


Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт белка  
Российской академии наук

ПРИНЯТО Ученым советом ИБ РАН

Протокол № 5 от 08.06.2023 г.

Зам. директора ИБ РАН

  
д. х. н. А. Д. Никулин



*Специальность 1.5.3. – Молекулярная биология*

Рабочая программа по дисциплине

**«МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА»**

**Составитель курса:**

**доктор биологических наук**

**О. Н. Озолинь**

Пущино 2023

## 1. Цели и задачи изучения дисциплины

Курс "Молекулярная генетика" 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.

Курс призван дать систематические знания об особенностях процессов сохранения, передачи и реализации генетической информации у про- и эукариотических организмов, механизмах этих процессов на молекулярном уровне. В задачи курса входит изучение строения и функционирования геномов прокариот, низших и высших эукариот, молекулярно-генетических механизмов репликации и транскрипции геномов. Курс знакомит также с молекулярно-генетическими механизмами канцерогенеза и генерирования разнообразия антител; мобильными элементами геномов про- и эукариот, с молекулярно-генетическими механизмами мутационного процесса у про- и эукариот.

Цели. В результате освоения дисциплины обучающийся иметь систематические знания о конкретных механизмах реализации генетической информации у доядерных (прокариотических) организмов и особенности выше указанных молекулярно-генетических процессов.

Задачи. Получение представлений о принципах организации генома прокариот, знакомство с основами и последними достижениями в области репликации, рестрикции и модификации, рекомбинации и репарации генетического материала, транскрипции генов. Получение базовых теоретических знаний в области молекулярной генетики эукариот биологии. Умение использовать полученные базовые знания.

Дисциплина является обязательной.

Курс "Молекулярная генетика" непосредственно связан с рядом других курсов специализации по молекулярной биологии:

"Принципы структурной организации белков и нуклеиновых кислот";

"Методы геномной инженерии и биотехнологии" и должен проводиться параллельно с ними.

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

## 2. Содержание дисциплины (модуля)

### Введение

Молекулярные основы наследственности. Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот. Основные структурные элементы ДНК и РНК. Первичная структура нуклеиновых кислот. Модель Уотсона-Крика. Альтернативные двуспиральные структуры ДНК. Влияние суперспирализации на структуру двойной спирали. Организация генома прокариот. Геном вирусов бактерий. Плазмиды. Молекулярные основы наследственности.

### Тема 1. Молекулярные механизмы репликации.

Полуконсервативный механизм репликации ДНК (опыт Мезельсона и Сталя). Понятие репликона. Репликативная “вилка”. Клеточный цикл, регуляция репликации хромосомы бактерий, инициация синтеза ДНК. “Расплетающие” белки. Структура и порядок образования праймосомы. Понятие реплисомы. Ферменты биосинтеза ДНК. ДНК-полимераза I (фермент Корнберга). Механизм биосинтеза ДНК. Роль матрицы, dNTP, образование комплементарного продукта. Фрагмент Кленова. Мутации в гене ДНК-полимеразы I. ДНК-полимеразы III в репликации. Фрагменты Оказаки. ДНК-лигазы. Точность репликации ДНК и мутантные ДНК-полимеразы. Типы репликации (модели, предусматривающие образование  $\theta$ -формы и D-петли, модель “катящегося кольца”). Механизмы репликации плазмид. Группы несовместимости плазмид. Сегрегация хромосом. Особенности репликации ДНК у бактериофагов. Роль ДНК-полимеразы бактериофагов. Современные модели репликации.

#### 1. Тема 2. Пути обмена генетической информации у микроорганизмов.

Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор. Организация *tra*-оперона. Стадии процесса конъюгации. Молекулярные механизмы трансдукции. Трансдуцирующие фаги. Трансформация. Особенности процесса у разного типа бактерий. Картирование хромосом бактерий с использованием систем конъюгации, трансдукции и трансформации. Методы молекулярно-генетического анализа.

