

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

**Программа вступительных испытаний  
подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре  
по направлению**

**06.06.01 Биологические науки**

*Направленность (профиль) 03.01.03 Молекулярная биология*

Москва 2021

## **Модуль 1.**

### **Хранение и реализация генетической информации**

Понятия ген и оперон. Клеточный цикл. Активный и неактивный хроматин. Структура хромосом. Роль нуклеиновых кислот в биосинтезе белков. Биосинтез нуклеиновых кислот и ДНК-полимеразы. Репликация ДНК. Циклическая ДНК и технология включения генов в плазмиды. Мутации и направленный мутагенез. Работы С. Очоа и А. Корнберга. РНК-полимеразы. Информационная РНК как посредник в передаче информации от ДНК к рибосоме. Синтез мРНК, процесс транскрипции, информосомы. Посттранскрипционный процессинг мРНК. Биосинтез белка. Активирование аминокислот. Транспортные РНК и их роль в процессе биосинтеза белка. Генетический код. Рибосомы: структура, состав и функции. Механизм считывания информации в рибосомах. Процесс трансляции. Инициация трансляции, элонгация и терминация. Полисомы. Регуляция синтеза белка. Посттрансляционные изменения в молекуле белка, процессинг. Транспорт белков, их встраивание в мембраны, и проницаемость биологических мембран для биополимеров. Проблемы клонирования ДНК. Цепные полимеразные реакции нуклеиновых кислот и их применение в биологии и медицине.

### **Геном прокариот.**

Строение прокариотического генома на примере *E. coli*. Размеры, кольцевая хромосома, эписомы, F-фактор. Характеристика геномной ДНК. Компактизация ДНК бактерий. Суперспирализованные петли нуклеоида. ДНК-связывающие белки петель, структура и функции. Роль доменной организации в функционировании бактериального генома. Генетические карты, методы построения.

### **Геном эукариот.**

Общая структура генома. Сателлитные ДНК. Умеренно повторяющиеся последовательности. Уникальные последовательности генома. Прерванные гены эукариот. Основные свойства генома эукариот: избыточность, компактность, компартиментализация и нестабильность. Характерные отличия от прокариотического генома. Основные компоненты эукариотического генома. Уникальные и повторяющиеся нуклеотидные последовательности. Гены, кодирующие белки. Мультигенные семейства. Псевдогены. Теломеры, теломераза.

## **Модуль 2. Молекула ДНК. Процессы репликации, рекомбинации, репарации, и транскрипции.**

### **Структура молекулы ДНК.**

Нуклеозиды, нуклеотиды: их строение и конформация. Полинуклеотидная цепь. Физические свойства молекулы ДНК. Конформационные формы ДНК А, В, и Z, их физические параметры.

Неканоническая Н-форма ДНК. Нуклеотидные последовательности ДНК, определяющие конформацию ДНК, гибкость или жесткость молекулы. Триплексы.

### **Свойства кольцевых молекул ДНК.**

История доказательства генетической функции ДНК. Кольцевые молекулы ДНК и понятие о сверхспирализации ДНК. Параметры сверхспирализованной ДНК и конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. Топоизомеразы I и II типа про- и эукариот, свойства, функции и механизм действия.

### **ДНК-полимеразы прокариот.**

Полимеразы, участвующие в репликации, характеристика их ферментативных активностей. Точность воспроизведения ДНК. Роль стерических взаимодействий между парами оснований ДНК при репликации. Полимеразы I, II и III *E. coli*. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз.

### **Механизм репликации у прокариот.**

Репликация ДНК. Матричный характер репликации. Доказательство полуконсервативного способа репликации ДНК. Вилка репликации, "ведущая" и "отстающая" нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Инициаторные белки. Кооперативность действия белков репликационной вилки. Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Терминация репликации у бактерий.

