Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»
Биотехнологический факультет

«УТВЕРЖДАЮ»
И.о. декана биотехнологического факультета
МГУ имени М.В.Ломоносова,
академик РАН

_____(А.И. Мирошников)
«___» _____2022 г.

ПРОГРАММА ГОСУДАРСТВЕННОГО ЭКЗАМЕНА

НАПРАВЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ **06.04.01 «БИОЛОГИЯ»**
ИНТЕГРИРОВАННАЯ МАГИСТРАТУРА
ПРОФИЛЬ «ОБЩАЯ И ПРИКЛАДНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»

Москва
2022

Молекулярная генетика прокариот

Молекулярные механизмы репликации. Полуконсервативный механизм редупликации ДНК (опыт Мезельсона и Сталя). Понятие репликона. Репликативная “вилка”. Клеточный цикл, регуляция репликации хромосомы бактерий, инициация синтеза ДНК. "Расплетающие" белки. Структура и порядок образования праймосомы. Понятие реплисомы. Ферменты биосинтеза ДНК. ДНК-полимераза I (фермент Корнберга). Механизм биосинтеза ДНК. Роль матрицы, dNTP, образование комплементарного продукта. Фрагмент Кленова. Мутации в гене ДНК-полимеразы I. ДНК-полимеразы III в репликации. Фрагменты Оказаки. ДНК-лигазы. Точность редупликации ДНК и мутантные ДНК-полимеразы. Типы репликации (модели, предусматривающие образрвание θ-формы и D-петли, модель ”катящегося кольца”). Механизмы репликации плазмид. Группы несовместимости плазмид. Сегрегация хромосом. Особенности репликации ДНК у бактериофагов. Роль ДНК-полимеразы бактериофагов. Современные модели репликации.

Пути обмена генетической информации у микроорганизмов. Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор. Организация ***tra***-оперона. Стадии процесса конъюгации. Молекулярные механизмы трансдукции. Трансдуцирующие фаги. Трансформация. Особенности процесса у разного типа бактерий. Картирование хромосом бактерий с использованием систем конъюгации, трансдукции и трансформации. Методы молекулярно-генетического анализа.

Молекулярные механизмы возникновения мутаций. Классификация мутаций. Мутации, возникающие в процессе репликации ДНК. Индуцированный мутагенез. . Механизм действия физических мутагенов (УФ, радиация). Химический мутагенез (алкилирующие агенты, азотистая кислота, акридиновые красители). Аналоги оснований. Мобильные элементы.

Механизмы репарации ДНК. Репарационные системы. Пострепликативная репарация. Репарация неспаренных оснований. Коррекция неспаренных оснований с участием продуктов генов *mut*H, *mut*S и *mut*L. Световая репарация. Репарация радиационных повреждений у *Deinococcus radiodurans.* Эксцизионная репарация. Ферменты, участвующие в репарации: N-гликозидазы, апуриновая эндонуклеаза, ферменты рекомбинационного комплекса, ДНК-полимераза I, ДНК-лигаза и пр. Механизм работы продуктов генов *uvr* (UvrA,B,C,D). ДНК-полимеразы, участвующие в репарационном процессе (ДНК-полимеразы IV и V). Молекулярный механизм их функционирования, связь с мутационным процессом. Толерантная репарация. SOS - ответ. Гены-мутаторы.

Молекулярные механизмы рекомбинации. Типы генетической рекомбинации. Общая (гомологичная) рекомбинация. Разрыв и воссоединение нитей ДНК. Ассимиляция нитей. Образование гетеродуплексной области. Структуры Холлидея. Генная конверсия. Энзимология процесса рекомбинации. Роль нуклеазы RecB,C. Белок RecA и условия рекомбинации. Функция белков RuvA, B, C. Горячие точки рекомбинации. Схема Дж. Жостака (репарация двунитевого разрыва). Молекулярные механизмы процесса "homing" (возвращение домой). Сайт-специфическая рекомбинация (на модели интеграции хромосомы фага λ). Гены, контролирующие интеграцию и эксцизию. Молекулярные механизмы процесса. Структура интасомы. Сайт-специфическая рекомбинация, приводящая к инверсиям участков хромосомы (на примерах инверсии фрагмента G фага Mu и фазовых вариациях у салмонеллы). Биологическая роль инверсий. Механизм работы инвертаз.

