

# РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт белка Российской академии наук**

«Утверждаю»  
Зам. директора Института

---

д.х.н. А.В.Ефимов

## **ПРОГРАММА**

Вступительного экзамена по специальности

**03.01.03 «Молекулярная биология»**

(биологические науки)

Пушино 2012

## 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

### Первичная структура нуклеиновых кислот

- а) Нуклеотиды - мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания. Сахарный компонент нуклеотида;  $\beta$ -D -фуранозная конфигурация. Нуклеозид; гликозидная связь; фосфатный остаток, его положение. Различные типы нуклеотидов; терминология.
- б) Химическая деградация нуклеиновых кислот. Щелочной и кислотный гидролиз.
- в) Энзиматическая деградация нуклеиновых кислот. Экзонуклеазы и эндонуклеазы. ДНКазы и РНКазы.
- г) Принципы количественного определения нуклеиновых кислот.
- д) Количественные соотношения азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Правила Чаргаффа.
- е) Значение изучения первичной структуры ДНК для решения проблем эволюции и систематики организмов. Геносистематика.

2. Физико-химические свойства функциональных групп нуклеиновых кислот и возможности нековалентных взаимодействий между ними.

- а) Фосфорные группы и полиэлектролитная природа полимера. Влияние ионной силы на конформационные изменения полиэлектролита и на агрегацию цепей.
- б) Азотистые основания и водородные связи между ними.
- в) Азотистые основания и гидрофобные взаимодействия плоскостей колец оснований. Гидрофобные взаимодействия в полинуклеотидах; "стопкообразование".

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. В- и А-формы ДНК. Условия взаимопереходов между разными формам ДНК.

б) Гипохромизм ДНК. Его связи с упорядоченностью расположения азотистых оснований в молекуле.

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

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

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

4. Макромолекулярная структура РНК.

а) Сходство и отличие конформационных свойств РНК и ДНК: гипохромизм; рентгеноструктурные данные; характеристическая вязкость; температурная зависимость гипохромизма и вязкости; обратимость тепловой денатурации.

б) Одноцепочечность РНК. Спирализация в РНК (вторичная структура).

Внутрипочечные комплементарные взаимодействия. Длина и количество спиральных участков. Неканонические типы спаривания оснований. Петли в спиральных. Температурное разрушение ("плавление") спиралей; профили плавления; зависимость от дефектности и длины спиралей.

в) Структурные домены в РНК.

г) Изменчивость конформации РНК в растворе. Конформационные переходы. О соотношении конформации РНК в растворе и в клетке.

5. Однотяжная ДНК и двутяжная РНК вирусного происхождения.

### III СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БЕЛКОВ

I. Первичная структура белков.

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

б) Выделение белков и пептидов. Фракционное осаждение. Ионообменная хроматография. Биоспецифическая (аффинная) хроматография. Гельфильтрация. Изоэлектрофокусирование в градиенте сахарозы.

в) Проверка гомогенности препаратов белков. Аналитическое ультрацентрифугирование. Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом. Изоэлектрофокусирование в полпакриламидном геле. Определение N и C-концевых аминокислотных остатков.

г) Определение аминокислотной последовательности. Гидролитическое расщепление белка с помощью протеолитических ферментов. Расщепление белковой цепи по метиониновому остатку бромистым цианом. Разделение пептидов. Идентификация пептидов. ДНФ-метод Сэнгера. Метод Эдмана. Секвенатор. Стыковка пептидов.

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

2. Пространственная структура белков.

а) Основные типы конформаций депептидной. единицы. Стерические карты Рамачандрана и потенциальные карты депептида.

б) Вторичная структура белков. Спиральные и  $\beta$ -структурные участки в глобулярных белках. Статистические закономерности в распределении аминокислотных остатков в спиральных,  $\beta$ -структурных и нерегулярных участках глобулярных белков. Экспериментальные методы изучения вторичной структуры белков. Оптические методы. Кривые циркулярного дихроизма. Оптическое вращение. Инфракрасная спектроскопия, ЯМР-спектроскопия.

