



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ –
МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»
(ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

Институт агrobiотехнологии
Кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ:

Советник при ректорате –
заместитель проректора по науке


 И.Ю. Свинарев
«29» сентября 2022 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Программа подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Научная специальность: **1.5.3. Молекулярная биология**
Отрасль наук – Биологические
Год обучения – 2
Семестр обучения – 4

Москва, 2022

Содержание

АННОТАЦИЯ	5
1. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ.....	6
2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ПРОГРАММЫ АСПИРАНТУРЫ.....	6
3. ОБЩАЯ ТРУДОЕМКОСТЬ ДИСЦИПЛИНЫ.....	7
4. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ.....	7
5. ВХОДНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ ДЛЯ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ, ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ УСЛОИЯ.....	8
6. ФОРМАТ ОБУЧЕНИЯ.....	8
7. СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ, ВИДЫ УЧЕБНЫХ ЗАНЯТИЙ И ФОРМЫ ИХ ПРОВЕДЕНИЯ.....	8
7.1 Распределение трудоёмкости дисциплины по видам работ.....	8
7.2 Содержание дисциплины.....	9
7.3 Образовательные технологии.....	18
8. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ АСПИРАНТОВ ПО ДИСЦИПЛИНЕ.....	20
8.1 Перечень вопросов для самостоятельного изучения дисциплины.....	20
8.2 Контрольные работы	22
9. ФОРМА ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ И ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ.....	29
10. РЕСУРСНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ.....	52
10.1 Перечень основной литературы.....	52
10.2 Перечень дополнительной литературы.....	53
10.3 Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет».....	53
10.4 Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса.....	53
10.5 Описание материально-технической базы.....	53
10.5.1 Требования к аудиториям.....	54
10.5.2 Требования к специализированному оборудованию.....	54
11. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ АСПИРАНТАМ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ.....	54
12. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПРЕПОДАВАТЕЛЯМ ПО ОРГАНИЗАЦИИ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ.....	54

АННОТАЦИЯ

Учебная дисциплина «Молекулярная биология» является важной составной частью Учебного плана подготовки аспирантов по научной специальности 1.5.3 Молекулярная биология, программе аспирантуры Молекулярная биология.

Основная задача учебной дисциплины – освоение аспирантами теоретических и практических знаний в области молекулярной биологии и базирующихся на ней дисциплин. Дисциплина «Молекулярная биология» в системе биологических наук изучает молекулярные механизмы генетических процессов, протекающих в клетках эукариот, прокариот и у вирусов. Излагаются вопросы об основных клеточных макромолекулах, включая ДНК, РНК, белки, биологических путях передачи информации между ними, а также о специфике молекулярного, надмолекулярного и субклеточного уровней организации биологических систем. Аспиранты получают представление о достижениях в области современной молекулярной биологии, связанных с прогрессом в медицине, биотехнологии, сельском хозяйстве и других областях деятельности. Рассматриваются вопросы организации, функционирования и методов изучения нуклеиновых кислот, закономерности основных молекулярно-генетических процессов, протекающих в клетках эукариот, прокариот и у вирусов: репликации, рекомбинации, мутации, репарации, транскрипции, сплайсинга и процессинга РНК, биосинтезе белка, а также механизмах их регуляции

Общая трудоемкость учебной дисциплины «Молекулярная биология» составляет 3 зачетных ед., в объеме 108 часов.

Контроль знаний аспирантов проводится в форме текущей и промежуточной аттестации.

Текущая аттестация аспирантов – оценка знаний и умений проводится постоянно на практических занятиях с помощью устного опроса, решения типовых задач, а также оценки самостоятельной работы аспирантов.

Промежуточная аттестация аспирантов проводится в форме итогового контроля по дисциплине – кандидатского экзамена.

Ведущие преподаватели: Поливанова Оксана Борисовна - кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии.

1. Цель и задачи дисциплины

Целью изучения дисциплины «Молекулярная биология» является освоение аспирантами теоретических и практических знаний, приобретение умений и навыков в области молекулярной биологии, познания современных методов молекулярной биологии, ознакомление с современными достижениями в области молекулярной биологии.

Задачи дисциплины:

- научить аспиранта подбирать, обрабатывать и анализировать научно-техническую и патентную информацию по тематике исследования с использованием специализированных баз данных, включая интернет-ресурсы;
- познакомить аспиранта с современными актуальными проблемами, основными открытиями и методологическими разработками в области молекулярной биологии и смежных наук;
- научить современным молекулярно-генетическими методами, применяемыми для решения задач широко спектра;
- использовать современные методы, технологии и оборудование для исследований в области молекулярной биологии;
- понимать молекулярно-генетические закономерности, лежащие в основе функционирования клеток;
- выбирать или самостоятельно формулировать тему исследования, составляет программу исследования с привлечением современных методов молекулярной биологии для решения практических и теоретических задач.

2. Место дисциплины в структуре программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре (далее программа аспирантуры).

Дисциплина «Молекулярная биология» входит в образовательный компонент Структуры программы аспирантуры. Дисциплина «Молекулярная биология» направлена на подготовку к сдаче кандидатского экзамена по Специальной дисциплине «Молекулярная биология» по научной специальности 1.5.3 Молекулярная биология, соответствует требованиям программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре, Учебному плану по программе аспирантуры, решению учебно-методической комиссии и Ученого совета института, отечественному и зарубежному опыту, учитывать следующие знания научных разделов физиологии растений и животных, биохимии, генетики, селекции, биотехнологии.

Предшествующими курсами в магистратуре и специалитете, на которых непосредственно базируется дисциплина являются: Клеточная инженерия, Ген-

ная инженерия, Биоинформатика, Бионанотехнологии, Прикладная биотехнология, Стандарты GMP в технологиях биологических производств, Молекулярная биология.

Особенностью дисциплины «Молекулярная биология» является биологическая направленность. Аспирантам в области молекулярной биологии необходимо умение применять методы современной молекулярной биологии в научно-исследовательской работе. Это предполагает знания принципов и методов молекулярной биологии.

3. Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетных единиц, 108 часов, из которых 29 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (14 часов занятия лекционного типа, 14 часов занятия семинарского типа), 79 часов составляет самостоятельная работа аспиранта.

4. Планируемые результаты обучения по дисциплине, соотнесенные с планируемыми результатами освоения программы аспирантуры

Планируемый результат освоения дисциплины: знания и навыки, полученные аспирантами при изучении данного курса, необходимы при подготовке к сдаче кандидатского экзамена по специальности и написании диссертации.

Контроль знаний аспирантов проводится в форме текущей и промежуточной аттестации.

Текущая аттестация аспирантов – оценка знаний и умений проводится постоянно на практических занятиях с помощью тестовых заданий, решению типовых задач, оценки самостоятельной работы аспирантов, оценки самостоятельной работы аспирантов.

Промежуточная аттестация аспирантов проводится в форме итогового контроля по дисциплине – кандидатского экзамена.

Таблица 1 – Планируемые результаты обучения по дисциплине «Молекулярная биология», соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы аспирантуры

№ п/п	Результат освоения дисциплины	В результате изучения дисциплины обучающиеся должны:		
		знать	уметь	владеть
1	Способность к проведению исследований и анализу современных научных положений в области молекулярной био-	технологические возможности и потенциальные области применения современного оборудования, технологий и методов, применяе-	использовать современные информационные технологии для сбора, обработки и распространения научной информации в области	навыками работы с оборудованием, применяемом в современной молекулярной биологии

ЛОГИИ	МЫХ в исследова- ниях в области молекулярной биологии	молекулярной биологии и смеж- ных научных дис- циплин, базы дан- ных, программные продукты и ресур- сы в сфере моле- кулярной биоло- гии
-------	--	--

5. Входные требования для освоения дисциплины, предварительные усло- вия

Курс предполагает наличие у аспирантов знаний и умений по физиоло-
гии, биохимии, селекции растений и животных, генетики, основ биотехнологии.

6. Формат обучения

Обучающиеся из числа лиц с ограниченными возможностями здоровья
обеспечиваются электронными и (или) печатными образовательными ресурса-
ми в формах, адаптированных к ограничениям их здоровья.

7. Содержание дисциплины, виды учебных занятий и формы их проведе- ния.

7.1. Распределение трудоемкости дисциплины по видам работ

Общая трудоёмкость дисциплины составляет 3 зач.ед. (108 часа), их рас-
пределение по видам работ представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение трудоемкости дисциплины по видам работ

Вид учебной работы	Трудоемкость	
	зач. ед.	час.
Общая трудоемкость дисциплины по учебному плану	3	108
Аудиторные занятия	0,78	28
Лекции (Л)	0,39	14
Практические занятия (ПЗ)		
Семинарские занятия (СЗ)	0,39	14
в т.ч. контактная работа в период аттестации		
Самостоятельная работа (СРА)	2,19	79
в том числе:		
реферат		
самоподготовка к текущему контролю знаний	2,19	79
др. виды		

Вид учебной работы	Трудоемкость	
	зач. ед.	час.
Вид контроля:	0,03	1
	кандидатский экзамен	

7.2. Содержание дисциплины

Таблица 3 – Тематический план дисциплины

Наименование разделов и тем дисциплин	Всего, час.	Контактная работа, час.			Самостоятельная работа, час.
		Лекция	СЗ	Контроль	
Введение	5		2		3
Тема 1. Предмет, цели и задачи молекулярной биологии	2		1		1
Тема 2. Молекулярные основы жизни и эволюция	2		1		1
Тема 3. Менделевская генетика, цитогенетика и хромосомная теория наследования	1				1
Раздел 1. «Химические основы молекулярной биологии»	4		2		2
Тема 4. Роль химических связей и слабых взаимодействий в формировании структуры биомолекул. Стереохимия	2		1		1
Тема 5. Роль pH и ионизации. Химические реакции в клетках	2		1		1
Раздел 2. «Строение, структура и функции белков»	6	2			4
Тема 6. Иерархическая организация структуры белка	3	1			2
Тема 7. Методы анализа белковых молекул	3	1			2
Раздел 3. «Структура и функции нуклеиновых кислот. Методы исследования ДНК и РНК»	7	2	1		4
Тема 8. Структура и свойства нуклеиновых кислот	3	1			2
Тема 9. Методы исследования нуклеиновых кислот	4	1	1		2
Раздел 4. «Организация геномов про- и эукариот»	9	2	1		6
Тема 10. Топология ДНК. Организация	3	1			2

Наименование разделов и тем дисциплин	Всего, час.	Контактная работа, час.			Самостоятель- ная работа, час.
		Лекция	СЗ	Контр оль	
геномов прокариот					
Тема 11. Организация геномов эукариот. Нуклеосома, хроматин и структура хромосом	3	1			2
Тема 12. Регуляция структуры хроматина	3		1		2
Раздел 5. «Репликация ДНК»	6		2		4
Тема 13. Общие механизмы репликации. Репликация у прокариот	3		1		2
Тема 14. Репликация у эукариот	3		1		2
Раздел 6. «Репарация и рекомбинация ДНК. Мутации»	12	2	2		8
Тема 15. Типы повреждений ДНК. Мутагены	3	1			2
Тема 16. Механизмы репарации ДНК эукариот и прокариот	3	1			2
Тема 17. Рекомбинация ДНК. Репарация ДНК путём гомологичной рекомбинации	3		1		2
Тема 18. Сайт-специфичная рекомбинация и транспозиция	3		1		2
Раздел 7. «Транскрипция, процессинг трансляция»	8	2			6
Тема 19. Генетический код. Транскрипция у прокариот	3	1			2
Тема 20. Транскрипция и процессинг у эукариот	3	1			2
Тема 21. Трансляция у про- и эукариот	2				2
Раздел 8. «Регуляция экспрессии генов»	8	2	2		4
Тема 22. Общие механизмы регуляции экспрессии генов. Регуляция экспрессии генов у бактерий	4	1	1		2
Тема 23. Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции и посттрансляционная регуляция экспрессии генов у эукариот	4	1	1		2
Раздел 9. «Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве»	6	2	2		2
Тема 24 Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве	6	2	2		2
Подготовка к кандидатскому экзамену	36				36

Наименование разделов и тем дисциплин	Всего, час.	Контактная работа, час.			Самостоятель- ная работа, час.
		Лекция	СЗ	Контр оль	
Контактная работа в период аттестации	1			1	
Итого по дисциплине	108	14	14	1	79

Содержание дисциплины Лекционные занятия

Введение

Тема 1. Предмет, цели и задачи Молекулярной биологии

1. Предмет, цели и задачи Молекулярной биологии, ее место в системе биологических наук
2. Молекулярная биология и центральная догма молекулярной биологии

Тема 2. Молекулярные основы жизни и эволюция

3. Определение жизни. Эволюция биомолекул
4. Гипотеза РНК-мира
5. Последний универсальный общий предок

Тема 3. Менделевская генетика, цитогенетика и хромосомная теория наследования

6. Менделевская генетика – основные понятия и определения
7. Законы Менделя
8. Цитогенетика – движение хромосом в ходе митоза и мейоза
9. Митоз – равномерное разделение хромосом между двумя клетками
10. Мейоз – уменьшение числа хромосом вдвое во время формирования гамет
11. Хромосомная теория наследования
12. Картирование генов на хромосомах

Раздел 1. «Химические основы Молекулярной биологии»

Тема 4. Роль химических связей и слабых взаимодействий в формировании структуры биомолекул. Стереохимия.