### **Плазмиды и мобильные генетические элементы бактерий.**

Бактериальные плазмиды. Репликация плазмид. Особенности регуляции репликации плазмид. Механизмы передачи ДНК от донорных клеток к реципиентным. IS-элементы и транспозоны бактерий. Плазмиды, мобильные элементы и генетическая изменчивость бактерий. Механизм перемещения мобильных элементов бактерий. Функциональная роль плазмид и мобильных элементов бактерий. Сходство процессов репликации, репарации и рекомбинации ДНК. Энзимология генетических процессов: системы ферментов и белковых факторов, работающих на ДНК.

### **Механизм репликации у эукариот.**

Структура и свойства белков, участвующих в репликации: RPA, хеликаза A, RFC, PCNA. Старты репликации у дрожжей, их структурно-функциональная организация. Фрагменты Оказаки и особенности их "процессинга". Репликоны эукариот, изменчивость их размеров. Понятие о стационарных "репликативных фабриках". Ошибки репликации, обусловленные скольжением нитей при репликации. Топология репликации. Молекулярные механизмы, координирующие клеточный цикл и репликацию ДНК. Механизмы упаковки ДНК при подготовке к делению клетки.

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

### **Гистоновый код.**

Химические модификации гистонов: ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинилирование и АДФ-рибозилирование. Понятие о "гистоновом коде". Активный и неактивный хроматин. Механизмы репрессии генов, обусловленные деацетилированием и метилированием гистонов.

### **Транскрипция.**

Транскриптон - единица транскрипции. Структура РНК-полимераз прокариот и эукариот. Цикл транскрипции. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Антибиотики - ингибиторы транскрипции. Регуляция транскрипции у бактерий. Схема оперона Жакоба-Мано. Индукция и репрессия синтеза ферментов. Репрессор. Эффекторы. Оператор. Катаболитная репрессия. Циклическая АМР и белок-репрессор цАМР. Регуляция синтеза рибосомных РНК и белков. Факторы терминации транскрипции.

### **Процессинг транскриптов.**

Процессинг у прокариот. Процессинг у эукариот. Интроны и экзоны. Сплайсинг. Процессинг предшественников тРНК у про- и эукариот. Рибозимы. Множественность и специфичность РНК-полимераз эукариот. Cis-элементы и trans-факторы транскрипции. Образование инициаторных комплексов с участием РНК-полимеразы II. Понятие об энхансерах и сайленсерах. Полиаденилирование.

### **Сплайсинг мРНК.**

Открытие интронов. Типы интронов. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Альтернативный сплайсинг, примеры. Энхансеры сплайсинга. Биологическая роль альтернативного сплайсинга, примеры. Роль белков, связывающихся с РНК-полимеразой на промоторе, в определении специфичности сплайсинга. Механизмы узнавания/обозначения экзонов и интронов. Сплайсинг и его роль в определении специфичности функционирования мРНК в цитоплазме.

## **Модуль 3. РНК и биосинтез белков**

### **Структура рибосом.**

Локализация рибосом в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы. Подразделение на субчастицы (субъединицы); диссоциация. Функциональные сайты рибосомы: сайты связывания аминоксил-тРНК, пептидил-тРНК и деацелированной тРНК (А-,

P-, E-сайты); сайты связывания факторов элонгации трансляции (EF-Tu и EF-G), сайт выхода синтезированного белка. Рибосомные белки: разнообразие, номенклатура, особенности структуры. Первичные структуры. Пространственные структуры. Белковые комплексы. Взаимодействие с рибосомными РНК.

### **Образование пептидной связи в процессе биосинтеза белка.**

Синтез аминоацил-тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Два класса аминоацил-тРНК-синтетаз, их структурные и функциональные различия. Связывание аминоацил-тРНК с рибосомой, участие фактора элонгации EF1 (EF-Tu). Фактор элонгации EF1B (EF-Ts), его функция. Реакция транспептидации. Пептидил-трансферазный центр большой рибосомной субчастицы; рибозимный катализ. Транслокация. Участие фактора элонгации EF2 (EF-G) с ГТФ. Транслокация как свойство рибосомы, термодинамическая спонтанность транслокации, каталитическая функция EF-G, зависимость конформационного катализа от ГТФ.

