

Правительство Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
"Национальный исследовательский университет
"Высшая школа экономики"

Рабочая программа дисциплины «Молекулярная биология: направление
современных исследований»
для подготовки к сдачи кандидатского экзамена

для подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре
по направлению 1.5 Биологические науки
научная специальность 1.5.3 «Молекулярная биология»

Авторы программы:
Чл-корр., д.б.н. А.Г. Тоневицкий
Проф., д.б.н. Рыскина Е.А.

Согласовано:
Академический совет
аспирантской школы по биологии (протокол № 01-2022 от 21.01.2022).

Москва – 2022

Настоящая программа не может быть использована другими подразделениями университета и другими вузами без разрешения разработчиков программы.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ И НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

Настоящая программа учебной дисциплины предназначена для подготовки к сдаче кандидатского экзамена по «Молекулярной биологии» для аспирантов и лиц, прикрепленных к НИУ ВШЭ для сдачи кандидатского экзамена.

Настоящая программа учебной дисциплины написана в соответствии с паспортом научной специальности ВАК 1.5.3. «Молекулярная биология» и основной образовательной программы высшего образования программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре по биологии НИУ ВШЭ.

ЦЕЛИ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Целями освоения дисциплины «Молекулярная биология: направления современных исследований» являются:

- формирование у аспирантов системного представления о теоретических основах молекулярной биологии как комплекса биологических наук, изучающих механизмы хранения, передачи и реализации генетической информации, строение и функции сложных соединений, составляющих клетку;
- развитие представлений о прорывных направлениях молекулярной биологии и актуальных исследованиях,
- ознакомление с практическими методами современной молекулярной биологии, используемыми при решении конкретных прикладных и исследовательских задач.

МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

Настоящая дисциплина относится к обязательным дисциплинам образовательной программы и осваивается на 2 году обучения в аспирантуре.

СОДЕРЖАНИЕ (ПРОГРАММА КАНДИДАТСКОГО ЭКЗАМЕНА)

В основу настоящей программы положены следующие блоки: физикохимия биополимеров, их компонентов и комплексов; молекулярная биология клетки; биосинтез нуклеиновых кислот и белка; молекулярная энзимология; геномы, их структура и функция; генная, белковая и клеточная инженерия; молекулярная вирусология; биоинформатика.

1. Физикохимия биополимеров, их компонентов и комплексов

Физикохимия белков и пептидов. Физико-химические свойства аминокислот. Методы определения содержания белка. Первичная структура как уровень организации белка.

Химические методы исследования структуры белков. Определение аминокислотного состава белка. Методы определения первичной структуры. Ферментативные методы фрагментации полипептидной цепи. Химические методы специфического расщепления пептидных связей. Разделение пептидов, получаемых при расщеплении белков. Определение N-концевых аминокислот и последовательностей. Пептидное картирование.

Типовые реакции химической модификации функциональных групп. Химическая модификация в изучении молекулярных комплексов и активных центров ферментов. Масс-спектрометрия белков.

Конформационные свойства полипептидных цепей. Структурные особенности пептидной

связи. Стерические ограничения и вторичная структура полипептидной цепи. Роль водородных связей в формировании вторичной структуры, α -спираль как важнейший элемент вторичной структуры. Роль боковых радикалов аминокислот в формировании α -спиралей. β -структура: параллельное и антипараллельное расположение цепей при формировании слоев. Петли, их локализация на поверхности белков, β -шпилька как элемент структуры белков. Топологические диаграммы, их значение. Формирование простых мотивов из элементов вторичной структуры. Мотив греческого ключа, мотив β - α - β . Домены, их формирование из структурных мотивов. Стабильность пространственной структуры. Гидрофобное ядро. Форма, компактность и динамика молекулы белка. Роль дисульфидных связей в стабилизации третичной структуры некоторых белков и пептидов.