#### Тема 3. Молекулярные механизмы возникновения мутаций.

Классификация мутаций. Мутации, возникающие в процессе репликации ДНК. Индуцированный мутагенез. Механизм действия физических мутагенов (УФ, радиация). Химический мутагенез (алкилирующие агенты, азотистая кислота, акридиновые красители). Аналоги оснований. Мобильные элементы.

#### Тема 4. Механизмы репарации ДНК.

Репарационные системы. Пострепликативная репарация. Репарация неспаренных оснований. Коррекция неспаренных оснований с участием продуктов генов *mutH*, *mutS* и *mutL*. Световая репарация. Репарация радиационных повреждений у *Deinococcus radiodurans*. Эксцизионная репарация. Ферменты, участвующие в репарации: N-гликозидазы, апуриновая эндонуклеаза, ферменты рекомбинационного комплекса, ДНК-полимераза I, ДНК-лигаза и пр. Механизм работы продуктов генов *uvr* (*UvrA*, *B*, *C*, *D*). ДНК-полимеразы, участвующие в репарационном

процессе (ДНК-полимеразы IV и V). Молекулярный механизм их функционирования, связь с мутационным процессом. Толерантная репарация. SOS - ответ. Гены-мутаторы.

#### **Тема 5. Молекулярные механизмы рекомбинации.**

Типы генетической рекомбинации. Общая (гомологичная) рекомбинация. Разрыв и воссоединение нитей ДНК. Ассимиляция нитей. Образование гетеродуплексной области. Структуры Холлидея. Генная конверсия. Эпизимология процесса рекомбинации. Роль нуклеазы RecB, C. Белок RecA и условия рекомбинации. Функция белков RuvA, B, C. Горячие точки рекомбинации. Схема Дж. Жостака (репарация двунитевого разрыва). Молекулярные механизмы процесса "homing" (возвращение домой). Сайт-специфическая рекомбинация (на модели интеграции хромосомы фага  $\lambda$ ). Гены, контролирующие интеграцию и эксцизию. Молекулярные механизмы процесса. Структура интасомы. Сайт-специфическая рекомбинация, приводящая к инверсиям участков хромосомы (на примерах инверсии фрагмента G фага Mu и фазовых вариациях у салмонеллы). Биологическая роль инверсий. Механизм работы инвертаз.

#### **Тема 6. Нестабильность генома.**

Мобильные генетические элементы микроорганизмов. IS-элементы и транспозоны бактерий. Инфекционные интроны в генах бактериофагов. Молекулярные механизмы транспозиции. Репликативная и нерепликативная транспозиция. Фаг Mu. Регуляция процесса транспозиции. Изменения генома микроорганизмов, вызываемые транспозируемыми элементами. Механизмы регуляции частоты транспозиции на примерах транспозонов TnA и Tn10. Горизонтальный перенос генов и его роль в эволюции прокариот.

#### **Тема 7. Системы рестрикции и модификации ДНК.**

Роль систем рестрикции и модификации ДНК, индуцируемых клеткой-хозяином. Метилирование ДНК фагов и бактерий. Рестрикция неметилированной ДНК. Классификация систем рестрикции - модификации. Ферменты рестрикции и модификации. Генетические и биохимические данные об их структуре. Специфичность рестриктаз и метилаз. Механизм действия. Антирестриктазные механизмы бактериофагов. CRISPR-cas системы «иммунной» защиты бактерий.

#### **Тема 8. Транскрипция и биосинтез РНК.**

Стадии транскрипции. Структура и функция бактериальной РНК-полимеразы. Сайты инициации транскрипции у бактерий. Структура промоторов. Механизмы узнавания промотора РНК-полимеразой. Системные переключения инициации транскрипции: синтез новых РНК-полимераз (на примере T7-подобных фагов) и использование альтернативных факторов (на примере спорообразования у *Bacillus subtilis*). Терминация транскрипции. Механизмы антитерминации. Пост-транскрипционные модификации РНК (сплайсинг, полиаденилирование и редактирование).