Нестабильность генома. Мобильные генетические элементы микроорганизмов. IS-элементы и транспозоны бактерий. Инфекционные интроны в генах бактериофагов. Молекулярные механизмы транспозиции. Репликативная и нереплекативная транспозиция. Фаг Mu. Регуляция процесса транспозиции. Изменения генома микроорганизмов, вызываемые транспозируемыми элементами. Механизмы регуляции частоты транспозиции на примерах транспозонов Tn*A* и Tn*10*. Горизонтальный перенос генов и его роль в эволюции прокариот.

Системы рестрикции и модификации ДНК. Роль систем рестрикции и модификации ДНК, индуцируемых клеткой-хозяином. Метилирование ДНК фагов и бактерий. Рестрикция неметилированной ДНК. Классификация систем рестрикции - модификации. Ферменты рестрикции и модификации. Генетические и биохимические данные об их структуре. Специфичность рестриктаз и метилаз. Механизм действия. Антирестриктазные механизмы бактериофагов. CRISPR-cas системы «иммунной» защиты бактерий.

Транскрипция и биосинтез РНК. Стадии транскрипции. Структура и функция бактериальной РНК-полимеразы. Сайты инициации транскрипции у бактерий. Структура промоторов. Механизмы узнавания промотора РНК-полимеразой. Системные переключения инициации транскрипции: синтез новых РНК-полимераз (на примере Т7-подобных фагов) и использование альтернативных факторов (на примере спорообразования у Bacillus subtilis). Терминация транскрипции. Механизмы антитерминации. Пост-транскрипционные модификации РНК (сплайсинг, полиаденилирование и редактирование).

Регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции. Классическая схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и репрессия синтеза ферментов на примере лактозного оперона. Катаболитная репрессия как пример позитивной регуляции транскрипции. Явление аттенуации (на модели триптофанового оперона). Организация регуляторной области арабинозного оперона. Принципы работы двухкомпонентных систем. “Строгий” контроль регуляции генной активности при аминокислотном голодании. Особенности регуляции транскрипции у бактериофагов. Регуляция транскрипции ДНК фага λ.

Использование результатов молекулярно-генетических исследований. Использования результатов молекулярно-генетических исследований в решении проблем геносистематики, экологии и биотехнологии микроорганизмов (включая задачи медицинской микробиологии).

Молекулярная генетика эукариот

Парадоксальное строение геномов высших эукариот. C-value парадокс – отсутствие корреляции между свойствами геномов и их таксономическим положением. Кинетика реассоциации эукариотических ДНК. Уникальные и повторяющиеся гены. Мультигенные семейства. Строение мультигенных семейств глобиновых и гистоновых генов и генов рРНК. Механизмы экспрессии генов в мультигенных семействах. Механизмы, обеспечивающие гомогенность мультигенных семейств.

Строение хромосомы.. Уровни организации хроматина. Неактивная ДНК конденсирована в гетерохроматине, активная – в эухроматине.. Метилирование ДНК. Нуклеосомы. Гистоновый код**.**

Транскрипция эукариотической ДНК. Три типа ДНК-зависимых РНК-полимераз. Общие факторы транскрипции. Разнообразие регуляторных зон эукариотических генов. Промоторы, энхансеры, сайленсеры. Регуляция генов за счет регуляторов транскрипции.

Мозаичное строение эукариотических генов и их экспрессия. Экзоны и интроны. Сплайсинг. Малые ядерные РНП-частицы обеспечивают сплайсинг. Сплайсинг рРНК и тРНК. Аутосплайсинг рРНК у простейших. Альтернативный сплайсинг. Многофункциональность интронов. Интроны – как мобильные генетические элементы. Псевдогены. Механизмы их образования. Интеины и сплайсинг белков.