Основные классы структур доменов. α -доменные структуры. Спирализация спиралей; формирование доменов из четырех α -спиралей; глобиновая упаковка, сложные структуры, содержащие α -спирали. α/β -доменные структуры. Упаковка мотивов, включающих параллельные β -структуры. « α/β -бочки». Роль α/β -мотивов в структуре ферментов: формирование гидрофобного ядра, формирование активных центров. Расположение β -спиралей в открытых изогнутых α/β -слоях. Возможность предсказания расположения активных центров ферментов в α/β -структурах: тирозил-тРНК-синтетаза, карбоксипептидаза, арабинозо-связывающий белок. Ретинол-связывающий белок, как представитель суперсемейства. Структура нейраминидазы и G β . Мотив греческого ключа и структура кристаллинов. Белки с β -спиральными доменами.

Узнавание ДНК – белок.

Роль структурного мотива «спираль-поворот-спираль» как важнейшего элемента в специфическом узнавании ДНК-белок. λ -репрессор и Cro-белок. Аллостерический контроль связывания белков с ДНК. Репрессор триптофанового оперона, репрессор лактозного оперона, белок CAP: структура и взаимодействие с ДНК.

Узнавание ДНК эукариотическими факторами транскрипции. Структура ТАТА-бокс-связывающего белка, его взаимодействие с ДНК, формирование гетеродимеров. Белок р53: структура и взаимодействие с ДНК.

Специфические транскрипционные факторы эукариот. Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых пальцев 1-го класса: структура, специфичность взаимодействия с ДНК. Цинксодержащие мотивы глюкокортикоидных рецепторов, димеризация рецепторов и связывание с ДНК. Ретиноид-Х-рецепторы. Рецепторы сироты.

Транскрипционные факторы с бинуклеарными цинковыми кластерами (GAL4): структура и специфическое узнавание ДНК. Димеризация транскрипционных факторов с участием «лейциновых молний» (структура и взаимодействие с ДНК GCN4, MyoD, Max).

Посттрансляционная модификация белков. Фолдинг. Формирование пространственной структуры белков. Механизмы, обеспечивающие правильное сворачивание полипептидных цепей. Шапероны.

Иодирование остатков тирозина. Образование остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты. Гидроксилирование белков. Ацетилирование и ADP-рибозилирование белков. Фосфорилирование белков. Протеинкиназы и протеинфосфатазы. Сульфатирование тирозина. Ограниченный протеолиз белков. Протеолитическая активация зимогенов. Протеолитический процессинг предшественников биологически активных пептидов. Сплайсинг белков (интеины). Гликозилирование белков. Гликопротеиды и пептидогликаны. N-гликопротеины и O-гликопротеины. Липопротеиды. Липопротеиды с C-концевым гликолипидом. Липопротеиды с N-концевой липидной группой. Пренилированные белки.

Избирательная деградация белков. АТФ-зависимый протеолиз. Убиквитин и его участие в модификации белков и в процессе деградации. Протеасомы.

Методы изучения белок-белковых взаимодействий. Фаговый дисплей пептидов. Поиск белков партнеров с помощью дрожжевой двухгибридной системы.

Структуры белков, выполняющих определенные функции. Структура белков, принимающих участие в передаче сигнала в клетку. G-белки, их структура и функции (G λ , G β , G γ). Ras-белок. Взаимодействие цитокинов и полипептидных гормонов с рецепторами. Тирозин-киназные рецепторы. SH2-и SH3-модули, их структура и роль. Структура Src-тирозинкиназы. Структура факторов белкового синтеза. Факторы белкового синтеза, как GTP-связывающие белки (EF1, EF2, EF3 и др.) Функциональные перестройки. Структура РНК-узнающего мотива. Структура рибосомных белков. Фибриллярные белки. Структура коллагена, эластина, кератинов, фибронектина, ламинина и фиброина шелка. Иммуноглобулины. Структура антител. Взаимодействия антиген-антитело.

