

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

ПРОГРАММА

Вступительного экзамена по специальности

1.5.3. Молекулярная биология

Пушино 2022

1.2. Программа экзамена формируется на основе программ специалитета и (или) магистратуры; содержит описание процедуры, вопросы и темы, критерии оценки ответов.

1.3. Организация и проведение вступительного испытания по специальной дисциплине осуществляется в соответствии с Правилами приема, действующими на текущий год поступления.

1.4. По результатам экзамена, поступающий имеет право на апелляцию в порядке, установленном Правилами приема, действующими на текущий год поступления.

1.5. Программа экзамена по специальности 1.5.3. Молекулярная биология для подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре ежегодно пересматривается и обновляется с учетом изменений нормативно-правовой базы РФ в области высшего образования и локальных нормативных документов. Изменения, внесенные в программу вступительных испытаний, рассматриваются и утверждаются на заседании Ученого совета ИБ РАН..

1.8. Программа размещается на официальном сайте ИБ РАН в разделе «Аспирантура» не позднее даты, указанной в Правилах приема, действующих на текущий год поступления.

2. Цель и задачи вступительного испытания по специальной дисциплине

2.1. Вступительное испытание предназначено для определения подготовленности поступающего к освоению образовательной программы аспирантуры.

2.2. Основные задачи вступительного экзамена и собеседования по направлениям программы: - проверка уровня теоретических базовых знаний поступающего, - определение склонности к научно-исследовательской и научно-педагогической деятельности;

- определение области научных интересов и эрудиции поступающего.

3. Вступительный экзамен: структура, процедура и критерии оценки ответов

3.1 Структура экзамена

Экзамен проводится по экзаменационным билетам, включающим три вопроса. Вопросы разделены по областям, каждая из которых соответствует научной специальности.

3.2 Процедура вступительного экзамена

Вступительный экзамен проводится в устной форме. Во время подготовки к ответу поступающий имеет право пользоваться программой вступительных испытаний. Использование иных материалов, попытка общения с другими абитуриентами или иными лицами, в том числе с применением средств связи, создание помехи работе экзаменационной комиссии, несанкционированные перемещения абитуриентов и т.п. являются основанием для их удаления из аудитории и последующего занесения в протокол соответствующей записи. Общая продолжительность экзамена составляет не более 60 минут (из них 30 минут – время на подготовку), с учетом индивидуальных особенностей поступающего.

Для абитуриентов из числа лиц с ограниченными возможностями здоровья и инвалидов вступительные испытания проводятся с учетом особенностей их психофизического развития, индивидуальных возможностей и состояния здоровья.

3.3. Критерии формирования оценок Каждый из вопросов билета оценивается по пятибалльной шкале баллами от 2 до 5 в соответствии со следующей таблицей

Количество баллов	Критерии оценки
5 (отлично)	Полный безошибочный ответ с правильным применением понятий и определений.
4 (хорошо)	Правильный и достаточно полный, не содержащий существенных ошибок ответ. Оценка может быть снижена за отдельные несущественные ошибки.
3 (удовлетворительно)	Не полный объем ответа, наличие ошибок и пробелов в знаниях.
2 (неудовлетворительно)	Отсутствие необходимых знаний, отрывочный, поверхностный ответ

.Общая оценка за экзамен определяется как среднее по баллам по всем вопросам, выставленный всеми членами экзаменационной комиссии по результатам вступительного экзамена.

Минимальное количество баллов, необходимое для сдачи и получения положительной оценки за вступительное испытание по специальности – 4 балла (хорошо)

I. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

1. 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

1. Первичная структура нуклеиновых кислот
 - а). Нуклеотиды - мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания. Сахарный компонент нуклеотида; 3-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 двуцепочечной ДНК. Влияние ионной силы, гидрофобных растворителей, мочевины, рН, температуры. Понятие о "плавлении" спирали; температура "плавления"; связь ее с нуклеотидным составом.
 - 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).
 - в). Внутрицепочечные комплементарные взаимодействия. Длина и количество спиральных участков. Неканонические типы спаривания оснований. Петли в спиралах. Температурное разрушение ("плавление") спиралей; профили плавления; зависимость от дефектности и длины спиралей.
 - г). Изменчивость конформации РНК в растворе. Конформационные переходы. О соотношении конформации РНК в растворе и в клетке.
 - д). Одноцепочечная ДНК и двухцепочечная РНК вирусного происхождения.

III СТРУКТУРА И СВОЙСТВА БЕЛКОВ

1. 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. Аффинная хроматография. Гель-фильтрация. Изоэлектрофокусирование.
 - в). Проверка гомогенности препаратов белков. Аналитическое ультрацентрифугирование. Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом. 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 дипептидной. единицы. Стерические карты Рамачандрана.