Механизмы РНК редактирования. Типы РНК редактирования. Их функции. Медицинские аспекты РНК редактирования.

Молекулярно-генетические механизмы развития. Гомеотические мутации. Гены, морфогены и рецепторы морфогенов. Метилирование ДНК и наследование дифференцированного состояния. Строение гомеозисных генов. Молекулярные механизмы эмбриогенеза. Nox гены.

Молекулярно-генетические механизмы онкогенеза. Клеточные культуры в изучении канцерогенеза. Белки, регулирующие пролиферацию и дифференцировку. Взаимодействие факторов роста с рецепторами оказываетт плейотропное действие на экспрессию многих генов. Генетические основы рака. Онкогенные вирусы. Онкогенные ретровирусы происходят из клеточных онкогенов. Типы онкогенов.

Мобильные генетические элементы эукариот. Классификация МГЭ. Обратная транскрипция – механизм транспозиции МГЭ. Эволюционная роль МГЭ.

Некодирующме РНК. Их типы. Пост-транскрипционный сайленсинг. РНК интерференция. Некодирущие РНК как онкогены и супрессоры онкогенов. Механизмы инактивации Х-хромосомы.

Трансгенерационная эпигенетическая наследственность: молекулярные механизмы. Механизмы эпигенетического репрограммирование соматических и репродуктивных клеток.. Экзосомы. «Мобильные» РНК. Медицинские аспекты тренсгенерационного репрограммирования и наследования.

Биоинженерия

Выделение и очистка нуклеиновых кислот. Электрофорез. Технология ДНК-микрочипов.

Молекулярное клонирование. Типы векторов для молекулярного клонирования.

Трансформация бактериальной клетки. Основные этапы процесса трансформации. Эффективность трансформации. Получение химически- компетентных клеток и трансформация.

Полимеразная цепная реакция. Амплификация фрагментов ДНК с помощью ПЦР: этапы и режимы циклов при проведении ПЦР, термостабильные ДНК- полимеразы, принципы конструирования праймеров для ПЦР, компоненты реакционной смеси для ПЦР и их влияние на прохождение реакции. Очистка продуктов ПЦР от примесей. Полимеразная цепная реакция в реальном времени: способы генерации репортерной флуоресценции,

конструирование праймеров и проб, выбор гасителя флуоресценции, параметры амплификации, оптимизация эксперимента, параметры оценки качества реакции и некоторые проблемы при проведении ПЦР в реальном времени, обработка данных и нормализация.

Варианты ПЦР-мутагенеза.

Метод SAGE (serial analysis of gene expression).

Вычитающая гибридизация.

Секвенирование генома. Технологии секвенирования первого поколения.: основные принципы секвенирования по Максаму и Гилберту. Секвенирование ДНК по Сенгеру
Современные методы секвенирования Next generation sequencing NGS. Основные принципы работы всех технологий нового поколения.
Современные методы секвенирования: пиросеквенирование, Illumina (секвенирование путем синтеза с обратимой терминацией), SOLID (секвенирование путем лигирования), Ion Torrent (полупроводниковое секвенирование).

Редактирование генома. Этапы в разработке новых методов редактирования генома: от «цинковых пальцев» до CRISPR/ Cas.
Технологии редактирования генома, используемые на практике: индуцированная сайт-специфичной нуклеазой репарация. В качестве нуклеазы - искусственные (гибридные «дизайнерские») нуклеазы с доменами «цинковых пальцев».
Технологии редактирования генома, используемые на практике: индуцированная сайт-специфичной нуклеазой репарация. В качестве нуклеазы - искусственные (гибридные «дизайнерские») нуклеазы с доменами аналогов активаторов транскрипции TALENS.
Технологии редактирования генома, используемые на практике: индуцированная сайт-специфичной нуклеазой репарация. В качестве нуклеазы – природные РНК-направляемые нуклеазы типа CRISPR/Cas. – новая технологическая стратегия геномной инженерии. Система CRISPR/Cas как инструмент редактирования генома.