Физико-химия нуклеиновых кислот

Структура ДНК. Эксперименты, доказывающие генетическую функцию ДНК. Гибкость двойной спирали ДНК. Физические параметры конформационных форм ДНК. Неканонические формы ДНК. Пары Хугстина. Триплексы. Влияние нуклеотидной последовательности на структуру ДНК. Сверхспирализация ДНК. Понятие о параметрах сверхспирализованной молекулы ДНК. Конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле. Топоизомеразы и топоизомеры ДНК. Типы топоизомераз. Регуляция уровня активности топоизомераз в клетке.

Структура и функции РНК. Мир РНК. Основные типы и основные функции клеточных и вирусных РНК. Общие принципы вторичной структуры РНК. Гипотеза о происхождении жизни через РНК. Генетический код и его свойства. Расшифровка генетического кода. Отклонения от универсальности генетического кода. тРНК, ее функции. Вторичная и третичная структура тРНК. Структура антикодоновой петли тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы – два класса. Супрессорные тРНК.

2. Молекулярная биология клетки

Функционирование клеточного ядра. Хроматин. Структурная организация нуклеосом. Нуклеосомы и транскрипция. Модификация гистонов и динамическая структура хроматина. Сборка нуклеосом, ее этапы, нуклеоплазмин. Закономерность расположения нуклеосом относительно промоторов и участков начала репликации (фейзинг нуклеосом). Представление о «перемоделировании» хроматина. Активное перемоделирование. Метилирование/деметилирование ДНК, связь с модификацией гистонов и изменением активности генов. Особенности структуры хроматина половых хромосом в связи с компенсацией различий числа генов X-хромосомы у разных полов. Представление о петельной организации хромосом. Ядерный матрикс. Лocus-контролирующие районы и «инсуляторы». Внутрядерная архитектура хромосом. Явление трансекции.

Структура рибосом. Морфология и состав эукариотических и прокариотических рибосом. Принципы структуры рибосомных РНК. Домены. Компактное сворачивание. Рибосомные белки: номенклатура, разнообразие, принципы строения и локализация в рибосоме. Основные экспериментальные подходы к изучению топографии рибосомных белков. Диссоциация, разворачивание и разборка рибосом. Функциональные активности и функциональные активности рибосом.

Молекулярные механизмы, связывающие клеточный цикл и репликацию ДНК. Циклины и протеинкиназы. Протоонкогены, участвующие в регуляции клеточного цикла. Расписание репликации участков хромосомы в клеточном цикле.

Секреция белков у про- и эукариот. Трансляция и транслокация секретируемых белков через мембрану. Сигнальная гипотеза секреции белков. Особенности структуры сигнальных пептидов.

3. Биосинтез нуклеиновых кислот и белка.

4. Молекулярная энзимология.

Биосинтез нуклеиновых кислот. Ферменты, участвующие в биосинтезе ДНК и РНК. Репарация, рекомбинация ДНК.

Репликация ДНК. Этапы репликации. Молекулярный механизм репликации. Точность воспроизведения ДНК. Полимеразы, участвующие в репликации, их ферментативная активность. Вилка репликации, события на отстающей нити. Ферменты в репликационной вилке. ДНК-полимераза III кишечной палочки. Понятие о процессивности полимераз. Роль димерной структуры в координации синтеза ДНК на комплементарных нитях. Особенности ДНК-полимераз эукариот. Регуляция инициации репликации у *E. coli*. Структура участка старта репликации (origin).

Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Понятие о репликаторе. Роль метилирования в регуляции репликации. Терминация репликации у бактерий.

Особенности регуляции репликации плазмид. Репликоны у эукариот, их изменчивость. Понятие о стационарных «репликативных фабриках». Ori у дрожжей, их структурно-функциональная организация.

Локальная амплификация участков ДНК в развитии. Возможные механизмы локальной амплификации. Ампликон. Представление об эволюции генных семейств. Репликация по типу «катящегося кольца (фаговая ДНК).

Проблема репликации линейного незамкнутого фрагмента ДНК. Теломеры. Теломераза, особенности структурной организации (РНК-компонент). Теория старения в связи с динамикой структуры теломеры. Неканонические структуры в районе теломерных последовательностей. Особенности структурной организации ДНК в районе центромеры. Искусственная хромосома у эукариот.