в) Третичная структура белков. Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Солевые и водородные связи Вандерваальсовы взаимодействия.

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, миозин.

3. Денатурация белков. Разрушение нативной конформации белков изменением температуры, pH, обработкой мочевины, гуанидинхлоридом. Действие дегергентов, спиртов, электролитов.

4. Самоорганизация пространственной структуры белковых молекул. Формирование пространственной структуры белковой молекулы - процесс, определяемый только ее первичной структурой. Опыты Анфинсена по ренатурации молекулы рибонуклеазы. Влияние солей, субстратов на скорость ренатурации белка. Ускорение ренатурации белка в присутствии других глобулярных белков.

5. Некоторые функции белков.

а) Классификация белков, основанная на их биологической функции. Ферменты, трансферные белки, запасные белки, сократительные белки, защитные белки крови, токсины, гормоны, структурные белки.

б) Трансферные 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. Модель скользящих нитей.

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

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.). Индуцированные изменения конформации субстрата и фермента.

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. Аллостерические модели Кошланда и Моно, Уаймана, Шанже. Регуляция по принципу обратной связи. Особенности кинетики реакций с участием аллостерических ферментов.

#### IV СТРУКТУРА РИБОСОМЫ

1. Локализация рибосом в клетке. Свободные и мембраносвязанные рибосомы; "микросомы".

2. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Рибосомы митохондрий и хлоропластов.

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

4. Рибосомные РНК.

а) Значение рибосомной РНК.

б) Виды рибосомных РНК: высокополимерная РНК малой субчастицы; высокополимерная РНК большой субчастицы; 5<sub>s</sub> РНК большой субчастицы.

в) Первичные и вторичные структуры. Гомология первичной структуры рРНК разных организмов а систематика,

г) Структурные домены и компактная самоукладка молекул РНК.

5. Рибосомные белки.

а) Разнообразие, номенклатура.

б) Первичные структуры.

в) Пространственные структуры.

г) Белковые комплексы.

д) Взаимодействие с рибосомными РНК.

6. Взаиморасположение рибосомной РНК и белков.

а) Периферическое положение белков на ядре РНК.

б) Топография белков: определение соседствующих белков; измерение расстояний между белками; иммунная электронная микроскопия.

в) Топография РНК: иммунная электронная микроскопия; привязка к топографии белков.

## V СТРУКТУРА ВИРУСОВ

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

2. Химический состав вирусов и вирусных нуклеопротеидов. ДНК-содержание и РНК-содержащие вирусы. Типы вирусных нуклеиновых кислот (однотяжные и двутяжные 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.

а) Гибридная реконструкция вируса и специфичность потомства.

б) Инфекционность чистой 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 как следствие функции вирусного белка.

а) Устойчивая равновесная четвертичная структура белковой оболочки вируса. Принцип гексагональной упаковки. Возможности создания замкнутой поверхности из гексагонально упакованного слоя. Икосаэдр, октаэдр и тетраэдр, оси симметрии в них. Типы симметрии в "сферических" вирусах; вирусы типа 5:3:2 (икосаэдр). Винтовая симметрия и ее встречаемость среди вирусов. "Палочкообразные" вирусы. Строение вируса табачной мозаики.

б) Дополнительные компоненты сложных вирусов. Липидно-белковая оболочка, гликопротеиды. Бактериофаги типа Т-четных фагов кишечной палочки; схема строения, функции компонентов.

6. Принципы сборки вирусов. Самосборка и другие механизмы.

## VI 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".

а) Размеры, молекулярный вес, тождественность с ДНК, непрерывность цепей ДНК, цикличность ДНК.

б) Компактная форма ДНК в вирионе и активная развернутая форма фаговой "хромосомы" при инфекции.

3. Бактериальная "хромосома".

а) Размеры, проблема непрерывности цепей ДНК. Цикличность.