#### **Тема 9. Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции.**

Классическая схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и репрессия синтеза ферментов на примере лактозного оперона. Катаболитная репрессия как пример позитивной регуляции транскрипции. Явление аттенуации (на модели триптофанового оперона). Организация регуляторной области арабинозного оперона. Принципы работы двухкомпонентных систем. “Строгий” контроль регуляции генной активности при аминокислотном голодании. Особенности регуляции транскрипции у бактериофагов. Регуляция транскрипции ДНК фага λ.

#### **Тема 10. Использование результатов молекулярно-генетических исследований.**

Использование результатов молекулярно-генетических исследований в решении проблем геносистематики, экологии и биотехнологии микроорганизмов (включая задачи медицинской микробиологии).

#### **Тема 11. Парадоксальное строение геномов высших эукариот.**

C-value парадокс – отсутствие корреляции между свойствами геномов и их таксономическим положением. Кинетика реассоциации эукариотных ДНК. Уникальные и повторяющиеся гены. Мультигенные семейства (МС). Строение МС глобиновых и гистоновых генов и генов рРНК. Механизмы экспрессии генов в МС. Механизмы, обеспечивающие гомогенность МС.

#### **Тема 12. Строение хромосомы.**

Строение нуклеосом. Уровни организации хроматина. Неактивная ДНК конденсирована в гетерохроматине, активная – в эухроматине. Метилирование ДНК. Нуклеосомы. Гистоновый код

#### **Тема 13. Транскрипция эукариотной ДНК.**

Три типа ДНК-зависимых РНК-полимераз. Общие факторы транскрипции. Разнообразие регуляторных зон эукариотных генов. Промотры, энхансеры, сайленсеры. Регуляция генов за счет регуляторов транскрипции.

#### **Тема 14. Мозаичное строение эукариотных генов и их экспрессия.**

Эзоны и интроны. Сплайсинг. Малые ядерные РНК-частицы обеспечивают сплайсинг. Сплайсинг рРНК и тРНК. Аутосплайсинг рРНК у простейших. Альтернативный сплайсинг. Многофункциональность интронов. Интроны – как мобильные генетические элементы. Псевдогены. Механизмы их образования. Интеины и сплайсинг белков.

#### **Тема 15. Механизмы РНК редактирования**

Типы РНК редактирования. Их функции. Медицинские аспекты РНК редактирования.

#### **Тема 16. Молекулярно-генетические механизмы развития.**

Гомеотические мутации. Гены, морфогены и рецепторы морфогенов..Метилирование ДНК и наследование дифференцированного состояния. Строение гомеозисных генов. Молекулярные механизмы эмбриогенеза. НОХ гены.

#### **Тема 17. Молекулярно-генетические механизмы онкогенеза.**

Клеточные культуры в изучении канцерогенеза. Белки, регулирующие пролиферацию и дифференцировку. Взаимодействие факторов роста с рецепторами имеют плеiotропное действие на экспрессию многих генов. Генетические основы рака. Онкогенные вирусы. Онкогенные ретровирусы происходят из клеточных онкогенов. Типы онкогенов.

#### **Тема 18. Мобильные генетические элементы эукариот.**

Классификация МГЭ. Обратная транскрипция – механизм транспозиции МГЭ.. Эволюционная роль МГЭ.

#### **Тема 19. Некодирующие РНК.**

Их типы. Пост-транскрипционный сайленсинг. РНК интерференция. Некодирующие РНК как онкогены и супрессоры онкогенов. Механизмы инактивации X-хромосомы.