Репликативное метилирование ДНК. Модификация 5-метилцитозина и мутации. Метилазы у эукариот. 5-азациитидин как ингибитор метилирования. Импринтинг генов и его биологические последствия. Доказательства роли метилирования в развитии позвоночных.

Транскрипция у прокариот. Особенности структуры РНК-полимеразы. σ -фактор. Стадии транскрипционного цикла. Репликация и транскрипция. Сверхспирализация и транскрипция. Сигма 54. «Эукариотические элементы» в регуляции транскрипции. Терминация транскрипции. Полярные мутации.

Негативная и позитивная регуляция транскрипции. CAP-белок. Регуляция транскрипции в развитии фага λ . Принципы узнавания ДНК регуляторными белками. Атенуация транскрипции.

Транскрипция у эукариот. Промотор у эукариот. Базальная транскрипция. Факторы транскрипции. Понятие о цис-действующих элементах. Транс-активация транскрипции. Эхансеры и сайленсеры. «Модули» последовательностей ДНК, узнаваемые специфическими

белками. Роль «обратной генетики» в развитии представлений о регуляции транскрипции у эукариот.

Белковые домены, узнающие специфические последовательности ДНК. Гомеодомен и гены-селекторы. «Лейциновая молния» и димеризация факторов транскрипции. «Цинковые пальцы».

Ядерные рецепторы гормонов, их типы и особенности узнавания ДНК. Рецепторы-сироты. Ретиноевая кислота. Элементы консерватизма в системах регуляции транскрипции.

Внешние сигналы, активирующие транскрипцию генов. Система проведения сигналов. Семейства протоонкогенов Jun и Fos как факторов транскрипции. Альтернативы при выборе пути развития – дифференцировка/ пролиферация. Сайты AP1 и CRE в промоторах.

Транскрипционные факторы в развитии многоклеточных организмов. Понятие о морфогенах, примеры. Пространственно ограниченные морфогенетические градиенты.

Репарация ДНК. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина. Гликозилазы. Урацилгликозилазы. Эксцизионная репарация, ферменты. Механизм преимущественной репарации транскрибируемых генов. Болезни, обусловленные дефектами репарации. Механизм репарации неспаренных нуклеотидов. Роль метилирования. SOS-репарация. Представления об ошибках репликации, обусловленных скольжением нитей при репликации. Механизм образования коротких повторов. Микро- и минисателлиты. Короткие тандемные повторы. «Экспансия триплетных повторов» и динамические мутации.

Рекомбинация. Понятие об общей (гомологичной) и сайтспецифической рекомбинации. Различие молекулярных механизмов общей и сайтспецифической рекомбинации.

Модель рекомбинации, предполагающая двунитевой разрыв и репарацию разрыва. Роль рекомбинации в пострепликативной репарации. Структуры Холлидея в модели рекомбинации. Миграция ветви, гетеродуплексы, разрешение структур Холлидея (ферменты).

Генная конверсия, асимметричность генной конверсии. Продукты рекомбинационного акта, сопровождающегося обменом флангами. Постмейотическая сегрегация у дрожжей как доказательство гетеродуплекса при рекомбинации.

Энзимология рекомбинации у *E.coli*. RecBCD-комплекс. Белок RecA. Пресинаптический филамент, параметры его молекулярной структуры. Обмен нитями при синапсе. Особенности миграции ветви.

Двунитевые разрывы и генная конверсия. Локус спаривания у дрожжей, регуляция экспрессии. Размножение интронов и генная конверсия.

Сайт специфическая рекомбинация. Типы хромосомных перестроек, осуществляемых при сайт-специфической рекомбинации. Молекулярный механизм действия «рекомбиназ». Роль сайт-специфической рекомбинации в экспрессии генов у фагов. Интеграция фага лямбда. Рекомбиназа *Cro* фага P1. *LoxP*-сайты. Сайт-специфическая рекомбинация двунитевой плазмиды дрожжей.

