

Федеральное бюджетное учреждение науки
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека
(ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

УТВЕРЖДАЮ

Врио генерального директора

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора

Р. А. Максютов



2016 г.

Рабочая программа дисциплины

Направление подготовки:
06.06.01 – Биологические науки

Направленность (профиль)
03.01.03 – Молекулярная биология

Квалификация выпускника
Исследователь. Преподаватель-исследователь

Форма обучения: очная

Кольцово 2016

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Цели освоения дисциплины.....	3
2.	Место дисциплины в структуре образовательной программы.....	3
3.	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с планируемыми результатами освоения образовательной программы.....	3
4.	Объем дисциплины и виды учебной работы.....	5
5.	Содержание дисциплины и трудоемкость по видам учебных занятий.....	5
6.	Самостоятельная работа обучающихся.....	12
7.	Формы проведения занятий.....	13
8.	Фонд оценочных средств.....	14
	8.1. Программа курса лекций.....	14
	8.2. Объем дисциплины и виды учебной работы.....	16
	8.3. Критерии оценивания.....	26
	8.4. Образцы билетов.....	27
9.	Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины.....	27
	9.1. Основная литература.....	28
	9.2. Дополнительная литература.....	28
	9.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети Интернет, необходимых для освоения дисциплины.....	28
10.	Информационные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине, в т.ч. программное обеспечение.....	28
11.	Материально-техническое обеспечение дисциплины.....	29

1. Цель освоения дисциплины

Целью освоения дисциплины является подготовка специалистов высшей квалификации для фундаментальной и прикладной науки в области клеточной биологии, молекулярной биологии, биотехнологии, иммунологии и генной инженерии, обладающих современными теоретическими знаниями и экспериментальной подготовкой, способных формулировать научные и прикладные задачи и предлагать пути их решения, нацеленных на совершенствование и развитие своего научного потенциала и своей личности.

2. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина отнесена к обязательным дисциплинам вариативной части Блока 1 «Дисциплины (модули)» программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки.

Для освоения данной дисциплины обучаемый должен:

знать: химический состав и структуру ДНК – основного носителя генетической информации; химический состав и структуру белков, механизмы реализации генетической информации; механизмы процессинга и сплайсинга информационных РНК; процесс биосинтеза белка;

уметь: ориентироваться в научной литературе, отечественной и зарубежной, критически оценивать методы для решения экспериментальных задач; представить полученные результаты, подтвердить их достоверность с помощью статистических методов, представить полученные результаты устно и письменно;

владеть: знаниями о современном состоянии науки в области структуры и функционирования носителей генетической информации; навыками участия в научной дискуссии, принятия независимых суждений и самостоятельных решений, свободно ориентироваться в теоретической и методической базе, отстаивать свою точку зрения; навыками изложения и обсуждения собственных экспериментальных данных в виде научной статьи.

Дисциплина Молекулярная биология изучается в третьем и четвертом семестрах второго курса и пятом и шестом семестрах третьего курса аспирантуры. Изучение дисциплины опирается на знания в области физики, химии, математики, философии, специальных дисциплин направления подготовки 06.06.01 Биологические науки, освоенных аспирантами на предшествующих этапах обучения.

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с планируемыми результатами освоения образовательной программы

В результате освоения образовательной программы аспирантуры обучающийся должен овладеть следующими результатами обучения по дисциплине:

Код компетенции	Результаты освоения образовательной программы. Содержание компетенции	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине
ПК-1	Знание фундаментальных	Знать:

	основ молекулярной биологии.	<p>- основные законы химии, биохимии и молекулярной биологии;</p> <p><u>уметь:</u></p> <p>- выбирать рациональные методы, необходимые, для выделения продуктов биосинтеза, их очистки и определения структуры;</p> <p><u>владеть:</u></p> <p>- экспериментальными навыками выделения продуктов биосинтеза из клеток, их очистки и определения структуры</p>
ПК-2	Способность изучать сущности процессов протекающих в живой клетке	<p><u>Знать:</u></p> <p>- механизмы, закономерности и условия протекания важнейших биологических процессов, особенности реализации генетической информации в про- и эукариотической клетке;</p> <p><u>уметь:</u></p> <p>- выделять плазмидные, вирусные и геномные ДНК; ставить реакции рестрикции и лигирования фрагментов ДНК;</p> <p>- проводить электрофоретический анализ ДНК;</p> <p>- трансформировать клетки бактерий, отбирать рекомбинантные;</p> <p><u>владеть:</u></p> <p>- навыками работы с биополимерами, в том числе с рекомбинантными ДНК;</p> <p>- методами очистки биополимеров (электрофорез, центрифугирование, хроматография);</p> <p>- методами определения физических констант биополимеров</p>
ПК-3	Способность использование приобретенных знаний и навыков для решения задач молекулярной биологии, генетической инженерии и биотехнологии	<p><u>Знать:</u></p> <p>- основные принципы и приемы создания рекомбинантных молекул и трансгенных организмов;</p> <p><u>уметь:</u></p> <p>- планировать эксперименты в области молекулярно – биологических исследований и по генной инженерии;</p> <p>- представлять полученные в исследованиях результаты в виде отчетов</p>

		и научных публикаций; <u>владеть:</u> - навыками дизайна рекомбинантных молекул ДНК; - подходами для достижения оптимального уровня экспрессии клонируемых генов в зависимости от используемого организма хозяина и физико-химических свойств продукта экспрессии; - опытом участия в научных дискуссиях
--	--	---

4. Объем дисциплины и виды учебной работы

Объем дисциплины – 3 зачетных единицы (ЗЕ) или 108 академических часов.

