

НАПРАВЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ 06.06.01 «Биологические науки»

Программа вступительного экзамена по направленности «Биохимия»

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ВВЕДЕНИЕ

Клетка как самовоспроизводящийся химический реактор. Потоки вещества, энергии и информации в клетке. Единство химического состава и типов превращений веществ в живых системах. Химический состав клеток. Способы существования организмов: аутотрофия, гетеротрофия. Определение понятий об обмене веществ, энергии и информации: метаболизм, катаболизм, анаболизм, рецепторные системы, хранение и передача генетической информации. Координация метаболизма в клетках, колониях микроорганизмов, тканях и органах. Специализация метаболизма. Биохимическая эволюция.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА И СВОЙСТВА КОМПОНЕНТОВ КЛЕТОК (СТАТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ)

1. Вода - универсальная среда для химических превращений в живых системах

Свойства воды как растворителя. Динамическая структура воды. Влияние растворенных веществ на свойства воды. Электрохимия водных растворов. pH и буферные растворы. Специфика молекулярных взаимодействий в водных растворах.

2. Структуры и физико-химические свойства мономерных соединений, входящих в состав биологических объектов

Природные аминокислоты. Способы классификации аминокислот. Общие и специфические реакции функциональных групп аминокислот. Ионизация аминокислот. Методы разделения и идентификации аминокислот и пептидов. Необычные аминокислоты, их производные, пептиды.

Природные углеводы и их производные. Моносахариды и их химические свойства. Стереохимия и изомерия углеводов. Гликозиды, amino-, фосфо-, сульфосахариды. Олигосахариды. Альдо- и кетосахара и их дезоксипроизводные. Реакционноспособность углеводов.

Липофильные соединения и их классификация. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Изомерия и структура ненасыщенных жирных кислот. Нейтральные жиры. Фосфолипиды, сфинголипиды, гликолипиды. Полиморфизм фосфолипидов в водных растворах. Мицеллы и липосомы. Стерины, желчные кислоты. Методы очистки и разделения липофильных соединений.

Пуриновые и пиримидиновые основания. Нуклеозиды и нуклеотиды. Циклические нуклеотиды.

Витамины, коферменты и другие биологически активные вещества. Амид никотиновой кислоты. Липоевая кислота. Рибофлавин. Динуклеотиды (NAD, FAD). Биотин. Тиамин. Пантотеновая кислота, кофермент А (CoA). Пиридоксин- и пиридоксальфосфаты. Аскорбиновая кислота. Ретиноиды. Токоферол. Нафто- и убихиноны. Биогенные амины. Ацетилхолин. Железо-порфирины и хлорофилл. Железо-серные кластеры. Минеральный состав клеток и микроэлементы.

3. Структура и свойства биополимеров.

Белки.

Методы разделения и очистки белков. Первичная структура белка и методы ее установления. Природа пептидной связи. Упорядоченные (α -спираль, β -слой) и неупорядоченные структуры полипептидных цепей. Уровни структурной организации белков (первичная, вторичная, третичная, четвертичная и надмолекулярные структуры). Природа межмолекулярных взаимодействий, обеспечивающих структуру белков (ионные взаимодействия, водородные связи, гидрофобные взаимодействия, дисульфидные связи). Особенности строения мембрано-связанных белков. Структурные белки (коллаген, кератины). Посттрансляционная модификация белков. Конформационная стабильность и подвижность белка. Денатурация белка и проблема ее обратимости. Связь между первичной и высшими степенями структурной организации белков. "Консервированные" и гомологичные последовательности аминокислот в белках. Взаимодействие белков и низкомолекулярных лигандов (миоглобин, гемоглобин). Сравнительная биохимия и эволюция белков.

Полисахариды.

Химическое строение крахмала, гликогена, целлюлозы, хитина. Гомо- и гетерополисахариды. Протеогликаны. Гликолипиды. Первичная, вторичная и более высокие уровни организации полисахаридов, гликопротеинов, сульфополисахаридов.

Нуклеиновые кислоты.

Азотистые основания и пентозы, входящие в состав ДНК и РНК. *Комплементарные пары нуклеотидов*¹. *Правило Чаргаффа. В-структура ДНК (двойная спираль Уотсона-Крика). Другие*

упорядоченные структуры нуклеиновых кислот. Денатурация и ренатурация ДНК. Суперспирализация ДНК. Различные типы РНК. Гистоны и строение хроматина. Методы установления первичных последовательностей нуклеотидов в нуклеиновых кислотах (секвенирование).

Здесь и далее курсивом выделены разделы, обычно не обсуждающиеся в курсе лекций. Предполагается, что эти разделы достаточно полно представлены в предыдущих, параллельных и последующих курсах лекций.

Биологические мембраны.

Липосомы как модель биологических мембран. Физико-химические свойства двойной фосфолипидной мембраны (проницаемость, подвижность молекул фосфолипидов). Химическая гетерогенность фосфолипидов мембраны. Холестерин. Специфичность фосфолипидного состава биологических мембран. Динамическая модель биологических мембран Сингера-Никольсона. Периферические и интегральные белки мембран. Двумерная диффузия белков в мембранах. Ассиметрия биологических мембран. Топография белков и липидных компонентов мембран. Каналы, поры, переносчики, рецепторы и избирательная проницаемость биологических мембран.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ КАТАЛИЗ

Общие представления о катализе. Физический смысл константы скорости химической реакции (энергетическая диаграмма реакции, переходное состояние, энергия активации). Классификация каталитических механизмов (общий и специфический кислотно-основной катализ, ковалентный катализ, промежуточные соединения). Белки - биологические катализаторы. Стационарное приближение при рассмотрении ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Бриггса-Холдейна. Графические методы анализа ферментативных реакций. Физический смысл константы Михаэлиса. Максимальные скорости ферментативных реакций. Активность и числа оборотов ферментов. Специфичность ферментативного катализа. Ингибиторы и активаторы ферментов. Обратимость ферментативного катализа. Кофакторы. Регулируемость ферментативного катализа. Изо- и аллостерическое связывание лигандов-регуляторов с белком-ферментом. Кооперативные эффекты в ферментативном катализе. Изоферменты. Международная классификация ферментов. Катализ и проницаемость мембран. Химические механизмы ферментативного катализа (сериновые протеазы, пиридоксальный катализ, карбоангидраза и др.). Специфическая локализация ферментов в клетке.

ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ

Изменение свободной энергии и равновесие обратимых реакций. Сопряженные реакции. Ферменты-лигазы в качестве устройств, обеспечивающих сопряжение. Соединения с высоким потенциалом переноса групп. Концепция фосфорильного потенциала. АТФ - универсальный источник энергии в биологических системах. Другие "богатые энергией" соединения (пирофосфат, креатинфосфат, фосфоенолпируват, ацилтиозиды, ацилфосфаты). Регулирование фосфорильного потенциала. Креатинкиназная и аденилаткиназная реакции. Нуклеозид моно-, ди- и трифосфат киназные реакции. Энергетическая эффективность сопряженных реакций. Тепловые эффекты биохимических превращений и терморегуляция. Активный транспорт веществ через биологические мембраны. Транспортные АТРазы.

МЕТАБОЛИЗМ (ДИНАМИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ)

Аутотрофия, гетеротрофия. *Фотосинтез*. Полисахариды и нейтральные жиры как запасные вещества клетки. Аэробный и анаэробный обмен веществ. Конечные продукты метаболизма. *Биохимия пищеварения. Специфичность пищеварительных протеаз, липаз и гликозидаз*. Энергетическая и пластическая функции обмена веществ.