13. Биополимеры в живой клетке. Структурные блоки биополимеров
14. Роль ковалентных связей в формировании биополимеров
15. Ван дер Ваальсовы силы, гидрофобные взаимодействия, водородные связи и электростатические взаимодействия.
16. Комбинаторный эффект слабых взаимодействий и его роль в стабилизации макромолекул в клетке
17. Хиральность. Стереизомеры.

Тема 5. Роль рН и ионизации. Химические реакции в клетках

18. Шкала рН. Роль рН в поведении макромолекул в клетке
19. Буферные системы
20. Уравнение Хендерсона-Хассельбаха
21. Механизм и скорость химических реакций в клетках
22. Законы термодинамики применительно к биологическим системам
23. Катализ

Раздел 2. «Строение, структура и функции белков»

Тема 6. Иерархическая организация структуры белка

24. Аминокислоты. Классификация аминокислот по химическим свойствам
25. Первичная структура белка
26. Вторичная структура белка. Альфа-спирали
27. Бэта-складки и бэта-повороты
28. Третичная структура. Домены как независимые единицы укладки белка
29. Элементы супервторичных структур как строительные блоки доменов
30. Роль структуры белка в определении путей эволюции белковых молекул
31. Фолдинг белка
32. Модель расплавленной глобулы, иерархическая и каркасная модели
33. Шапероны и шаперонины

Тема 7. Методы анализа белковых молекул

34. Выделение и очистка белков
35. Колоночная хроматография для очистки белков
36. Определение концентрации белка
37. SDS-PAGE
38. Иммунохимические методы работы с белками
39. Определение структуры белков. Рентгеноструктурный анализ и ЯМР
40. Моделирование трёхмерной структуры белков
41. Протеомика

Раздел 3. «Структура и функции нуклеиновых кислот. Методы исследования ДНК и РНК»

Тема 8. Структура и свойства нуклеиновых кислот

42. Строение нуклеотидов, как структурных блоков ДНК и РНК. Фосфодиэфирные связи
43. Дополнительная роль нуклеотидов в клетке
44. Полинуклеотиды и комплементарное спаривание оснований.
45. Трёхмерная структура ДНК и РНК
46. Правило Чаргофа
47. Полиморфизм ДНК
48. Структура РНК
49. Типы молекул РНК. Малые не кодирующие РНК и их роль в клетке

50. Химические и термодинамические свойства нуклеиновых кислот

51. Гибридизация нуклеиновых кислот

Тема 9. Методы исследования нуклеиновых кислот

52. Изолирование и клонирование генов. Технология рекомбинантной ДНК

53. Эндонуклеазы рестрикции

54. Векторы для клонирования ДНК

55. Библиотека кДНК

56. Полимеразная цепная реакция. Принцип метода и основные параметры

57. Оптимизация ПЦР

58. Количественная ПЦР в реальном времени

59. Электрофорез в агарозном геле

60. Секвенирование ДНК. Секвенирование по Сенгеру

61. Секвенирование второго и третьего поколения

62. Методы на основе гибридизации ДНК

63. Геномика. Аннотация геномов

64. Геномные базы данных

65. Вычислительные методы в геномике

66. Секвенирование РНК

67. Транскриптомика

Раздел 4. «Организация геномов про- и эукариот»

Тема 10. Топология ДНК. Организация геномов прокариот

68. Структура геномов прокариот. Кодированные и некодирующие последовательности

69. Организация вирусной и бактериальной ДНК

70. Суперскручивание ДНК

71. Компактизация ДНК и специальные формы суперскручивания

72. Упаковка ДНК в хромосомы

73. Ферменты, осуществляющие компактизацию ДНК. Топоизомеразы первого и второго типа

74. Эукариотические топоизомеразы

75. Структура генов эукариот. Экзоны и интроны

76. Классификация кодирующих и некопирующих последовательностей в геноме.

Тема 11. Организация геномов эукариот. Нуклеосома, хроматин и структура хромосом

77. Октамеры гистонов

78. Роль хвостов гистонов в регуляции доступности молекул ДНК

79. 30 нм фибрилла

80. Структура хромосом высшего порядка

Тема 12. Регуляция структуры хроматина

81. Ремоделирование хроматина. Комплексы ремоделирования хроматина
82. Варианты гистонов
83. Модификация хвостов гистонов
84. Гистоновый код

Раздел 5. «Репликация ДНК»

Тема 13. Общие механизмы репликации. Репликация у прокариот

85. Модели репликации ДНК. Полуконсервативный механизм репликации.
86. Точка начала репликации. Репликативная вилка
87. Химия ДНК-полимераз
88. Лидирующая и отстающая цепи. Фрагменты Оказаки
89. Экзонуклеазная активность ДНК-полимераз. Пруфридинг
90. Структура и функции ДНК-полимеразы I кишечной палочки
91. ДНК-полимеразы кишечной палочки. Функции и роль в репарации ДНК
92. Ферменты репликации ДНК кишечной палочки
93. Инициация и терминация репликации ДНК кишечной палочки

Тема 14. Репликация у эукариот

94. Многообразие эукариотических ДНК-полимераз и их функции
95. Структура репликативной вилки эукариот, отличие от прокариотической репликативной вилки
96. Проблема недорепликации конца хромосом эукариот. Теломеры и теломераза

Раздел 6. «Репарация и рекомбинация ДНК. Мутации»

Тема 15. Типы повреждений ДНК. Мутагены

97. Точечные мутации, инсерции и делеции и их влияние на конечный белковый продукт
98. Крупные хромосомные мутации и их влияние
99. Типы повреждений ДНК на уровне одного нуклеотида
100. Окислительные повреждения ДНК
101. Химические факторы, вызывающие повреждения ДНК
102. Тест Эймса
103. Физические факторы, вызывающие повреждения ДНК

Тема 16. Механизмы репарации ДНК эукариот и прокариот

104. Мismatch репарация у прокариот и эукариот
105. Прямая репарация нуклеотидов в один шаг
106. Эксцизионная репарация нуклеотидов и оснований
107. Синтез ДНК на поврежденной матрице

Тема 17. Рекомбинация ДНК. Репарация ДНК путём гомологичной рекомбинации

108. Репарация двуцепочечных разрывов путём гомологичной рекомбинации

109. Коллапс репликативной вилки как способ репарации двуцепочечных разрывов
110. Ферменты репарации путём гомологичной рекомбинации
111. Регуляция Rec A
112. Гомологичная рекомбинация у эукариот
113. Роль мейотической гомологичной рекомбинации в увеличении генетического разнообразия
114. Гомологичная рекомбинация в ходе митоза
115. Движение интронов в ходе гомологичной рекомбинации
116. Негомологичное соединение концов

Тема 18. Сайт-специфичная рекомбинация и транспозиция

117. Механизм сайт специфичной рекомбинации
118. Роль сайт-специфичной рекомбинации в жизненном цикле вирусов
119. Регуляция экспрессии генов с помощью сайт-специфичной рекомбинации
120. Механизмы транспозиции
121. Классы бактериальных транспозонов
122. Ретротранспозоны и ретровирусы

Раздел 7. «Транскрипция, процессинг трансляция»

Тема 19. Генетический код. Транскрипция у прокариот

123. Т-РНК как молекулы-адаптеры. Структура транспортных РНК
124. Гипотеза колебания
125. Свойства генетического кода
126. Исключения из генетического кода
127. РНК-полимеразы и общие механизмы транскрипции
128. Инициация, элонгация и терминация транскрипции
129. Инициация транскрипции у бактерий. Бактериальные промоторы

Тема 20. Транскрипция и процессинг у эукариот

130. Промоторы эукариотических РНК-полимераз
131. Транскрипционные факторы
132. Гипотетические механизмы терминации транскрипции у эукариот
133. Кэппирование
134. Полиаденилирование
135. Сплайсинг пре-матричной РНК
136. Альтернативный сплайсинг
137. Самосплайсирующие интроны. Интроны первой и второй группы.
138. Редактирование матричной РНК
139. Транспорт и деградация РНК
140. Локализация матричных РНК в цитоплазме
141. Процессинг не кодирующих РНК

142. РНК-катализ и гипотеза РНК-мира

Тема 21. Трансляция у про- и эукариот

143. Строение рибосом

144. Активация аминокислот для биосинтеза белка

145. Инициация биосинтеза белка. Факторы инициации трансляции

146. Элонгация полипептидной цепочки.

147. Терминация биосинтеза белка и рециркуляция рибосом

148. Антибиотики и токсины, ингибирующие трансляцию и механизм их действия

Раздел 8. «Регуляция экспрессии генов»

Тема 22. Общие механизмы регуляции экспрессии генов. Регуляция экспрессии генов у бактерий

149. Точки регуляции экспрессии генов

150. Регуляция инициации транскрипции

151. Транскрипционные факторы. Цис- и транс-регуляторные элементы

152. Комбинаторный контроль в регуляции экспрессии генов

153. Структурные основы регуляции транскрипции

154. Структурные мотивы ДНК-связывающих белков

155. Регуляция лактозного оперона

156. Регуляция оперона триптофана

157. Атенюация транскрипции

158. SOS регуляция

159. Рибопереключатели

Тема 23. Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции и посттрансляционная регуляция экспрессии генов у эукариот

160. Посттрансляционная регуляция экспрессии генов

161. Транскрипция у эукариот и регуляция структуры хроматины

162. Геномный импринтинг

163. Компенсация дозы генов и экспрессия генов половых хромосом

164. Регуляция экспрессии генов стероидными гормонами

165. Роль 5' и 3' нетранслируемых областей мРНК в регуляции экспрессии генов

166. Крупномасштабная регуляция групп генов

167. РНК-интерференция

168. Регуляция экспрессии генов и индивидуальное развитие

Раздел 9. «Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве»

Тема 24 Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве

169. Генетическая основа наследственных заболеваний и рака. Генная терапия
170. Получение рекомбинантных белков с использованием микроорганизмов
171. Генетическая инженерия растений и животных
172. ДНК тесты в криминалистике
173. Исследование ДНК ископаемых останков
174. Этические вопросы современной молекулярной биологии

Содержание практических/семинарских занятий по дисциплине и контрольных мероприятий

№ п/п	Наименование разделов и тем дисциплины (укрупнено)	№ и название практических/семинарских занятий	Вид контрольного мероприятия	Количество академических часов
1.	Введение			2
	Тема 1. Предмет, цели и задачи молекулярной биологии	Семинар № 1 «Развитие молекулярной биологии как фундаментальной и прикладной области знаний в России и за рубежом»	оценка уровня знаний по теме – опрос	1
	Тема 2. Молекулярные основы жизни и эволюция	Семинар № 2 «Связь современной молекулярной биологии с эволюционной теорией»	оценка уровня знаний по теме - опрос	1
2.	Раздел I. «Химические основы молекулярной биологии»			2
	Тема 4. Роль химических связей и слабых взаимодействий в формировании структуры биомолекул. Стереохимия	Семинар № 3 «Комбинаторный эффект слабых взаимодействий и его роль в стабилизации макромолекул в клетке»	оценка уровня знаний по теме – опрос, решение типовых задач	1
	Тема 5. Роль pH и ионизации. Химические реакции в клетках	Семинар № 4 «Буферные системы. Уравнение Хендерсона-Хассельбаха»	оценка уровня знаний по теме – опрос, решение типовых задач	1
	Раздел 3. «Структура и			1

функции нуклеиновых кислот. Методы исследования ДНК и РНК»				
Тема 9. Методы исследования нуклеиновых кислот	Семинар № 5 «Методы секвенирования нуклеиновых кислот»	оценка уровня знаний по теме - опрос		1
Раздел 4. «Организация геномов про- и эукариот»				1
Тема 12. Регуляция структуры хроматина	Семинар № 6 «Гистоновый код»	оценка уровня знаний по теме – решение типовых задач		1
Раздел 5. «Репликация ДНК»				2
Тема 13. Общие механизмы репликации. Репликация у прокариот	Семинар № 7 «Ферменты репликации»	оценка уровня знаний по теме – опрос, решение типовых задач		1
Тема 14. Репликация у эукариот	Семинар № 8 «Проблема недорепликации конца хромосом эукариот. Теломеры и теломераза»	оценка уровня знаний по теме – решение типовых задач		1
Раздел 6. «Репарация и рекомбинация ДНК. Мутации»				2
Тема 17. Рекомбинация ДНК. Репарация ДНК путём гомологичной рекомбинации	Семинар № 9 «Роль мейотической гомологичной рекомбинации в увеличении генетического разнообразия»	оценка уровня знаний по теме - решение типовых задач		1
Тема 18. Сайт-специфичная рекомбинация и транспозиция	Семинар № 10 «Изучение транспозонов»	оценка уровня знаний по теме - решение типовых задач		1
Раздел 8. «Регуляция экспрессии генов»				2

	Тема 22. Общие механизмы регуляции экспрессии генов. Регуляция экспрессии генов у бактерий	Семинар № 11 «Регуляция бактериальных оперонов»	оценка уровня знаний по теме - решение типовых задач	1
	Тема 23. Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции и посттрансляционная регуляция экспрессии генов у эукариот	Семинар № 12 «Роль транскрипционных факторов в реакции растений на стрессовые факторы»	оценка уровня знаний по теме - решение типовых задач	1
	Раздел 9. «Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве»			2
	Тема 24 Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве	Семинар № 13 «Основные достижения молекулярной биологии»	оценка уровня знаний по теме - опрос	2
	Итого по дисциплине			14

7.3. Образовательные технологии

Общее количество часов аудиторных занятий, проведённых с применением активных и интерактивных образовательных технологий составляет 10 часов (35.7 % от общей аудиторной трудоемкости дисциплины).