- б). Вторичная структура белков. Спиральные и бета-структурные участки в глобулярных белках. Статистические закономерности в распределении аминокислотных остатков в спиральных, бета-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; Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия.
- г). Четвертичная структура белков. Типы взаимодействий между субъединицами в олигомерных белках на примере молекулы гемоглобина. Симметричные олигомерные структуры из тождественных субъединиц. Структуры инсулина, лактадегидрогеназы. 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 детергентов, 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, тропмиозин. Флагеллин. Динеин, тубулин. АТФазная активность актиномиозинового 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 активационных параметров.
- е). Функционирование ферментов. Активные центры ферментов. Строение субстрат-связывающих участков (трипсин, химотрипсин, эластаза). Объяснение субстратной специфичности ферментов. Представление о строении активного центра и механизме действия ферментов (лизозим,

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 РИБОСОМ

1. Локализация рибосом в клетке. Свободные и мембрано-связанные 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; высоко полимерная РНК большой субчастицы; 5S РНК большой субчастицы.

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

г). Структурные домены и компактная укладка молекул РНК.

4. Рибосомные белки.

а). Разнообразие, номенклатура.

б). Первичные структуры.

в). Пространственные структуры.

г). Белковые комплексы.

д). Взаимодействие с рибосомными РНК.

5. 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 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).
 - г). Многочисленность генов на одной молекуле ДНК. Пример с ДНК-бактериофага. Отождествление гена с ограниченным участком ДНК.
3. 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.
4. 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.
5. 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).
6. 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, нейрогормоны).
 - 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.

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,
 - б). цикличность ДНК.
 - в). 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.

в). Молекулярный вес, особенности аминокислотного состава и конформация молекул гистонов.

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

д). 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.

в). Дифференцированность хромосомы по длине. Хромомеры, эухроматин и гетерохроматин.

г). Сателлитные ДНК и организатор ядрышек как компоненты гетерохроматина.

VII 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' - экзонуклеотические), их роль в синтезе ДНК.

г). ДНК-лигазы. Роль в образовании ДНК.

д). Открытие ДНК-полимераз II и III. Механизм образования второй нити на однокитевых ДНК. Синтез однокитевой 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 репликаона. Белок гена А фага ΦX174 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). Гликозилирование 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.

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.
- г). 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.

8. Генная инженерия.

- а). Химический синтез гена по Корана. Использование лигазы.
- б). Синтез генов на информационных РНК РНК-зависимыми ДНК-полимеразами.
- в). Включение фрагментов в состав плазмид и фагов *in vitro*. Использование рестриктаз и ДНК-лигазы. Трансформация (трансфекция) бактерий гибридными плазмидами и фагами. Селекций трансформантов.
- г). Локализованный мутагенез.

VIII ТРАНСКРИПЦИЯ И БИОСИНТЕЗ РНК

- 1. Безматричный синтез полирибонуклеотидов с помощью полинуклеотид-фосфорилазы. Открытие фермента (Грюнберг-Манаго и Очоа, 1955). Химия реакции. Обратимость (фосфоролиз). 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. «Скользящий» синтез поли(А).
 - 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. σ -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 (Ро-фактор или ρ -фактор). Аттенуаторы в оперонах бактерий. Нуклеотидная последовательность терминаторов, ρ -зависимая и ρ -независимая терминация. Антитерминаторы.

IX. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

1. Информационная РНК и генетический код.

а). Расшифровка генетического кода: триплетность и неперываемость; 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 аминоацил-тРНК-синтетазы. Структура тРНК.

а). Первичная структура: длина цепей, 3'-конец, «минорные» нуклеотиды, консервативные участки;

б). Вторичная структура: «клеверный лист», двуспиральные и односпиральные участки, каноническое и неканоническое спаривание оснований; третичная структура.

в). Аминоацил-тРНК-синтетазы: специфичность, разнообразие, субъединичная структура. Особенности эукариотических синтетаз.

г). Аминоацилирование тРНК: реакции активации и акцептирования, химия реакций, типы образующихся связей, субстрат-связывающие центры и их взаимодействие; схема работы фермента. Специфичность аминоацилирования тРНК по отношению к аминокислоте 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-антикодновое взаимодействие: адапторная гипотеза и ее доказательства; концепция антикодона; гипотеза нестрогого соответствия при кодон-антикодновом спаривании; поправки к правилам нестрогого соответствия; стереохимия кодон-антикоднового спаривания.
- б). Участие фактора элонгации (*EF-Tu* или *EF-I*) в связывании тРНК; *EF-Tu* и его взаимодействия; связывание тройственного комплекса с рибосомой; роль гидролиза ГТФ.
- в). Незнзиматическое (бесфакторное) связывание аминоксил-тРНК.
- г). Ингибиторы.
- д). Ложное кодирование: ложное считывание поли(У); 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. Химия реакции. Энергетика реакции. 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). Незнзиматическая (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).

9. Инициация трансляции и ее регуляция у эукариот.
 - а). Особенности эукариотической мРНК.
 - б). Иницирующий кодон, инициативная 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.
10. 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.
11. 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.
12. Ко-трансляционные модификации белка.
13. Пост-трансляционный транспорт, компартментализация 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.