1. Обмен углеводов

Фосфорилиз гликогена. Гидролиз крахмала. Гексокиназная и глюкокиназная реакции. Гликолиз и гликогенолиз. Прямое окисление глюкозы. Включение гексоз и пентоз в гликолитический распад. Молочнокислотное и спиртовое брожение. Стехиометрические уравнения гликолиза и гликогенолиза. Образование АТФ, сопряженное с распадом глюкозо-6-фосфата до молочной кислоты. Гликолитическая оксидоредукция. Характеристика отдельных ферментов гликолиза. Регулирование гликолиза. Регуляторные механизмы фосфорилизад гликогена и фосфофруктокиназной реакции. Обратимость гликолиза и глюконеогенез. Цикл Кори. Синтез гликогена. Стехиометрические уравнения синтеза глюкозы и гликогена из молочной кислоты. Содержание глюкозы, лактата и пирувата в крови как физиологический показатель.

2. Обмен липидов

Транспорт липофильных веществ: желудочно-кишечный тракт — кровь — клетки. Липазы и фосфолипазы. Включение глицерина в гликолитические реакции. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот в митохондрии. Окислительный распад

жирных кислот (в-окисление). Конечные продукты распада "четных" и "нечетных" жирных кислот. Образование ацетоацетата. Содержание "кетонных" тел (ацетоацетат, ацетон, в-оксибутират) как физиологический показатель. Источники ацетил-СоА для синтеза жирных кислот. Система синтеза жирных кислот. СоА и ацилпереносящие белки. Синтез фосфолипидов. Синтез нейтрального жира. Стехиометрические уравнения распада жирных кислот до ацетил-СоА. Стехиометрические уравнения синтеза жирных кислот из ацетил-СоА.

3. Обмен аминокислот и других азотистых соединений

Внеклеточный (пищеварительный) протеолиз. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Переаминирование. Декарбокислирование аминокислот. Окислительное дезаминирование аминокислот. б-Кетокислоты - продукты распада аминокислот. Детоксикация аммиака. Аммонийотелия, уреотелия и урикетелия. Синтез мочевины в качестве конечного продукта обмена азотистых соединений. Стехиометрические уравнения образования мочевины. *Конечные продукты и схемы распада пуриновых и пиримидиновых оснований.* Глутамин как транспортная форма аммиака. Креатин и креатинин. Внутриклеточный протеолиз. *Общие представления о синтезе заменимых аминокислот.* Активация аминокислот и синтез аминоксил-т-РНК. Общие представления о синтезе белка рибосомами.

4. Распад ди-, трикарбоновых кислот

Окислительное Декарбокислирование пирувата. Ацетил-СоА -универсальный интермедиат распада жиров, углеводов и белков. Пути образования щавелево-уксусной кислоты. Цикл ди-, трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Стехиометрическое уравнение распада пирувата до CO_2 . Энергетическая и пластическая функции цикла Кребса.

5. Терминальное окисление

Коферменты - продукты окислительных реакций ($\text{NAD}^+/\text{NAD}\cdot\text{H}$; $\text{NADP}^+/\text{NADP}\cdot\text{H}$; убихинон/убихинол). Оксидазы и механизмы активации кислорода. Электрон-трансферные реакции и понятие о дыхательных цепях. Структура митохондрий и локализация компонентов дыхательной цепи млекопитающих. Перенос восстановительных эквивалентов через мембрану митохондрий. Трансгидрогеназная реакция. Компоненты дыхательной цепи. Дыхательная цепь - преобразователь энергии (теория электрохимического сопряжения П. Митчела). Обратимая H^+ -АТРаза -главное устройство для синтеза АТФ в аэробных клетках. Стехиометрические уравнения окисления $\text{NAD}\cdot\text{H}$ и убихинола кислородом. Эффективность сопряжения окислительного фосфорилирования. Механизмы термогенеза. Дыхательные цепи микросом. Цитохром Р-450 и окислительная деструкция ксенобиотиков.

РЕГУЛИРОВАНИЕ И ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

Ключевые пары метаболитов ($\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)}\cdot\text{H}$; ATP/ADP ; Ацил-СоА/СоА; лактат/пируват; (в'-оксибутират/ацетоацетат) и факторы, влияющие на их концентрации. Дивергенция катаболических и анаболических цепей метаболизма. Типы регулирования активности ферментов и переносчиков. Стехиометрическое регулирование (алло- и изостерические ингибиторы и активаторы ферментов). Регулирование активности ферментов их ковалентной модификацией: фосфорилирование, ацилирование, АДФ-рибозилирование. Протеинкиназы и протеинфосфатазы. Каскадный принцип регулирования ферментов. Гормоны в качестве первичных управляющих сигналов метаболизма. Рецепторы гормонов и G-белки. Механизмы и результаты действия инсулина, адреналина, глюкагона. Вторичные посредники передачи сигналов: циклические нуклеотиды, ионы Ca^{+2} , фосфатидилинозитол. Внутриклеточный протеолиз. Тканевая специфичность метаболизма.

ЛИТЕРАТУРА

основная:

А. Ленинджер. **Основы биохимии.** В 3-х томах. "Мир", М., 1985.

Л. Страйер. **Биохимия.** В 3-х томах. "Мир", М., 1984.

Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. **Биохимия человека.** В 2-х томах. "Мир", М., 1993 Г.

Малер, Ю. Кордес. **Основы биологической химии.** "Мир", М., 1970.

дополнительная:

А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит, Р. Хилл, И. Леман. **Основы биохимии.** В 3-х томах. "Мир", М., 1981.

М.Диксон, Э. Уэбб. **Ферменты.** В 3-х томах. "Мир", М., 1982.

Э. Корниш-Боуден. **Основы ферментативной кинетики.** "Мир", М., 1979.

Ч. Кинтиор, П. Шиммель. **Биофизическая химия.** В 3-х томах. "Мир", М

В. Дженкс. **Катализ в химии и энзимологии.** "Мир". М., 1972.

В.П. Скулачев. Биоэнергетика. **Мембранные преобразователи энергии** "Высш. шк.", М., 1989. П.
Хочачка, Дж. Сомеро. **Биохимическая адаптации.** "Мир", М., 1988.

НАПРАВЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ 06.06.01 «Биологические науки»

Программа вступительного экзамена по направленности «Математическая биология, биоинформатика»

Общие знания

Математика и информатика

1. Случайные величины, распределения, математическое ожидание и дисперсия, основные распределения.
2. Математическая статистика. Выборка, нулевая гипотеза. Критерии χ -квадрат, Фишера, Стьюдента, Колмогорова. Коэффициент корреляции и регрессия. Непараметрические критерии. Множественное тестирование. Дисперсионный анализ (ANOVA). Байесовский подход.
3. Теоретическая информатика. Основные структуры данных: списки, стек, очередь, бинарное дерево поиска.
4. Алгоритмы на графах, обход в ширину и в глубину, Эйлеров цикл, поиск оптимального пути.
5. Алгоритмы для строк. Конечные автоматы, автомат Ахо – Корасик, суффиксное дерево и суффиксный массив, регулярные выражения.
6. Понятие об NP-полных задачах. Примеры NP-полных задач. Стохастические алгоритмы.
7. Реляционные базы данных, язык SQL.

Биомакромолекулы

8. Нуклеиновые кислоты. Биологическая роль. Роль ДНК в биосинтезе белка. Химическое строение и пространственная структура нуклеиновых кислот (ДНК и РНК). Разнообразие формы структур ДНК и РНК. Вода и нуклеиновые кислоты. Взаимодействие нуклеиновых кислот с белками.
9. Строение и свойства аминокислот. Классификации по свойствам боковых групп. Пептидная связь. Вторичная структура полипептидов. Методы экспериментального обнаружения вторичной структуры.
10. Белки. Физико-химические свойства и системы классификации. Иерархия уровней пространственной организации белков. Регулярные структуры полипептидной цепи: α -спираль, β -тяжи и β -листы, их распространение и роль в структурах белков. Пространственная и четвертичная структура белков. Отличия в структурной организации глобулярных и фибриллярных белков.
11. Биологическая роль белков. Ферменты: классификация; соответствие структуры и функции. Регуляторные белки. Белки, образующие матрикс – эластин, коллаген. Мембранные белки, особенности их строения и функции. Пептиды, их биологическая роль.