Таблица 4 – Активные и интерактивные формы проведения занятий

№ п/п	Тема и форма занятия		Наименование используемых активных и интерактивных образовательных технологий	Кол-во часов
1	Тема 8. Структура и свойства нуклеиновых кислот	Л	Дискуссия	1
2	Тема 9. Методы исследования нуклеиновых кислот	Л	Работа с электронными ресурсами	1
3	Тема 11. Организация геномов эукариот. Нуклеосома, хроматин и структура хромосом	Л	Разбор конкретных ситуаций, учебная дискуссия в ходе просмотра обучающих видеоматериалов	1
4	Тема 17. Рекомбинация ДНК. Репарация ДНК путём гомологичной рекомбинации	СЗ	решение кейс-задачи, тестовые задания, дискуссия	1
5	Тема 19. Генетический код. Транскрипция у прокариот	Л	Работа с электронными ресурсами	1

6	Тема 23. Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции и посттрансляционная регуляция экспрессии генов у эукариот	СЗ	Разбор конкретных ситуаций, учебная дискуссия в ходе просмотра обучающих видеоматериалов	1
7	Тема 24 Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве	Л	Разбор конкретных ситуаций, учебная дискуссия в ходе просмотра обучающих видеоматериалов	2
8	Тема 24 Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве	СЗ	Дискуссия	2
Всего				10

8. Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы аспирантов по дисциплине:

8.1. Перечень вопросов для самостоятельного изучения дисциплины Молекулярная биология

Таблица 5 – Перечень вопросов для самостоятельного изучения дисциплины

№ п/п	№ раздела и темы	Перечень рассматриваемых вопросов для самостоятельного изучения	Кол-во часов
Введение			3
1.	Тема 1. Предмет, цели и задачи молекулярной биологии	Молекулярная генетика и центральная догма молекулярной биологии	1
2.	Тема 2. Молекулярные основы жизни и эволюция	Гипотеза РНК-мира. Последний универсальный общий предок	1
3.	Тема 3. Менделевская генетика, цитогенетика и хромосомная теория наследования	Митоз – равномерное разделение хромосом между двумя клетками. Мейоз – уменьшение числа хромосом вдвое во время формирования гамет	1
Раздел 1. «Химические основы молекулярной биологии»			2
4.	Тема 4. Роль химических связей и слабых взаимодействий в формировании структуры биомолекул. Стереохимия	Комбинаторный эффект слабых взаимодействий и его роль в стабилизации макромолекул в клетке; хиральность. Стереоизомеры	1
5.	Тема 5. Роль pH и ионизации. Химические реакции в клетках	Механизм и скорость химических реакций в клетках. Законы термодинамики применительно к биологическим системам. Катализ	1
Раздел 2. «Строение, структура и функции белков»			4
6.	Тема 6. Иерархическая организация структуры	Роль структуры белка в определении путей эволюции белковых молекул. Фолдинг бел-	2

№ п/п	№ раздела и темы	Перечень рассматриваемых вопросов для самостоятельного изучения	Кол-во часов
	белка	ка. Модель расплавленной глобулы, иерархическая	
7.	Тема 7. Методы анализа белковых молекул	Иммунохимические методы работы с белками. Определение структуры белков. Рентгеноструктурный анализ и ЯМР	2
Раздел 3. «Структура и функции нуклеиновых кислот. Методы исследования ДНК и РНК»			4
8.	Тема 8. Структура и свойства нуклеиновых кислот	Трёхмерная структура ДНК и РНК. Правило Чаргофа. Полиморфизм ДНК	2
9.	Тема 9. Методы исследования нуклеиновых кислот	Библиотека кДНК. Полимеразная цепная реакция - принцип метода и основные параметры; оптимизация ПЦР. Количественная ПЦР в реальном времени. Электрофорез в агарозном геле. Секвенирование ДНК	2
Раздел 4. «Организация геномов про- и эукариот»			6
11.	Тема 10. Топология ДНК. Организация геномов прокариот	Структура генов эукариот. Экзоны и интроны. Классификация кодирующих и некодирующих последовательностей в геноме	2
12.	Тема 11. Организация геномов эукариот. Нуклеосома, хроматин и структура хромосом	Структура хромосом высшего порядка	2
13.	Тема 12. Регуляция структуры хроматина	Модификация хвостов гистонов. Гистоновый код	2
Раздел 5. «Репликация ДНК»			4
14.	Тема 13. Общие механизмы репликации. Репликация у прокариот	ДНК-полимеразы кишечной палочки. Функции и роль в репарации ДНК. Ферменты репликации ДНК кишечной палочки. Инициация и терминация репликации ДНК кишечной палочки	2
15.	Тема 14. Репликация у эукариот	Структура репликативной вилки эукариот, отличие от прокариотической репликативной вилки	2
Раздел 6. «Репарация и рекомбинация ДНК. Мутации»			8
16.	Тема 15. Типы повреждений ДНК. Мутагены	Химические факторы, вызывающие повреждения ДНК. Тест Эймса. Физические факторы, вызывающие повреждения ДНК	2
17.	Тема 16. Механизмы репарации ДНК эукариот и прокариот	Синтез ДНК на поврежденной матрице	2
18.	Тема 17. Рекомбинация ДНК. Репарация ДНК путём гомологичной	Гомологичная рекомбинация в ходе митоза. Движение интронов в ходе гомологичной рекомбинации. Негомологичное соединение	2

№ п/п	№ раздела и темы	Перечень рассматриваемых вопросов для самостоятельного изучения	Кол-во часов
	рекомбинации	концов	
19.	Тема 18. Сайт-специфичная рекомбинация и транспозиция	Механизмы транспозиции. Классы бактериальных транспозонов. Ретротранспозоны и ретровирусы	2
Раздел 7. «Транскрипция, процессинг трансляция»			6
	Тема 19. Генетический код. Транскрипция у прокариот	Инициация, элонгация и терминация транскрипции. Инициация транскрипции у бактерий. Бактериальные промоторы	2
20.	Тема 20. Транскрипция и процессинг у эукариот	Редактирование матричной РНК. Транспорт и деградация РНК. Локализация матричных РНК в цитоплазме. Процессинг некодирующих РНК. РНК-катализ и гипотеза РНК-мира	2
21.	Тема 21. Трансляция у про- и эукариот	Терминация биосинтеза белка и рециркуляция рибосом. Антибиотики и токсины, ингибирующие трансляцию и механизм их	2
Раздел 8. «Регуляция экспрессии генов»			4
22.	Тема 22. Общие механизмы регуляции экспрессии генов. Регуляция экспрессии генов у бактерий	Аттенуация транскрипция. SOS регуляция. Рибопереключатели	2
23.	Тема 23. Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции и посттрансляционная регуляция экспрессии генов у эукариот	Крупномасштабная регуляция групп генов. РНК-интерференция. Регуляция экспрессии генов и индивидуальное развитие	2
Раздел 9. «Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве»			2
24.	Тема 24 Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве	Исследование ДНК ископаемых останков. Этические вопросы современной молекулярной биологии	2
Подготовка к кандидатскому экзамену			36
ВСЕГО			79

9. Форма промежуточной аттестации и оценочные материалы, включающие:

Паспорт оценочного средства

№ п/п	Контролируемые модули, разделы	Контролируемый результат освое-	Оценочные средства		Способ контроля
			Наименование	№ за-	

	(темы) дисциплины	ния дисциплины или его часть		дания	
2.	Раздел 1. «Химические основы молекулярной биологии»	Способность к проведению исследований и анализу современных научных положений в области молекулярной биологии	комплект разноуровневых задач	Задачи 1-4 раздела 1	Самостоятельное решение
3.	Раздел 2. «Строение, структура и функции белков»		комплект разноуровневых задач	Задачи 1-19 раздела 2	Самостоятельное решение
4.	Раздел 3. «Структура и функции нуклеиновых кислот. Методы исследования ДНК и РНК»		комплект разноуровневых задач	Задачи 1-17 раздела 3	Самостоятельное решение
5.	Раздел 4. «Организация геномов про- и эукариот»		комплект разноуровневых задач	Задачи 1-16 раздела 4	Самостоятельное решение
6.	Раздел 5. «Репликация ДНК»		комплект разноуровневых задач	Задачи 1-17 раздела 1	Самостоятельное решение
7.	Раздел 6. «Репарация и рекомбинация ДНК. Мутации»		комплект разноуровневых задач	Задачи 1-35 раздела 6	Самостоятельное решение
8.	Раздел 7. «Транскрипция, процессинг трансляция»		комплект разноуровневых задач	Задачи 5-14 раздела 7	Самостоятельное решение
9.	Раздел 8. «Регуляция экспрессии генов»		комплект разноуровневых задач	Задачи 1-13 раздела 18	Самостоятельное решение
10.	Раздел 9. «Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве»		Вопросы к дискуссии	1-13	устно

Показатели и критерии определения уровня сформированности результата освоения дисциплины

№ п/п	Результат освоения дисциплины или его часть	Уровень сформированности результата освоения дисциплины		
		Пороговый	Достаточный	Повышенный
	Способность к проведению исследований и анализу современных научных положений в области молекулярной биологии	<p>Знать: перспективные направления и области исследований в современной молекулярной биологии</p> <p>Уметь: выбирать или самостоятельно формулировать тему исследования, составляет программу исследования</p> <p>Владеть: методами сбора, анализа, систематизации и обработки информации, в том числе с использованием цифровых ресурсов</p>	<p>Знать: современные информационные технологии для сбора, обработки и распространения научной информации в области молекулярной биологии и смежных отраслей, базы данных, программные продукты и ресурсы информационно-телекоммуникационной сети "Интернет"</p> <p>Уметь: осуществлять сбор, анализ и систематизацию информации по проблеме исследования, в том числе с применением цифровых технологий</p> <p>Владеть: теорией планирования эксперимента и навыками обработки полученных данных, а также их интерпретации</p>	<p>Знать: способы обработки, получения и распространения научной информации в области молекулярной биологии и смежных научных дисциплин</p> <p>Уметь: анализировать, интерпретировать, оценивать, представлять и защищать результаты выполненного исследования с обоснованными выводами и рекомендациями</p> <p>Владеть: методами проведения исследования</p>

Контрольные задания и иные материалы оценки знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующие этапы формирования результата освоения дисциплины «Молекулярная биология»

Вопросы к Разделу 9. «Молекулярная биология в медицине, промышленности и сельском хозяйстве»

1. Предмет, цели и задачи молекулярной генетики, ее место в системе биологических наук
2. Молекулярная генетика и центральная догма молекулярной биологии
3. Определение жизни. Эволюция биомолекул

4. Гипотеза РНК-мира
5. Последний универсальный общий предок
6. Хромосомная теория наследования
7. Картирования генов вдоль хромосом
8. Генетическая основа наследственных заболеваний и рака. Генная терапия
9. Получение рекомбинантных белков с использованием микроорганизмов
10. Генетическая инженерия растений и животных
11. ДНК тесты в криминалистике
12. Исследование ДНК ископаемых останков
13. Этические вопросы современной молекулярной генетики

Критерии оценки:

- оценка «отлично» выставляется аспиранту, если он ответил на 81 и более % вопросов;
- оценка «хорошо» выставляется аспиранту, если он ответил на 71-80% вопросов;
- оценка «удовлетворительно» выставляется аспиранту, если он ответил на 55-70% вопросов;
- оценка «неудовлетворительно» выставляется аспиранту, если он ответил на 54 и менее% вопросов

Комплект разноуровневых задач

Раздел 1. «Химические основы молекулярной генетики»

Задача 1. Найти рН 0,01 раствора уксусной кислоты и определить степень ее диссоциации; $K_a = 1,75 \cdot 10^{-5}$.

Задача 2. Как приготовить 1 дм³ 0,1 М фосфатного буфера, рН 7,1 $pK_{2a} = 6,8$.