б) Сверх-спирализация ДНК.

4. Химический состав хромосом высших организмов.

а) Хромосома как клеточный дезоксирибонуклеопротеид (ДНП).

б) Гистон как специфический белковый компонент ДНП. Типы гистонов. Молекулярный вес, особенности аминокислотного состава и конформация молекул гистонов.

в) Структурная организация молекул гистонов на ДНК (возможная четвертичная структура). Структура хроматина. Фрагментация хромосом. Нуклеосома, Реконструкция хроматина.

г) Негистоновый белок в хромосомах.

5. Проблема структурной организации хромосом высших организмов.

а) Альтернативные модели организации хромосом. Доказательства "однохроматидности" хромосом в гаметах. Отождествление хроматиды с двуспиральной

молекулой ДНК, ассоциированной с белком.

б) 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.

в) Сателлитные ДНК и организатор ядрышек как компоненты гетерохроматина.

## VII 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 бактерии 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. Понятие генной карты в применении к молекуле ДНК. Использование явления кроссинговера с последующим определением частоты рекомбинантов для установления относительной локализации генов вдоль хромосомы (ДНК). "Физическое" картирование генов: гетеродуплексный делеционный и рестрикционный анализ.

5. Понятие о мутации как точечном изменении в определенной участке ДНК. Фенотипическое выражение мутации: изменение, ослабление или выпадение функции. Мутации разных генов. Мутации внутри одного гена. Транзиции и трансверсии.

6. Многочисленность различных внутригенных мутаций. Внутригенная карта и ее линейность. Использование кроссинговера с последующим определением частоты рекомбинантов для установления относительной локализации различных мутационных изменений вдоль гена (участка ДНК).

7. 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 случай «один ген – несколько полипептидов» (например, нейрогономы).

б) Замена аминокислоты как структурное проявление мутации гена. Гемоглобиновые мутации человека.

в) Перекрывающиеся гены. Некодирующие вставки («интроны») внутри кодирующей последовательности в генах эукариот. Процессинг и сплайсинг про мРНК.

## VIII. РЕДУПЛИКАЦИЯ, РЕКОМБИНАЦИЯ И МОДИФИКАЦИЯ ДНК.

1. Редупликация ДНК.

а) Полуконсервативный механизм редупликации (опыт Меселсона и Стая, 1958).

б) Механизм биосинтеза ДНК. Роль матрицы, дНТФ, образование комплементарного продукта. Аналоги обычных оснований, роль в мутагенезе, в ДНК фагов. Точность редупликации ДНК. Синтез ДНК как последовательное присоединение нуклеотидов к 3'-ОН-концу затравки. «Расплетающиеся» белки. Инициация с ДНК-затравкой. Фрагменты Оказаки.

в) ДНК-полимераза I (Корнберга). Ее ферментативные активности (полимеризующая, 3' – 5', 5' – 3' – экзонуклеотическая), их роль в синтезе ДНК.

г) ДНК-лигазы. Роль в образовании ДНК.

д) Открытие ДНК-полимераз II и III. Механизм образования второй нити на односторонней ДНК. Синтез односторонней ДНК на репликативной форме вирусных ДНК. РНК-полимеразы, образующие РНК-затравки для инициации синтеза ДНК. Иницирующий комплекс: ДНК-полимераза III, белковые кофакторы, «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»). Сверхспирализация ДНК при сборке нуклеосом.

ж) Антибиотики-ингибиторы редупликации ДНК (налидиксовая кислота, новобиоцин).