Молекулярная биология и генетика

12. Основные процессы передачи информации в клетке. Репликация, транскрипция, сплайсинг, трансляция. Различия и сходство основных процессов в эукариотах и в прокариотах. Посттранскрипционные модификации РНК. Посттрансляционные модификации белков. Характерные времена основных процессов.
13. Структура ДНК в прокариотах и в эукариотах. Хроматин, основные уровни организации,

гистоны, модификации хроматина. Роль хроматина в регуляции экспрессии генов.

14. Регуляция экспрессии генов. Основные уровни регуляции экспрессии. Регуляция транскрипции, транскрипционные факторы. Атенуация. Репрессия и активация. Регуляция литического и лизогенного путей фага лямбда. Сходство и различие регуляции транскрипции в прокариотах и в эукариотах. Понятие о регуляторных модулях.
15. Регуляция трансляции. Регуляция инициации трансляции в прокариотах и в эукариотах. МикроРНК и механизм регуляции с помощью микроРНК. Стабильность РНК. РНК-интерференция.
16. Стабильность генома. Репарация. Транспозоны, вирусы, ретроэлементы.
17. Наследование признаков и изменчивость. Полиморфизмы. Вредные, слабо-вредные и полезные мутации. Признаки стабилизирующего и движущего отбора. Дрейф генов. Видообразование. Медицинская генетика. Моногенные и полигенные заболевания, анализ семей, ассоциации и молекулярные причины заболеваний.
18. Понятие об основных экспериментальных методах молекулярной биологии. ПЦР, секвенирование, второе поколение секвенирования, микрочипы, белок-белковые взаимодействия, иммунопреципитация хроматина, ChIP-chip, ChIP-seq, масс-спектрометрия. Точность данных массовых экспериментов.
19. Основные методы расшифровки пространственных структур биомолекул. Особенности моделей, получаемых этими методами. Методы оценки качества пространственной модели белка.

Специальные знания

Биоинформатика

20. Типы и качество данных. Биологические базы данных. Первичные (архивные), курируемые и производные базы данных.
21. Выравнивание. Биологический смысл выравнивания. Понятие о «Золотом стандарте». Алгоритмы динамического программирования. Статистическая значимость выравнивания. Линейное и логарифмическое поведение веса выравнивания. Методы быстрого поиска сходства BLAST, FASTA.
22. Скрытые Марковские модели. Алгоритмы оптимального и апостериорного декодирования (Витерби и вперед-назад). Определение параметров моделей. Скрытые Марковские модели для выравнивания. Субоптимальные выравнивания.
23. Множественное выравнивание последовательностей. Динамическое программирование для множественного выравнивания. Прогрессивное выравнивание. Улучшение выравнивания.
24. Вторичные структуры РНК. Методы предсказания оптимальных структур. Вычисление статистических сумм. Субоптимальные структуры. Поиск консервативных структур.
25. Реконструкция эволюции по последовательностям. Укоренённые и неукоренённые филогенетические деревья. Основные методы реконструкции филогении.
26. Основы анализа пространственной структуры макромолекул. Поверхность макромолекулы, алгоритмы её вычисления. Гидрофобное ядро молекулы белка, алгоритмы его нахождения. Структурные домены белков, алгоритмы их нахождения. Пространственное выравнивание структур белков. Структурные классификации доменов.

Геномика, транскриптомика, протеомика, системная биология

27. Геномы, размер геномов бактерий и эукариот. Метагеномы. Контиги. Расшифровка геномов и сборка контигов. Структура геномов прокариот. Особенности бактериальных геномов. Особенности геномов эукариот. Геном человека и млекопитающих. Полиморфизмы человека.
28. Аннотация геномов. Предсказание генов. Функциональная аннотация. Использование сходства. Сравнительный анализ геномов.
29. Доменные перестройки. Семейства доменов. Методы идентификации доменов в последовательности. Гомологи, ортологи и паралоги. Методы определения ортологичности.
30. Метаболическая реконструкция. Совместная представленность генов в геномах, колокализация, корегуляция, коэкспрессия. Базы данных метаболических путей.
31. Транскриптом. Методы определения транскриптомов. Методы анализа транскриптомов. Тканевая специфичность транскриптомов. Состав транскриптома, анализ сплайсинга. Приложения к исследованию заболеваний и диагностике.
32. Протеом. Методы определения протеома. Пост-трансляционные модификации белков. Определение посттрансляционных модификаций. Участие модификаций белков в регуляторных каскадах.
33. Эпигеномика. Методы определения эпигенома. Роль эпигенома в регуляции экспрессии генов.
34. Типы регуляторных взаимодействий. Регуляторные каскады. Системная биология. Построение и анализ регуляторных сетей. Роль системной биологии в поиске мишеней для лекарственных средств.

Пространственная организация биомолекул

35. Физические взаимодействия, определяющие пространственную структуру биомолекул. Конформации и конформационная подвижность биомолекул. Понятие эмпирического силового поля. Параметризация валентных и невалентных взаимодействия в биополимерах. Роль растворителя в структурной организации биополимеров. Гидрофобные взаимодействия в биомолекулярных системах. Шкалы гидрофобности. Методы учета влияния растворителя в расчетах энергии биомолекулярных систем.
36. Самоорганизация пространственной структуры биополимеров. Парадокс Левинталя. Переход клубок-глобула. Расплавленная глобула. Отличие белковой цепи от случайного сополимера. Динамика конформаций. Проблема сворачивания (фолдинга) биополимеров.
37. Диффузия лигандов в активный центр. Ферментативный катализ химических реакций. Понятие молекулярного докинга. Докинг в разработке лекарственных средств.
38. Молекулярная динамика био- и наноструктур. Подготовка системы к моделированию молекулярной динамики. Типы силовых полей. Моделирование динамики при постоянной энергии и постоянной температуре. Равновесная и направленная (управляемая) молекулярная динамика. Возможности и ограничения моделирования молекулярной динамики.

НАПРАВЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ 06.06.01 «Биологические науки»

Программа вступительного экзамена по направленности «Молекулярная биология»

I. СТРУКТУРА И БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Доказательства генетической функции ДНК. Структура ДНК. Принцип комплементарности, Гибкость двойной спирали. Физические параметры конформационных форм ДНК. Примеры, показывающие, что нуклеотидная последовательность определяет механические свойства ДНК. Неканонические формы ДНК. Пары Хугстина. Триплексы. Сверх-спирализация. 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. 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. Проблема репликации линейного незамкнутого фрагмента ДНК. Теломера. Теломераза, особенности структурной организации (РНК-компонент). Теория старения в связи с динамикой структуры теломеры. Неканонические структуры ДНК в районе теломерных последовательностей. ДНК в районе центромеры, особенности структурной организации. Искусственная хромосома у эукариот. Репликативное метилирование ДНК. Модификации 5-метилцитозина и мутации. Метилаза у эукариот. 5-Азациитидин как ингибитор метилирования. Импринтинг. Биологические последствия. Доказательства роли метилирования в развитии позвоночных.

Локальная амплификация участков ДНК (в развитии; обеспечивающая преимущества роста). Возможные механизмы локальной амплификации. Ампликон. Представление об эволюции мультигенных семейств. Репликация по типу "катыщегося кольца" (фаговая ДНК).

Ошибки репликации, обусловленные скольжением нитей при репликации. Механизм образования коротких повторов. Микро- и минисателлиты. Короткие tandemные повторы, определяющие геномный рестриктный полиморфизм. "Экспансия триплетов", хромосомные болезни и рак.

Репарация ДНК. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина. Гликозилазы. Урацилгликозилаза. Эксцизионная репарация, ферменты. Механизм преимущественной репарации транскрибируемых генов. Болезни, обусловленные дефектами репарации. Механизм репарации неспаренных нуклеотидов. Роль метилирования. SOS-репарация.