Задача 3. Буфер содержит 0,01 моль молочной кислоты ($pK_a = 3,60$) и 0,05 моль лактата натрия на литр.

(а) Рассчитайте рН буфера (4,3)

(б) Рассчитайте изменение рН после добавления 5 мл 0,5 М HCl к 1 л буфера.

(в) Рассчитать изменение рН после добавления того же количества кислоты к литру чистой воды.

Задача 4. Считается, что неизвестное соединение имеет карбоксильную группу с $pK_a = 2,0$ и вторую ионизируемую группу с pK_a между 5 и 8. Когда 75 мл 0,1 М NaOH добавляли к 100 мл 0,1 М раствора этого соединения при рН 2,0, рН увеличивался до 6,72. Рассчитайте pK_a второй группы.

Раздел 2. «Строение, структура и функции белков»

- Задание 1.** Сколько генов, кодирующих белок, содержится в геноме человека, и почему количество белков действительно присутствующих у человека больше, чем количество генов?
- Задание 2.** Какие два общих свойства белков напрямую влияют на разработку стратегии очистки?
- Задание 3.** Назовите и кратко опишите три наиболее часто используемых метода гомогенизации.
- Задание 4.** Что такое удельная активность?
- Задание 5.** Назовите и кратко опишите три основных типа колоночной хроматографии.
- Задание 6.** Опишите методику разделения белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE).
- Задание 7.** В чем был недостаток метода секвенирования белков Сэнгера?
- Задание 8.** Объясните метод деградации Эдмана.
- Задание 9.** Кратко опишите принципы масс-спектрометрии.
- Задание 10.** Опишите процесс твердофазного пептидного синтеза.
- Задание 11.** В чем преимущество рентгеновской кристаллографии перед спектроскопией ядерного магнитного резонанса для определения структуры белков?
- Задание 12.** Кратко опишите методику рентгеновской кристаллографии применительно к определению структуры белков.
- Задание 13.** Какие два этапа являются самыми сложными в рентгеновской кристаллографии?
- Задание 14.** Кратко опишите методику ЯМР-спектроскопии применительно к определению структуры белка.
- Задание 15.** Что такое антитела?
- Задание 16.** Кратко назовите и опишите два типа антител, используемых в биохимических исследованиях.
- Задание 17.** Что такое метки эпитопа и для чего они используются?
- Задание 18.** Опишите твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA).
- Задание 19.** Целевой белок очищали в несколько этапов, как показано в таблице. Ответьте на следующие вопросы об этой схеме очистки:

№	Метод	Общее количество белка, мг	Общее число единиц активности	Удельная активность целевого белка (единиц/ мг белка)
1	Неочищенный экстракт (лизированные клетки)	5 105	1 1010	?
2	Гель-фьюльтрация	?	8 109	8 104
3	Анионнообменная хро-	?	5 109	5 106

	маатография			
4	Афинная хроматография	20	4/109	?

- Какова удельная активность целевого белка после первого и четвертого этапов очистки?
- Рассчитайте общий выход белка (в миллиграммах) после второй и третьей стадий очистки.
- Рассчитайте общий процентный выход целевого белка (конечная активность / начальная активность).
- С помощью гель-фильтрационной хроматографии активность целевого белка была связана с белком 100000 кДа. Чтобы получить более точную оценку молекулярной массы целевого белка, небольшой образец белка, присутствующего в наиболее активной фракции после этапа 4, был проанализирован с помощью SDS-PAGE, и, как показано на графике, относительная подвижность наиболее распространенного белка (красный кружок) была нанесен вместе с известными стандартами молекулярной массы (черные кружки). Какова молекулярная масса этого очищенного белка на основе SDS-PAGE, и как вы согласовываете это с оценкой молекулярной массы, полученной с помощью гель-фильтрационной хроматографии?

Раздел 3. «Структура и функции нуклеиновых кислот. Методы исследования ДНК и РНК»

- Задание 1.** Нуклеотидная последовательность одной цепочки из двойной спирали ДНК: 5'-GGATTTTGTCCACAATCA-3'. Какова будет последовательность комплементарной цепочки?
- Задание 2.** В ДНК бактерии 13% всех нуклеотидов составляет аденин. каковы доли остальных нуклеотидов?
- Задание 3.** Сколько возможных нуклеотидных последовательностей. Существует для нити ДНК в N нуклеотидов, если она а) однацепочечная, б) двуцепочечная?
- Задание 4.** Представьте, что можно сделать разрез ДНК в участке с определенной последовательностью нуклеотидов. Какова будет средняя длина такой последовательности (в нуклеотидах), чтобы в бактериальном геноме длиной в $3 \cdot 10^6$ возник всего один разрез? А в геноме клетки животного, который содержит $3 \cdot 10^9$ пар оснований?
- Задание 5.** Пара азотистых оснований А-Т удерживается двумя водородными связями. Водородные связи схожей силы могут возникать между другими парами нуклеотидов, такими как А-Г и А-С. Что произойдет, если такие пары об-

разуются во время удвоения ДНК, а неправильные пары войдут в состав молекулы. Почему это происходит редко?

Задание 6. При повышении температуры раствора, содержащего молекулы ДНК, приведенные ниже, в каком порядке они будут расплавляться?

5'-GCGGGCCAGCCCGAGTGGGTAGCCCGAGG-3'

5'-ATTATAAAAATATTTAGATACTATATTTACAA-3'

5'-AGAGCTAGATCGAT-3'

Задание 7. Общая длина ДНК в геноме человека составляет около одного метра, а диаметр двойной спирали – примерно 2 нм. нуклеотиды в двойной спирали расположены с интервалом в 0,34 нм. Какой длины стала бы молекула при пропорциональном увеличении ее диаметра до 5 мм? как близко располагались бы нуклеотидные основания друг к другу? Какой бы была длина гена, состоящего из 1000 пар оснований?

Задание 8. CD диск хранит около $4,8 \cdot 10^9$ бит информации на площади 96 см^2 . Эта информация записана в виде двоичного кода. Как много бит понадобится для обозначения каждой нуклеотидной пары в последовательности ДНК?

Сколько таких CD понадобится для записи информации, хранящейся в геноме? Геном человека – $3 \cdot 10^9$ нуклеотидных пар.

Задание 9. Сколько всего образуется фрагментов ДНК, если разрезать человеческий геном с помощью рестриктазы *HaeIII*? *EcoRI*? *NotI*?

Задание 10. Двухцепочечная молекула ДНК обработана тремя разными рестриктазами, а фрагменты разделены при помощи гель-электрофореза. Нарисуйте рестриктационную карту.

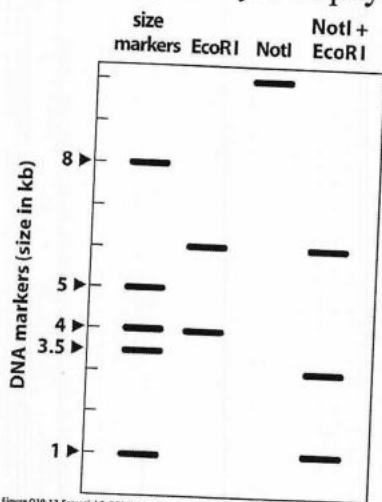


Figure Q10-12 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

Задание 11. В ходе экспериментов было выделено небольшое количество редкого белка. Белок был расщиплен на фрагменты при помощи протеаз., некоторые фрагменты были разделены хроматографическими методами и была определена аминокислотная последовательность данных фрагментов. К сожалению, удалось определить только 3 коротких фрагмента аминокислотной последовательности:

ТРИПТОФАН-МЕТИОНИН-ГИСТИДИН-ГИСТИДИН-ЛИЗИН
 ЛЕЙЦИН-СЕРИН-АРГИНИН-ЛЕЙЦИН-АРГИНИН
 ТИРОЗИН-ФЕНИЛАЛАНИН-ГЛУТАМИН-МЕТИОНИН-ГЛИЦИН

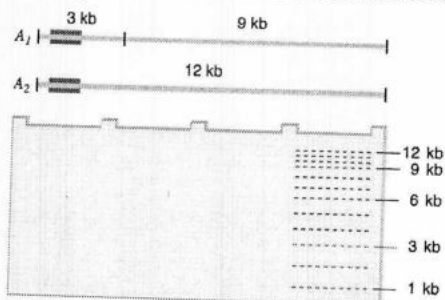
С помощью таблицы генетического кода составьте наборы ДНК зондов для каждого из пептидов, которые можно использовать для выявления этого гена в библиотеке кДНК путем гибридизации. Какой из наборов зондов имеет смысл использовать в первую очередь? Ответ пояснить.

Было установлено, что глицин на конце белка 3 с-концевой, т. е. находится на конце белка. Как, учитывая это, можно составить олигонуклеотидный праймер для амплификации участка гена из библиотеки кДНК при помощи ПЦР?

Предположим, что с помощью ПЦР был получен фрагмент ДНК длиной 300 нуклеотидов. При определении последовательности нуклеотидов внутри был обнаружен фрагмент СТАТСАСГСТТТАСС. Какой из этого можно сделать вывод?

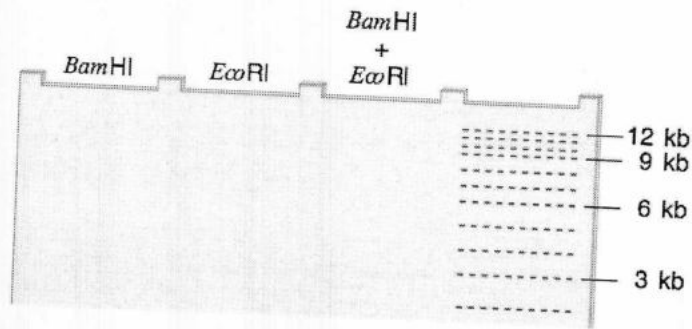
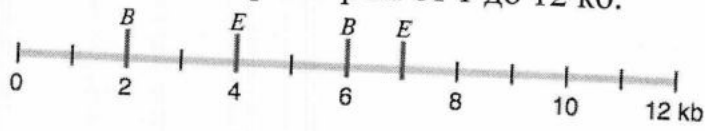
Задание 12. При обработке плазмиды размером 20 кб рестриктазами в смеси и по отдельности образовались следующие фрагменты: EcoRI – 6 кб и 14 кб; HindIII – 7 кб и 13 кб; обе – 2 кб, 4 кб, 5 кб, 9 кб. Как много рестриктационных карт можно построить в соответствии с этими данными? Построить рестриктационные карты для каждого из возможных вариантов.

Задание 13. На представленной схеме отмечены позиции рестрикционных сайтов для соответствующего фермента рестрикции, которые могут присутствовать в соответствующем локусе человеческой хромосомы. ДНК, присутствующая в конкретной хромосоме, соответствует вариантам, изображенным на рисунке внизу и вверху. ДНК-зонд связывается в положении, обозначенном прямоугольником. В соответствии с RFLP анализам по этим фрагментам, возможно 3 генотипа. Что это за генотипы? Используйте символ A1 для обозначения фрагмента вверху и A2 для обозначения фрагмента внизу. Каким будет взаимное расположение полос на электрофорограмме для каждого из 3-х генотипов?

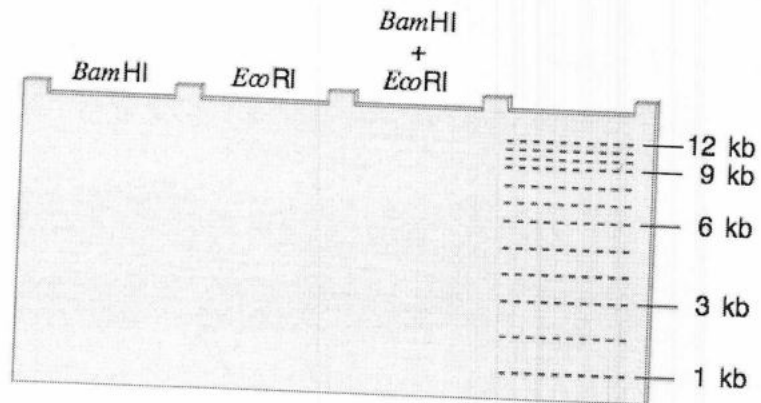
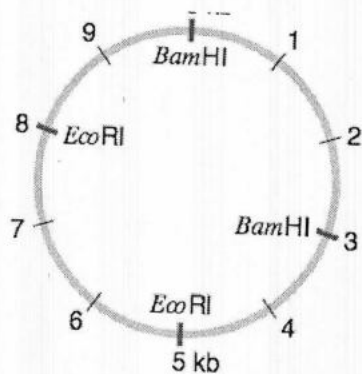


Задание 14. Следующий список дает половину каждого из последовательностей палиндромных сайтов рестрикции. Какова полная последовательность каждого сайта рестрикции? (N – любой нуклеотид): 1) 5'-AA ?? - 3'; 2) 5'-ATG ??? - 3'; 3) 5'-GGN ?? - 3'; 4) 5'-ATNN ?? - 3'.