Вид учебной работы		Всего часов
Контактная работа обучающихся с преподавателем (по видам учебных занятий) (всего)		36
Аудиторные занятия (всего)		36
в том числе:		
лекции (Л)		36
практические занятия (ПЗ), семинары (С)		
лабораторные работы (ЛР)		
практикумы (ПР)		
Внеаудиторная работа (всего)		
в том числе:		
индивидуальная работа обучающихся с преподавателем		
консультации		
Самостоятельная работа обучающихся (СР) (всего)		72
в том числе: реферат		
Вид промежуточной аттестации зачет (З), экзамен (Э)		экзамен
Общая трудоемкость	часов	108
	зачётных единиц	3

5. Содержание дисциплины и трудоемкость по видам учебных занятий

Содержание раздела		
№ п/п	Наименование темы	Объем, час
1	2	3
1.	Введение. Предмет молекулярной биологии и его место в ряду других биологических дисциплин. Историческая справка. Первые данные о химии нуклеиновых кислот. Первые открытия о	2

	ДНК как носители информации о наследуемых признаках. Методы исследования нуклеиновых кислот в историческом аспекте.	
2.	Структура нуклеиновых кислот. Нуклеотиды – мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания; кето-енольная таутомерия. Нуклеозид; N-гликозидная связь; фосфатный остаток, его положение. Различные типы нуклеотидов. Химическая деградация нуклеиновых кислот. Экзонуклеазы и эндонуклеазы. ДНКазы и РНКазы. Количественное определение нуклеиновых кислот, включая УФ-спектрофотометрию. Методы выделения нуклеиновых кислот. Специфичность количественных соотношений азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Правила Чаргаффа.	2
3.	Макромолекулярная структура ДНК и РНК. Двойная спираль Уотсона-Крика. Принцип комплементарности и его биологическое назначение. Водородные связи и гидрофобные взаимодействия между азотистыми основаниями. Параметры спирали. В- и А-формы ДНК. Гипохромизм ДНК. Его связь с упорядоченностью расположения азотистых оснований в молекуле. Денатурация двуцепочечной ДНК. Влияние ионной силы, гидрофобных растворителей, мочевины, pH. Температура плавления спирали ДНК, ее связь с нуклеотидным составом. Гиперхромный эффект. Денатурация ДНК как переход спираль-клубок. Природа кооперативности. Ренатурация ДНК. Условия ренатурации. Молекулярная гибридизация ДНК. Типы РНК их функциональная роль и распространенность. Сходство и отличие конформационных свойств РНК и ДНК: гипохромизм; рентгеноструктурные данные; характеристическая вязкость; температурная зависимость гипохромизма и вязкости; обратимость тепловой денатурации. Вторичная структура РНК. Неканонические типы спаривания оснований. Гибридные спирали ДНК-РНК. Структура тРНК и функциональная роль ее элементов. Структурные домены в РНК. Антисмысловые РНК. Каталитическая активность РНК (рибозимы). Одноцепочечная ДНК и двуцепочечная РНК вирусного происхождения.	2
4.	Структура и свойства белков. Аминокислотные остатки – мономеры белковых цепей. Типы аминокислот. Пептидная связь. Полипептидная цепь. Определение последовательности аминокислотных остатков в белке. 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.	2

5.	<p>Пространственная структура белков. Вторичная структура белков. α-спирали и β-складки участки в глобулярных белках. Отклонение от геометрических параметров β-складки в спиральных участках белков. Изогнутость β-структурных слоев в глобулярных белках (правопропеллерность). Связь вторичной структуры белков с их аминокислотной последовательностью. Третичная структура белков. Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Ионные и водородные связи. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Четвертичная структура белков. Типы взаимодействия между субъединицами в олигомерных белках на примере молекулы гемоглобина. Симметричные олигомерные структуры из тождественных субъединиц. Структуры инсулина, лактатдегидрогеназы. Биологические преимущества крупного белка, составленного из субъединиц, перед крупным мономерным белком. Денатурация белков. Разрушение нативной конформации белков при изменении температуры, pH, при обработке мочевиной, гуанидинхлоридом. Действие детергентов, спиртов, электролитов. 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.</p>	2
6.	<p>Структура рибосом. Локализация рибосом в клетке. Седиментационная характеристика рибосом прокариот и эукариот. Состав рибосом. Различия 70S и 80S рибосом. Связанные катионы: Mg^{++}, Ca^{++}, ди- и полиамины. Составные части рибосомы. Диссоциация рибосом. Обратимость диссоциации. Специфичность реассоциации: контактирующие поверхности субчастиц. Димеризация рибосом и их частиц при высоких концентрациях. Три типа молекул рибосомальной РНК. Вторичная структура РНК в составе рибосом. Количество белковых молекул на рибосому и их молекулярно-весовые характеристики; гетерогенность по молекулярным весам, аминокислотному составу и последовательности; разделение путем электрофореза в геле. Самосборка рибосом. Реконструкция рибосомы.</p>	2
7.	<p>Некоторые функции белков. Классификация белков, основанная на их биологической функции. Ферменты, транспортные белки, запасные белки, сократительные белки, защитные белки крови, токсины, гормоны, структурные белки. Транспортные белки. Гемоглобин. Механизм его взаимодействия с молекулами кислорода. Транспортные белки. Гемоглобин. Механизм его взаимодействия с молекулами кислорода. Защитные белки крови. Ферменты. Классификация ферментов. Кофакторы ферментов.</p>	2