Рекомбинация у высших эукариот. Особенности рекомбинации при образовании генов иммуноглобулинов и рецепторов Т-клеток. Сигналы рекомбинации. Молекулярные механизмы «программированных ошибок» при слиянии переменных и константных участков гена. Матричные и нематричные механизмы достройки сшиваемых фрагментов.

Подвижные элементы генома про- и эукариот. IS-последовательности, их структура. IS-последовательности как компонент F-фактора бактерий, определяющего способность передачи генетического материала при конъюгации.

Транспозоны бактерий (Tn3, Tn5, Tn9, Tn10). Механизмы транспозиции. Резольваза, функции резольвазы. Роль сверхспирализации при транспозиции. Регуляция транспозиции Tn10.

Транспозоны эукариот. Двухкомпонентная система транспозонов. Полный (активный) и дефектный транспозоны. Влияние транспозонов на активность генов у растений и

пространственный рисунок экспрессии генов. Представление о горизонтальном переносе транспозонов. Использование гомологичной и сайт-специфической рекомбинации в изучении генов эукариот. Метод «нокаута» генов.

Процессинг РНК.

Определение процессинга. Интроны, сплайсинг. Классификация интронов. Особенности структуры и механизмы сплайсинга. Рибозимы, их специфичность. Возможности применения для «нокаута» РНК. Интроны группы 2, механизм сплайсинга. Интроны групп 1 и 2 у разных организмов (эволюционные связи).

Сплайсинг пре-мРНК в ядре. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Модификация концевых областей мРНК – кэпирование, полиаденилирование.

Особенности процессинга тРНК и рРНК у бактерий. Особенности процессинга рРНК в ядрышке. РНКазы Р как рибозим.

Транс-сплайсинг. Его распространение. Альтернативный сплайсинг, примеры. Биологические последствия альтернативного сплайсинга. Эхансеры и сайленсеры сплайсинга. SR-белки, особенности структуры, роль в альтернативном сплайсинге.

Редактирование РНК. Молекулярные механизмы. Типы редактирования (примеры). Деграция аномальных мРНК. Обратная транскрипция. Роль обратной транскрипции в эволюции и изменчивости генома. Ретротранспозоны, их типы. Ретротранспозоны, содержащие длинные концевые повторы. Ту-элемент дрожжей. Псевдогены. Возможные источники обратной транскриптазы.

Биосинтез белка

Трансляция. Последовательность событий при синтезе белка. Трансляционный цикл. Стадии трансляции. Полирибосомы. Скорость трансляции, транзитное время.

Инициация трансляции – общие принципы. Прокариотический и эукариотический тип трансляции. Особенности инициации трансляции у прокариот. Инициаторные кодоны, инициаторная тРНК, белковые факторы трансляции, рибосомо-связывающий участок мРНК. Независимая инициация и трансляционное сопряжение при трансляции прокариотических полицистронных мРНК. Особенности эукариотической мРНК и инициации трансляции у эукариот. Механизмы сканирования и внутренней инициации. Кэп-связывающий и геликазный комплексы при инициации трансляции у эукариот.

Элонгация трансляции. Элонгационный цикл. Факторы элонгации. Стадия связывания аминоксил-тРНК в элонгационном цикле. Стереохимия кодон-антикодового взаимодействия. Фактор элонгации EF-Tu, его структура и взаимодействия. Исправление ошибок («редактирование») при связывании аминоксил-тРНК. Вклад скоростей реакции и GTP. Гипотеза Крика о неоднозначном соответствии при кодон-антиконовом спаривании (Wobble-гипотеза). Образование пептидной связи: химические реакции, пептидилтрансферазный центр, стереохимия транспептидации.