Задание 15. Линейный фрагмент ДНК имеет сайты рестрикции для *Bam*HI (B) и *Eco*RI (E). Укажите на электрофорограмме расположения полос после обработки ДНК: *Bam*HI, *Eco*RI, *Bam*HI *Eco*RI вместе. Пунктирные линии справа – маркеры длины размером от 1 до 12 кб.



Задание 16. Кольцевая молекула ДНК имеет сайты рестрикции для *Bam*HI (B) и *Eco*RI (E). Укажите на электрофорограмме расположения полос после обработки ДНК: *Bam*HI, *Eco*RI, *Bam*HI *Eco*RI вместе. Пунктирные линии справа – маркеры длины размером от 1 до 12 кб.



Задание 17. Какова последовательность ДНК, которую использовали для секвенирования? На рисунке на 4-х дорожках показаны продукты секвенирования, полученные при использовании дидеоксинуклеозидтрифосфатов (ddNTP) ddGTP – дорожка 1; ddATP – 2; ddTTP – 3; ddCTP – 4. Числа справа показывают положение маркеров длины. Данный образец ДНК был получен из середины кДНК белка одного из видов млекопитающих. Можно ли определить аминокислотную последовательность этой части белка при помощи таблицы генетического кода?



Раздел 4. «Организация геномов про- и эукариот»

- Задача 1.** Когда белки инкубируют с детергентом додецилсульфатом натрия (SDS), они поглощают детергент и частично денатурируют, теряя большую часть своей структуры, и, как правило, принимают постоянное отношение массы к заряду. При электрофорезе в SDS-полиакриламидном геле белки почти полностью разделяются в зависимости от их массы. Гистоны являются исключением. На этих же гелях многие гистоны мигрируют медленнее, чем должны, как будто они намного крупнее, чем есть на самом деле. Предложите объяснение такому поведению.
- Задача 2.** Какая из следующих модификаций белка — ацетилирование, фосфорилирование и метилирование — может изменить суммарный заряд на поверхности модифицированного гистона?
- Задача 3.** У бактерий на транскрипцию подмножества генов влияет топология ДНК, при этом экспрессия увеличивается или (чаще) снижается, когда ДНК релаксирует. Когда бактериальная хромосома расщепляется в определенном месте ферментом рестрикции (тот, который разрезает длинную и, следовательно, редкую последовательность), только близлежащие гены (в пределах 10 000 п.н.) проявляют либо увеличение, либо уменьшение экспрессии. Транскрипция генов в других частях хромосомы не затрагивается. Объясните данное наблюдение.
- Задача 4.** В разных участках хроматина отношение гистона H1 к гистону H2A может различаться, но отношение гистона H2A к гистону H2B в целом одинаково. Если количество H1 увеличивается в области хроматина, увеличится или уменьшится транскрипция генов в этой области? Поясните свой ответ.
- Задача 5.** В хроматине нуклеосомы организованы в структуры более высокого порядка, филаменты размером 30 нм. Хотя подробная структура неизвестна, какие особенности 30-нм нити были экспериментально определены?
- Задача 6.** У эукариот хромосомы последовательно упакованы в структуры более высокого порядка, такие как филаменты размером 30 нм. У бактерий ДНК

не упакована в столь стабильные белковые структуры, и гистоноподобные белки менее прочно связываются с ДНК. Предложите объяснение этой разницы.

Задача 7. Опишите по крайней мере три различия между областями хроматина, которые транскрипционно активны, и теми, в которых гены транскрипционно молчат.

Задание 8. Какова суперспиральная плотность (σ) замкнутой кольцевой ДНК длиной 4200 п.н. и числом связей (Lk) 374? Какова сверхспиральная плотность той же ДНК, когда Lk 412? В каждом случае молекула имеет отрицательную или положительную сверхспирализацию?

Задание 9. T4-подобный бактериофаг JS98 имеет ДНК с молекулярной массой $1,11 \times 10^8$, заключенную в головке длиной около 100 нм.

а) Рассчитайте длину ДНК (примите, что молекулярная масса пары нуклеотидов равна 650) и сравните ее с длиной головки JS98.

б) Обратитесь к онлайн-базе данных Entrez Genome. Каково точное количество пар оснований в геноме JS98?

Задание 9. Нуклеотидный состав ДНК фага M13: А, 23%; Т, 36%; Г, 21%; С, 20%. Что это говорит вам о структуре ДНК фага M13?

Задание 10. Полный геном простейшей известной бактерии *Mycoplasma genitalium* представляет собой кольцевую молекулу ДНК длиной 580 070 п.н. Рассчитайте молекулярную массу (примем, что молекулярная масса пары нуклеотидов равна 650) и контурную длину (в расслабленном состоянии) этой молекулы. Что такое Lk_0 для хромосомы микоплазмы? Что такое Lk ?

Задание 11. Замкнутая молекула ДНК в релаксированной форме имеет Lk , равную 500. Сколько приблизительно пар оснований содержится в этой ДНК? Как меняется число зацеплений (увеличивается, уменьшается, не изменяется, становится неопределенным) в каждой из следующих ситуаций?

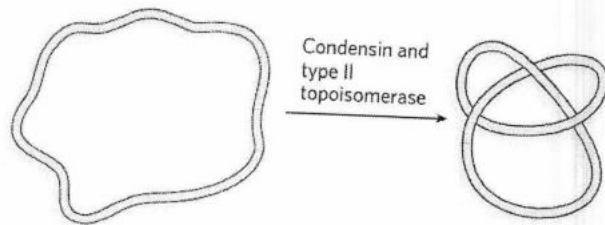
а) Белковый комплекс связывается, оборачивая ДНК вокруг себя, образуя соленоидальную суперспираль.

б) Одна цепь ДНК разорвана.

в) к раствору ДНК добавляют ДНК-гиразу и АТФ.

г) двойная спираль денатурируется под действием тепла.

Задание 12. В присутствии эукариотического конденсина и топоизомеразы II типа Lk релаксированной замкнутой молекулы ДНК не изменяется. Однако ДНК становится сильно запутанной, как показано в следующем столбце. Образование узлов требует разрыва ДНК, прохождения сегмента ДНК через разрыв и повторного лигирования топоизомеразой. Учитывая, что каждая реакция топоизомеразы должна приводить к изменению числа зацеплений, как Lk может оставаться прежним?



Задание 13. Чем эпигенетическое наследование отличается от менделевского?

Задание 14. В ходе репликации нуклеосомы частично смещаются и распределяются по дочерним цепям ДНК. Добавляются новые гистоновые субъединицы, чтобы довести весь набор нуклеосом до необходимого уровня. Нуклеосомы на реплицируемой ДНК могут иметь модифицированные гистоновые субъединицы, но новые гистоны, которые появляются после репликации, лишены модификаций (по крайней мере временно). Какое из следующих утверждений описывает, как модифицированные и немодифицированные субъединицы гистонов распределяются в нуклеосомах после репликации?

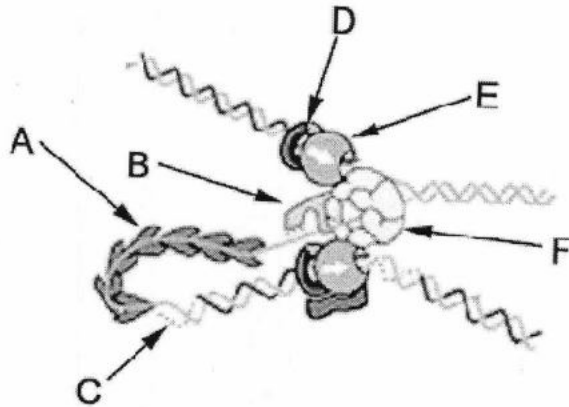
- (а) Модифицированные и немодифицированные гистоны случайным образом собираются в нуклеосомы.
- (б) Модифицированные субъединицы гистонов остаются вместе в нуклеосомах, отдельно от немодифицированных нуклеосом.
- (с) Модифицированные пары Н3-Н4 остаются вместе, а модифицированные пары Н2А-Н2В остаются вместе, и нуклеосомы собираются с модифицированными и немодифицированными парами Н3-Н4 и Н2А-Н2В. Различные комбинации возникают случайным образом на каждой дочерней молекуле ДНК.
- (г) Модифицированные нуклеосомы сегрегированы в одну дочернюю хромосому, а полностью немодифицированные нуклеосомы сегрегированы в другую дочернюю хромосому.

Задание 15. Геном человека содержит около $3,1 \cdot 10^9$ п.н. ДНК. Если предположить, что ДНК покрыта нуклеосомами, расположенными так, как описано, сколько молекул гистона Н2А присутствует в одной соматической клетке человека? (Не принимайте во внимание какое-либо уменьшение Н2А из-за его замены вариантами Н2А.) Как изменится число после репликации ДНК, но до деления клетки?

Задание 16. Эксперименты Роджера Корнберга по перекрестному сшиванию гистонов определили гетеротетрамер Н3-Н4 как нуклеосомную субструктуру. Предположим, что нуклеосомы на самом деле содержат две субъединицы Н3, но только одну субъединицу Н4, образуя стабильный гетеротример Н3-Н3-Н4. Как изменились бы результаты перекрестного связывания?

Раздел 5. «Репликация ДНК»

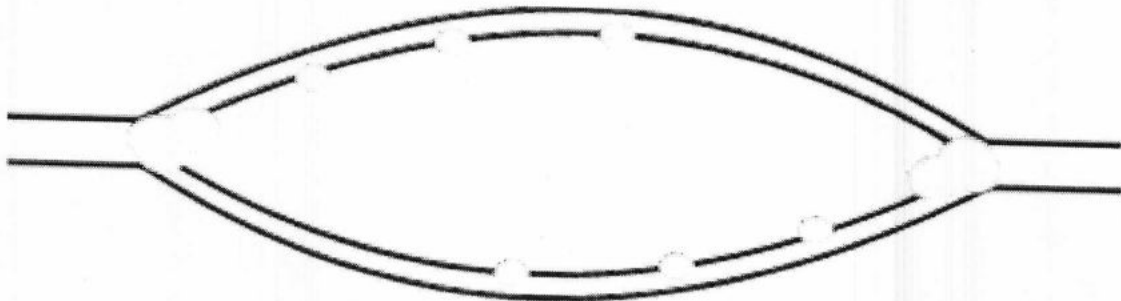
Задание 1. Назовите различные белки и компоненты комплекса репликации ДНК, показанные на этой диаграмме. Определите функцию каждого из них.



Задание 2. Обозначьте порядок функционирования перечисленных ферментов в ходе репликации ДНК

- _____ РНК-праймаза;
- _____ ДНК-лигаза;
- _____ ДНК-полимераза;
- _____ ДНК-хеликаза;
- _____ Иницирующие белки;
- _____ РНК-рибонуклеаза;

Задание 3. На данном изображении:



Обозначьте стрелками концы вновь синтезированных нитей ДНК, чтобы указать направление синтеза ДНК. Обозначьте место нахождения ориджина репликации. На исходных цепях обозначьте 3' и 5' концы. Пронумеруйте фрагменты Оказаки для отстающей цепи в порядке их синтеза, начиная с 1. Обозначьте лидирующую цепь.

Задание 4. Заполнить пропуски:

1. Фермент, ответственный за синтез ДНК при репликации называется _____.
2. Активный участок молекулы ДНК, участвующий в репликации, представляет собой Y-образную структуру и называется _____.

3. Фермент, который сшивает ДНК разрывы во время синтеза или репарации называется _____.
4. Та дочерняя цепь ДНК, которая синтезируется непрерывно называется _____, а та цепь, которая синтезируется с перерывами называется _____.
5. Для ДНК-полимеразы в отличие от РНК полимеразы совершенно необходим свободный 3'-ОН-конец _____, спаренной с расплетенной ДНК, чтобы присоединять к нему новые нуклеотиды
6. Если ДНК полимеразы ошибочно присоединит неправильный нуклеотид к 3'-концу, ее отдельный Каталитический домен, обладающий (3'→5') _____ активностью, удалит неподходящее основание.
7. Для инициации синтеза ДНК на отстающей цепи нужны короткие праймеры, возникающие благодаря работе фермента _____, который в качестве субстрата использует рибонуклеозидтрифосфаты.
8. Расплетение двойной спирали ДНК в зоне репликативной вилки катализируется _____, использующей для направленного движения по ДНК энергию гидролиза АТФ.

Задание 5. Отметить верные и неверные утверждения

1. ssDNA binding protein присоединяется после того, как ДНК-геликаза разделяет двойную спираль;
2. Формирование ведущей цепи не требует праймеров;
3. ДНК-лигаза - это фермент, который соединяет фрагменты Оказяки;
4. Репликация ДНК всегда начинается с синтеза РНК-праймера;
5. РНК-праймеры удаляются и заменяются на ДНК до того, как ДНК-лигаза соединяет вновь синтезированные участки ДНК;

Задание 6. Что понимают под полуконсервативной репликацией? Чем этот механизм отличается от консервативной или дисперсионной моделей репликации?