	<p>Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Бриггса-Холдейна. Функционирование ферментов. Активные центры ферментов. Представление о строении активного центра и механизме действия ферментов (лизоцим, карбоксипептидаза, химотрипсин и др. Регуляция ферментативной активности. Ингибирование. Превращение проэнзима (зимогена) в энзим, фосфорилирование, аденилирование. Регуляция по принципу обратной связи. Изоферменты. Четвертичная структура изоферментов (лактатдегидрогеназа). Изоферментная регуляция метаболизма на примере изоферментов лактатдегидрогеназы. Полиферментные комплексы. Пируватдегидрогеназный комплекс.</p>	
8.	<p>Структура геномов. Два уровня организации упаковки ДНК в живой природе: свободная (вирусы, бактерии) и нуклеопротеидная (высшие организмы) форма. Проблема компактной упаковки на обоих уровнях. Фаговый/вирусный геном. Размеры, молекулярный вес, непрерывность цепей ДНК, цикличность ДНК. Бактериальная хромосома. Хромосома как клеточный дезоксирибонуклеопротеид (ДНП). Типы гистонов. Структура хроматина. Нуклеосома. Локализация генов в хромосомах. Принцип линейного расположения генов в хромосоме. Понятие о мутации как точечном изменении в определенном участке ДНК. Виды мутаций: транзиция, трансверсия, делеция, инсерция. Фенотипическое выражение мутации: изменение, ослабление или выпадение функции. Мутации разных генов. Мутация внутри одного гена. Строение генов высших эукариот: интроны и экзоны.</p>	2
9.	<p>Редупликация, рекомбинация и модификация ДНК. Полуконсервативный механизм редупликации (опыт Меселсона-Сталя). Механизм биосинтеза ДНК. Роль матрицы, дНТФ, образование комплементарного продукта. Точность редупликации ДНК. Направление редупликации хромосомы и парных нитей ДНК-матрицы. Расплетающие белки. Инициация с РНК-затравкой. Фрагменты Оказаки. ДНК-полимераза I (Корнберга). Ее ферментативные активности (полимеризующая, 3'-5' и 5'-3'-экзонуклеотические), их роль в синтезе ДНК. ДНК-лигазы, их роль в синтезе ДНК. Свойства и роль ДНК-полимераз I, II, III. Инициация синтеза комплементарной ДНК на одонитевых ДНК бактериофагов M13 и φX174. РНК-полимеразы, образующие РНК-затравки для инициации синтеза ДНК. Инициационный комплекс: ДНК-полимеразы III, белковый кофактор, кополимераза, ДНК-зависимая АТФаза, расплетающий белок, АТФ. Элонгация ДНК. Белок, катализирующий разрыв-воссоединение одной из нитей ДНК. Регуляция редупликации хромосомы бактерий. Понятие о репликоне. Плазмиды и эписомы. Схема репликона. Т-антиген вируса SV40 как инициатор репликации ДНК. Редупликация хромосом высших организмов. Множественность репликонов в</p>	2