Рекомбинация. Понятие об общей (гомологичной) и сайтспецифической рекомбинации. Различие молекулярных механизмов общей и сайтспецифической рекомбинации. Модель рекомбинации, предполагающей двунитевой разрыв и репарацию разрыва. Роль рекомбинации в пострепликативной репарации. Структуры Холлидея в модели рекомбинации. Миграция ветви, гетеродуплексы, разрешение структур Холлидея (ферменты). Энзимология рекомбинации у *E.coli*. RecBCD комплекс. RecA белок. Пресинаптический филамент, параметры его молекулярной структуры. Обмен нитями при синапсе. Особенности миграции ветви. Рекомбинация у высших эукариот. Метод "нокаута" генов.

Генная конверсия, асимметричность генной конверсии. Продукты рекомбинационного акта, сопровождающиеся обменом флангами. Постмейотическая сегрегация у дрожжей как доказательство гетеродуплекса при рекомбинации. Регуляция экспрессии локуса спаривания у дрожжей. Размножение интронов и генная конверсия. "Белковые" интроны, молекулярный механизм их распространения.

Сайтспецифическая рекомбинация. Типы хромосомных перестроек, осуществляемых при сайтспецифической рекомбинации. Молекулярный механизм действия "рекомбиназ". Роль сайтспецифической рекомбинации в экспрессии генов у фагов. Интеграция фага ?. Сайтспецифическая рекомбинация двунитевой плазмиды дрожжей. Использование этой системы при анализе генов в развитии многоклеточных эукариот. Особенности рекомбинации при образовании генов иммуноглобулинов и рецепторов Т-клеток. Сигналы рекомбинации. Молекулярные механизмы "программированных ошибок" при

слиянии переменных и постоянных участков гена. Матричные и нематричные механизмы сборки фрагментов.

Подвижные элементы геномов прокариот и эукариот. IS-последовательности, их структура. IS-последовательности как компонент F-фактора бактерий, определяющего способность передавать генетический материал при конъюгации. Транспозон бактерий (Tn3, Tn5, Tn9, Tn10). Механизмы транспозиции. Резольваза, функции резольвазы. Роль сверхспирализации при транспозиции. Регуляция транспозиции Tn10. Транспозоны у эукариот. Двухкомпонентная система транспозонов. Полный (активный) и дефектный Транспозоны. Влияние транспозонов на активность генов у растений и пространственный рисунок экспрессии. Представление о горизонтальном переносе транспозонов.

Транскрипция у прокариот. Особенности структуры РНК-полимеразы. (σ -факторы. 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 ?. Принципы узнавания ДНК регуляторными белками. Атенуация транскрипции.

Промотор у эукариот. Базальная транскрипция. Факторы транскрипции. Понятие о *cis*-действующих элементах. Трансактивация 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", "цинковые пальцы". Рецепторы гормонов, их типы и особенности узнавания ДНК. Рецепторы-сироты. Ретиноевая кислота. Элементы консерватизма в системах регуляции транскрипции. Внешние сигналы, активирующие транскрипцию генов. Система передачи сигналов. Семейства протоонкогенов Jun, Fos. Альтернативы при выборе пути в развитии: дифференцировка/пролиферация. AP1 и CRE сайты в промоторах. Транскрипционные факторы в развитии многоклеточных организмов. Понятие о морфогенах, примеры. ДНК-связывающие домены. Пространственно ограниченные морфогенетические градиенты. Особенности структуры промоторов генов, участвующих в установлении рисунка экспрессии факторов транскрипции.

Хроматин. Структурная организация нуклеосом. Нуклеосомы и транскрипция. Модификация гистонов и динамическая структура хроматина. Сборка нуклеосом, ее этапы, нуклеоплазмин. Закономерность расположения нуклеосом относительно промоторов и "ориджинов" начал репликации ("фейзинг" нуклеосом). Представление о "перемоделировании" хроматина. Активное перемоделирование. Роль нуклеосомных структур в активации экспрессии гена. Особенности структуры хроматина половых хромосом в связи с компенсацией различий числа генов X-хромосом у разных полов. Представление о петельной организации хромосом. Ядерный матрикс. Лocus-контролирующие районы и "инсуляторы". Внутрядерная архитектура хромосом. Явление трансвекции.

Процессинг РНК. Определение процессинга. Интроны, сплайсинг. Классификация интронов. Интроны группы 1. Особенности структуры и механизмы сплайсинга. Рибозимы, их специфичность. Возможности применения для "нокаута" мРНК и химиотерапии. 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. 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. Редактирование РНК. Молекулярные механизмы. Типы редактирования (примеры). Редактирование и проблема установления биологического кода.

Обратная транскрипция. Роль обратной транскрипции в эволюции и изменчивости генома. Ретротранспозоны, их типы. Роль в поддержании интактности теломер. Ретротранспозоны, содержащие длинные концевые повторы. Ту-элемент дрожжей. Псевдогены. Возможные источники обратной транскриптазы.

П. СТРУКТУРА РИБОСОМЫ И БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Общая схема биосинтеза белка, роль РНК в этом процессе. "Мир РНК", гипотеза о роли РНК в происхождении жизни.

Информационная РНК. ее структура и функциональные участки. Расшифровка генетического кода. Основные свойства генетического кода. Особенности кодового словаря.

Открытие транспортных РНК. Их первичная, вторичная и третичная структура, роль модифицированных нуклеотидов. Аминоацилирование тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы, их структура и

механизм действия. Специфичность аминоацилирования, Рибосомы. их локализация в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Последовательное считывание мРНК рибосомами, полирибосомы. Стадии трансляции: инициация, элонгация и терминация. Бесклеточные системы трансляции. Химические реакции и общий энергетический баланс биосинтеза белка.

Морфология рибосомы. Размеры, внешний вид, подразделение на две субъединицы. Детальная форма рибосомных субъединиц, объединение субъединиц в целую рибосому.

Рибосомные РНК. их виды, первичные и вторичные структуры. Структурные домены и компактная самоупкладка молекул РНК. Значение рибосомной РНК.

Рибосомные белки, их разнообразие и номенклатура. Первичные и пространственные структуры. Белковые комплексы. Взаимодействие с рРНК.

Периферическое расположение белков на ядре рРНК. Топография белков: определение соседствующих белков, измерение расстояний между белками. Иммуноэлектронная микроскопия. Топология рРНК, ее привязка к топографии белков. Четвертичная структура рибосомы.

Структурные превращения рибосом *in vitro*. Диссоциация рибосом на субъединицы. Разворачивание субъединиц. Разборка и обратная сборка субъединиц.

Рабочий цикл рибосомы. Функции связывания; мРНК-связывающий участок, тРНК-связывающие А, Р и Е участки, факторсвязывающий участок. Каталитические функции: пептидилтрансфераза и ГТРаза. Функции перемещения лигандов.

Элонгация: первый этап - поступление аминоацил-тРНК в рибосому. Концепция антикодона, кодон-антикодонное взаимодействие, адапторная гипотеза и ее доказательство. Гипотеза нестрогого соответствия (*wobble*-гипотеза). Стереохимия кодон-антикодонного спаривания.

Участие фактора элонгации 1 (EF-Tu или EF-1) в связывании аминоацил-тРНК. Структура EF-1 и его взаимодействия, связывание тройственного комплекса с рибосомой. Роль гидролиза РТФ.

Ингибиторы первого этапа элонгации: тетрациклины, аминогликозидные антибиотики, не прямое ингибирование (тиострептон, кирромицин, растительные токсины).

Ложное кодирование: основные типы, уровень ошибок в нормальных условиях, кинетические механизмы ложного кодирования и его коррекции.

Общая последовательность событий и молекулярные механизмы.

Второй этап элонгации - транспептидация. Химия и энергетический баланс реакции. Ингибиторы. Стереохимия транспептидации, перемещение продуктов реакции.

Третий этап элонгации - транслокация. Экспериментальные тесты, участие фактора элонгации 2 (EF-G или EF-2), роль гидролиза РТФ. Последовательность событий, ингибиторы. Энергетика и молекулярный механизм транслокации.