Задание 7. Что такое фрагменты Оказяки?

Задание 8. Что является нуклеофилом в реакции, катализируемой ДНК-полимеразой? Каково значение его точки зрения инициации синтеза ДНК?

Задание 9. Какие первичные репликативные полимеразы существуют в прокариотических и эукариотических клетках?

Задание 10. Опишите типичные основные элементы вилки репликации.

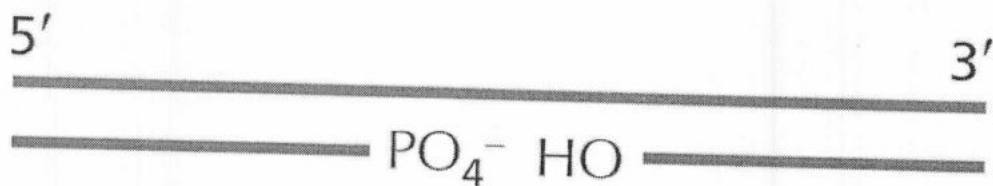
Задание 11. Что уникального в структуре теломеразы позволяет ей удлинять концы хромосом?

Задание 12. Как отразится отсутствие Mg^{2+} на активности ДНК-полимеразы?

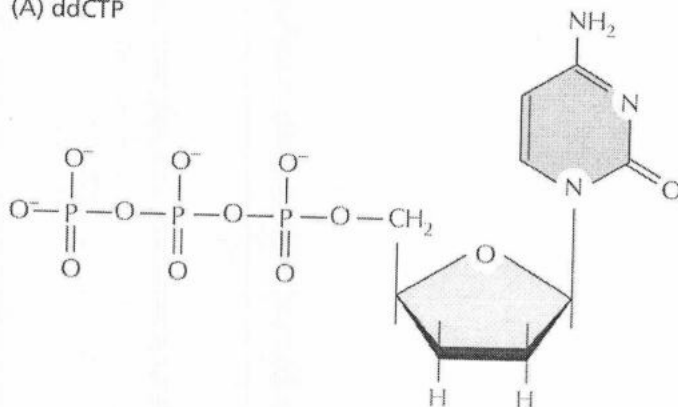
Задание 13. Отметьте верные или неверные утверждения

- А. При чтении в том же направлении ($5' \rightarrow 3'$) последовательность нуклеотидов во вновь синтезированной цепи ДНК такая же, как в родительской цепи, используемой в качестве матрицы для ее синтеза.
- В. Каждый раз, когда геном реплицируется, половина вновь синтезированной ДНК сшивается из фрагментов Оказаки.
- С. Топоизомераза I не требует АТФ для разрыва и повторного присоединения цепей ДНК, поскольку энергия фосфодиэфирной связи временно сохраняется в фосфотиозиновой связи в активном сайте фермента.

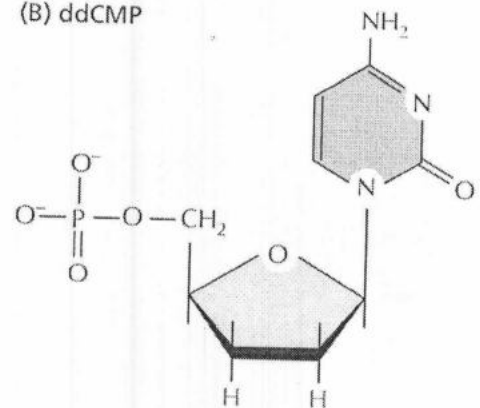
Задание 14. Обозначить ориентацию нижней нити



(A) ddCTP



(B) ddCMP



- А. Что было бы, если к реакции репликации ДНК добавляли дидезоксицитидин трифосфат (ddCTP) в избытке по сравнению с дезоксицитидин трифосфата (dCTP)? Будут ли эти нуклеотиды включены в ДНК? Если да, к чему бы это привело? Приведите свои аргументы.
- В. Что могло бы произойти при использовании ddCTP на 10% от концентрации dCTP?
- С. Какие эффекты ожидаемы, если дидезоксицитидинмонофосфат (ddCMP) будет добавлен к реакции репликации ДНК в большом избытке или в 10% от концентрации dCTP?

Задание 15. Как, по вашему мнению, потеря $3' \rightarrow 5'$ -корректирующей экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы в *E. coli* повлияет на точность синтеза ДНК? Как это повлияет на скорость синтеза ДНК? Объясните свои рассуждения.

Задание 16. Белки SSB связываются с одноцепочечной ДНК на репликационной вилке и предотвращают образование коротких шпилечных спиралей

(hairpin helices) или просто шпилек, которые в противном случае препятствовали бы синтезу ДНК. Какие виды последовательностей в одноцепочечной ДНК могут образовывать шпильки? Напишите пример последовательности, которая может образовать шпильку из пяти нуклеотидов, и изобразите эту шпильку.

Задание 17. Условные летальные мутации оказались незаменимыми при генетическом и биохимическом анализе сложных процессов, таких как репликация ДНК. Чувствительные к температуре (t_s) мутации, которые являются одной из форм условно-летальной мутации, позволяют клеткам расти при одной температуре (например, 30°C), но не при более высокой температуре (например, 42°C). Большое количество чувствительных к температуре репликационных мутантов было выделено у *E. coli*. Эти мутантные бактерии дефектны в репликации ДНК при 42°C , но не при 30°C . Если температура среды повышается с 30°C до 42°C , эти мутанты прекращают производить ДНК одним из двух характерных способов. Мутанты с «быстрой остановкой» немедленно останавливают синтез ДНК, тогда как мутанты с «медленной остановкой» останавливают синтез ДНК только через много минут.

А. Предскажите, какой из следующих белков, если он чувствителен к температуре, будет демонстрировать фенотип с быстрой остановкой, а какой - с фенотипом с медленной остановкой. В каждом случае объясните свой прогноз.

1. ДНК топоизомеразы I
2. Белок инициатора репликации
3. Одноцепочечный ДНК-связывающий белок
4. ДНК-геликаза
5. ДНК примаза
6. ДНК-лигаза

В. Бесклеточные экстракты мутантов демонстрируют, по существу, те же паттерны репликации, что и интактные клетки. Экстракты из мутантов с быстрой остановкой немедленно останавливают синтез ДНК при 42°C , тогда как экстракты из мутантов с медленной остановкой не останавливают синтез ДНК в течение нескольких минут после сдвига до 42°C . Предположим, что экстракты из чувствительного к температуре мутанта ДНК-геликазы и чувствительного к температуре мутанта ДНК-лигазы смешивали вместе при 42°C .

С. Будете ли вы ожидать, что смесь будет демонстрировать фенотип с быстрой остановкой, фенотип с медленной остановкой или не мутантный фенотип?

Раздел 6. «Репарация и рекомбинация ДНК. Мутации»

Задание 1. Если окислительное повреждение происходит самопроизвольно в одноцепочечном фрагменте ДНК, сгенерированном на отстающей цепи во время репликации, оно не может быть легко восстановлено путем эксцизионной репарации нуклеотидов или эксцизионной репарации основания. Объясните, почему.

Задание 2. В клетке *E. coli* ДНК-полимераза III допускает редкую ошибку и вставляет G напротив остатка A в положении на расстоянии 850 п.н. от ближайшей последовательности GATC. Несоответствие точно устраняется системой mismatch репарации. Сколько фосфодиэфирных связей, полученных из дезоксирибонуклеотидов (dNTP), затрачено в этом процессе восстановления? АТФ также используются в этом процессе. Какие ферменты потребляют АТФ?

Задание 3. Многие бактерии, в том числе кишечная палочка, способны расти как в анаэробных, так и в аэробных условиях. Некоторые мутации, которые инактивирует несколько ферментов, участвующих в репарации ДНК, вводятся в штамм *E. coli*. Штамм -мутант растет нормально, если его содержать в инкубаторе с атмосферой 100% газообразного азота. Однако штамм умирает при воздействии нормальной лабораторной атмосферы. Почему?

Задание 4. Обнаружен ген, который имеет последовательность из 11 смежных остатков A в одной цепи. Мутации происходят с повышенной частотой в этом гене, в основном в области с повторяющимися остатками A. Большинство из этих мутаций приводят к инактивации кодируемого белка, при этом многие аминокислоты либо отсутствуют, либо изменяются. Какой тип мутаций объясняет эти наблюдения и как они могут происходить?

Задание 5. В эксперименте с использованием ауксотрофов по гистидину *S. typhimurium* клетки выращивают на тонком слое агара с питательной средой, в которой отсутствует гистидин. Культура (~ 10⁹ клеток) дает ~ 13 колоний в течение двухдневного периода инкубации при 37 ° C. Как эти колонии возникли в отсутствие гистидина? Когда эксперимент повторяется в присутствии 0,4 г 2-аминоантрацена, количество колоний, образованных в течение двух дней, превышает 10000. Что это говорит о 2-аминоантрацене?

Задание 6. Назовите три наиболее распространенных способа поражения ДНК. Что должно произойти после этих повреждений ДНК, чтобы возникла мутация?

Задание 7. Атомы, участвующие в спаривании оснований тимина, не задействованы напрямую в циклобутановом кольце димера пиримидина, образованного при воздействии ультрафиолетового излучения. Почему пиримидиновый димер блокирует репликационную ДНК-полимеразу?

Задание 8. Генетики часто используют метилметансульфонат (ММС), чтобы вызвать мутации у дрозофилы. Почему ММС является наиболее предпочтительным мутагеном для генетических исследований? Каковы будут последст-

вия использования ММС у штамма дрозофилы, у которого отсутствуют функциональные системы восстановления несоответствующих пар (mismatch)?

Задание 9. Сравните различные типы известных механизмов репарации ДНК, направленных на противодействие эффектам ультрафиолетового излучения. Какова роль видимого света в восстановлении вызванных ультрафиолетом мутаций?

Задание 10. Значительное количество мутаций в гене HBB, вызывающих бета-талассемию человека встречается в интронах или в восходящих некодирующих последовательностях. Объясните, почему мутации в этих областях часто приводят к тяжелым заболеваниям, хотя они не могут напрямую изменять кодирующие области гена.

Задание 11. Почему рентгеновские лучи являются более сильными мутагенами, чем УФ-излучение?

Задание 12. Акридиновые красители вызывают мутации сдвига рамки. Почему мутации со сдвигом рамки могут быть более пагубными, чем точечные мутации, в которых замещен один пиримидин или пурин?

Задание 13. Сопоставьте и сравните мутагенные эффекты дезаминирующих агентов, алкилирующих агентов и аналогов оснований.

Задание 14. Опишите таутомерный сдвиг и как он может привести к мутации?

Задание 15. Почему случайная мутация скорее пагубна, чем полезна?

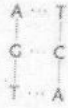
Задание 16. Почему мутации в соматических клетках многоклеточного организма не могут быть обнаружены?

Задание 17. Важность мутаций в генетических исследованиях

Задание 18. Маммография - это точный метод скрининга для раннего выявления рака молочной железы у людей. Поскольку этот метод использует рентгеновские лучи для диагностики, он был весьма спорным. Вы можете объяснить, почему? Какие причины оправдывают использование рентгеновских лучей для скрининга?

Задание 19. Большинство мутаций в диплоидном организме являются рецессивными, почему?

Задание 20. Аналог основания 2-аминопуринов (2-AP) заменяет аденин (A) в ходе репликации и может образовать комплементарные пары с цитозином. Аналог основания 5-бромурацил (5-BU) заменяет тимидин (T) и может образовывать пары с гуанином. На рисунке изображен участок двойной спирали, состоящий из трех нуклеотидов. Проведите 3 раунда репликации, исходя из того, что при проведении первого раунда произошли соответствующие замены везде, где это возможно. Второй и третий раунд репликации проходят без таких замен. Какие последовательности в итоге будут получены?



Задание 21. Редкая доминантная мутация, проявляющаяся при рождении, была изучена на человеке. Было выяснено, что на 40000 новорожденных приходится 6 случаев данной мутации. История изучения семей показала, что в двух случаях мутация присутствовала у одного из родителей. Рассчитайте спонтанную скорость данной мутации. Какие основные предположения могут оказать влияние на ваши выводы?

Задание 22. Рассмотрим следующие оценки:

- (а) На этой планете живет $7 \cdot 10^9$ человек.
- (б) Каждый человек имеет около 30000 ($0,3 \cdot 10^5$) генов.
- с) Средняя частота мутаций в каждом локусе составляет 10^{-5} .

Сколько спонтанных мутаций в настоящее время присутствует в человеческой популяции? Предполагая, что эти мутации равномерно распределены среди всех генов, сколько новых мутаций возникло в каждом гене в популяции людей?