	хромосомах, амплификация генов рРНК. Хромосомы митохондрий и пластид. Синтез ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция). Примеры. Молекулярный механизм мутаций. Мутации, возникающие в процессе редупликации ДНК и при физикохимических воздействиях. Типы мутаций. Расшифровка генетического кода. Понятие о кодовом отношении, о кодонах, о неперекрываемости кодонов, о запятых, вырожденности.	
10.	Генетическая рекомбинация. Типы генетической рекомбинации у бактерий и фагов. Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор – эписома. Передача ДНК от донорных клеток к реципиентным. Механизм встраивания эписомы, умеренного фага и участка хромосомы в геном реципиентных бактерий. Молекулярные механизмы трансдукции, трансформации, рекомбинации фагов и эписом.	2
11.	Репарация повреждений ДНК. Система световой репарации ДНК. Темновая репарация ДНК. Вырезание тиминовых димеров и застройка бреши. Этапы процесса. Роль ферментов: эндонуклеазы, ДНКазы, ДНК-полимеразы I, лигазы. Наследственные заболевания человека, основанные на нарушении системы репарации ДНК.	2
12.	Транскрипция и биосинтез РНК. Информационные РНК. Понятие об оперонах и полицистронных мРНК. Разрезание (процессинг) предшественников тРНК и мРНК бактериофагов. Этапы синтеза РНК. Присоединение РНК-полимеразы к ДНК. Промоторы про- и эукариот, энхансеры. Последовательность нуклеотидов в промоторах. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Структура РНК-полимеразы. Роль ее субъединиц в транскрипции. Модификация РНК-полимеразы при размножении бактериофагов. Новые полипептиды в РНК-полимеразе при фаговой инфекции и специфичность синтеза РНК. РНК-полимеразы бактериофагов.	2
13.	Регуляция транскрипции у прокариот и эукариот. Классическая схема оперона по Жакобу и Моно. Альфа-комплементация бета-галактозидазы. Позитивная регуляция арабинозного оперона. Катаболитная репрессия. Циклическая АМФ и белок-рецептор цАМФ. Белки-активаторы и их акцепторные зоны в опероне, нуклеотидная последовательность акцепторных зон и их структурные взаимоотношения с промотором и оператором. Фактор терминации транскрипции (ρ-фактор). Общая структура генома; уникальные и повторяющиеся последовательности в ДНК. Кинетика Уникальные и повторяющиеся структурные гены белков. Три типа РНК-полимераз животных. Гигантские предшественники мРНК, их структура и созревание. Образование 3'-концевой полиА-последовательности и кэпа. Гипотезы о структуре единиц	2

	<p>транскрипции у эукариот.</p> <p>Ферментативный синтез РНК на матрице РНК при вирусной инфекции РНК-содержащими вирусами. Проблема редупликации вирусной РНК. РНК-зависимая РНК-полимераза. Вирусная природа фермента. Бактериальные РНК-содержащие вирусы. Этапы вирусной инфекции при заражении РНК-содержащими бактериофагами, у которых геном представляет собой «+» РНК: депротеинизация вирусной РНК в клетке, соединение вирусной РНК с рибосомами клетки хозяина, синтез РНК-синтетазы, репликация «+» и «-» цепей вирусной РНК и дальнейший синтез белков, (самосборка вирусных частиц). Особенности репликации РНК у вирусов, у которых геном представляет собой «-» РНК или двуспиральную РНК.</p>	
14.	<p>Биосинтез белка. Активация аминокислот. Реакция первичной активации аминокислот. Химия процесса. Тип образующейся химической связи. Участвующие в этом ферменты.</p> <p>Специфичность ферментов по отношению к различным аминокислотам. Акцептирование аминокислотной группы на тРНК. Открытие тРНК и процесса акцептирования аминокислот (Хогланд и Замечник, 1959). Характеристика тРНК: длина цепи, концевые группы, универсальная 3'-концевая последовательность. Реакция акцептирования аминокислотной группы. Химия процесса. Значение ССА-конца тРНК. Связь аминокислоты с тРНК. Ферменты, участвующие в акцептировании. Аminoацил-тРНК как форма поступления аминокислоты в рибосому.</p> <p>Адапторная гипотеза Крика (1956-57). Принцип комплементарности оснований как основа гипотезы. Понятие об антикодоне. Понятие об аминокислот-специфичном участке. Понятие об универсальных участках и их роль в связывании с рибосомой. Механизм трансляции в свете адапторной теории. Вырожденность кода и некоторые закономерности этой вырожденности. Функциональные центры рибосомы. мРНК-связывающий участок. Его локализация на 30S субчастице. Аminoацил-тРНК-связывающий участок рибосомы и его локализация. Пептидил-тРНК-связывающий участок рибосомы и его локализация. ГТФазная активность комплексов рибосомы с белковыми факторами.</p>	2
15.	<p>Этапы трансляции. Инициация трансляции. Инициаторная формилметионил-тРНК. Иницирующие кодоны. Белковые факторы и ГТФ. Образование начального комплекса. Образование первой пептидной связи. Инициация в системах с синтетическими матрицами без иницирующих кодонов. Особенности инициации в эукариотических системах. Полимеризация аминокислот, элонгация. Белковые факторы и ГТФ. Поступление в рибосому аминокислот-тРНК. Образование пептидной связи. Транслокация.</p>	2