#### **Тема 20. Трансгенерационная эпигенетическая наследственность: молекулярные механизмы**

Механизмы эпигенетического репрограммирования соматических и репродуктивных клеток.. Экзосомы. «Мобильные» РНК. Медицинские аспекты трансгенерационного репрограммирования и наследования

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

#### **Часть 1:**

# 1. Типовые вопросы для текущего контроля успеваемости

## Образцы вопросов устного опроса и домашних заданий:

1. Если в геноме  $A=T$ , а  $G=C$ , то каким биологическим объектам он может принадлежать?
2. Если в геноме  $A \neq T$ , а  $G \neq C$ , то каким биологическим объектам он может принадлежать?
3. Можно ли назвать «полуконсервативной» репликацию геномов M13 и фХ174?
4. ДНК-полимераза I (Корнберга) встретила праймером: что произойдёт?
5. ДНК-полимераза III встретила с праймером: что произойдёт?
6. На участке ДНК, имеющем последовательность CGCGCGCCATAAACC обнаружили разрыв водородных связей и выпетливание оснований пары ТА: о чём это свидетельствует?
7. В репликативной вилке отстающая нить имеет последовательность:  
5'-  
TCGCTTTCTTATATCTTCGGCAGTTAGACGAAGGCATGAGTTTCTCCGAGGCGAC  
CA-3'. Где праймаза DnaG поставит праймер?
8. В мутантном штамме *E. coli* скорость соединения фрагментов Оказаки снизилась в 10 раз, но гены ДНК-лигаз остались нативными. В чём может быть причина?
9. Бактериальный штамм приобрёл чувствительность к фагам MS2, f<sub>1</sub>, f<sub>2</sub>, Qβ. Почему?
10. Бактериальный штамм потерял чувствительность к фагам T3 и T7. Почему?
11. Необходимо перенести длинный (>5000 нп) фрагмент ДНК в целевую бактериальную клетку. Какой способ переноса целесообразно использовать и почему?
12. Почему в ДНК практически нет дезоксиурацила?
13. В последовательности белок-кодирующего гена появилась одна мутация:  
TAT TGG СТА GTA САТ... → TAT TGA СТА GTA САТ... . Отразилось ли это и если да, то как на белковом продукте.
14. По каким признакам 3' – 5' корректирующая система ДНК-полимераз (Pol I) определяет ошибочность встраивания субстрата?
15. Почему система коррекции ошибочно встроенных нуклеотидов (MisMatch repair) не исправляет пары С-С?
16. Система эксцизионной репарации BER (Base Excision Repair), не может исправлять ошибки, вызванные дезаминированием цитидина (появление пар G-T). Какие другие репарационные системы компенсируют этот недостаток?
17. Дезаминирование цитозина в ДНК приводит к транзициям С → Т; дезаминирование аденина приводит к замене АТ-пары на GC-пару. Почему дезаминирование гуанина мутаций не вызывает.
18. Может ли РНК-полимераза, участвующая в транскрипции, использоваться для создания РНК-затравки, необходимой для репликации?
19. Правда ли, что наличие генов хоуминг-нуклеаз является особенностью фаговых геномов?
20. Есть ли биологический смысл существования рестриктаз, разрезающих ДНК вне зависимости от метилирования целевых сайтов?
21. Почему системы CRISPR-cas интерференции не адаптирует и не атакует собственную ДНК?
22. Почему у бактерий нет ретротранспозонов?
23. Можно ли отследить историю заражения бактериального штамма (вида) бактериофагами по последовательностям CRISPR-кассет?
24. Бактериальные промоторы обычно содержат 6-7 из 12 консервативных пар. Почему так мало?
25. Какие преимущества предоставляет бактериям оперонная организация геномов и каким образом нивелируются недостатки, связанные с меньшей экспрессией генов, удалённых от 5'-конца мРНК?

26. Почему гомополимерные последовательности внутри генов обычно элиминируются эволюционным отбором?
27. Почему транскрипционные комплексы чрезвычайно стабильны?
28. мРНК имеет последовательность:  
ACGGTTCTCTGATG AGG ACC GTT TTT TTT TGC CCA TAA GTA AAT CTT TTG GGG  
Рибосома начинает синтез белка на кодоне ATG и заканчивает после включения 9-ого аминокислотного остатка. Но иногда этого не происходит. Почему?
29. Какие структурные модули отвечают за специфическое связывание с ДНК в факторах транскрипции с «лейциновой застёжкой»?
30. Почему РНК, синтезируемые со встречных промоторов, т.е. полностью комплементарные друг другу, обычно нуждаются во взаимодействии с РНК-шаперонами для образования комплементарного дуплекса.

