

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка
Российской академии наук

ПРИНЯТО Ученым советом ИБ РАН

Протокол № 6 от 08.06.2024 г.

Зам. директора ИБ РАН

д. х. н. А. Д. Никулин



Специальность 1.5.3. – Молекулярная биология

Рабочая программа по дисциплине

«МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ»

Составитель курса:

доктор биологических наук

А.В. Бураков

Пущино 2024

1. Цели и задачи изучения дисциплины

Курс «Молекулярная биология клетки» является составной частью образовательной программы аспирантуры по специальности 1.5.3. «Молекулярная биология». Курс рассчитан на аспирантов, специализирующихся в области молекулярной биологии, и научных сотрудников, начинающих работать в этой области.

Данный курс охватывает материал о молекулярных основах биологии клетки с детальным рассмотрением структуры и функции цитоскелета, а также механизмов внутриклеточного транспорта и клеточной подвижности.

Цели. Целью курса является ознакомление слушателей с молекулярной биологией эукариотической клетки и создания прочной теоретической базы для подготовки к работе с соответствующими объектами в ходе своих научных исследований; а также расширения их общего научного кругозора.

Задачи. Задачами курса является усвоение представлений о динамической природе клеток и их структурном сходстве при общем разнообразии, об основных спектах регуляции взаимодействия молекул в эукариотических клетках и об основных методических приемах работы с клетками.

Дисциплина является факультативной.

Общая трудоемкость курса – 2 ЗЕТ, из них лекции 36 часов.

2. Содержание дисциплины (модуля)

1. Основные элементы цитоскелета эукариотических клеток Микротрубочки. Их структура, свойства. Процессы нуклеации и закоривания. γ -TuSC и γ -TuRC. Динамика плюс-концов микротрубочек. Катастрофы, спасения, динамическая нестабильность, механизм search-and-capture Регуляция динамики микротрубочек. Понятие центров организации. Центросома. Определение внутриклеточного транспорта. Основные моторные белки микротрубочек, сопряженность транспортных систем клетки. Механизмы позиционирования центросом.

2. Специализированные микротрубочковые структуры эукариот: жгутики, реснички, первичные реснички. Микротрубочки и их роль в процессе клеточного деления. Открытые и закрытые митозы. Три правила митоза. Виды микротрубочек в делящихся клетках. Способы формирования митотического веретена без центросом. Работа молекулярных моторов в ходе митоза. Функции белка NuMA/ Основные типы митотических кинезинов, кинезин Eg5. Центромеры, кинетохоры – строение, состав, функции. Механизмы расхождения хромосом к полюсам веретена, белок Ndc80. Циклины и циклин-зависимые киназы, понятие контрольных точек (checkpoints). DDR и SAC, варианты прикрепления хромосом к микротрубочкам веретена.

3. Основные функции актина у эукариот. Строение микрофиламента. Динамика полимеризации актина, стадии полимеризации. Работа основных белков, отвечающих за регуляцию динамики актина: тимозин и профиллин (доступность мономеров); Arp2/3, NPF-ы и малые ГТФазы (регуляция нуклеирующих комплексов), кортакин; формин (ускорение роста с плюс-конца); гельзолин, тропомодулин и CapZ (стабилизация концов микрофиламента), гельзолин, кофилин и коронин (ускорение разборки микрофиламента). Реорганизация актинового цитоскелета при активации тромбоцитов. Актиновые структуры в клетке, объединение микрофиламентов в пучки и сети. Фасцин, фимбрин, альфа-актинин, филламин, спектрин. Семейство малых ГТФаз Rho. Прикрепление микрофиламентов к мембране, ERM. Дистрофин, дистрофия Дюшена. Перемещение клеток по субстрату – механизмы и основные

этапы. Фокальные контакты. Движение конуса роста аксона. Фагоцитоз. Перемещение клеток *Listeria*. Филоподии и микроворсинки, стереоцилии. Особенности внутриклеточного транспорта по актину.