	<p>Общая схема рабочего цикла трансляции. Терминация трансляции. Кодоны терминации. Белковые факторы терминации. Межцистронная пунктуация в полицистронных мРНК. Полирибосомы. Распространенность. Механизм функционирования. Биологическая роль. Биоэнергетика трансляции. Вклад и механизм действия белковых факторов трансляции. Регуляция синтеза белка на уровне трансляции. Понятие об информосоме. Данные о негативной регуляции мРНК в животных системах. Позитивная регуляция: мРНК-узнающая способность рибосом и белковых факторов инициации. Посттрансляционные изменения белков; частичный протеолиз, гликозилирование, фосфорилирование и другие типы химической модификации белка.</p>	
16.	<p>Генетическая инженерия. Генетическая инженерии как основа современных биотехнологий. Предмет и задачи генетической инженерии, ее связь с другими биологическими дисциплинами. Достижения генетической инженерии. Основные ферменты, применяемые в генетической инженерии. Ферменты генетической инженерии. Понятие о системах рестрикции – модификации. Источники и специфичность эндонуклеаз рестрикции. Эндонуклеазы рестрикции – номенклатура, классификация, ферментативная активность. Типы эндонуклеаз рестрикции. ДНК-лигаза фага Т4. Химия процесса лигирования (сшивания) фрагментов ДНК. ДНК-полимераза I <i>E.coli</i>. Фрагмент Кленова. ДНК-полимераза фага Т4. Полинуклеотидкиназа фага Т4. РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза, ревертаза). Щелочные фосфатазы. Дефосфорилирование ДНК. Нуклеазы, не относящиеся к ферментам рестрикции. Примеры использования. Векторы для клонирования генов и фрагментов ДНК. Классификация векторов: по области использования, по происхождению, по структуре ДНК, по способу поддержания в клетке, по числу молекул в клетке, по числу репликаторов, имеющих в векторном геноме. Плазмидные векторы. Векторы на основе фагов. Космиды и фазмиды. YAC - сверхемкий вектор для клонирования ДНК. Челночные векторы. Автономные и интегративные векторы. Экспрессирующие векторы и их функционирование. Факторы, влияющие на эффективность экспрессии рекомбинантных генов. Векторы, используемые в клетках животных и растений.</p>	2
17	<p>Генетическая инженерия. Получение генов для клонирования. Получение генов с помощью химического синтеза, полимеразной цепной реакции, выделения с помощью эндонуклеаз рестрикции. Введение рекомбинантных ДНК в клетку реципиент. Трансформация (трансфекция) бактерий гибридными плазмидами (фаговыми ДНК). Селекция трансформантов (трансфектантов).</p>	2

	Введения генов в клетки растений и животных. Конструирование и селекция гибридных молекул ДНК. Оптимизация экспрессии клонированных генов. Трансгенные и гибридные клетки и организмы. Основы клеточной инженерии. Технология получения и культивирования трансгенных линий клеток млекопитающих. Получение биологически активных веществ в культурах клеток. Фармакобиотехнология. Значение клеточной инженерии для медицины.	
18.	Биологическая безопасность и организация лабораторий различных уровней биобезопасности. Концепция биологической безопасности в лабораторных условиях, классификации патогенов по уровням риска, основные понятия биобезопасности	2
	Итого	36

6. Самостоятельная работа обучающихся

Аспиранты могут выполнять необходимую при изучении дисциплины самостоятельную работу в читальных залах ГПНТБ СО РАН, в читальном зале библиотеки ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, в учебных кабинетах, на рабочих местах и на дополнительно оборудованных стационарных местах с выходом в Интернет, а также в домашних условиях.

№ п/п	Наименование вида самостоятельной работы	Трудоемкость	
		часы	ЗЕ
1	2	3	4
1	Домашнее задание – изучение теории: • строение ДНК; • процесс репликации ДНК; • особенности строения РНК	5	0,139
	Домашнее задание – изучение теории: • строение и типы аминокислот в природных белках	5	0,139
2	Домашнее задание – изучение теории: • вторичная и третичная структура белков	6	0,167
3	Домашнее задание – изучение теории: • процесс транскрипции – синтез РНК на матрице ДНК	10	0,278
4	Домашнее задание – изучение теории: • структура рибосом. Полирибосомы и синтез белка	8	0,222
	Домашнее задание – изучение теории: • этапы трансляции.	8	0,222
	Расчетные работы: • анализ нуклеотидных последовательностей геномов	10	0,278

5	Домашнее задание – изучение теории: <ul style="list-style-type: none"> • системы рестрикции модификации; • векторы для клонирования генов и фрагментов ДНК 	8	0,222
	Домашнее задание – изучение теории: <ul style="list-style-type: none"> • введение рекомбинантных ДНК в клетку; • трансгены. 	8	0,222
ИТОГО:		72	2

Для обеспечения самостоятельной работы аспиранта наиболее рациональным ресурсом является сеть интернет, поскольку на сайтах постоянно идет обновление информации, и пользователь (аспирант) может получить актуальную информацию по интересующему его вопросу.

Выявление информационных ресурсов в научных библиотеках и сети Internet аспирантам рекомендуется вести по следующим направлениям:

- библиография по проблемам возникновения и становления молекулярной биологии как науки; современным методам молекулярной биологии, вирусологии, биотехнологии иммунохимии, иммунологии, вирусологии, современные информационные системы для анализа и обработки результатов в области молекулярной биологии;

- научно-исследовательская литература по проблемам возникновения и становления молекулярной биологии как науки; современным методам молекулярной биологии, вирусологии, биотехнологии иммунохимии, иммунологии, вирусологии, современные информационные системы для анализа и обработки результатов в области молекулярной биологии.

Самостоятельная работа выполняется аспирантами по заданию преподавателя.