#### **Примерные темы докладов:**

1. А, В и Z формы двойной спирали ДНК: структурные параметры и биологическая роль.
2. Типы структурной организации бактериальных геномов.
3. Типы структурной организации геномов бактериофагов.
4. Механизмы инициации транскрипции у прокариот.
5. Типы генетической рекомбинации.
6. Мобильные генетические элементы микроорганизмов.
7. Использование результатов молекулярно-генетических исследований в решении проблем биотехнологии микроорганизмов.

#### **Типовые вопросы для проведения промежуточной аттестации:**

1. А, В и Z формы двойной спирали ДНК: структурные параметры и биологическая роль.
2. Бактериальная реплисома.
3. Топоизомеразы. Классификация и механизм действия.
4. Типы структурной организации бактериальных геномов.
5. Типы структурной организации геномов бактериофагов.
6. Классификация плазмид и группы несовместимости.
7. Репликация линейных двухнитевых бактериальных ДНК.
8. Генерализованная и специализированная трансдукции.
9. Коррекция ошибочно спаренных оснований в системе MisMatch Repair (MMR).
10. Удаление окисленных, дезаминированных и алкилированных оснований ДНК в системе Base excision repair (BER).
11. Два пути коррекции повреждений в системе Nucleotide excision repair (NER).
12. Системы репарации одно- и двухнитевых разрывов в ДНК.
13. Гомологичная и негомологичная системы рекомбинации.
14. Структуры Холлидея. Кроссинговер и генная конверсия.
15. Молекулярные механизмы работы «homing» эндонуклеаз.
16. Горячие точки рекомбинации.
17. Горизонтальный перенос генов и механизмы его обеспечивающие.
18. Классификация систем рестрикции - модификации.
19. Структурная организация бактериального промотора.
20. РНК-полимеразы прокариот и бактериофагов.
21. Механизмы инициации транскрипции у прокариот (абортивный, реитеративный и продуктивный синтез).
22. Механизм выхода транскрипционных комплексов из состояния пауз и ареста.



23. Структурные белки бактериального нуклеоида и факторы транскрипции.
24. Структурные модули узнавания ДНК в факторах транскрипции.

## **Часть 2:**

### **1 Типовые вопросы для текущего контроля успеваемости**

#### **Образцы вопросов устного опроса и домашних заданий:**

1. Что такое C-value и N-value парадоксы строения геномов эукариот?
2. Существует ли связь между строением геномов эукариот и таксономическим положением соответствующих организмов?
3. Дать характеристику различных типов уникальные и повторяющихся генов
4. Что такое мультигенные семейства, и происхождение
5. Каковы основные принципы механизмов экспрессии генов в мультигенных семействах
6. Каковы принципы организации и уровни организации хроматина.
7. Каковы механизмы энзиматической модификации нуклеосом и их связь с регуляцией компактизации хромосом.
8. Что такое гистоновый код?
9. Каковы механизмы метилирования ДНК и его функции?
10. Каковы основные функции ДНК-зависимых РНК-полимераз?
11. Какова роль общих факторов транскрипции?
12. Каковы отличительные характеристики экзонов и интронов?
13. Каковы основные типы и механизмы сплайсинга
14. Каковы основные типы альтернативного сплайсинга?
15. Что такое РНК редактирование и каковы его основные типы и механизмы?
16. Каковы основные функции РНК редактирования?
17. Что такое морфогены, рецепторы морфогенов и НОХ гены, их функции.
17. Каковы основные отличительные характеристики злокачественных опухолей?
18. Каковы механизмы преобразование протоонкогенов в онкогены?
19. Что такое мобильные генетические элементы, каковы их основные типы и механизмы их транспозиции?
20. Что такое некодирующие РНК и каковы их типы?
21. Какие функции выполняют некодирующие РНК?
22. Что такое трансгенерационная эпигенетическая наследственность?:
23. Каковы основные механизмы эпигенетического репрограммирования соматических и репродуктивных клеток?
24. Какова роль экзосом в эпигенетическом репрограммировании?
25. Каковы медицинские аспекты трансгенерационного эпигенетического репрограммирования?