4. Основные характеристики микроскопа и основные виды микроскопии. Методы оптической микроскопии. Метод светлого поля, прямая и инвертированная схема устройства микроскопа. Метод фазового контраста. Метод интерференционно-контрастной микроскопии Номарского (DIC). Флюоресцентная микроскопия – общие принципы и подходы, устройство широкопольного флюоресцентного микроскопа. Правило Стокса. Лазеры. Конфокальная микроскопия. Двухфотонные микроскопы. Spinning disc confocal микроскопия. Микроскопия полного внутреннего отражения (TIRF). Сверхразрешающая микроскопия – STED, SMLM. FRAP. Оптический пинцет. Оптогенетика. Виды электронной микроскопии. Трансмиссионная электронная микроскопия – область применения, основные этапы пробоподготовки. Растровая электронная микроскопия, метод замораживания-скалывания. Корреляционная микроскопия. STEM. HAADF. Сканирующая зондовая микроскопия – туннельный и атомно-силовой микроскопы.
5. Функции ядерной оболочки. Три группы белков ЯО, белки внутренней мембраны, ядерная ламина. Комплекс ядерной поры: строение, подгруппы нуклеопоринов. Сигналы ядерной локализации экспорта – классификация, примеры. Компоненты импорта и экспорта из ядра и механика процесса. ЯО во время митоза. Общие сведения о хроматине, гистоновые и негистоновые белки. Уровни компактизации хроматина: нуклеосомы, 30 нм фибриллы, петлевая модель интерфазной хромосомы. Конденсин. Хромосомные территории.
6. Основные функции промежуточных филаментов, четыре типа ПФ. Сборка промежуточных филаментов, принципиальное отличие ПФ от микрофиламентов и микротрубочек. Разнообразие и тканеспецифичность белков ПФ. Эпителиально-мезенхимальный переход (EMT) и MET. Изменения в экспрессии кератинов при канцерогенезе. Нейрофиламенты. Десмины, плакины.
7. Три группы межклеточных контактов. Плотные контакты – структура и роль. Щелевые контакты. Прикрепительные соединения – адгезионные пояса, фокальные контакты, десмосомы и полудесмосомы. Взаимодействие клеток с межклеточным матриксом, базальная мембрана.
8. Общая схема везикулярного транспорта. Динеин-динактиновый адапторный комплекс. Организация эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи в некоторых типах клеток. Распределение ERES в клетке. Динамика транспорта модельного белка VSVG-ts045. Экспорт из ЭР, COPII-окаймление. Перемещение ERES по микротрубочкам. Разбор существующих моделей транспорта белков из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи, современные представления. Гликозилирование белков в ЭР, ЭР-связанная деградация. Поздние стадии везикулярного транспорта. COPI-окаймление, белки Rab и навигация везикул, транспорт эндосом, клатриновые везикулы и транспорт к плазмалемме.
9. Клеточная теория, недостатки классических подходов в цитологии и гистологии. Основные этапы становления метода клеточных культур. Два главных условия культивирования клеток. Способы классификация клеточных культур. Культуры суспензионные и адгезионные, первичные и перевиваемые, клеточные и тканевые – основные характеристики, достоинства и недостатки для работы. Стадии получения первичной клеточной культуры. Пролиферативная способность клеток. Лимит Хейфлика. Иммуортализация. Старение. Стволовые клетки.

Процессы клонирования и синхронизации клеток. Культуральная посуда, способы стерилизации, виды субстратов. Среды для культивирования – основные компоненты. Ростовые факторы, кондиционированные среды, химически определённые среды. Базовые условия работы с клетками, условия культивирования. Трансфекции – транзистентная и стабильная. Микроинъекции, электропорация, липосомная трансфекция, трансдукция. Метод предельных разведений. Криоконсервация.

3. Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы аспирантов по дисциплине (модулю)

Контроль успеваемости и качества подготовки обучающихся подразделяется на текущий контроль и промежуточную аттестацию.

Текущий контроль предназначен для проверки хода и качества усвоения учебного материала, стимулирования учебной работы обучающихся и совершенствования методики проведения занятий. Он проводится в ходе всех видов учебных занятий в форме, избранной преподавателем и/или предусмотренной рабочей программой дисциплины.

Примеры коротких вопросов для текущего контроля успеваемости:

Где находятся GEF и GAP для Ran?

Где располагается гистон H1?

Примеры вопросов для проведения промежуточной аттестации:

Транспорт хромосом по микротрубочкам при выстраивании веретена деления и растаскивание их по дочерним клеткам – в чём принципиальная разница? Чем интересен Ndc80?

Проиллюстрируйте сопряжение транспортных систем и многообразие моторных белков на примере агрегации и дисперсии пигментных гранул меланофоров.

Какова роль малых ГТФаз в регуляции динамики актина? Роль в этих процессах формина, CapZ, гельзолина и кофилина.

Элементный анализ в электронной микроскопии. Туннельный и атомно-силовой микроскопы: принципы работы и сравнение их с электронными микроскопами

4. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля)

1. Bruce Alberts, Rebecca Heald, Alexander Johnson, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. Molecular Biology of the Cell. 7th edition. Garland Science, 2022
2. Ю.С.Ченцов. Введение в клеточную биологию. Общая цитология. М., 2004.
3. Lodish H., Berk A., Kaiser C., Krieger M., Scott M., Bretscher A., Ploegh H., Matsudaira P. Molecular Cell Biology. 6th edition. 2008.
4. О.И. Елифанова. Лекции о клеточном цикле. 2 изд. М., 2003.

5. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети Интернет, необходимых для освоения дисциплины (модуля)

<http://humbio.ru>. (База знаний по биологии человека).