Ингибиторы. Механизм действия некоторых антибиотиков на рабочий цикл трансляции. Пуромицин, тетрациклин. Хлорамфеникол. Эритромицины. Киромицин. Фузидиевая кислота.

Ложное кодирование. Ложное считывание поли (u). Основные типы ложного спаривания. Факторы, способствующие ложному кодированию. Уровень ошибок *in vivo* в нормальных условиях. Кинетические механизмы ложного кодирования и его коррекции.

Последовательность событий и молекулярные механизмы. Перебор мРНК. Узнавание антикодона. Гидролиз ГТФ. Коррекция выбора аминоацил-мРНК. Запирание аминоацил-мРНК в А-участок. Общая схема.

### **Функциональные активности и функциональные участки рибосомы.**

Рабочий цикл рибосомы. Функции связывания. Связывание и удержание матричного полинуклеотида (мРНК - связывающий участок). Удержание пептидил - мРНК или деацелированной - мРНК (мРНК-связывающий P-участок). Связывание аминоацил-мРНК (мРНК-связывающий А-участок). E-участок и его функции. Связывание белковых факторов трансляции и ГТФ (факторсвязывающий участок). Каталитические функции. ГТФ-аза. Пептидилтрансфераза. Функции перемещений лигандов (транслокация).

## **Модуль 4. Структура и свойства белков**

### **Пространственная структура белков.**

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

структура белков.

### **Биологическая роль белков.**

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

### **Модуль 5. Принципы генной инженерии.**

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

### **Векторы.**

Плазмидные векторы для клонирования фрагментов ДНК. Векторы на основе фага  $\lambda$ . Космиды и фазмиды. УАС - сверхемкий вектор для клонирования ДНК. Интегрирующие векторы грам-положительной бактерии *B. subtilis*. Челночные векторы. Конструирование экспрессирующих векторов и их функционирование. Факторы, влияющие на эффективность экспрессии рекомбинантных генов. Векторы, используемые в клетках животных и растений.

### **Общие принципы химико-ферментативного синтеза двуцепочечных ДНК.**

Реализация принципа комплементарности гетероциклических оснований нуклеиновых кислот. Пути получения двуцепочечных ДНК. Ферментативные методы сборки двуцепочечных ДНК. Химические методы сборки двуцепочечных ДНК. Способы получения рекомбинантных РНК.

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

## **Бесклеточные белоксинтезирующие системы.**

Прокариотические белоксинтезирующие системы. Эукариотические белоксинтезирующие системы. Проточные бесклеточные белоксинтезирующие системы.

## **Достижения генной инженерии и ее перспективы.**

Изменение концепции гена под влиянием генной инженерии. Методические достижения генной инженерии в исследовании генов: рестрикционное картирование и построение физических карт. S1-картирование РНК и ДНК. Футпринтинг в исследовании ДНК - белковых взаимодействий.

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

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

Антисмысловые РНК (miсРНК) и рибозимы. Антисмысловые олигодезоксирибонуклеотиды, как ингибиторы экспрессии генов. Механизмы ингибирующего действия miсРНК. Использование антисмысловых РНК в фундаментальных и прикладных исследованиях: рибозимы в составе антисмысловых РНК. Использование антисмысловых РНК в исследованиях клеточного цикла и пролиферации клеток, а также в борьбе с вирусными заболеваниями.

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

Вопросы к вступительным испытаниям по направлению

### **06.06.01 «Биологические науки»**

1. Молекулярно-биологические основы возникновения жизни на Земле. Образование биополимеров.
2. Четыре уровня структурной организации белков. Глобулярные и фибриллярные белки. Основные биологические функции белков.
3. Структура и функции белков-шаперонов. Семейства белков теплового шока. Hsp70-циклы денатурации-ренатурации участков белка. Белок Hsp60. Агрегация белков, механизмы агрегации.
4. Фолдинг белков. Первичная, вторичная, третичная структура, доменная организация белков. S-S связи, четвертичная структура. Проблемы фолдинга - энергия активации, гидрофобные области. Фолдинг и эволюционный отбор.
5. Типы рекомбинации и их роль в жизни клетки и организма. Белки гомологичной рекомбинации про-и эукариот.