Скорость элонгации и ее регуляция. Транзитное время. Неравномерность элонгации: паузы, модулирующие кодоны, влияние структуры мРНК и растущих пептидов. Избирательная регуляция элонгации на различных мРНК. Регуляция общей скорости элонгации: фосфорилирование EF-2; модификации EF-1. Механизм действия токсинов.

Терминация трансляции: терминирующие кодоны, белковые факторы терминации, гидролиз пептидил-тРНК.

Инициация трансляции. Общие принципы, значение, основные этапы инициации.

Инициация трансляции у прокариот. Иницирующие кодоны и сайт связывания рибосом на мРНК. Инициаторная тРНК и белковые факторы инициации. Последовательность событий.

Инициация трансляции у эукариот. Особенности эукариотической мРНК. Cap-структура и иницирующие кодоны. Внутренний сайт связывания рибосом. Особенности инициаторной тРНК. Белковые факторы, взаимодействующие с рибосомой и с мРНК. Влияние на инициацию трансляции структур на 3'-конце мРНК. Последовательность событий.

Регуляция трансляции у прокариот. Различная "сила" инициации мРНК. Сопряженная и последовательная трансляция полицистронных матриц. Репрессия трансляции на примере РНК бактериофага MS2. Регуляция трансляции мРНК рибосомных белков. Ауторегуляция синтеза треонил-тРНК-синтетазы. Регуляция трансляции мРНК бактериофага T4. "Antisense" -регуляция.

Регуляция трансляции у эукариот. Общие механизмы регуляции: модификации факторов инициации, формирование мРНК (информосом). Избирательная дискриминация мРНК, модуляция дискриминации. Регуляция с участием коротких открытых рамок считывания. Трансляционная репрессия: регуляция трансляции ферритиновой мРНК, мРНК орнитин-декарбоксилазы и рибосомных белков.

Маскирование мРНК. Маскированные мРНК ооцитов и сперматоцитов. Демаскирование мРНК в процессе эмбрионального развития и клеточной дифференцировки. Возможные механизмы и модели маскирования.

Данный теоретический курс не сопровождается практическими занятиями.

ЛИТЕРАТУРА

основная:

1. Агол В.И. и др. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. Под ред. А.С.Спирина. М., Высшая школа, 1990г.
2. Спирин А.С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. М., Высшая школа, 1986 г..

дополнительная:

1. Альберте Б. и др. Молекулярная биология клетки. М., Мир, 1994 .
2. Льюин Б. Гены. М., Мир, 1987 г.
3. Уотсон Д. Молекулярная биология гена. М., Мир, 1978 г.
4. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. М., "Наука", 1984 г.

**ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЭКЗАМЕНУ ПО АНЛИЙСКОМУ ЯЗЫКУ
ДЛЯ ПОСТУПАЮЩИХ В
АСПИРАНТУРУ ЕСТЕСТВЕННЫХ ФАКУЛЬТЕТОВ МГУ**

1. Чтение, письменный перевод со словарем оригинального текста по специальности. Объем – 2000 п.зн. за 60 мин.
2. Чтение (просмотровое) оригинального текста на русском языке и передача содержания на английском языке. Объем – 2000 п.зн.
3. Беседа на английском языке и ответы на вопросы по теме научной работы.

Образец текста для письменного перевода

Do animals feel pain?

By drawing analogies between humans and other animals, researchers tentatively conclude that fish and octopuses can feel pain, but insects can't. But the cut-off point is inevitably fuzzy. Reducing the pain, distress and anxiety that is sometimes generated by scientific work on animals is probably the issue that exercises the public most. Fortunately, it is one that is tractable, without bringing scientific work on animals to a halt, if only people are willing to talk to each other. Critics of science believe that it is easy to tell when an animal suffers; some scientists believe it is impossible to know. I think that it is possible, but that the process of finding out is quite complicated.

Even among humans, pain thresholds vary greatly from individual to individual and from one moment to the next. Nevertheless, there is a useful approach to uncovering whether animals might experience pain: it is to use the observable signs associated with the subjective sense of pain in humans as criteria for the assessment of pain in other animals. Adopting a human-centred approach means asking whether the animal has anatomical, physiological and biochemical mechanisms similar to those that in a human are known to be correlated with such experiences. The approach also has to consider whether the animal behaves in similar ways to humans who are believed to be in pain.

No single criterion provides an all-or-none test for the existence of a subjective sense of pain. The evidence needs to be considered as a whole in order to build up a useful picture of the animal's capabilities. And even though the laws about the use of animals in research tend to insist on precision, nobody can provide a cut-off point that is anything other than arbitrary. The fuzziness of the boundary between pain and the absence of pain becomes obvious as, one by one, the criteria for recognising pain cease to apply as simpler animals are considered. The same is true for stress and anxiety.

The best we can do is to provide criteria that are based on measurements of an animal's behaviour and analysis of the way its nervous system works. If an animal subjected to conditions that might be supposed to produce pain stops activities that it habitually performs, or if it learns how to avoid such conditions, there are grounds for worrying that it might feel something. The existence of parts of its nervous system dedicated to avoidance of damage is another worry. These concerns are made much more acute if the animal has a large brain relative to its body and shows some of the cognitive capacity seen in humans.

Uncritical projections of human emotions and experiences onto animals, or the withholding of such empathy, can lead to a misreading of an animal's suffering. The subjective experiences of an animal, if it has any, may be totally different from our own, reflecting its different way of life and the different ways in which its body works. Interpretation of what is observed in another animal should not be based only on extrapolations from humans but also on a good knowledge of its natural history and behaviour. Different species react differently to potentially damaging situations. Stimuli that make a human run and scream might make other animals, such as rats or cattle or horses, immobile. To most people, they do not look frightened, because alarmed humans would not normally behave like this.

With knowledge of how animals behave, there are often grounds for broadening rather than narrowing the range of animals that are believed to suffer. The plausibility of projections from human experience to other animals depends on good observational data about their normal behaviour, their requirements,

their vulnerability to damage and the conditions in which they live. For instance, a horse with a broken leg may continue to graze. This makes good sense: it must maintain a high input of plant material to get enough to eat. Moreover, overt displays of pain may be counterproductive for an animal vulnerable to predators. But it is worth emphasising that those who are opposed to the use of animals in research are not simply worried about animal suffering. For instance, many people are disturbed by the killing of an animal whether or not suffering is involved.

The ultimate judgement, after these assessments have been put together, depends on the quality of the benefits and the severity of the costs. The aim of the whole process is to encourage scientific research with maximum benefit and minimum suffering to the animals. None of this is easy, but a lot of fair-minded people, starting from utterly different moral positions, are finding ways of reaching agreement. For this reason, I believe that the dark age of intolerance will not last for ever.

НАПРАВЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ 06.06.01 «Биологические науки»

Программа вступительного экзамена по направленности «Биоинженерия»