7. Формы проведения занятий

В учебном процессе используются как активные, так и интерактивные формы проведения занятий: дискуссия, метод поиска быстрых решений в группе, мозговой штурм.

Аудиторные занятия проводятся в интерактивной форме с использованием мультимедийного обеспечения (компьютер, проектор) и технологии проблемного обучения. Презентации позволяют качественно иллюстрировать практические занятия схемами, формулами, рисунками. Кроме того, презентации позволяют четко структурировать материал занятия. Электронная презентация позволяет отобразить процессы в динамике, что позволяет улучшить восприятие материала.

Основные аспекты применяемой технологии проблемного обучения: постановка проблемных задач отвечает целям освоения дисциплины «Молекулярная биология» по проблемам возникновения и становления Молекулярной биологии как науки; знаниям о химическом составе и структуре ДНК как основного носителя генетической информации; о механизмах реализации генетической информации; структуры и функции белков, генетической инженерии, современные информационные системы и формирует необходимые компетенции; решаемые проблемные задачи стимулируют

познавательную деятельность и научно-исследовательскую активность аспирантов; современные информационные системы и формирует необходимые компетенции; решаемые проблемные задачи стимулируют познавательную деятельность и научно-исследовательскую активность аспирантов.

8. Фонд оценочных средств

8.1. Паспорт фонда оценочных средств

№ п/п	Контролируемые разделы (темы) дисциплины (результаты по разделам)	Код контролируемой компетенции (или её части)	Наименование оценочного средства
1	2	3	4
1	Нуклеотиды – мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания; кетонольная таутомерия.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
2	Макромолекулярная структура ДНК и РНК.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
3	Количественное определение нуклеиновых кислот, включая УФ-спектрофотометрию. Методы выделения нуклеиновых кислот.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
4	Строение и функции нуклеиновых кислот как носителей и материала экспрессии генетической информации.	ПК-1, ПК-2, ПК-3.	Собеседование, устный опрос
5	Морфология компартментов клеточного ядра, ответственных за реализацию генетической информации.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
6	Механизмы репликации, рекомбинации и их регуляции; знания о механизмах повреждения ДНК, механизмах устранения повреждений - репарации и роли повреждений ДНК в развитии наследуемых заболеваний человека.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
7	Аминокислотные остатки – мономеры белковых цепей. Типы аминокислот. Пептидная связь. Полипептидная цепь. Пространственная структура белков.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
8	Определение последовательности аминокислотных остатков в белке. 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.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос

9	Структура рибосом. Локализация рибосом в клетке. Седиментационная характеристика рибосом прокариот и эукариот. Состав рибосом. Три типа молекул рибосомальной РНК. Вторичная структура РНК в составе рибосом. Количество белковых молекул на рибосому и их молекулярно-весовые характеристики; гетерогенность по молекулярным весам, аминокислотному составу и последовательности; разделение путем электрофореза в геле. Самосборка рибосом. Реконструкция рибосомы.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
10	Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Бриггса-Холдейна. Функционирование ферментов. Активные центры ферментов. Представление о строении активного центра и механизме действия ферментов (лизоцим, карбоксипептидаза, химотрипсин и др. Регуляция ферментативной активности.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
11	Редупликация, рекомбинация и модификация ДНК. Генетическая рекомбинация. Репарация повреждений ДНК.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
12	Репарация повреждений ДНК. Транскрипция и биосинтез РНК. Регуляция транскрипции у прокариот и эукариот.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
13	Активация аминокислот. Реакция первичной активации аминокислот. Химия процесса. Тип образующейся химической связи. Участвующие в этом ферменты. Этапы трансляции	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
14	Механизмы процессинга и сплайсинга информационных РНК.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
15	Генетическая инженерии как основа современных биотехнологий. Предмет и задачи генетической инженерии, ее связь с другими биологическими дисциплинами Достижения генетической инженерии. Основные ферменты, применяемые в генетической инженерии.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
16	Ферменты генетической инженерии Векторы для клонирования генов и фрагментов ДНК. Введение рекомбинантных ДНК в клетку реципиент. Трансгенные и гибридные клетки и организмы.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос
17	Основы клеточной инженерии. Технология	ПК-1,	Собеседование,

	получения и культивирования трансгенных линий клеток млекопитающих. Получение биологически активных веществ в культурах клеток. Фармакобиотехнология. Значение клеточной инженерии для экспериментальной и клинической медицины.	ПК-2, ПК-3	устный опрос
18	Современные оптические методы: световой, конфокальной и электронной микроскопии.	ПК-1, ПК-2, ПК-3	Собеседование, устный опрос

8.2. Промежуточная аттестация (экзамен)

Вопросы для подготовки к экзамену:

Молекулярная биология, предмет и методы исследования, история развития. Связь с другими науками. Теоретическое и практическое значение.

Молекулярная биология

Введение

В основу настоящей программы положены следующие разделы: структура и функции белков; структура и биосинтез нуклеиновых кислот; структура рибосом и биосинтез белка; геномика. Программа разработана экспертным советом Высшей аттестационной комиссии по биологическим наукам.