Задание 23. В бактериальной культуре, в которой все клетки не способны синтезировать лейцин (лей-), добавляют мощный мутаген, и клеткам разрешают пройти один цикл репликации. В этот момент отбираются пробы, делаются серии разведений, и клетки высеваются либо на минимальную среду, либо на минимальную среду, содержащую лейцин. Первое условие культивирования (минимальная среда) позволяет выращивать только лей + клетки, а второе условие культивирования (минимальная среда с добавлением лейцина) позволяет рост всех клеток. Результаты эксперимента следующие:

Culture Condition	Dilution	Colonies
Minimal medium	10^{-1}	18
Minimal medium + leucine	10^{-7}	6

Какова скорость мутаций в локусе, ассоциированном с биосинтезом лейцина?

Задание 24. Противораковое лекарственное средство мелфалан является алкилирующим агентом семейства горчичных газов. Он действует двумя способами: вызывая алкилирование оснований гуанина и путем сшивания нитей ДНК вместе. Опишите два способа, которыми мелфалан может убивать раковые клетки. Какими двумя способами раковые клетки могут восстанавливать повреждающие ДНК эффекты мелфалана?

Задание 25. Бензо [а] пирен, вызывает рак, содержится в сигаретном дыме и является мощным мутагеном. Бензо [а] пирен сам по себе относительно безвре-

ден, но он метаболизируется в печени с образованием активных молекул, образующих аддукты с ДНК. В эксперименте бензо [а] пирен инкубируют со смесью ферментов печени с образованием его генотоксичных метаболитов. Эти метаболиты добавляли к клеткам *E.coli*, которые имеют мутацию в гене, кодирующем фермент серин-синтезирующего пути (т.е. клетки представляют собой ауксотрофы по серину, требующие серина для роста). Когда обработанные клетки выращивали на серинсодержащей среде, результаты показывают, что метаболиты бензо [а] пирена убивают клетки в зависимости от дозы. Когда обработанные и необработанные серин-ауксотрофные клетки высевают отдельно на не содержащие серин среды, клетки, обработанные метаболитами бензо [а] пирена, показывают увеличение выживших в 10-100 раз по сравнению с необработанными клетками. Объясните эти результаты.

Задание 26. Для нуклеотидной последовательности AAC (Об-meG) TGCAC с поврежденным (метилованным) G-остатком, какой будет последовательность каждой цепи двухцепочечной ДНК в следующих ситуациях?

(а) Репликация происходит до репарации.

(б) ДНК подвергается действию гликозилазы, а затем восстановлению, но только после того, как репликация произошла.

(с) Происходит два раунда репликации с последующим восстановлением.

Задание 27. Если в геноме яйцеклетки человека происходит одна спонтанная мутация, и эта мутация заменяет А на Т. Предположите, какие эффекты может оказывать эта мутация на фенотип потомства, которое развивается из этого мутировавшего яйца?

Задание 28. Промежуточные структуры Холлидея связаны как с гомологичной генетической рекомбинацией, так и с некоторыми сайт-специфичными системами рекомбинации. Чем отличается их образование в двух типах реакций?

Задание 29. Сравните и сопоставьте требования к последовательности ДНК для гомологичной генетической рекомбинации, сайт-специфической рекомбинации и транспозиции.

Задание 30. Изобразите продукты сайт-специфических реакций рекомбинации, опосредованных Cre-lox, для сайтов-мишеней рекомбинации и ориентаций, указанных стрелками на рисунках ниже.



Задание 31. Болезнь человека, известная как пигментная ксеродермия (ХР), возникает в результате мутаций по крайней мере в семи различных генах. Возникающие в результате дефекты, как правило, связаны с ферментами, участвующими в какой-то части пути эксцизионной репарации нуклеотидов. Различные типы ХР обозначаются буквами от А до G (ХРА, ХРВ и т. д.), а несколько

дополнительных вариантов объединены под маркировкой XR-V. Культуры фибробластов здоровых людей и больных XPG облучают УФ-светом. ДНК выделяют и денатурируют, а полученную одноцепочечную ДНК исследуют с помощью аналитического ультрацентрифугирования.

(а) Образцы из нормальных фибробластов показывают значительное снижение средней молекулярной массы одноцепочечной ДНК после облучения, но образцы из фибробластов XPG не показывают такого снижения. Почему это может быть?

(б) Если вы предполагаете, что система NER работает в фибробластах, какой этап может быть дефектным в клетках пациентов с XPG? Объяснить.

Задание 32. Что общего между эксцизионной репарацией оснований (BER) и эксцизионной репарацией нуклеотидов (NER)? Чем они отличаются?

Задание 33. Многие эукариоты имеют ДНК-гликозилазу, которая специфически удаляет Т-остатки из ДНК, но только тогда, когда они в паре с G. Нет сопоставимого фермента, который удаляет G-остатки из G-T-несоответствий. Почему для клетки полезно всегда восстанавливать несоответствие G – Т до G-С, а не до А-Т?

Задание 34. Решите, является ли каждое из этих утверждений истинным или ложным, а затем объясните, почему.

(а) механизмов репарации ДНК зависят от существования двух копий генетической информации, по одной в каждой из двух гомологичных хромосом.

(б) Спонтанная депуринация и удаление дезаминированного С с помощью урацил-ДНК-гликозилазы оставляют идентичные субстраты, которые распознаются AP-эндонуклеазой.

(в) Только начальные этапы репарации ДНК катализируются ферментами, уникальными для процесса репарации; последующие этапы обычно катализируются ферментами, которые играют более общую роль в метаболизме ДНК.

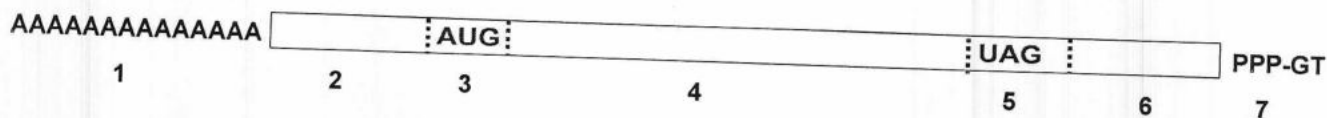
Задание 35. Если сравнить частоту шестнадцати возможных динуклеотидных последовательностей в геномах *E. coli* и человека, то существенных различий нет, за исключением одного динуклеотида, 5'-CG-3'. Частота CG-динуклеотидов в геноме человека значительно ниже, чем в *E. coli*, и значительно ниже, чем ожидалось, случайно. Как вы думаете, почему CG-динуклеотиды недостаточно представлены в геноме человека?

Раздел 7. «Транскрипция, процессинг трансляция»

Задание 1. Основываясь на результатах секвенирования ДНК для проекта генома человека, количество промоторов предполагает, что в человеческом геноме насчитывается около 25 000 генов. Однако количество различных типов белков может быть намного больше. Почему?

Задание 2. Интроны - это «мусорная» ДНК, которая загромождает геном вида. Укажите по крайней мере две причины, почему это утверждение неверно?

Задание 3. На рисунке изображена схема молекулы мРНК, на которой обозначены различные участки.



Что не так с этой схемой? Внесите корректировки. На правильной схеме обозначьте участок (участки), который (которые) является (являются): кодирующими, некодирующими, 3'-конец, 5'-конец, стартовый кодон, стоп-кодон, сайт связывания с рибосомой. Данная схема отражает строение прокариотической или эукариотической мРНК? Объясните почему.

Задание 4. Отметить верные и неверные утверждения:

1. Каждая из трех возможных рамок считывания мРНК может давать различные, но функциональные белки.
2. Транскрипция прекращается, когда РНК-полимераза встречает поли-U-последовательность.
3. Трансляция заканчивается тогда, когда фактор освобождения белка связывается со стоп-кодоном.
4. Инициация транскрипции у прокариот связана со связыванием сигма-фактора с промотором.
5. Только рРНК являются полиаденилированными.
6. Поскольку гены могут быть закодированы на обеих нитях двойной спирали ДНК, кодирующие области разных генов могут перекрываться.
7. Промотор расположен ниже по потоку от кодирующей области гена.
8. Для прокариот не характерен процессинг.
9. Общие факторы транскрипции - это белки, которые регулируют активность эукариотической РНК-полимеразы.
10. Рибозимы являются примитивными формами молекул РНК, которые больше не существуют в клетках.

Задание 5. Последовательность консенсусной области -10 - ТАТААТ. Если два гена, *tesA* и *tesB*, имеют идентичные промоторные последовательности, за исключением области -10, где последовательность *tesA* представляет собой ТААТАТ, а последовательность *tesB* - ТГТЦГА, какой ген будет более эффективно транскрибировать и почему?

Задание 6. Данный фрагмент ДНК является началом прокариотического гена. Стрелкой обозначена точка начала транскрипции. Определите ТАТА-боксы. Укажите стартовый кодон. Определите матричную цепь.

5' CCAGGTATAATGCTCCAGTATCGCATGGTACTTCCGG 3'

3' GGTCCATATTACGAGGTCATAGCGTACCATGAAGGCC 5'

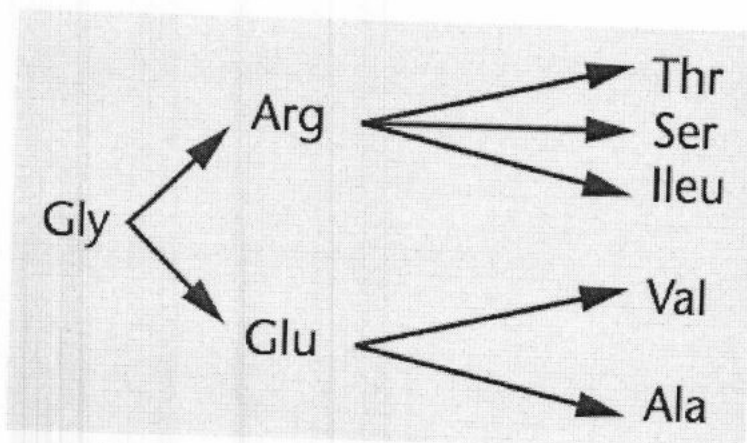
Задание 7. Назовите три основных этапа и укажите их относительные скорости в транскрипции типичного бактериального гена.

Задание 8. Как исследователь может обнаружить промоторы Pol II в последовательности ДНК всего организма? Можно ли найти всех таких промоутеров при помощи вычислительных методов?

Задание 9. Ген А кодирует белок А. Генный инженер вырезает промоторную последовательность для гена А из ДНК и вставляет ее на другом конце гена А, ориентированной так, что связывание РНК-полимеразы с промотором будет транскрибироваться через ген А. мРНК, синтезируемая РНК-полимеразой, все еще обладает последовательностью, которая продуцирует функциональный белок А? Почему да или почему нет?

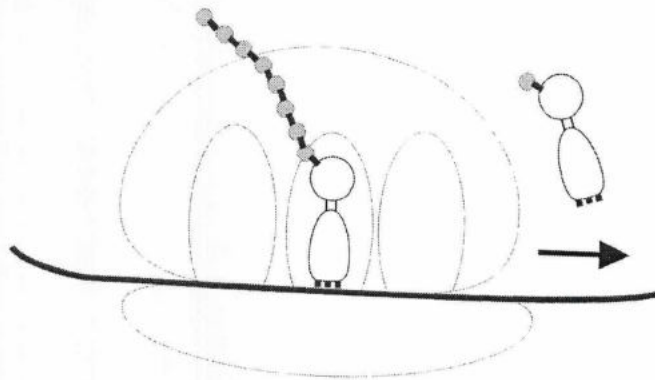
Задание 10. У бактерий есть много примеров того, как два (или даже больше) гена транскрибируются с одного промотора - например, за промотором следует ген А, а затем ген В, причем оба гена транскрибируются в одну мРНК. В некоторых случаях первый ген в линейной последовательности транскрибируется на гораздо более высоких уровнях, чем второй ген (то есть многие, но не все мРНК, не включают ген В). Какие последовательности ДНК могут присутствовать между первым и вторым генами, чтобы объяснить более низкий уровень транскрипции гена В?

Задание 11. В исследовании последовательности аминокислот триптофансинтазы кишечной палочки дикого и мутантного типа были обнаружены следующие изменения:



Определите последовательность триплетов, в которых замена только одного нуклеотида могла привести к каждой из аминокислотных замен

Задание 12. На рисунке обозначьте три сайта связывания тРНК, кодон и антикодон, белок и мРНК. Перечислите последовательность событий, которые произойдут, когда входящая тРНК будет находиться в сайте связывания.



Задание 13. Заполнить пропуски:

1. В рибосоме формирование пептидных связей новой полипептидной цепочки происходит в _____ субъединице, тогда как сопоставление кодонов мРНК происходит на поверхности _____ субъединицы.
2. При трансляции в ходе удлинения полипептидной цепочки, каждая входящая аминоацил-тРНК связывается с _____-сайтом рибосомы, а растущая пептидная цепь удерживается на тРНК в _____-сайте.
3. О конце трансляции сигнализирует _____-кодон, который связывает белок под названием _____.
4. В бактериальных клетках белок, называемый _____ ассоциированный с РНК-полимеразой в основном ответственен за связывание с промотором.
5. Кодон метионина - _____, антикодон метионина - _____ и ДНК код - _____.