- з) Регуляция редупликации хромосом бактерий. Понятие о репликоне.
  - и) Плазмиды, эписомы, факторы резистентности и токсичности.
  - к) Схема репликона. Белок гена А фага ФХ174 как инициатор репликации ДНК. Нуклеотидная последовательность места начала репликации.
  - л) Редупликация хромосом высших организмов. Множественность репликонов в хромосомах. Амплификация и магнификация генов рРНК.
  - м) «Хромосомы» митохондрий и пластид.
2. Синтез ДНК на матрице РНК («обратная транскрипция»). Роль затравки.
3. Молекулярный механизм мутаций.
- а) Мутации, возникающие в процессе редупликации ДНК. Возникновение спонтанных мутаций вследствие таутомеризации или ионизации пуринового или пиримидинового кольца в момент редупликации. Мутации, индуцированные включением бром-урацила в ДНК.
  - б) Точечные мутации, вызываемые прямым химическим изменением нуклеотидов в ДНК. Мутации, вызываемые азотистой кислотой. Генетические и структурные последствия точечных мутаций (аминокислотные замены).
  - в) Мутации со «сдвигом фазы» (делеции 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.
- а) Понятие о кодовом отношении, о кодонах, о перекрываемости кодонов, о «запятых», о вырожденности.
  - б) Экспериментальное доказательство неперекрываемости кодонов с помощью точечных мутаций.
  - в) Экспериментальное доказательство триплетности кода без запятых с помощью мутаций, индуцированных акридиновыми красителями (опыт Коика-Бреннера).
5. Модификация и рестрикция ДНК.
- а) Глюкозилирование ДНК бактериофагов.
  - б) Метилирование ДНК.
  - в) Рестрикция неметилированной ДНК. Ферменты рестрикции и модификации. Рестриктазы I, II и III классов.
  - г) Использование рестриктаз при составлении «физических» карт генов и определении нуклеотидной последовательности.
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. Мутации, нарушающие репарацию у бактерий. Наследственные заболевания человека, основанные на нарушении системы репарации ДНК. Мутагенное действие нарушений репарации. SOS-репарация и *rec A* - белок. Регуляция его синтеза.
7. Генетическая рекомбинация.
- а) Типы генетической рекомбинации у бактерий и фагов.
  - б) Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор – эписома.
  - в) Механизм встраивания эписомы, умеренного фага и участка хромосомы в геном реципиентных бактерий. «Сайт» - специфическая и неспецифическая рекомбинация. Транспозоны: перемещающиеся элементы, содержащие гены устойчивости к ядам, заключенные между IS – элементами. Роль повторяющихся последовательностей ДНК в рекомбинациях. Роль перемещающихся элементов генома (IS, Tn, плазмид) в эволюции бактерий. Гипотеза «эгоистичной» ДНК.
  - г) Получение эписом с заданными генами (метод Лоу).
8. Генная инженерия.
- а) Создание специфических трансдуцирующих фагов, несущих заданные гены.
  - б) Выделение бактериального оперона из трансдуцирующих фагов по Беквису.
  - в) Химический синтез гена по Корана. Использование лигазы.
  - г) Синтез генов на информационных РНК РНК-зависимыми ДНК-полимеразами.
  - д) Включение фрагментов в состав плазмид и фагов *in vitro*. Использование рестриктаз и ДНК-лигазы. Трансформация (трансфекция) бактерий гибридными плазмидами и фагами. Селекций трансформантов.
  - е) Локализованный мутагенез.

## IX ТРАНСКРИПЦИЯ И БИОСИНТЕЗ РНК

1. Безматричный синтез полирибонуклеотидов с помощью полинуклеотид-фосфорилазы. Открытие фермента (Грюнберг-Манаго и Очоа, 1955). Химия реакции. Обратимость (фосфорилиз). О заправке в реакции. О наборе нуклеотидов в реакции. Направление реакции. Характер продукта, нуклеотидный состав. Гомополимеры. Гетерополимеры; их нуклеотидная последовательность. Межнуклеотидные связи. Вторичная структура. Распространенность полинуклеотид-фосфорилазы в природе. Возможные функции. Использование для искусственного синтеза полирибонуклеотидов заданного состава.