1. Структура и функции белков

Биологические функции белков и пептидов. Физико-химические свойства аминокислот. Методы определения содержания белка. Первичная структура как уровень организации белка. Доказательства индивидуальности белка. Микрогетерогенность белков.

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. Локализация дисульфидных связей в белках. 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 $\beta - \alpha - \beta$. Домены, их формирование из структурных мотивов.

Третичная структура белка. 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 α -спиралей в открытых изогнутых α/β -слоях. Возможность предсказания расположения активных центров ферментов в α/β -структурах: тирозил-тРНК-синтаза, карбоксипептидаза, арабинозо-связывающий белок.

Ретинол-связывающий белок, как представитель суперсемейства. Структура нейраминидазы и Gb. Мотив греческого ключа и структура кристаллинов. Белки с β -спиральными доменами.

Узнавание белками ДНК

Прокариотические системы. Роль структурного мотива «спираль-поворот-спираль» как важнейшего элемента в специфическом узнавании ДНК-белок. 1-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 p53: структура и взаимодействие с ДНК.

Специфические транскрипционные факторы эукариот. Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых пальцев 1-го класса: структура, специфичность взаимодействия с ДНК. Цинк-содержащие 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).

Структура белков, принимающих участие в передаче сигнала в клетку.

G-белки, их структура и функции (Ga, Gb, Gg). 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.

Посттрансляционная модификация белков.

Иодирование остатков тирозина. Образование остатков g-карбоксиглютаминовой 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 С-концевым гликолипидом. Липопротеиды с N-концевой липидной группой. Пренилированные белки.

Избирательная деградация белков. АТР-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.

Инженерия белков.

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

2. Структура и биосинтез 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.

Репликация ДНК

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.

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

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.

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 tandemные повторы. «Экспансия триплетных повторов» и динамические мутации.

Рекомбинация

Понятие об общей (гомологичной) и сайтспецифической рекомбинации. Различия 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. Лocus 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 Cre 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.

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. Энхансеры 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.

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. Локус-контролирующие районы и «инсуляторы». Внутриядерная архитектура хромосом. Явление трансекции.

Процессинг РНК

Определение процессинга. Интроны, сплайсинг. Классификация интронов. Интроны группы 1. 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. Энхансеры и сайленсеры сплайсинга. SR-белки, особенности структуры, роль в альтернативном сплайсинге.

Редактирование РНК. Молекулярные механизмы. Типы редактирования (примеры).

Деградация 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.

3. Структура рибосом и биосинтез белка

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 антикодонной петли тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы – два класса. Супрессорные тРНК.

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.

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 хеликазный комплексы при инициации трансляции у эукариот.

Элонгация трансляции. Элонгационный цикл. Факторы элонгации.

Стадия связывания аминоацил-тРНК в элонгационном цикле. Стереохимия кодон-антикодового взаимодействия. Фактор элонгации EF-Tu, его структура и взаимодействия. Исправление ошибок («редактирование») при связывании аминоацил-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 транслокации элонгационного цикла. Основные экспериментальные тесты на транслокацию. 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.

Секреция белков у про- и эукариот.

Трансляция и транлокация секретлируемых белков через мембрану. Сигнальная гипотеза секреции белков. Особенности структуры сигнальных пептидов.

Формирование пространственной структуры белков.

Механизмы, обеспечивающие правильное сворачивание полипептидных цепей. Шапероны.

4. Геномика

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.

Генетическая инженерия как инструмент изучения генов и геномов

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. Локус-контролирующие области (LCR). Подходы к изучению факторов, влияющих на экспрессию чужеродных генов. Гены-репортеры.

Принципы направленной модификации генома. 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.

Молекулярные основы генотерапии. Вирусные векторы и невирусные методы переноса генов.

Прикладные аспекты генетической инженерии. Основы безопасности работы с рекомбинантными ДНК.

8.3. Критерии оценивания:

Оценка «отлично» выставляется обучающемуся, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка «хорошо» выставляется обучающемуся, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач некоторые неточности.

Оценка «удовлетворительно» выставляется обучающемуся, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, недостаточно правильные формулировки базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, но при этом он владеет основными разделами учебной программы, необходимыми для дальнейшего обучения и может применять полученные знания по образцу в стандартной ситуации.

Оценка «неудовлетворительно» выставляется обучающемуся, который не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубые ошибки в формулировках основных понятий дисциплины и не умеет использовать полученные знания при решении типовых практических задач.

8.4. Образцы билетов





Федеральное бюджетное учреждение науки
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
(ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

Билет №1

1. Нуклеотиды – мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания; кето-енольная таутомерия. Нуклеозид; N-гликозидная связь; фосфатный остаток, его положение. Различные типы нуклеотидов. Химическая деградация нуклеиновых кислот. Экзонуклеазы и эндонуклеазы. ДНКазы и РНКазы. Количественное определение нуклеиновых кислот, включая УФ-спектрофотометрию. Методы выделения нуклеиновых кислот. Специфичность количественных соотношений азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Правила Чаргаффа.
2. Классическая схема оперона по Жакобу и Моно. Альфа-комплементация бета-галактозидазы. Позитивная регуляция арабинозного оперона. Катаболитная репрессия. Циклическая АМФ и белок-рецептор цАМФ. Белки-активаторы и их акцепторные зоны в опероне, нуклеотидная последовательность акцепторных зон и их структурные взаимоотношения с промотором и оператором. Фактор терминации транскрипции (ρ -фактор).