Генная инженерия

1. Клонирование в бактериальных клетках. Используемые ферменты (рестриктазы, T4 ДНК-полимераза, фрагмент Кленова, полинуклеотидкиназа, нуклеаза S1, фосфатаза, ДНК-лигаза). Плазмиды. Ориджины репликации. Совместимость плазмид. Селективные маркеры. Полилинкер. Бело-голубая селекция. Саузерн, нозерн и вестерн блоты. Гибридизация колоний.
2. ПЦР. Конструирование праймеров. Ферменты (Taq-полимераза, Pfu-полимераза, Pfu-Turbo, обратная транскриптаза). Условия денатурации, отжига и элонгации. Случайный и сайт-направленный мутагенез (точечный, делеционный, инсерционный). Амплификация участка ДНК, окружающего известный ген. RT-PCR. Real-time PCR. Иммуно-ПЦР.
3. Библиотеки генов. Размер библиотеки. Расщепление геномов на фрагменты для конструирования библиотек. Векторы (на основе фага лямбда, космиды, YAC'и, BAC'и) их емкость, особенности работы с ними. Физическая карта генома человека. STS. Прогулка по хромосоме.
4. Библиотеки кДНК (конструирование, нормализация, размер). Методы скрининга библиотек. Дифференциальный скрининг, вычитательная гибридизация. Амплификация библиотек.
5. Экспрессия генов в клетках дрожжей. Виды дрожжевых векторов. Ориджины репликации. Селективные маркеры. Дрожжевые промоторы. Индуцибельные системы. Дрожжевая двугибридная система. Одногибридная, тригибридная, обратная двугибридная система. Необходимые контроли.
6. Получение рекомбинантных белков в бактериальных клетках. Используемые промоторы (lac, tac, trc, T5, T7). Превращение конститутивных промоторов в индуцибельные. Особенности системы с T7 промотором. Способы борьбы с подтеканием промотора. Оптимизация экспрессии. Тэги (6xHis, GST, ZZ). Выделение и очистка рекомбинантных белков. Тельца включения.
7. Белковый сплайсинг (механизм, использование для получения рекомбинантных белков). Трансдуцирующие пептиды.
8. Секвенирование НК. Принципы секвенирования. Метод Максама-Гилберта. Метод Сэнгера. Способы разделения и детекции фрагментов ДНК.
9. Gateway клонирование. Принципы подхода. Att-участки и узнающие их ферменты. Основные стадии клонирования. Векторы: Entry, Destination, Donor. Способы селекции. Экспрессия генов в клетках млекопитающих. Клеточные линии. Методы введения ДНК. Транзитная экспрессия. Репортерные гены. Эпитопы. Методы детекции экспрессии генов. Определение эффективности трансфекции. Исследование внутриклеточной

локализации белков. Селективные маркеры. Промоторы. Индуцибельные системы.

11. Получение стабильных клеточных линий, экспрессирующих трансген. Ретровирусные векторы (конструирование, получение вирусных частиц, инфекция). Расширение круга хозяев. Стратегии экспрессии двух генов с одного вектора. Преимущества лентивирусных векторов. Самоинактивирующиеся ретровирусные векторы. Эписомальные векторы.

12. Системы введения трансгенов в клетки млекопитающих, основанные на гомологичной рекомбинации. Негативная и позитивная селекция. Нокаутирование генов. Получение трансгенных животных. Cre-lox и flp-frt рекомбинация. Условный нокаут.

13. Факторы, влияющие на эффективность трансляции в клетках прокариот и эукариот. Метод бицистронных конструкций для идентификации IRES-элементов. Источники артефактов. Получение мРНК in vitro. Метод Toe-print.

14. SELEX. Создание рандомизированных библиотек. Получение РНК и ДНК аптамеров. Методы селекции, количество циклов, тестирование, применение.

15. Интерференция РНК. Механизм. Преимущества и недостатки генетического нокаута по сравнению с нокаутом. Особенности применения метода в клетках млекопитающих. Способы получения siRNA. Критерии выбора последовательности-мишени. Промоторы для экспрессии shRNA. Методы тестирования степени подавления экспрессии гена-мишени. Источники артефактов. Необходимые контроли.

16. Микрочиповые технологии. Методы изготовления микрочипов (включая сочетание ступенчатого олигонуклеотидного синтеза и фотолитографии). Определение профилей экспрессии генов (кДНК чипы и чипы Affimetrix). Генотипирование. Детекция амплификации генов и делеций фрагментов хромосом. Виды и способы получения белковых микрочипов. Поиск ДНК-связывающих белков. Методы ChIP-on-chip, ДНК- программируемый белковый чип.

17. Генная инженерия растений. Способы ведения чужеродных генов в растения. Агробактериальное заражение и трансформация растений. Ti-плазмида. T-ДНК: что кодирует и как образуется? Белки вирулентности. Бинарные векторы. Селективные маркеры. Получение и анализ трансгенных растений. Вирусные векторы. Сайленсинг. Свойства трансгенных растений.

БЕЛКОВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

1. Развитие представлений о механизмах сворачивания и разворачивания белков в клетке как составная часть разработки фундаментальной проблемы сворачивания белков. Общие принципы формирования нативной пространственной структуры белка. Обоснование концепции, согласно которой аминокислотная последовательность полипептидной цепи содержит информацию не только о характере ее пространственной структуры, но и о пути формирования этой структуры.

2. Многообразие механизмов сворачивания белков. Понятие об иерархическом пути сворачивания. Фолдоны. Домены как самостоятельные единицы сворачивания. Роль сворачивания-разворачивания при функционировании нативных белков в клетке.

3. "Естественно-развернутые белки". Высокая пластичность таких белков, определяющая многообразие принимаемых ими конформаций, и их роль в процессах внутриклеточной сигнализации. Множественные циклы локального сворачивания - разворачивания как важная особенность функционирования таких белков в клетке.

4. Участие междоменных взаимодействий в сворачивании белков. Междоменные взаимодействия при сворачивании мономера и их функциональное значение. Вопрос о взаимодействии соседних доменов мультидоменного белка в процессе сворачивания. Междоменные взаимодействия при сворачивании олигомера. Пространственный обмен доменами, обеспечивающий тесное сопряжение между процессами олигомеризации и сворачивания белка.

5. Структурные предпосылки, определяющие способность полипептидной цепи к сворачиванию через стадию обмена доменами.

Механизм пространственного обмена доменами; примеры.

Функциональные преимущества олигомеров, образованных путем пространственного обмена доменами. Пространственный обмен доменами как механизм образования линейных полимеров и амилоидных структур.

6. Особенности сворачивания белков во внутриклеточном окружении.

Макромолекулярный кроудинг. Механизмы, обеспечивающие эффективное сворачивание белков *in vivo*. Котрансляционное сворачивание мультидоменных белков и его преимущества. Проявления котрансляционного сворачивания в клетках прокариот и эукариот. Триггер фактор; его структура и роль на ранних стадиях сворачивания белков, выходящих из канала прокариотической рибосомы.

7. Сигнал-узнающая частица. Ее структура и механизм действия в ходе котрансляционного сворачивания. Котрансляционное сворачивание белков эндоплазматического ретикулума. Механизмы, обеспечивающие контроль качества сворачивания. Шапероны лектиновой природы кальнексин и кальретикулин. Механизмы регуляции скорости и эффективности сворачивания белков в просвете эндоплазматического ретикулума, приводящие к развитию ответа клетки на накопление развернутых белков. Котрансляционное включение белков в мембрану эндоплазматического ретикулума.

8. Два типа молекулярных механизмов ускорения сворачивания белков в клетке.

А) Механизмы, направленные на ускорение медленных стадий сворачивания белков, первичная структура, которых содержит полную информацию, необходимую для приобретения нативной пространственной структуры.

Б) Механизмы, обеспечивающие сворачивание белков, не способных

к самостоятельному сворачиванию, путем передачи им стерической информации, отсутствующей в структуре таких белков.

9. Рассмотрение структуры и каталитических механизмов действия ферментов-фолдаз первого типа – протеин-дисульфид-изомеразы и пептидил-пролил- цис/транс-изомеразы. Реакция цис/транс изомеризации пролиновых пептидных связей как скорость-лимитирующая стадия образования нативной структуры ряда белков и как механизм перехода между их разными конформационными состояниями. Примеры, иллюстрирующие роль цис/транс изомеризации пролинов как молекулярного «переключателя», контролирующего функцию белка в клетке. Катализаторы сворачивания белков второго типа – периплазматический шаперон PapD и про-домен α -литической протеазы. Их структурные особенности и механизмы стабилизации переходных состояний реакций сворачивания белков-субстратов.

10. Основные типы шаперонов.

I. Шапероны, работающие без участия АТФ: предотвращающие агрегацию белков (малые белки теплового шока); доставляющие развернутые белки к месту их постоянной локализации в клетке (SecY); активируемые при экстремальных физиологических состояниях клетки (Hsp33, sp31).