Ложное кодирование. Факторы, стимулирующие ложное кодирование. Механизм действия аминогликозидных антибиотиков и механизм устойчивости к ним. Стадия транслкации элонгационного цикла. Основные экспериментальные тесты на транслкацию. Молекулярный механизм. Фактор элонгации EF-G, его структура и его взаимодействия. Концепция переходного состояния при катализе стадий элонгационного цикла факторами элонгации. Роль гидролиза GTP. Механизм кодирования селеноцистеина –21-й аминокислоты в белках.

Элонгационные токсины, механизм их действия. Механизм действия тетрациклина и устойчивости к тетрациклину.

Терминация трансляции. Текучесть стоп-кодонов. тРНК, ответственные за текучесть, их антикодоны. Скольжение и прыжки рибосомы при трансляции. Сдвиг рамки считывания при трансляции – два механизма. Трансляционные паузы, их механизм и функциональное значение. Реинициация у прокариот и эукариот.

Регуляция трансляции. Основные принципы регуляции трансляции. Дискриминация мРНК у прокариот и эукариот в процессе инициации трансляции. Модуляция дискриминации у эукариот. Трансляционная репрессия у прокариот. Пример авторегулируемого синтеза треонил-тРНК-синтетазы. Регуляция трансляции мРНК рибосомных белков у прокариот. Регуляция синтеза фактора терминации RF-2 у бактерий. РНК фага MS2 и регуляция экспрессии ее цистронов. Тотальная регуляция синтеза белка у эукариот через фосфорилирование фактора инициации eIF-2. Тотальная регуляция синтеза белка у эукариот через фосфорилирование фактора инициации eIF-4 и связывающего его белка 4E-BP. Регуляция трансляции у эукариот короткими открытыми рамками считывания в лидерной последовательности.

Трансляционная репрессия у эукариот. Пример регуляции синтеза ферритина. Два механизма трансляционной репрессии: ингибирование связывания инициаторного комплекса и ингибирование сканирования. Регуляция скорости элонгации. 3'-концевые усилители инициации трансляции у эукариот и возможный механизм их действия. Маскирование мРНК в зародышевых клетках. Маскирование и демаскирование мРНК в эмбриональном развитии и при клеточной дифференцировке. Пример липоксигеназы красных кровяных клеток. Информосомы и основной белок мРНК. Возможная функциональная роль основного белка мРНК. Другие мРНК-связывающие белки мРНК.

5. Геномы, их структура и функция

Определение геномики. Представления о методах исследований, приведших к возникновению геномики. Модельные организмы, используемые для изучения структуры и функций геномов. Сравнительная геномика. Сравнение нуклеотидных последовательностей как средство изучения функций генов.

Картирование генов и геномов

Представление о различных видах карт генома. Физические карты геномов. Карты рестриктных фрагментов. Библиотеки генов, принципы их создания, представительность, методы скрининга. Векторы, используемые для создания библиотек. Карты геномов как наборы упорядоченных клонов. Контиги клонов. STS (sequenced tag sites) как инструмент составления физических карт геномов. Принцип полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Генетическое картирование. Полиморфизм геномов. Полиморфизм длин рестриктных фрагментов (ПДРФ). Мини- и микросателлиты. Мононуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Высоко, средне и редкоповторяющиеся последовательности. Гаплотипы. Наследование гаплотипов и рекомбинации. Единицы генетического расстояния. Полиморфизм геномов как основа геномной дактилоскопии. Молекулярно-генетические основы идентификации личности. Молекулярно-генетические маркеры (МГМ), определение, информативность, использование для построения генетической карты. Интегрированные карты геномов. Использование МГМ для картирования генов, ответственных за развитие наследственных заболеваний. Позиционное картирование генов.

Понятие о хромосомных aberrациях. Транслокации. Делеции. Цитогенетическая идентификация aberrаций.

Выделение фрагментов генома. Геномные библиотеки. Поиск клонов в геномной библиотеке. Принцип прогулки по геному. Поиск гена в большой области генома. Создание и анализ библиотек кДНК. Упорядоченные библиотеки кДНК. Вычитающая гибридизация как метод сравнения геномов.

Особенности структуры геномов высших эукариот.