#### **Примерные темы докладов:**

1. Уровни организации хромосомы: как они связаны с экспрессией генов
2. Эухроматин и гетерохроматин. Особенности строения ДНК и нуклеосом.

3. Транскрипосома – взаимодействие общих факторов транскрипции и ферментов модификации нуклеосом.
4. Мобильные генетические элементы, их роль в экспрессии генов.
5. РНК – редактирование и альтернативный сплайсинг.
6. Классификация онкогенов.

**Типовые вопросы для проведения промежуточной аттестации:**

1. Что такое C-value N-value парадоксы?
2. Мультигенные семейства и механизмы их образования.
3. Основные классы некодирующих РНК.
4. Сайленсинг, основные типы и механизмы действия.
5. РНК интерференция, типы и механизмы.
6. Длинные некодирующие РНК, их функции.
7. Что такое эпигеном и эпитранскриптом?
8. Кинетика реассоциации эукариотных ДНК. Уникальные и повторяющиеся гены.
9. Строение нуклеосом. Уровни организации хроматина.
10. Разнообразие регуляторных зон эукариотных генов. Регуляция генов за счет позитивных регуляторов транскрипции.
11. Строение генов антител.
12. Механизмы рекомбинации фрагментов ДНК, кодирующих антитела. Различные уровни генерирования разнообразия антител.
13. Метилирование ДНК и наследование дифференцированного состояния.
14. Эксцизия и избирательная репликация генов рРНК в ооцитах амфибий. Строение гомеопатических генов.
15. Клеточные культуры в изучении канцерогенеза. Белки, регулирующие пролиферацию и дифференцировку.
16. Генетические основы рака. Типы онкогенов.
17. Медицинские аспекты трансгенерационного репрограммирования и наследования

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

**ОСНОВНАЯ**

1. Молекулярная биология клетки./ Б. Альбертс и др. М. Ижевск : Ин-т компьютер. исслед.: R&C Dynamics, 2013, в трех томах.
2. Жимулёв И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2007.
3. Калинин В.Л. Репликация генома. 2004. <http://padaread.com/?book=9141&pg=18>
4. Сингер М, Берг П. Гены и геномы. М., Мир, 1998, том 1, том 2.
5. Агол В.И., Богданов А.А., Гвоздев В.А. и др. Молекулярная биология: Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. Под ред. А. С. Спирина. М., Высшая школа, 1990.

6. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. Под ред. Ю.А. Берлин. М, Наука, 2000
7. Молекулярная биология клетки./ Б. Альбертс и др. М. Ижевск : Ин-т компьютер. исслед.: R&C Dynamics, 2013, в трех томах.
8. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка./ Спирин А.С.,— М: Академия, 2011.
9. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот./ В.И.Агол, А.А.Богданов, В.А.Гвоздев и др. Под ред. А.С.Спирина., — М: Высшая школа, 1986.
10. Хроматин: упакованный геном./ Разин С.В., Быстрицкий А.А., — М: Бином, 2009.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ

1. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. М., Наука, 1984.
2. Разин С.В., Быстрицкий А.А. Хроматин: упакованный геном. 2009 М Бином
3. В.З. Тарантул. Геном человека: энциклопедия, написанная четырьмя буквами. 2003 М Языки славянской культуры.
4. Н.В. Равин, С.В. Шестаков ГЕНОМПРОКАРИОТ 2013 г. ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ, 2013, <https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/216/217>

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

##### **Интернет-ресурсы**

Зарубежные журналы и библиографические базы данных, доступные через Интернет  
<http://www.chem.msu.ru/rus/library/licenced.html>  
<https://scifinder.cas.org>  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>