



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

УТВЕРЖДАЮ

И.о. заместителя руководителя УФИЦ
РАН по научно-организационной работе

И.Ф. Шаяхметов

« 6 » апреля 2023 г.



ПРОГРАММА

вступительных испытаний по специальной дисциплине при приеме
на обучение по программам аспирантуры – программам подготовки
научных кадров в аспирантуре по научной специальности

1.5.3. Молекулярная биология

Программа вступительных испытаний
одобрена на заседании Ученого совета ИБГ УФИЦ РАН
от «14» марта 2023 г. Протокол № 2

Уфа 2023

Общие указания

Программа вступительного экзамена в аспирантуру по специальности 1.5.3. Молекулярная биология предназначена для лиц, желающих проходить обучение в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук.

В программе описываются порядок проведения вступительного испытания, критерии оценивания, приведен список вопросов программы.

Порядок проведения вступительных испытаний

Вступительное испытание проводится в форме экзамена на основе билетов. В каждом экзаменационном билете по 2 вопроса. Экзамен проходит в письменной форме. Подготовка к ответу составляет 1 академический час (60 минут) без перерыва с момента раздачи билетов. Задания оцениваются от 0 до 100 баллов в зависимости от полноты и правильности ответов.

Критерии оценивания

Оценка поступающему выставляется в соответствии со следующими критериями.

Отлично (80-100 баллов)

Поступающий в аспирантуру уверенно владеет материалом, приводит точные формулировки теорем и других утверждений, сопровождает их строгими и полными доказательствами, уверенно отвечает на дополнительные вопросы программы вступительного испытания.

Хорошо (60-79 баллов)

Поступающий в аспирантуру владеет материалом, приводит точные формулировки теорем и других утверждений, сопровождает их доказательствами, в которых допускает отдельные неточности. Отвечает на большинство дополнительных вопросов по программе вступительного испытания.

Удовлетворительно (20-59 баллов)

Поступающий в аспирантуру знаком с основным материалом программы, приводит формулировки теорем и других утверждений, но допускает некоторые неточности, сопровождает их доказательствами, в которых допускает погрешности, или описывает основную схему доказательств без указания деталей. Отвечает на дополнительные вопросы по программе вступительного испытания, допуская отдельные неточности.

Неудовлетворительно (менее 20 баллов)

Поступающий в аспирантуру не владеет основным материалом программы, не знаком с основными понятиями, не способен приводить формулировки теорем и других утверждений, не умеет доказывать теоремы и другие утверждения, не знает даже схемы доказательств. Не отвечает на большинство дополнительных вопросов по программе вступительного испытания.

Список примерных экзаменационных вопросов

1. Общее понятие о функциях белков и нуклеиновых кислот. Общая структурная характеристика белков и нуклеиновых кислот как биополимеров. Понятие о первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурах. Биологическое значение различных уровней структурной организации. Надмолекулярные структуры. Проблема узнавания и проблема катализа в функционировании биологических макромолекул.

2. Первичная структура нуклеиновых кислот. Нуклеотиды - мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания; кето-энольная таутомерия. Сахарный компонент нуклеотида. Нуклеозид; гликозидная связь; Фосфатный остаток, его положение. Различные типы нуклеотидов; терминология. Межнуклеотидные связи. Полярность линейной цепи. Схема полинуклеотидной цепи: пентозофосфатный каркас и боковые группы.

3. Химическая деградация нуклеиновых кислот. Щелочной и кислотный гидролиз. Специфическое расщепление по определенным нуклеотидам. Энзиматическая деградация нуклеиновых кислот. Экзонуклеазы и эндонуклеазы. ДНКазы и РНКазы. Нуклеотид-специфические нуклеазы.

4. Принципы количественного определения нуклеиновых кислот. Экстракция нуклеиновых кислот и разделение ДНК и РНК. Ультрафиолетовое поглощение нуклеиновых кислот и его применение.

5. Количественные соотношения азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Правила Чаргаффа. Специфичность количественных соотношений азотистых оснований в нуклеиновых кислотах. Химический метод определения. Видовая специфичность состава ДНК и РНК. Физический метод определения состава ДНК. Равновесное центрифугирование в градиенте плотности. Гетерогенность ДНК по составу.

6. Нуклеотидная последовательность нуклеиновых кислот. Два принципиальных подхода к определению последовательности. Современные методы прямого определения нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК. Метод Сэнгера. Значение изучения первичной структуры ДНК для решения проблем эволюции и систематики организмов. Геносистематика.

7. Макромолекулярная структура ДНК. Двойная спираль Уотсона-Крика. Принцип комплементарности и его биологическое значение. Реализация водородных связей и гидрофобных взаимодействий. Регулярность структуры и кооперативность. Спирализация. Параметры спирали.

8. Денатурация двуспиральной ДНК. Влияние ионной силы, гидрофобных растворителей, мочевины, рН, температуры. Понятие о "плавлении" спирали; температура "плавления"; связь ее с нуклеотидным составом. Гиперхромный эффект.

9. Ренатурация ДНК. Условия ренатурации. Зависимость ренатурации от гомогенности препарата.

10. Молекулярная гибридизация ДНК. Установление сходства нуклеотидной последовательности цепей ДНК путем молекулярной

гибридизации. Гибридизация РНК-ДНК, ДНК-ДНК.

11. Макромолекулярная структура РНК. Одноцепочечность РНК. Спирализация в РНК (вторичная структура). Внутрицепочечные комплементарные взаимодействия. Длина и количество спиральных участков. Неканонические типы спаривания оснований.