Разработали:

д.б.н., профессор, зав. отделом
д.б.н., доцент, зав. лабораторией
д.б.н., зав. отделом
д.б.н., профессор, зав. отделом

 А.А. Ильичев
 Л.И. Карпенко
 С.И. Бажан
 С.Н. Щелкунов

Утвердил:

Зам. директора, д.б.н.

 А.П. Агафонов

9. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

Аспирантам ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора обеспечен полный доступ к обслуживанию в библиотеке ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, в т.ч. библиотечное обслуживание, обслуживание по межбиблиотечному абонементу, справочно-библиографическое и информационное обслуживание.

Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины включает в себя основную и дополнительную учебную и научную литературу, ресурсы информационно-телекоммуникационной сети Интернет, конспекты лекций.

9.1. Основная литература:

1. Филдс Б., Найп Д. и др. Молекулярная биология, в 3 томах. – М.: Мир. – 1989 и последующие издания.
2. Албертс Б. Молекулярная биология клетки. Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон. М.: Мир, 2013. тт. 1-3.
3. Льюин Б. Гены. Бином: Лаборатория знаний, 2012.
4. Стент Г. Молекулярная генетика. М.: Мир, 1985.
5. Корнберг А. Синтез ДНК. М.: Мир, 1977.
6. Дж. Уотсон, Дж. Туз, Д. Курц. Рекомбинантные ДНК. М.: Мир, 1986.
7. Уотсон Д. Молекулярная биология гена. М.: Мир, 1980.
8. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: Учеб.-справ. пособие. – 2-е изд. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. (3-е изд. 2008).

9.2. Дополнительная литература:

1. Ленинджер А. Основы биохимии.
2. Зайцев В.М. Прикладная медицинская статистика. СПб.: Фолиант. 2003.
3. Спирин А.С. Молекулярная биология: рибосомы и биосинтез белка. М.: Академия, 2011.
4. Шувалова Е.П. Инфекционные болезни. Учебник для мединститутков. 4-е изд., М.: Медицина, 1995.

9.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети Интернет, необходимых для освоения дисциплины

1. Научная электронная библиотека elibrary.ru: <http://elibrary.ru/defaultx.asp>
2. Электронные ресурсы удаленного доступа ГПНТБ России:
<http://www.gpntb.ru/elektronnye-resursy-udalennogo-dostupa.html>
3. Электронные каталоги и базы данных ГПНТБ СО РАН:
http://webirbis.spsl.nsc.ru/irbis64r_01/cgi/cgiirbis_64.exe?C21COM=F&I21DBN=CAT&P21DBN=CAT
4. Электронная библиотека ГПНТБ СО РАН:
<http://www.spsl.nsc.ru/win/nelbib/index-new1.html>

10. Информационные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине, в т.ч. программное обеспечение

В рамках курса подготовки предусматривается широкое использование в учебном процессе активных и интерактивных форм проведения занятий, встречи с представителями российских и зарубежных компаний, ведущими учеными в области вирусологии. Это – компьютерные симуляции, деловые игры, разбор конкретных ситуаций, тренинги, обсуждение новых научных результатов, которые в сочетании с внеаудиторной работой формируют и развивают профессиональные навыки обучающихся.

В процессе обучения будут использованы:

- операционная система MicrosoftWindows;
- офисная программа MicrosoftOffice;
- электронные презентации лекций.

11. Материально-техническое обеспечение дисциплины

- Конференц-зал корпуса №1 ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, оснащенный презентационной техникой;
- средства мультимедиа: проектор, экран, компьютер/ноутбук;
- доска учебная маркерная;
- рабочее место аспиранта с выходом в Интернет.

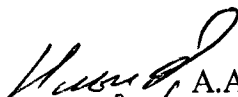

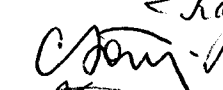
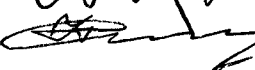
Составители:

д.б.н., профессор, зав. отделом

д.б.н., доцент, зав. лабораторией

д.б.н., зав. отделом

д.б.н., профессор, зав. отделом

 А.А. Ильичев
 Л.И. Карпенко
 С.И. Бажан
 С.Н. Щелкунов

Согласовано:

Зав. аспирантурой ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора

 Т.А. Косогова

Рабочая программа рассмотрена и одобрена на заседании ученого совета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Протокол от «29» сентября 2016 г. № 8.

**Лист внесения дополнений и/или изменений
в рабочую программу учебной дисциплины**

В рабочую программу вносятся дополнения и/или изменения, перечень которых
прилагается

Протокол заседания ученого совета от « ____ » _____ 20 ____ г. № _____