Молекулярное моделирование

Базы данных в молекулярной биологии. Биологические базы данных и их типы. Первичные и вторичные базы данных. Географическое расположение баз данных и их адреса в сети интернет. Таксономические базы данных. Нуклеотидные базы данных. Геномные базы данных. Базы данных по белкам. Базы данных структур биологических макромолекул. Методологические базы данных.

Мир РНК. Классификация РНК, база данных Rfam. Вторичная структура РНК. Укладка 2D структуры РНК в 3D. Рибозимы. Рибосвитчи.

Работа с последовательностями белков. Понятия гомологии и сходства. Поиск гомологии. Сравнение аминокислотных последовательностей. Матрицы аминокислотных замен и области их применения. Поиск частичной гомологии и множественные выравнивания аминокислотных последовательностей, инструментарий. Вторичные базы данных по белкам. Банк структур PDB. Создание модели белка методом гомологичного моделирования. Сервер и инструментарий SWISS-MODEL. Наложение структур белков.

Работа с научной литературой. Наукометрия. Поиск научной информации в Интернете. Электронные каталоги и библиотеки. Поиск статей по выбранным критериям. Базы данных PUBMED MEDLINE, GOOGLE SCHOLAR, WEB OF SCIENCE, SCOPUS, ELIBRARY. Электронный доступ к публикациям в Интернете.
Основные наукометрические понятия и термины: индекс цитирования статьи, импакт-фактор журнала, индекс Хирша, Использование наукометрических инструментов для оценки статей, журналов, ученых, лабораторий, институтов.

Биоэнергетика

Принципы и законы биоэнергетики. Энергетическое сопряжение биохимических процессов. Соотношение движущих сил и потоков в сопрягающей и сопряженной реакции. Скорость сопряженной реакции. Законы биоэнергетики по В.П. Скулачеву: три закона, протонный и натриевый потенциал. Генерация электрохимического потенциала на мембране. Типы ионных потенциалов. Мембранные потенциалы, диффузионные потенциалы. Количественная биоэнергетика и ее движущие силы.

Преобразование энергии в биосфере. Соотношения для потоков энтропии в деградирующих и эволюционирующих системах. Распределение солнечной энергии на Земле. Трофическая организация биосферы. Зависимость потоков потребляемой энергии от размеров организмов. Взаимодействие и взаимопроникновение процессов макро- и микрометаболизма.

Биоэнергетика метаболизма. Определение и функции метаболизма. Виды метаболических путей. Катаболизм и анаболизм, их взаимосвязь. АТФ, никотинамидадениндинуклеотид, флавинадениндинуклеотид, ацетил-коэнзим А. Биоэнергетика катаболизма глюкозы и глюконеогенеза. Биоэнергетика липидного обмена. Биосинтез аминокислот, нуклеотидов. Обмен белков и аминокислот. Биосинтез нуклеиновых кислот.

Биоэнергетика белкового синтеза. Схема биосинтеза белка. Энергетика цикла элонгации пептидной цепи. Роль гидролиза гуанозинтрифосфата (ГТФ) в процессе элонгации. Трифосфаты как энергетические ресурсы для совершения механической работы. Гидролиз ГТФ и соответствующие конформационные переходы. Важность ассиметричного катализа для функционирования рибосомы.

