

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка
Российской академии наук

ПРИНЯТО Ученым советом ИБ РАН

Протокол № 2 от 08.02.2022 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, профессор

Е. С. Надеждина

Пушино 2022

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 клеточной подвижности.

Цели. Целью курса является ознакомление слушателей с молекулярной биологией клеток для расширения их научного кругозора в области биологии и теоретической подготовки к работе с соответствующими объектами.

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

Дисциплина является факультативной.

Курс "Молекулярная биология клетки" связан с рядом других курсов специализации по молекулярной биологии, в частности с курсами:

"Биосинтез белка и его регуляция";

"Молекулярная генетика эукариот".

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

2. Содержание дисциплины (модуля)

1. Клетки многоклеточного организма и их разнообразие. Культивирование клеток, состав сред для выращивания. Первичные, иммортализованные и трансформированные культуры. Суспензионные и монослойные культуры. Старение культур. Подходы к изучению клеток животных: иммунофлуоресцентная микроскопия, трансфекция, флуоресцентные белки, РНК-интерференция (нокдаун), нокаутные мыши. Дифференцировка в культуре: эмбриональные и мезенхимальные стволовые клетки. Распластывание клеток по субстрату и их движение.

2. Внеклеточный матрикс: фибронектин, коллаген, ламинин. Базальная мембрана.

3. Общие представления о ростовых факторах и рецепторах. Основные принципы передачи сигнала от рецепторов. Пути передачи сигнала EGFR-МАРК, IGFR-mTOR, TGF-beta-Smad, Jak-Stat. Строение молекулы и регуляция активности малых ГТФаз. Строение молекулы, классификация и регуляция активности протеинкиназ. Убиквитин, убиквитилирование белков, убиквитинлигазы. Клеточный цикл: основные фазы, сверхточные точки. Циклины и циклин-зависимые киназы. Транскрипционный фактор E2F и белок pRb. Ингибиторы циклинов. Белок p53. Реакция клеток на повреждения ДНК. Формы клеточной гибели. Признаки апоптоза, внутренний путь развития апоптоза. Рецепторы смерти и передача сигнала от них. Старение клеток, его варианты.

4. Актин, строение молекулы. Полимеризация актина. Динамика актиновых фибрилл, влияние фармакологических агентов. Роль динамики актина в движении внутриклеточных частиц, в том числе инфицирующих клетки бактерий. Регуляция сборки актина на краю движущихся клеток и при активации тромбоцитов. Профилин, кофилин, гельзолин. Актиноподобные белки Agr. Пучки и сети из актиновых филаментов, роль актин-связывающих белков в их

образовании. Альфа-актинин, филамин, фимбрин, формин. Взаимодействие актина с мембраной, белки WASP/Scar, FERM, VASP. Подмембранный скелет эритроцита. Спектрин, анкирин. Подмембранный скелет мышечных клеток, дистрофин. Фокальный контакт. Интегрины, их разнообразие. Передача сигнала от интегринов.

5. Миозин-II, строение молекулы. Миозиновые филаменты. Цикл изменений конформации миозина, сопряженный с гидролизом АТФ и со взаимодействием с актиновым филаментом. Регуляция активности миозина. Строение мышечных клеток: миофибрилла, саркомер. Тайтин и небулин. Сокращение мышцы, роль тропомиозина и тропонинов. Гладкомышечные клетки, регуляция их сокращения. Стресс-фибриллы в фибробластах. Семейство миозинов, их разнообразие и функции. Тест «глайдинга» актиновых филаментов. Миозин-5, его «шаги». Миозин-1, взаимодействие с мембраной. Регуляция сборки актомиозиновых сетей в клетках: роль фосфолипидов, малых ГТФаз, протеинкиназ.

6. Передача сигнала от рецепторов Wnt и Sonic Hedgehog по каноническому и неканоническому пути.

7. Потоки везикул в клетках: эндоцитоз, экзоцитоз, перенос между цистернами Гольджи. Динамин, его функции и активность. Окаймляющие белки: клатрин. Сборка и разборка окаймления везикул, роль белка Arf. Взаимодействие белков при слиянии везикул – vSNARE/tSNARE. Роль малых ГТФаз семейства Rab в везикулярном транспорте. Ядерно-цитоплазматический транспорт -роль белка Ran и импортинов.