2. Открытие информационной РНК. Корреляция состава РНК и ДНК. Выделение мРНК из рибосом (опыты Бреннера и др., и Гро и др.). Гибридизация мРНК с ДНК. «Ранние» и «поздние» мРНК при развитии Т-фагов. Короткоживущие и стабильные мРНК. Понятие об оперонах и полицистронных мРНК. Разрезание (процессинг) предшественников тРНК бактериофагов.

3. 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. «Раскрывание» промоторов. Последовательность нуклеотидов в промоторах. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Антибиотики – ингибиторы транскрипции.

в) Структура РНК-полимеразы. Роль ее субъединиц в транскрипции.  $\sigma$ -фактор. Модификация РНК-полимеразы при развитии бактериофагов. Новые полипептиды в РНК-полимеразе при фаговой инфекции и специфичность синтеза РНК. Новые РНК-полимеразы, индуцируемые бактериофагами. Изменения РНК-полимеразы при споруляции у спорообразующих бактерий.

4. Регуляция транскрипции у бактерий.

а) «Классическая» схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и репрессия синтеза ферментов.

б) Фактор терминации транскрипции ( $\rho$ -фактор). Атенуаторы в оперонах бактерий. Нуклеотидная последовательность терминаторов,  $\rho$  - зависимая и  $\rho$  - независимая терминация. Антитерминаторы.

5. Регуляция транскрипции у эукариот.

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

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. Возможная роль гистонов и негистоновых белков хроматина. Модификация гистонов. Матричная активность хроматина. Изменения структуры хроматина как механизма регуляции транскрипции пuffed на хромосомах, петли на хромосомах типа «ламповых щеток», структура и активность половых хромосом, гетерохроматин и эухроматин, эффект положения гена. Гипотеза «один ген – один хромомер». «Избыточная» ДНК.

в) Уникальные и повторяющиеся структурные гены белков. Псевдогены.

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

д) Гены рибосомальных РНК у эукариот. Предшественники рРНК и их созревание. Организаторы ядрышек.

е) Три типа РНК-полимераз животных.

ж) Гигантские предшественники мРНК, их структура и созревание. Устранение «интронов» («сплайсинг»). Образование 3'-концевой полиА и 5'-метил-гуаниловой группы.

6. Информосомы. Типы информосом, их внутриклеточная локализация, состав и особенности строения. РНК-связывающий (информосвязывающий) белок. Гипотеза о функциональной роли информосом и информосомного белка.

7. 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) Специфичность фермента по отношению к матрице. Узнавание размера и



нуклеотидной последовательности матрицы.

в) Характер продукта РНК-снтетазной реакции. Нуклеотидный состав и последовательность. Реплекативная форма РНК. Ее устойчивость к РНКазе. Выделение, свойства, комплементарность цепей. «+» и «-» цепи. Комплементарный синтез «+» и «-» цепей. «Реплекативный интермедиат».

г) 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-снтетазы, репликация «+» и «-» цепи вирусной РНК и дальнейший синтез белков, самосборка вирусных частиц.

д) Особенности репликации РНК у вирусов, у которых геном представляет собой «-» РНК и двутяжную РНК.

## Х. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

### 1. Информационная РНК и генетический код.

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

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

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

### 2. Трансферные РНК и аминоксил-тРНК-снтетазы.

#### а) 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) Аминоксил-тРНК-снтетазы: специфичность, разнообразие, субъединичная структура. Особенности эукариотических снтетаз.

г) Аминоксилирование тРНК: реакции активации и акцептирования, химия реакций, типы образующихся связей, субстрат-связывающие центры и их взаимодействие; схема работы фермента. Специфичность аминоксилирования тРНК по отношению к аминоксиле и по отношению к тРНК; ошибки и механизмы коррекции.

### 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.

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

а) Функции связывания: связывание и удержание матричного полинуклеотида (мРНК-связывающий Р-участок); удержание пептидил-тРНК или деацилированной тРНК (тРНК-связывающий Р-участок); связывание аминоксил-тРНК (тРНК-связывающий А-участок); связывание белковых факторов трансляции и ГТФ (фактор-связывающий участок).