Задание 14. Разместите следующие события в правильной последовательности:

- _____ Трансляция
- _____ Транскрипция
- _____ Полиаденилирование
- _____ Присоединение кэпа
- _____ Процессинг РНК
- _____ Экспорт из ядра

Раздел 8. «Регуляция экспрессии генов»

Задание 1. Бактериальные клетки могут получать аминокислоту триптофан из окружающей среды, а при недостатке триптофана в среде синтезировать его самостоятельно. Тгр-репрессор – регулятор транскрипции, который включает транскрипцию генов, ответственных за производство ферментов, необходимых для синтеза триптофана. Что случится с регуляцией триптофанового оперона в клетках, экспрессирующих мутантный Тгр-репрессор, который: 1)

Не может связываться с ДНК; 2) Не может связывать триптофан; 3) связывается с ДНК даже в отсутствие триптофана? Что произойдет в этих случаях, если клетки, кроме того, экспрессируют нормальный Trp-репрессор со второго нормального гена?

Задание 2. Объясните, почему ДНК-связывающие белки могут специфически связываться с определенной нуклеотидной последовательностью в двуцепочечной молекуле ДНК, не разрушая водородные связи. Укажите, как белки могут отличать А-Т пары от G-C пар. Ответ дайте в виде схемы и укажите, какие типы связей – водородные, электростатические или гидрофобные - образуются.

Задание 3. Исследователь создает оперон lac на плазмиде, но инактивирует все части оператора Lac (lacO) и промотора Lac, заменяя их сайтом связывания репрессора LexA (который действует в SOS-ответе) и промотор регулируется LexA. Плазмиду вводят в клетки *E. coli*, имеющие оперон lac с неактивным геном lacZ. При каких условиях эти трансформированные клетки будут продуцировать β -галактозидазу?

Задание 4. Опишите возможные эффекты на экспрессию генов lac мутаций, которые (а) перемещают оператор Lac на другую сторону оперона, (б) инактивируют сайт связывания СРБ и (в) изменяют последовательность промотора вокруг положения -10.

Задание 5. В опероне ara белок AraC может действовать либо как активатор, либо как репрессор. Если AraC остается связанным с ДНК в отсутствие арабинозы, почему этот белок не всегда действует как активатор?

Задание 6. Клетки *E. coli* растут в среде с глюкозой в качестве единственного источника углерода. Внезапно добавляют триптофан. Клетки продолжают расти и делятся каждые 30 минут. Опишите (качественно), как уровни триптофансинтазы (фермента, продуцируемого опероном trp) изменяются со временем при следующих условиях:

(а) мРНК trp стабильна (деградирует медленно в течение многих часов).

(б) мРНК trp быстро разрушается, но триптофансинтаза стабильна.

(с) мРНК trp и триптофансинтаза быстро разрушаются.

Задание 7. Как могут повлиять на SOS-ответ у *E. coli* мутации в гене lexA, которые (а) предотвращают автокаталитическое расщепление белка LexA или (б) ослабляют взаимодействие LexA с его нормальным сайтом связывания?

Задание 8. Клетки *E. coli* растут в среде, содержащей лактозу, но не глюкозу. Укажите, будут ли каждое из следующих изменений или условий увеличивать, уменьшать или не изменять экспрессию lac оперона. Может быть полезно нарисовать модель, изображающую то, что происходит в каждой ситуации.

(а) Добавление высокой концентрации глюкозы

(б) Мутация, которая предотвращает связывание репрессора Lac с

оператор

(с) Мутация, которая полностью инактивирует λ -галактозидазу

(d) Мутация, которая полностью инактивирует галактозид проникать

Задание 9. Как повлияют на транскрипцию оперона *trp* *E. coli* следующие манипуляции с лидерной областью мРНК *trp*?

(a) Увеличение расстояния (количества оснований) между геном лидерного пептида и последовательностью 2

(b) Увеличение расстояния между последовательностями 2 и 3

(c) Удаление последовательности 4

(d) Замена двух кодонов *Trp* в гене лидерного пептида на кодоны *His*

(e) Устранение сайта связывания рибосомы для гена который кодирует лидерный пептид

(f) Замена нескольких нуклеотидов в последовательности 3 так, что она может образовывать пару оснований с последовательностью 4, но не с последовательностью 2.

Задание 10. У эукариот большинство генов в норме выключены, а РНК-полимеразы не функционируют без активации. У бактерий РНК-полимераза может транскрибировать почти любой ген в отсутствие связанных ингибиторов. Предложите несколько причин такого различия между бактериями и эукариотами.

Задание 11. Регуляторные белки у эукариот связываются с последовательностями ДНК примерно той же длины, что и бактериальные регуляторные белки. Однако геномы эукариот обычно на несколько порядков больше, чем у бактерий. Какое влияние это оказывает на стратегию эукариот по регуляции конкретного гена?

Задание 12. Для оптимальной активации транскрипции генов *GAL* у дрожжей необходима функция белков *Gal4* и *Gal11* (*Gal4p* и *Gal11p*). Устранение любого белка снижает активацию промоторов *GAL*. Однако инактивация *Gal11p* имеет дополнительный и драматический эффект клеточной летальности. Предположите, почему устранение *Gal11p* может иметь больший эффект, чем устранение *Gal4p*.

Задание 13. Каково состояние фосфорилирования дрожжевого белка *Mig1*, когда: а) отсутствуют глюкоза и галактоза; б) присутствует галактоза и отсутствует глюкоза; в) присутствует глюкоза и отсутствует галактоза; и (d) присутствуют как глюкоза, так и галактоза?

Критерии оценки:

– оценка «отлично» выставляется аспиранту, если он ответил на 81 и более % вопросов;

- оценка «хорошо» выставляется аспиранту, если он ответил на 71-80% вопросов;
- оценка «удовлетворительно» выставляется аспиранту, если он ответил на 55-70% вопросов;
- оценка «неудовлетворительно» выставляется аспиранту, если он ответил на 54 и менее% вопросов.

.....
 - Примерный перечень вопросов к кандидатскому экзамену представлен в Программе кандидатского экзамена, принятой на Ученом совете института и утвержденной профильным проректором.

- Методические материалы, определяющие процедуру оценивания результатов обучения.

Критерии оценивания ответа аспиранта

Таблица 6 – Критерии оценивания ответа аспиранта в ходе кандидатского экзамена

Оценка	Критерий
«ОТЛИЧНО»	оценка «отлично» выставляется аспиранту, если был дан блестящий ответ с незначительными недочётами
«ХОРОШО»	оценка «хорошо» выставляется аспиранту, если в целом была проведена серьезная подготовка, но с рядом замечаний
«УДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНО»	оценка «удовлетворительно» выставляется аспиранту, если ответ был неплохой, однако имеются серьезные недочёты при подготовке ответов на вопрос
«НЕУДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНО»	оценка «неудовлетворительно» выставляется аспиранту, если не было ответа на поставленный вопрос

Формы промежуточной аттестации по дисциплине: кандидатский экзамен.

10. Ресурсное обеспечение:

10.1 Перечень основной литературы

1. Калашникова, Е.А. Основы биотехнологии / Е.А. Калашникова, М.Ю. Чередниченко, Р.Н. Киракосян. 2-е изд., испр. и доп. М.: КНОРУС, 2022. 278 с.
2. Баженова, И. А. Основы молекулярной биологии. Теория и практика : учебное пособие / И. А. Баженова, Т. А. Кузнецова. — Санкт-Петербург : Лань, 2018. — 140 с. — ISBN 978-5-8114-2698-0. — Текст : электрон-

ный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/99204>

3. Уилсон, К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии : учебное пособие / К. Уилсон, Д. Уолкер ; под редакцией А. В. Левашова, В. И. Тишкова ; перевод с английского Т. П. Мосоловой, Е. Ю. Бозелек-Решетняк. — 2-е изд. (эл.). — Москва : Лаборатория знаний, 2015. — 855 с. — ISBN 978-5-9963-2877-2. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/66244>

10.2 Перечень дополнительной литературы

1. Льюин Б. Гены. Москва. «Бином. Лаборатория знаний», 2012 г. 893с.
2. Альбертс Б., Брей Д., Хопкин К. Основы молекулярной биологии клетки. Москва. «Бином. Лаборатория знаний», 2015 г. 768 с.
3. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. Т.3. Пути передачи информации. Москва. «Бином. Лаборатория знаний», 2015 г. 448 с
4. Terry Brown. Introduction to genetics. A molecular approach. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, 2012, 532 p.
5. Strachan T., Read A. Human molecular genetics. Garland Science., 2010. 704 p.
6. Snyder L., Champness W., Molecular genetics of bacteria. ASM Press. 2007.
7. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск. «Сибирское университетское издательство. 2007 г. 480 с.
8. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998, Т. 1-2.

10.3 Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

1. <https://stepik.org> (открытый доступ)
2. <https://www.coursera.org> (открытый доступ)
3. <https://openedu.ru/> (открытый доступ)
4. <https://www.youtube.com/user/postnauka> (открытый доступ)
5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (открытый доступ)
6. <http://molbiol.ru> (открытый доступ)
7. <http://biomolecula.ru/> (открытый доступ)
8. <http://elementy.ru/> (открытый доступ)
9. <http://xumuk.ru/> (открытый доступ)
10. <http://fizrast.ru> (открытый доступ)

10.4 Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, ин-

формационные справочные системы

1. <https://www.uniprot.org/> - База данных UniProt (открытый доступ)
2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> - База данных National Center of Biotechnology Information (открытый доступ)

10.5 Описание материально-технической базы.

Для реализации программы подготовки по дисциплине «Молекулярная биология» перечень материально-технического обеспечения включает:

1. аудитории с мультимедийным оборудованием,
2. ламинарные комнаты,
3. световая комната,
4. комната для приготовления питательных сред, проведение пробоподготовки,
5. комната для автоклавирования питательных сред и других предметов для проведения исследований по биотехнологии,
6. цитологическая комната.

Кафедра располагает следующими учебными лабораторными приборами и инструментами: рН-метры, аналитические весы, ламинарные боксы, ПЦР-боксы, термостаты, амплификаторы, камеры для электрофореза и др.

10.5.1 Требования к аудиториям (помещениям, местам) для проведения занятий

Для проведения теоретических занятий по дисциплине «Молекулярная биология» необходимы: аудитории, оснащенные мультимедийными установками и компьютерной техникой, которая должна быть подключена к сети «Интернет» для обеспечения доступа в электронную информационно-образовательную среду университета и других организаций.

10.5.2 Требования к специализированному оборудованию

Проведение занятий осуществляется в аудиториях, оборудованных для проведения лабораторно-практических и научно-исследовательских работ.

11. Методические рекомендации аспирантам по освоению дисциплины

Самостоятельная работа аспирантов над дисциплиной «Молекулярная биология» заключается в систематической работе с учебными пособиями и конспектом лекций, подготовке к семинарам. При решении многоуровневых задач необходимо проработать все предлагаемые задачи. Все сложные вопросы по теории и практике разбираются на семинарских занятиях. Для плохо успевающих аспирантов необходимо организовывать консультации.

12. Методические рекомендации преподавателям по организации обучения по дисциплине

В процессе слушания лекций необходимо для аспирантов создавать резерв времени. Аспиранту надо учиться думать над конспектами уже на лекции и работать над записями ежедневно хотя бы в течение двух часов. Рекомендуется делить конспект на две рубрики: в первую записывать кратко изложение лекции, во вторую – то, над чем надо подумать; сюда нужно заносить узловые, главные вопросы.

1. Аспиранту необходимо ежедневно читать учебную и научную литературу по изучаемой дисциплине и по теме исследований. Читать внимательно и вдумчиво ежедневно 10–15 страниц научной и научно-популярной литературы.

2. Аспиранту необходимо умело найти по главным научным проблемам фундаментальные книги, научные труды, а также первоисточники.

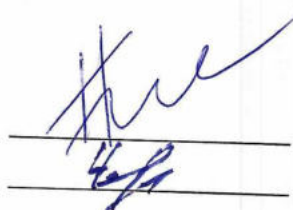
3. Необходимо аспиранту создавать себе внутренние стимулы, которые направлены на достижение поставленной цели. Самое интересное всегда желательно оставлять на конец работы.

Для каждой работы аспиранту необходимо искать наиболее рациональные приёмы умственного труда, избегать трафарета и шаблона. Необходимо находить время на то, чтобы глубоко осмыслить сущность фактов, явлений, закономерностей, с которыми имеете дело. Чем глубже аспирант вдумывается, тем прочнее у него остается в памяти новый материал. Аспирант не должен стараться запомнить – это будет напрасная трата времени.

Авторы рабочей программы:

Поливанова О.Б., к.б.н.

Чередниченко М.Ю., к.б.н., доцент



Two handwritten signatures in blue ink are positioned above two horizontal lines. The top signature is larger and more stylized, while the bottom one is smaller and more compact.