6. Геном митохондрий. Односубъединичные РНК-полимеразы. РНК-полимераза митохондрий. Эволюционная гипотеза возникновения односубъединичных РНК-полимераз.
7. Основные процессы передачи информации в клетке. Репликация, транскрипция, сплайсинг, трансляция. Различия и сходство основных процессов передачи информации в эукариотах и в прокариотах.
8. Сущность сплайсинга. Биохимические реакции при «классическом» сплайсинге. Сплайсосома. Понятие гетерогенной ядерной РНК. Понятия «экзон» и «интрон». Особенности молекулярного строения интронов. Редактирование мРНК.
9. Рибосомы – структура, белковый и нуклеиновый состав. Синтез рРНК и тРНК и посттранскрипционные модификации, их роль. Рибосомы эубактерий и рибосомы эукариот, сходство и отличия.
10. Регуляция трансляции. Регуляция инициации трансляции в прокариотах и в эукариотах. Механизм корректной инициации трансляции, роль последовательностей мРНК, формилметионин. Факторы инициации, их функция.
11. Этапы транскрипции у прокариот. Понятие об опероне. Особенности структуры промоторов. Регуляция транскрипции у прокариот. Негативная индукция. Позитивная индукция. Негативная репрессия. Позитивная репрессия.
12. Особенности транскрипции у эукариот. Множественность и специфичность РНК-полимераз эукариот. Cis-элементы и trans-факторы транскрипции. Образование инициаторных комплексов с участием РНК-полимеразы II. Понятие об энхансерах и сайленсерах.
13. Репликация ДНК. Инициация репликации. Элонгация репликации. Репликация и клеточный цикл. Семейство ДНК-полимераз.
1. МикроРНК и механизм регуляции с помощью микроРНК. Стабильность РНК.
14. Процессинг (кэпирование) 5-конца пре-мРНК: основные события и молекулярные компоненты. Процессинг 3-конца пре-мРНК: эндонуклеолитическое расщепление и полиаденилирование. Особенности процессинга 3-конца пре-мРНК гистонов.
15. Теломеры, теломераза и старение.

## Литература

### Основная

- 1) Льюин Б. **Гены** (перевод 9 изд.). Изд. Бинум: Лаборатория знаний, 896 с., 2011.  
Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick. **Lewin's GENES XI**. Jones & Bartlett Learning, 940 p., 2012.
- 2) Спирин А.С. **Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка**. Изд. Академия, 512 с., 2011.
- 3) Степанов В. М. **Молекулярная биология. Структура и функции**

**белков.** Изд. МГУ, Наука, 336 с., 2005.

4) В.Албертс, Д.Брей, Дж.Льюис, М.Рэфф, К.Роберте, Дж.Уотсон. Молекулярная биология клетки. Т. 1-3. М., Мир, 1994.

5) Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. - Под ред. А.С.Спирина. М., Высшая школа, 1986.

6) Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. Т.1: Генная и белковая инженерия. М., Наука, 2004.

*Дополнительная*

1) Под ред. Б. Льюина, Л. Кассимериса, В. П. Лингаппа, Д. Плоппер. **Клетки.** Бином: Лаборатория знаний, 952 с., 2011.

Lynne Cassimeris, Vishwanath R. Lingappa, George Plopper. **Lewin's Cells** (2<sup>nd</sup> Ed.). Jones & Bartlett Learning, 1056 p., 2011.

2) Браун Т.А. **Геномы.** ИКИ, 944 с., 2011.

T.A. Brown. **Genomes 3.** Garland Science, 736 p., 2006.

3) Патрушев Л.И. **Экспрессия генов.** Наука, 830 с., 2000.

4) Рис Э., Стернберг М. Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам: Пер. с англ. — М.: Мир, 2002. — 142 с.