

Этап II. Оценка уровня знаний по научной специальности, по которой предполагается подготовить диссертацию.

Научная специальность – 1.5.3. Молекулярная биология

Форма проведения этапа - очно в виде ответа на 3 случайных вопроса из приведенных областей знаний.

Содержание этапа - Данный этап предполагает проверку знаний по ключевым аспектам отрасли науки. Абитуриенту будет предложено три вопроса, отобранных из широкого круга тем, охватывающих фундаментальные положения и современные проблемы выбранной научной специальности.

Примерные темы для вступительного испытания

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 "катящегося кольца" (фаговая ДНК).

Ошибки репликации, обусловленные скольжением нитей при репликации. Механизм образования коротких повторов. Микро- и минисателлиты. Короткие tandemные повторы, определяющие геномный рестриктивный 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 константных участков гена. Матричные и нематричные механизмы достройки сшиваемых фрагментов.

Подвижные элементы геномов про- и эукариот. IS-последовательности, их структура. IS-последовательности как компонент F-фактора бактерий, определяющего способность передачи генетического материала 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. (?-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". 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" 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.

II 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. Иммунная электронная 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-антикодоновое взаимодействие, адапторная гипотеза и ее доказательство. Гипотеза нестрогого соответствия (wobble-гипотеза). Стереохимия кодон-антикодонового 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. Сверхструктура 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.

ПРИМЕР БИЛЕТА

Вопрос 1. Доказательства генетической функции ДНК. Структура и физические свойства ДНК.

Вопрос 2. Рекомбинация. Понятие об общей (гомологичной) и сайтспецифической рекомбинации.

Вопрос 3. Регуляция трансляции у эукариот.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. 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.

2. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ

1. Альберте Б. и др. Молекулярная биология клетки. 1994, 2008, 2014
2. Льюин Б. Гены. 1987, 2007-2014
3. УотсонД. Молекулярная биология гена. М., Мир, 1978
4. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. М., "Наука", 1984
5. <https://ncbi.nlm.nih.gov/>

Критерии и показатели оценивания ответа

	0	Отсутствуют ответы на три заданных теоретических вопроса, отказ от ответа.
Минимальный уровень знаний	1	Отсутствуют ответы на два заданных теоретических вопроса, фрагментарный ответ третий теоретический вопрос, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
	2	Отсутствует ответ на один из заданных теоретических вопросов, фрагментарный ответ на второй и третий теоретический вопросы, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
Низкий уровень знаний	3	Отсутствует ответ на один из заданных теоретических вопросов, фрагментарный ответ на второй и неполный ответ на третий теоретический вопросы, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
	4	Отсутствует ответ на один из заданных теоретических вопросов, неполный ответ на второй заданный теоретический вопрос, полный ответ на третий заданный теоретический вопрос, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
Средний уровень знаний	5	Отсутствует ответ на один из заданных теоретических вопросов, полный ответ на два заданных теоретический вопроса, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
	6	Полный ответ на один заданный теоретический вопрос, неполные ответы на два заданных теоретических вопроса, значительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
Достаточный уровень знаний	7	Полные ответы на два заданных теоретических вопроса, неполный ответ на один заданный теоретический вопрос, незначительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
	8	Полные ответы на три заданных теоретических вопроса, незначительные трудности в сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
Высокий уровень знаний	9	Исчерпывающие ответы на все заданные вопросы, свободное владение материалом, имеются недочеты при сопоставлении и анализе сведений из различных разделов программы.
	10	Исчерпывающие ответы на все заданные вопросы, свободное владение материалом, грамотные сопоставление и анализ сведений из различных разделов программы.