7. Тубулин, строение молекулы. Белок FtsZ. Полимеризация тубулина, строение микротрубочек. Динамика микротрубочек: динамическая нестабильность и тредмиллинг, влияние фармакологических агентов. Перестройки системы микротрубочек в митозе. Ассоциированные с микротрубочками белки. Тау. Статмин. Катанин. Регуляция ассоциации белков с микротрубочками. Комплекс белков на плюс-конце микротрубочки (EB1, CLIP170, CLASP), взаимодействие микротрубочки с мембраной.

8. Транспорт по микротрубочкам на примере меланоцита. Тест «глайдинга» микротрубочек *ин vitro*. Семейство кинезинов: разнообразие, строение АТФазного домена. Сравнение с миозином и с малыми ГТФазами. Механохимический цикл кинезина. Взаимодействие кинезинов со своими «грузами». Регуляция активности кинезинов. Динеин. Строение молекулы. Сравнение с ААА-АТФазами. Механохимический цикл динеина. Строение аксонемы ресничек и жгутиков и ее работа. Организация транспорта в нейронах. Взаимодействие моторных и структурных белков, а также микротрубочек и актина при транспорте частиц в нейронах и в меланоцитах. Центросома. Гамма-тубулин, закрепление минус-конца микротрубочки. Цикл центросомы.

10. Ход митоза в клетках животных и дрожжей. Самоорганизация микротрубочек в интерфазе и в митозе. Силы, приложенные к хромосомам. Когезины. Строение кинетохора и его роль в митозе. Механизм перемещения хромосом в анафазе. Митотический чекпойнт. APC-комплекс, его активация. Киназы Cdc, Plk и Auroga. Регуляция образования перетяжки между клетками. Симметричные и асимметричные деления клеток, их роль в дифференцировке. Регуляция выхода клеток из митоза.

11. Промежуточные филаменты. Кератины, виментин, GFAP, нейрофиламенты, ламины: разнообразие первичных структур при сходстве пространственной. Строение промежуточного

филамента. Образование сети промежуточных филаментов, их динамика в интерфазе и в митозе. Функции промежуточных филаментов.

Белки микротрабекулярной сети, плектин. Роль скэффолдов в передаче сигнала.

Межклеточные контакты и их виды. Аннексины, катенины, кадгеринины, зиксин, десмоглеины, десоплакины. Роль белков контактов в передаче сигнала. Wnt/бета-катениновый сигналинг.

12. Канцерогенез. Свойства опухолевой клетки. Протоонкогены и супрессоры рака как участники цепи передачи сигнала. Опухолевая прогрессия: вовлечение различных клеточных систем.

13. Строение клеточного ядра: оболочка, хроматин, межхроматиновые структуры. Ядерная ламина, ее связь с цитоскелетом. Поры ядерной оболочки. Уровни укладки ДНК: нуклеосома, 30-нм фибрилла, хромомеры. Дальние взаимодействия в хроматине. Хромосомные территории. Строение нуклеосомы. Гистоновый код. Перемоделирование хроматина. Гетерохроматин.

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

Типовые вопросы для текущего контроля успеваемости

Образцы вопросов устного опроса и домашних заданий:

1.

- 1) Какие аминокислоты в белках могут быть фосфорилированы?
- 2) С какой аминокислотой в белке связывается убиквитин?
- 3) В чем состоит основная функция циклинов?
- 4) В чем смысл смены циклинов в клеточном цикле?
- 5) Как убиквитин-лигаза зашифровывает информацию о дальнейшей судьбе белка?
- 6) Из каких молекулярных компонентов и структурных субъединиц состоит протеасома?
- 7) Какой реагент нужно приобрести для анализа зависимого от протеинкиназы фосфорилирования белка – α - ^{32}P -АТФ или γ - ^{32}P -АТФ?
- 8) Почему ингибиторы протеасом тормозят митозы?
- 9) Какие протеинфосфатазы участвуют в регуляции активности CDK?
- 10) Как активируется и ингибируется в клетке активность CDK?

2.

- 1) Почему росковитин не влияет на продолжительность G1-периода клеточного цикла?
- 2) Почему промотор гена циклина D содержит много регуляторных элементов?