Уникальные и повторяющиеся нуклеотидные последовательности. Гены кодирующие РНК (рРНК, тРНК, малые ядерные и цитоплазматические РНК). Гены, кодирующие белки. Мультигенные семейства. Тандемные повторы. Механизмы образования и эволюции тандемных повторов. Повторяющиеся последовательности, рассеянные по геному. SINE и LINE элементы. Эндогенные ретровирусные элементы. Центромерные повторы. Теломерные повторы. Геномы органелл (митохондрий, хлоропластов). Происхождение ДНК органелл.

Источники полиморфизма геномов.

Мутации. Причины мутаций. Типы повреждений ДНК. Апуринизация. Дезаминирование 5-метил цитозина. Системы защиты генома от мутаций. Схема клеточного цикла. Циклин-зависимые киназы. Гены супрессоры опухолей. Ген белка p53, роль в репарации и апоптозе. Инактивация p53 в опухолевых клетках.

Моногенные наследственные заболевания. Врожденные дефекты метаболизма. Примеры моногенных заболеваний. Фенилкетонурия. Муковисцидоз. Мышечная дистрофия Дюшена.

Изучение функций генома.

Представление о функциональной геномике. Анализ биохимических функций методами биоинформатики – гомология структур/аналогия функций.

Клонирование и экспрессия генов в гетерологичных системах. Комплементация мутаций. РНК интерференция как метод подавления экспрессии генов.

6. Генная, белковая и клеточная инженерия.

Создание трансгенных животных. Введение трансгенов в пронуклеус. Получение эмбриональных стволовых клеток. Получение гомозиготных трансгенных мышей с помощью эмбриональных стволовых клеток. Принципы селекции соматических клеток. Доминантная селекция. Использование ретровирусов для трансгеноза. Жизненный цикл ретровируса. Принципы конструирования ретровирусных векторов.

Экспрессия генов в трансгенных животных. Регуляторные элементы, необходимые для экспрессии. Энхансеры и промоторы, сайты полиаденилирования, интроны. Эффект положения и подходы к его преодолению. Элементы прикрепления к ядерному матриксу. Инсуляторы. Лocus-контролирующие области (LCR). Подходы к изучению факторов, влияющих на экспрессию чужеродных генов. Гены-репортеры.

Принципы направленной модификации генома. Клеточная инженерия. Принципы негативно-позитивной селекции для отбора линий с направленно встроенным геном. Направленные перестройки генома с использованием системы рекомбиназы Cre и сайтов LoxP. «Нокаут» генов.

Клонирование животных. Перенос ядер соматических клеток в безъядерные яйцеклетки с последующим клонированием животных. Генетическая инженерия растений.

Инженерия белков. Получение мутантных белков методами сайт-специфического мутагенеза. Получение слитых белков. Синтез белков de novo.

7. Молекулярная вирусология

Общие принципы структурной организации вирусов. Геномы вирусов. Вирусные белки. Липиды и углеводы в составе вирусных частиц. Бактериофаги. Строение, свойства бактериофагов. Использование вирусов в практической деятельности человека.

Молекулярные основы генотерапии. Вирусные векторы и невирусные методы переноса генов. Прикладные аспекты генетической инженерии. Основы безопасности работы с рекомбинантными ДНК.

8. Биоинформатика.

Три компоненты биоинформатики:

1. Создание баз данных, позволяющих осуществлять хранение крупных наборов биологически данных и управлять ими;
2. Разработку алгоритмов и методов статистического анализа для определения отношений между элементами крупных наборов данных;
3. Использование этих средств для анализа и интерпретации биологических данных различного типа — в частности, последовательностей ДНК, РНК и белков, белковых структур, профилей экспрессии генов, биохимических путей.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ КО ВСЕЙ ПРОГРАММЕ