Транспортные системы мембран. Транспортная функция клеточной мембраны. Простая диффузия и транспорт при участии белков. Активный и пассивный транспорт. Каналы и поры: потенциалзависимые Na- и Ca-каналы, щелевые контакты, ядерные поровые комплексы. Симпорт, антипорт и унипорт. Пермеазы и транслоказы. Натрий-калиевая АТФаза (локализация, структура, реакционный цикл), Ca-АТФаза (локализация, структура, реакционный цикл), регуляция активности АТФаз. Периплазматические транспортные системы, фосфотрансферазы, и вакуолярные Н-АТФазы прокариот. Транспортные (митохондриальные переносчики: АДФ/АТФ-транслоказа, переносчик фосфата, разобщающий белок) системы внутренней мембраны митохондрий: назначение и принципы функционирования. Мембранные системы, сопряженные с поглощением света или с переносом электронов: бактериородопсин, цитохром-оксидаза.

Цепь переноса электронов (дыхательная цепь). Источники электронов для электрон-транспортной цепи. Дыхательная цепь: комплексы, переносчики, аллостерические ингибиторы. Окислительное фосфорилирование: АТФ-синтаза (структура; эксперименты по

изучению принципов перекачки протонов ферментным комплексом), хемиосмотическая теория, механизм создания трансмембранного градиента протонов, общая модель окислительного фосфорилирования. Транспортные (митохондриальные переносчики: АТФ/АДФ-транслоказа, переносчик фосфата, разобщающий белок) и челночные системы внутренней мембраны митохондрий: назначение, механизмы функционирования.

Энергопреобразующие свойства АТФ-синтаз. Регуляция активности АТФ-синтетаз. Транслокация протонов АТФ-синтетазами и пирофосфатазами различных типов. Модель вращающегося молекулярного мотора F1-АТФазы. Эволюция АТФ-синтетаз F-типа.

Бактериородопсин. Структура и принцип действия бактериородопсина. Фотоцикл бактериородопсина и . светозависимый транспорт протонов. Другие ретиналь-содержащие белки (галородопсин, сенсорный родопсин и фобородопсин).

Биоэнергетика фотосинтеза. Общая схема и энергетический баланс фотосинтеза. Пигменты и их роль. Световая и темновая фазы фотосинтеза. Фотосистемы. Z-схема. Фотофосфорилирование (циклическое и нециклическое). С3-путь и С4-путь темновых реакций. Фотодыхание у С3- и С4-растений. САМ-метаболизм.

Эволюция механизмов запасания энергии. Синтез АТФ под действием солнечного света. Гликолиз и запасные энергетические ресурсы. Бактериородопсиновый фотосинтез. Хлорофилльный фотосинтез. Дыхательный механизм энергообеспечения.

Биоэнергетика движения. Молекулярный мотор бактерий. Энергетика мышечных сокращений. Строение мышечного волокна, модель рабочего цикла актомиозинового комплекса. Строение и функции кинезина, динеина.

Биоэнергетика канцерогенеза. Гипотеза Варбурга. Митохондриальная ДНК и канцерогенез. Транскрипционные факторы, индуцируемые гипоксией. Значение митохондриальной Н-АТФазы в развитии рака. Метаболические нарушения в канцерогенезе и формировании метастаз. Аутофагия и метаболизм раковых клеток.

Биоэнергетические аспекты старения. Снижение проницаемости клеточной мембраны для ионов. Нарушения регуляции и снижение скорости метаболизма. Прекращение пролиферации клеток. Увеличение содержания активных форм кислорода (АФК). Старение как медленный феноптоз (по В.П. Скулачеву). Проекты по таргетным антиоксидантам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шмид Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия. М.: изд-во «Бином.Лаборатория знаний», 2014.

2. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / ред. К. Уилсон, Дж.Уолкер. М.: изд-во «Бином. Лаборатория знаний», 2005.

3. Кребс, Джоуклин Е. Гены по Льюину / Дж. Кребс, Э. Голдштейн, С. Килпатрик ; пер. с англ. под ред. Д. В. Ребрикова и Н. Ю. Усман. – М.: Лаб. знаний, 2017. - 919 с.

4. Льюин,Бенджамин Гены / Бенджамин Льюин ; пер. 9-го англ. изд. И. А. Кофиади [и др.] под ред. Д. В. Ребрикова. – М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2011. - 896 с.