- 3) Почему активация E2F является критической для прохождения клеточного цикла?
- 4) Является ли E2F геном раннего или отложенного ответа на добавление сыворотки? Почему?
- 5) Что такое точка рестрикции или точка невозврата в клеточном цикле?
- 6) Клетки стромы предстательной железы выделяют ростовой фактор KGF, но сами не реагируют на него. Почему?
- 7) На какой стадии останавливается клеточный цикл при активации p53? Почему?
- 8) На основании чего делают выбор между тамоксифеном и герцептином при лечении рака молочной железы?

4.

1. Почему за Just Another Kinase (JAK) всё же сохраняется название Janus Kinase?
2. Почему Stat должен быть фосфорилирован и по какой АК, чтобы димеризоваться?
3. Где находятся GEF и GAP для Ran?
4. В чем смысл соединения цистерн эндоплазматического ретикулума и перинуклеарного пространства?
5. Осуществляют ли ядерные поры активный, с участием АТФ, транспорт?
6. Какие варианты хромосом и хроматина можно найти в ядре?
7. Где располагается гистон H1 (это для самостоятельного изучения)?
8. Какие посттрансляционные модификации гистонов способствуют экспрессии гена, а какие снижают экспрессию?
9. Какие функционально различные участки ДНК можно выделить в пределах одного гена?
10. Каковы функции инсуляторов?
11. Чем может быть функционально обусловлен эффект положения гена?

Самостоятельная работа

1. Опишите подробно, как происходит активация и инактивация mTOR на лизосоме.

Типовые вопросы для проведения промежуточной аттестации:

- 1) Смена cdk и циклинов в клеточном цикле. Регуляция активности Cdk в интерфазе и в митозе: ингибирующие и активирующие сигналы.
- 2) Канонический и неканонический пути передачи сигнала через Wnt-путь.
- 3) Микротрубочки – строение, динамика.
- 4) Уровни компактизации хроматина
- 5) События фазы G1 клеточного цикла. Точка необратимости в клеточном цикле.

- 6) Митотические моторные белки. Строение митотического веретена. Механизмы прометафазного перемещения центросом и хромосом в клетках.
- 7) Актин: строение молекулы, сборка филаментов, их локализация и динамика в клетках.
- 8) Нуклеосомы: структура гистонов, сборка октамера
- 9) Убиквитин, убиквитиление. Убиквитинлигазы, их разнообразие. Функции и регуляция активности убиквитинлигаз в клеточном цикле и в митозе.
- 10) Межклеточные контакты.
- 11) Микротрубочковые моторы: кинезины, динеины.
- 12) Апоптоз: механизмы индукции, признаки, механизмы развития процесса
- 13) Передача сигнала от RTK в MAP-киназных каскадах. Обеспечение избирательности передачи сигнала, амплификация сигнала. Начальная и конечная точки передачи сигнала.
- 14) Кинетохор, его строение, взаимодействие с микротрубочками. Механизм перемещения хромосом в анафазе. Сверочная точка митоза.
- 15) Механохимический цикл миозина. Миозин в мышечных и неммышечных клетках.
- 16) Организация и регуляция внутриклеточного везикулярного транспорта
- 17) Передача сигнала через путь RTK-Akt-mTOR.
- 18) Белок p53, его функции и регуляция. Клеточный ответ на повреждение ДНК.
- 19) Промежуточные филаменты: структура, разнообразие. Функции
- 20) Нуклеосомы: варианты и модификации гистонов, ремоделирование хроматина
- 21) Старение клеток- признаки, причины, варианты.
- 22) Механохимические циклы кинезина, миозина и динеина.
- 23) Клеточная локомоция. Внеклеточный матрикс.
- 24) Эндоцитоз

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

Основная

1. Альбертс Б., Джонсон А., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уолтер П. Молекулярная биология клетки. В 3 томах. М., Регулярная и хаотическая динамика, Институт компьютерных исследований, 2013.
2. О.И. Елифанова. Лекции о клеточном цикле. 2 изд. М., 2003.
3. С.В.Разин, А.А.Быстрицкий. Хроматин: упакованный геном. М., Из-во Бином, 2012.

Дополнительная

1. Ю.С.Ченцов. Введение в клеточную биологию. Общая цитология. М., 2004.
2. А.Н.Огурцов. Биологические мембраны. НГУ «ХПИ», 2012.
3. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 5th edition. Garland Science, 2007.
4. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 6th edition. Garland Science, 2015
5. Lodish H., Berk A., Kaiser C., Krieger M., Scott M., Bretscher A., Ploegh H., Matsudaira P. Molecular Cell Biology. 6th edition. 2008.

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

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