б) Каталитические функции: ГТФаза; пептидил-трансфераза.

в) Функции перемещений лигандов (транслокация).

### 5. Поступление аминоксил-тРНК в рибосому.

а) Кодон-антикодоновое взаимодействие: адапторная гипотеза и ее доказательство; концепция антикодона; гипотеза нестрогого соответствия при кодон-антикодоновом спаривании; поправки к правилам нестрогого соответствия; стереохимия кодон-антикодонового спаривания.

б) Участие фактора элонгации (*EF-Tu* или *EF-1*) в связывании тРНК; *EF-Tu* и его взаимодействия; связывание тройственного комплекса с рибосомой; роль гидролиза ГТФ.

в) Неэнзиматическое (бесфакторное) связывание аминоксил-тРНК.

г) Ингибиторы.

д) Ложное кодирование: ложное считывание полиУ; основные типы ложного спаривания; факторы, способствующие ложному кодированию; уровень ошибок *in vivo* в нормальных условиях; кинетические механизмы ложного кодирования и его коррекции.

### 6. Образование пептидной связи.

а) Химия реакции.

- б) Энергетика реакции.
  - в) Ингибиторы.
7. Транслокация.
- а) Участие фактора элонгации (*EF-G* или *EF-L*) в транслокации.
  - б) Роль *EF-G* –опосредованного гидролиза ГТФ.
  - в) Последовательность событий в *EF-G* катализируемой транслокации.
  - г) Ингибиторы.
  - д) Неэнзиматическая (бесфакторная) транслокация.
  - е) Передвижение матрицы при транслокации.
  - ж) Энергетика транслокации.
8. Инициация трансляции и ее регуляция у прокариот.
- а) Иницирующие кодоны, инициаторная тРНК и белковые факторы инициации.
  - б) Состояние рибосомы перед инициацией.
  - в) Ассоциация рибосомы перед матричным полинуклеотидом.
  - г) Последовательность событий в процессе инициации.
  - д) Инициация без компонентов инициации.
  - е) Регуляция инициации (регуляция синтеза белка на уровне трансляции).
10. Инициация трансляции и ее регуляция у эукариот.
- а) Особенности эукариотической мРНК.
  - б) Иницирующий кодон, инициаторная тРНК и белковые факторы инициации.
  - в) Образование комплекса рибосомной 40S субчастицы с инициаторной тРНК.
  - г) Ассоциация рибосомной 40S субчастицы с мРНК.
  - д) Образование иницирующего рибосомного 80S комплекса.
  - е) Регуляция инициации.
  - ж) Тотальная репрессия инициации.
11. Терминация трансляции.
- а) Кодоны терминации.
  - б) Белковые факторы терминации.
  - в) Рибосомный участок связывания факторов терминации.
  - г) Гидролиз пептидил-тРНК.
  - д) Последовательность событий в процессе терминации.
12. Взаимодействие рибосомы и растущего пептида с мембраной. Ко-трансляционный трансмембранный транспорт.
- а) Синтез белков свободными и мембранно-связанными полирибосомами.
  - б) Способы соединения рибосомы с мембраной.
  - в) N-концевая сигнальная последовательность растущего полипептида.
  - г) Сигнал-узнающие частицы и их мембранные рецепторы.
14. Ко-трансляционные модификации белка.
15. Пост-трансляционный транспорт, компартиментализация и модификация белков.

#### Литература.

1. Льюин Б. Гены. –М. 2012 .
2. Ленинджер А. Основы биохимии. –М. 1985.
3. Страйер Л. Биохимия. –М. 1985.
4. Спирин А.С. Структура рибосом и биосинтез белка. – М. 2011.
5. Альбертс и др. Молекулярная биология клетки. М. 1987.
6. Ичас М. Биологический код.- М., 1971
7. Стнес Г. Молекулярная генетика. – М., 1974.
8. Хесин Р.Б. Непостоянство генома.- М., 1985.