1. Б. Льюин. Гены. М., Лаборатория знаний, 2022.
2. В. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Роберте, Дж. Уотсон. Молекулярная биология клетки. Т. 1–3. М., Мир, 2020.
3. Д. Нельсон, М. Кокс. Основы биохимии Ленинджера. Учебник. В 3-х томах. М: Бином, 2017.
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов. Биохимия. М., ГЭОТАР-Медиа, 2015.
5. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Под ред. К. Уилсона и Дж. Уолкера. М: Лаборатория знаний, 2015. 855 с.
6. Н.Ю. Часовских. Биоинформатика. ГЭОТАР-Медиа, 2020 г.
7. Вирусология. Под ред. Пиневича А., СПбГУ. 2020 г.
8. Б. Глик, Дж. Пастернак. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М., Мир, 2002.
9. Р.Д. Шмид. Наглядная биотехнология. М., Бином, 2020.

ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕРНЫХ ВОПРОСОВ

1. Посттрансляционная модификация белков. Фолдинг. Формирование пространственной структуры белков. Механизмы, обеспечивающие правильное сворачивание полипептидных цепей. Шапероны.
2. Мутации. Причины мутаций. Типы повреждений ДНК. Системы защиты генома от мутаций.

3. Основные классы структур доменов белков.
4. Уровни организации белковой молекулы.
5. Конформационные свойства полипептидных цепей.
6. Методы изучения белок-белковых взаимодействий. Фаговый дисплей пептидов. Поиск белков партнеров с помощью дрожжевой двухгибридной системы.
7. Структура и функции РНК. Основные типы и основные функции клеточных и вирусных РНК. Общие принципы вторичной структуры РНК.
8. Общие принципы структурной организации вирусов. Геномы вирусов. Вирусные белки.
9. Определение процессинга. Интроны, сплайсинг. Классификация интронов. Особенности структуры и механизмы сплайсинга.
10. Получение мутантных белков методами сайт-специфического мутагенеза. Получение слитых белков. Синтез белков de novo.

ФОРМЫ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

<i>Тип контроля</i>	<i>2 год</i>	<i>Параметры</i>
Текущий	-	
Итоговый	+	Устный экзамен по билетам.

Форма проведения экзамена

Экзамен принимается комиссией, проводится в устной форме.

Экзаменационный билет состоит из трёх вопросов. Первые два представляют собой вопросы по специальности. Формулировки вопросов в билете не обязаны совпадать с формулировками из перечня примерных вопросов. Третий вопрос билета – вопрос по диссертационному исследованию (исследовательский вопрос, исследовательские задачи, ценность работы и т.д.).

Члены комиссии могут задать аспиранту дополнительные вопросы. Количество и содержание дополнительных вопросов определяется качеством ответов экзаменуемого.

ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДИСЦИПЛИНЫ

Дисциплина базируется на аудиторной и самостоятельной внеаудиторной работе аспирантов.

ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА ДИСЦИПЛИНЫ

Итоговый контроль знаний состоит в сдаче устного экзамена по билетам (кандидатский минимум). Темы, перечень примерных вопросов для подготовки к экзамену по научной специальности представлены в соответствующих блоках настоящей программы.

Оценка по итогам сдачи кандидатского экзамена выставляется по 5-балльной шкале:

<i>Оценка, полученная за</i>	<i>Оценка</i>	<i>Критерий</i>

<i>экзамен, в баллах</i>		
5	отлично	Средний балл по результатам устных ответов по трём вопросам равен или более 4,5
4	хорошо	Средний балл по результатам устных ответов по трём вопросам 3,5 – 4,4
3	удовлетворительно	Средний балл по результатам устных ответов по трём вопросам 2,6 – 3,4
0-2	неудовлетворительно	Средний балл по результатам устных ответов по трём вопросам 0-2,5

ПРОГРАММНЫЕ СРЕДСТВА ДИСЦИПЛИНЫ

Для успешного освоения дисциплины, аспирант использует следующие программные средства:

- MS Word, MS Power Point
- Браузеры

МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Учебные аудитории для самостоятельных занятий оснащены ноутбуками с возможностью подключения к сети Интернет и доступом к электронной информационно-образовательной среде НИУ ВШЭ.