II. Шапероны, работающие с участием АТФ. Шапероны группы Hsp70 и их биологические функции. Структурные характеристики Hsp70 и его ко-шаперонов в клетках прокариот и в разных компартментах эукариотических клеток. Структура и функции разных доменов молекулы Hsp70. Структура ко-шаперонов бактериальных клеток – DnaJ и GrpE и механизм их действия в комплексах с бактериальным шапероном DnaK. GrpE как молекулярный термосенсор, способный «запирать» белок-мишень в прочном комплексе с DnaK. Каталитический цикл системы DnaK – DnaJ – GrpE в процессе спонтанного сворачивания белка.

11. Функции Hsp70 и его ко-шаперонов, выходящие за рамки их роли в сворачивании белков. Участие TPR -домена во взаимодействии Hsp70 с различными белками с образованием комплексов, определяющих дальнейшую судьбу полипептида, связанного с шапероном. Роль Hsp70 в посттрансляционном переносе белков через мембраны внутриклеточных органелл. Механизмы транспорта белков через внешнюю и внутреннюю мембраны митохондрий. Митохондриальный Hsp70 как молекулярный мотор транслокации. Модель, описывающая механизм его функционирования. Участие Hsp70 в процессах, направляющих связанные с ним белки на путь деградации.

12. Шаперон Hsp90 как специализированный инструмент для сворачивания и стабилизации активного состояния определенных групп белков эукариотической клетки. Особенности белков-«клиентов» шаперона Hsp90. Мультидоменная структура Hsp90. Механизм димеризации N - концевых

доменов и функциональная роль этого процесса. Каталитический цикл шаперона Hsp90 и его отличие от цикла шаперона Hsp70. Характеристика взаимодействия разных типов ко-шаперонов с Hsp90 и механизмов их регуляторного влияния.

Hsp90 как «шаперон передачи внутриклеточных сигналов». Участие Hsp90 в транспорте белков во внутреннюю митохондриальную мембрану. Роль этого шаперона в направлении белков на деградацию.

13. Шаперонины и их роль в сворачивании белков. Шаперонины группы I. Структура молекулы GroEL и его ко-шаперонина GroES. Реакционный цикл системы GroEL/GroES. Конформационные изменения, сопровождающие связывание ATP и GroES и образование закрытой полости для сворачивания белка. Аллостерические эффекты, обеспечивающие согласованное функционирование цис- и транс- тороидов молекулы GroEL. Рассмотрение механизма, предусматривающего влияние микроокружения закрытой полости GroEL на скорость сворачивания белка. Роль повторных циклов сворачивания-разворачивания в механизме действия шаперонина. Структурные основы температурно-зависимой регуляции работы GroEL. Шаперонин GroEL как универсальная машина сворачивания умеренной эффективности.

14. Шаперонины группы II. Их структурные отличия от шаперонинов группы I и связанные с этим особенности функциональных циклов. Шаперонин цитозоля эукариотической клетки ССТ. Характеристика его взаимодействия с субстратами. Особенности движения доменов при переходе от открытого к закрытому состоянию. Рассмотрение механизма сворачивания актина и тубулина в полости ССТ. Роль последовательных конформационных изменений, передаваемых внутри кольца, образуемого разными субъединицами, в приобретении белком-субстратом нативного состояния. ССТ как молекулярная машина, приспособленная для решения трудных задач сворачивания белков.

15. Роль префолдина в обеспечении котрансляционного сворачивания определенной группы белков архебактерий и цитозоля эукариотической клетки. Основные характеристики структурной организации молекулы префолдина и их функциональная роль. Префолдин как фактор, обеспечивающий правильную ориентацию белка-субстрата в комплексе с ССТ. Специфичность взаимодействия между префолдином и белком-субстратом с одной стороны, и шаперонином и ССТ, с другой. Функции, выполняемые шапероном Skd периплазмы эубактерий, сходным по структуре с префолдином. Представление о новом типе АТР-независимых молекулярных шаперонов- «холдаз».

16. Разворачивание и деградация белков в клетке. Роль разворачивания белков в реализации жизненно-важных внутриклеточных процессов. Источники энергии для разворачивания. Особенности разворачивания белков при их транслокации через мембраны митохондрий - резкое ускорение процесса по сравнению со спонтанным и изменение механизма разворачивания. Роль N-концевой сигнальной последовательности.

Молекулярные шапероны семейства Hsp100 (AAA+). Структура и механизм действия шаперонов, осуществляющих АТФ-зависимую дезагрегацию белков. Принципы структурной организации и функционирования молекулярных машин, способных разворачивать стабильные свернутые белки, несущие соответствующую метку, и осуществлять их деградацию (ClpAP, ClpXP прокариот и протеасомы эукариот). Механизмы, направляющие белки на деградацию. Котрансляционная и посттрансляционная модификации, участие шаперонов Hsp70 и Hsp90, а также вспомогательных белков.

17. Разворачивание белков в составе протеасомы как важный элемент процесса их деградации. Структура прокариотической и эукариотической протеасомы. Роль убиквитиновой цепочки в инициации разворачивания. Аналогия между механизмами «протягивания» полипептидной цепочки через канал во внутренней мембране митохондрий и через протеасомный канал. Структура «шаперонного кольца», осуществляющего разворачивание, и взаимосвязь циклов его функционирования с регуляцией открывания входа в канал, образуемый кольцами протеолитически активных субъединиц. Энергетические затраты, сопровождающие разворачивание и деградацию белков в клетке.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.В. Финкельштейн и О.Б. Птицын Физика белка Москва 2002.
2. Molecular Mechanisms of Protein Folding (ed. By R.H. Pain). Oxford University Press, 2000, New York.
3. A. Fersht Structure and Mechanism in Protein Science. A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding. W.H. Freeman & Co., 1999.
4. Molecular Chaperones in the Cell (Ed. By P. Lund). Oxford University Press, 2001, New York.
5. Н.К. Наградова Пространственный обмен доменами в гомоолигомерных белках и его функциональное значение. Биохимия т. 67, с.1013-1025, 2002.
6. Н.К. Наградова Сворачивание белков в клетке. О механизмах его ускорения. Биохимия т. 69, с. 1021-1037, 2004.
7. F.U. Hartl and M. Hayer-Hartl Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. Science, v. 295, pp. 1852-1858, 2002.
8. J.C. Young, V.R. Vishwas, K. Siegers and F.U.Hartl Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. Nature Reviews | Molecular Cell Biology v.5, pp.781-791, 2004.
9. J.D. Wang, J.S. Weissman Thinking outside the box: new insights into the mechanism of GroEL-mediated protein folding. Nature Struct. Biol. v. 6, pp.597-600, 1999.
10. S. Normark Anfinsen comes out of the cage during assembly of the bacterial pilus. PNAS, v. 97, pp. 7670-7672, 2000.
11. S. Prakash and A. Matouschek Protein unfolding in the cell. Trends in Biochemical Sciences, v. 29, pp. 593-600, 2004.

12. Z. Kostova and D.H. Wolf For whom the bell tolls: protein quality control of the endoplasmic reticulum and the ubiquitin-proteasome connection. *EMBO J.*, v. 22, pp. 2309-2317, 2003.

НАПРАВЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ 06.06.01 «Биологические науки»

Программа вступительного экзамена по направленности «Клеточная биология, цитология, гистология»

1. Клеточная теория. Особенности организации клеток прокариот, эукариот, архебактерий.
2. Репликация ДНК и хромосом. Закономерности распределения хромосом при митозе и мейозе. Центромера и кинетохор.
3. Центриоль. Ультраструктура, репликация, участие в делении клеток.
4. Клеточный цикл. Фазы клеточного цикла. Экзогенные и эндогенные механизмы регуляции клеточного цикла. Нарушения регуляции клеточного цикла при злокачественной трансформации.
5. Межклеточные взаимодействия. Плазматическая мембрана. Рецепторы. Типы химических сигналов. Роль химических факторов при межклеточных взаимодействиях.
6. Понятие о гетерохроматине.
7. Деление клеток. Тип деления. Реорганизация ядра и цитоплазмы при митозе. Полиплоидия клеток и механизмы ее возникновения.
8. Пространственная организация синтеза белка в клетках. Клеточные органеллы, участвующие в синтезе белка, их структура, принципы функционирования.
9. Повторяющиеся последовательности ДНК, их роль и локализация в хромосоме.
10. Мейоз. Фазы мейоза. Синапсис и синаптонемальный комплекс. Кроссинговер и образования хиазм. Мейоз как клеточная основа менделеевских законов.
11. Клеточные органеллы – трансформаторы энергии в клетке, их структура, принципы функционирования. Геном хлоропластов и митохондрий, взаимодействие с геномом ядра.
12. Особенности строения растительных клеток. Центральная роль клеточной стенки в функционировании клетки растений. Пластиды, вакуоли, центральная вакуоль. Экзоцитоз.
13. Хромосомная теория наследственности. Основные положения, краткий исторический обзор, современное состояние.
14. Клеточные культуры животных. Основные принципы получения культур, особенности строения и поведения клеток в культуре. Использование клеточных культур в клеточной инженерии животных.
15. Пространственная организация синтеза РНК и белка в клетке. Механизмы переноса РНК из ядра в цитоплазму. Ядерная оболочка. Модели пор. Рибосомы. Эндоплазматический ретикулум.
16. Хромосома. Характеристика хромосомной ДНК и белков. Основные уровни упаковки ДНП в хромосоме. Дифференциальная окраска хромосом. Центромера, теломера, ядрышковый организатор.
17. Клеточные культуры растений. Основные принципы получения культур, особенности строения и поведения клеток в культуре. Использование клеточных культур в клеточной инженерии растений.
18. Гаметогенез (овогенез и сперматогенез). Особенности строения половых клеток.
19. Понятие о кариотипе. Число, размер, морфология хромосом. Основные положения эволюции кариотипа у животных и растений. Хромосомные перестройки. Полиплоидия.
20. Механизмы мембранного транспорта молекул в клетке.
21. Мобильность генома и генетическая рекомбинация. Общая и сайт-специфическая рекомбинация.

22. Интерфазное ядро. Молекулярная характеристика, структурная организация, функционирование (транскрипция, репликация ДНК). Пространственная организация интерфазного ядра.
23. Органы и клетки иммунной системы. Иммунный ответ клеток. Клеточные взаимодействия при иммунном ответе. Механизмы естественного иммунитета. Натуральные киллеры.
24. Мобильные генетические элементы.
25. Клеточные мембраны. Строение и функциональная дивергенция в разных клеточных органоидах. Роль клеточных мембран в компартиментализации клеток и регуляция метаболических процессов.
26. Злокачественная трансформация клеток. Онкогены, протоонкогены. Хромосомные перестройки в трансформированных клетках.
27. Строение политенных хромосом, их использование как модели интерфазных хромосом. Построение цитологических и генетических карт.
28. Общие принципы организации цитоскелета в клетке. Роль цитоскелета в пространственной организации клеток и их функционировании.
29. Цитодифференцировка как отражение дифференциальной активности генов. Понятие о стволовых клетках. Синтез специфических белков – функциональное проявление цитодифференцировки.
30. Хромосомный механизм определения пола. Половые хромосомы.

Список основной литературы:

1. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки. Т.Т. 1-5. М.: Мир, 1986, 1987.
2. То же. Втор. изд. Т.Т. 1-3. М.:Мир, 1994.
3. Введение в методы культивирования клеток. Методические указания. А.Ю.Керкис, С.И.Байборodin, Новосибирск, НГУ 1992.
4. Заварзин А.А, Харазова А.Д., Молитвин М.Н. Биология клетки: общая цитология. С-Пб: Изд-во С-ПбГУ, 1992.
5. Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. Т.Т. 1-3. М.: Мир, 1982.
6. Фаллер Дж.М., Шилдс Д., Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей. М: БИНОМ-Пресс, 2003.

Список дополнительной литературы:

1. Смирнов В.Г. Цитогенетика. М.: Высш.шк., 1991.
2. Цитология и генетика мейоза. (Под ред. В.В. Хвостовой и Ю.Ф.Богданова). М.: Наука, 1975.

**ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЭКЗАМЕНУ ПО ФИЛОСОФИИ ДЛЯ
ПОСТУПАЮЩИХ В
АСПИРАНТУРУ ЕСТЕСТВЕННЫХ ФАКУЛЬТЕТОВ МГУ**

ОБЩИЕ

1. Природа и специфика философского знания. Философия как самосознание культуры.
2. Проблема генезиса философии. Философия и мировоззрение.
3. Структура философского знания. Историческое изменение предмета философии.
4. Онтология: основные темы, проблемы и направления.
5. Место гносеологии в системе философского знания. Основные познавательные установки: агностицизм, скептицизм, гносеологический оптимизм.
6. Наука и ненаучные формы познания.
7. Общество как предмет философского исследования. Специфика социального познания.
8. Проблема достоверности знаний и стратегии развития науки: эмпиризм и рационализм.
9. Рационализм и иррационализм как философские позиции.

ИСТОРИКО-ФИЛОСОФСКИЕ

10. Философия буддизма.
11. Философия конфуцианства.
12. Философия античного атомизма.
13. Философия Сократа и ее значение для античной философской традиции. Сократический метод.
14. Проблема соотношения формы, материи, вещи в философии Аристотеля. Учение о причинах. Влияние аристотелевской философии на становление античной науки.
15. Соотношение мира идей и мира вещей с точки зрения Платона и Аристотеля.
16. Эллинистическо-римская философия, основные школы и особенности.
17. Принцип тождества бытия и мышления в различных философских системах (Парменид Элейский, Лейбниц, Гегель).
18. Принцип радикального сомнения в философии Р. Декарта. Сомнение как начало науки.
19. Проблема соотношения веры и разума в средневековой философии.
20. Б. Спиноза: учение о субстанции и мышлении.
21. Человек и государство в утопических моделях античности и эпохи Возрождения.
22. Проблема обоснования науки и активности познающего субъекта в теории познания И. Канта.
23. «Золотое правило» нравственности и кантовский категорический императив.
24. Английский эмпиризм 17-18 вв. (Ф. Бэкон, Дж. Локк, Дж. Беркли, Д. Юм).
25. Проблема свободы в философии Канта и Фихте.
26. Философия Просвещения: темы, идеи, проблемы, представители.
27. Проблема субстанции в философии Нового времени.
28. Метод и система философии Гегеля.
29. «Философия жизни» и опыт переоценки всех ценностей рационалистической культуры Фридрихом Ницше.
30. Позитивизм: основные этапы эволюции.
31. Теория отчуждения и социальная философия марксизма.
32. Проблема понимания как центральная для герменевтической традиции в философии.
33. Проблема человеческой экзистенции и свободы в философии экзистенциализма.
34. Особенности отечественной философской традиции.
35. Философские идеи в русской литературе (Ф. Достоевский, Л. Толстой).
36. Философия русского анархизма (М. Бакунин, П. Кропоткин).
37. Проблема исторического пути России в отечественной философии.
38. Философия русского космизма.
39. Философия всеединства В. Соловьева и ее влияние на философию 20 века.
40. Философия свободы и творчества Н. Бердяева.

Литература

1. Дж. Реале, Д. Антисери. Западная философия от истоков до наших дней. СПб., 1994.
2. История философии. Запад - Россия - Восток (под редакцией Н. Мотрошиловой, А. Руткевича). М., 1999.
3. А.Н. Чанышев. Курс лекций по древней и средневековой философии. М., 1991 (или: его же. Начало философии). Книга есть на сайте www.philosophy.ru (в разделе <Библиотека>).
4. Русская философия. Словарь. (Под редакцией М. Маслина). М., 1999.
5. Кириленко Г.Г., Шевцов Е.В. Философский словарь. Справочник студента. М., 2002.
6. История философии. Энциклопедия. Минск, 2002.
7. Алексеев П.В. Философия