5. Льюин,Бенджамин Гены / Бенджамин Льюин ; пер. 9-го англ. изд. И. А. Кофиади [и др.] под ред. Д. В. Ребрикова. – М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. - 896 с.

6. Хроматин: упакованный геном – любое издание

Хроматин: упакованный геном / С.В.Разин,А.А.Быстрицкий. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2009. - 172 с.,

Хроматин: упакованный геном / С. В. Разин, А. А. Быстрицкий. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. - 172 с.,

Хроматин: упакованный геном / С. В. Разин, А. А. Быстрицкий. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2013. - 172 с.,

Разин, С.В. Хроматин: упакованный геном. [Электронный ресурс] / С.В. Разин, А.А.

Быстрицкий. — Электрон. дан. — М.: Издательство "Лаборатория знаний", 2015. — 191 с. — Режим доступа: http://e.lanbook.com/book/70738 — Загл. с экрана.

13. Экспрессия генов Патрушев,Лев Иванович / Рос.акад.наук. Ин-т биоорган.химии им.М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова. – М.: Наука, 2000. - 526 с.

14. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. Том 1. Генная и белковая инженерия. – М.: Наука, 2004.

15. Альбертс Б., Джонсон А., Льюис Д. и др. Молекулярная биология клетки: в 3-х томах — М.–Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013.

16. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2006.

17. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2004.

18. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 5th edition. Garland Science, 2015.

19. Lodish H., Berk A., Kaiser C., Krieger M., Scott M., Bretscher A., Ploegh H., Matsudaira P. Molecular Cell Biology. 6th edition. 2008.

20. Мембранная биоэнергетика / В.П. Скулачев, А.В. Богачев, Ф.О. Каспаринский. — М.: Издательство Московского университета, 2010. — 368 с.

21. Основы биохимии Ленинджера. Том 2. Биоэнергетика и метаболизм / Д. Нельсон, М. Кокс. — М.: Лаборатория знаний, 2016. — 691 с.

22. Первичное преобразование световой энергии при фотосинтезе / В.А. Шувалов. — М.: Академиздатцентр «Наука», 1990. — 208 с.

23. Mitochondrial Bioenergetics. Methods and Protocols. Second Edition / Editors: Carlos M. Palmeira, António J. Moreno. — Springer New York, 2018. — 422 pp.

24. Tumor Cell Metabolism. Pathways, Regulation and Biology. / Editors: Sybille Mazurek, Maria Shoshan. — Springer Vienna, 2014. — 372 pp.

25. Структура и функционирование белков. Применение методов биоинформатики. Под ред. Д. Д. Ригдена. Ленанд, Едиториал УРСС. 2014. 424 с. ISBN 978-5-9710-0842-2, 978-5-453-00057-9.

26. Леск А. М. Введение в биоинформатику. Бином. 2009. 324 с. ISBN 978-5-94774-501-6, 0-19-925196-7.

27. Огурцов А.Н. Основы биоинформатики. Харьков: НТУ "ХПИ", 2013. – 400 с.

ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСЫ

1. Genbank: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/GenbankOverview.html
2. PDB-Biological Macromolecular Resource: http://www.pdb.org
3. European Bioinformatics Institute: https://www.ebi.ac.uk/
4. Inter Pro tutorial: http://www.ebi.ac.uk/interpro/tutorial.html
5. Введение в кристаллографию макромолекул Crystallography 101: http://www.ruppweb.org/Xray/101index.html

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ДЛЯ УГЛУБЛЕННОГО ИЗУЧЕНИЯ

1. Даан Френкель, Беренд Смит. Принципы компьютерного моделирования молекулярных систем. Научный мир. 2013 584 с. ISBN 978-5-91522-223-5.
2. Jean-Michel Claverie, Cedric Notredame. Bioinformatics For Dummies, 2nd Edition 2006. ISBN: 978-0-470-08985-9,