12. Одноцепочечная ДНК и двухцепочечная РНК вирусного происхождения.

13. Первичная структура белков. Аминокислотные остатки - мономеры белковых цепей. Различные типы аминокислот и их строение. Пептидная связь. Полипептидная цепь.

14. Выделение белков и пептидов. Проверка гомогенности препаратов белков. Диск-электрофорез. Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом. Изоэлектрофокусирование в полиакриламидном геле. Определение N'-и C-концевых аминокислотных остатков.

15. Определение аминокислотной последовательности. Гидролитическое расщепление белка с помощью протеолитических ферментов. Значение изучения первичной структуры белков для решения проблем эволюции и систематики организмов. Эволюция первичных структур глобинов, цитохромов, иммуноглобулинов.

16. Пространственная структура белков. Вторичная структура белков. Третичная структура белков. Природа сил, стабилизирующих трехмерную структуру белка. Гидрофобные взаимодействия. Солевые и водородные связи. Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. Доменная структура. Пространственные структуры молекул миоглобина, лизоцима, цитохрома, рибонуклеазы, химотрипсина.

17. Четвертичная структура белков. Типы взаимодействий между субъединицами в олигомерных белках на примере молекулы гемоглобина. Симметричные олигомерные структуры из тождественных субъединиц. Структуры инсулина, лактатдегидрогеназы. Биологические преимущества крупного белка, составленного из субъединиц, перед крупным мономерным белком.

18. Фибриллярные белковые структуры. Фиброин шелка, кератин, коллаген, инозин.

19. Денатурация белков. Разрушение нативной конформации белков изменением температуры, pH, обработкой мочевиной, гуанидинхлоридом. Действие детергентов, спиртов, электролитов.

20. Самоорганизация пространственной структуры белковых молекул. Формирование пространственной структуры белковой молекулы - процесс, определяемый только ее первичной структурой.

21. Классификация белков, основанная на их биологической функции. Ферменты, транспортные белки, запасные белки, сократительные белки, защитные белки крови, токсины, гормоны, структурные белки.

22. Транспортные белки. Гемоглобин. Механизм его взаимодействия с молекулами кислорода.

23. Защитные белки крови. Иммуноглобулины. Их структура.

Иммунная реакция. Видовая специфичность.

24. Ферменты. Классификация ферментов. Коферменты и витамины. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Бриггса-Холдейна.

25. Функционирование ферментов. Активные центры ферментов. Строение субстратсвязывающих участков (трипсин, химотрипсин, эластаза). Объяснение субстратной специфичности ферментов. Представление о строении активного центра и механизме действия ферментов (лизоцим, карбоксипептидаза, химотрипсин и др.).

26. Регуляция ферментативной активности. Ингибирование. Активация путем химической (ферментативной) модификации.

27. Аллостерическая регуляция активности ферментов. Аллостерические белки и их биологическая роль. Значение четвертичной структуры белков.

28. Изоферменты. Четвертичная структура изоферментов (лактатдегидрогеназа). Изоферментная регуляция метаболизма на примере изоферментов лактатдегидрогеназы.

29. Структура рибосомы. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Рибосомы митохондрий и хлоропластов. Локализация рибосом в клетке. Размер, внешний вид и подразделение рибосом на две субчастицы. Детальная форма рибосомных субчастиц. Объединение субчастиц в целую рибосому.

30. Рибосомные РНК. Значение рибосомной РНК. Виды рибосомных РНК: высокомолекулярная и низкомолекулярная РНК. Гомология первичной структуры рРНК разных организмов и систематика,

31. Рибосомные белки. Разнообразие, номенклатура. Первичные структуры. Пространственные структуры. Белковые комплексы. Взаимодействие с рибосомными РНК.

32. Вирусный нуклеопротеид как форма сохранения инфекционного начала - молекулы нуклеиновой кислоты. Химический состав вирусов и вирусных нуклеопротеидов. ДНК-содержащие и РНК-содержащие вирусы. Типы вирусных нуклеиновых кислот (одноцепочечные и двухцепочечные ДНК и РНК, линейные и кольцевые молекулы). Аномальные основания в ДНК бактериофагов. Количественные соотношения нуклеиновой кислоты и белка.

33. Функции вирусной нуклеиновой кислоты. Функции вирусного белка: защитная, инвазивная, ферментативная (полимеразы нуклеиновых кислот, входящие в состав вирусных частиц и другие ферменты).

34. Структура вирусов. Принципы сборки вирусов. Самосборка и другие механизмы.

35. Два уровня организации упаковки ДНК в живой природе: свободная (вирусы, бактерии) и нуклеопротеидная (высшие организмы) форма. Проблема компактной упаковки на обоих уровнях.

36. Фаговая "хромосома". Бактериальная хромосома.

37. Хромосомы высших организмов. Структурная организация молекул гистонов на ДНК (возможная четвертичная структура). Структура

хроматина. Фрагментация хромосом. Нуклеосома. Реконструкция хроматина. Негистоновый белок в хромосомах. Понятие об активной интерфазной и неактивной конденсированной хромосоме. Строение митотической хромосомы. Дифференцированность хромосомы по длине. Хромеры, эухроматин и гетерохроматин. Сателлитные ДНК и организатор ядрышек как компоненты гетерохроматина.

38. Локализация генов в хромосомах. Принцип линейного расположения генов в хромосоме. Химическая природа генов. Отождествление генов с ДНК. Корреляция между воздействиями на ДНК и мутациями у высших организмов. Трансформация бактерий с помощью чистой ДНК. Опыт Эвери, Мак-Леода и Мак-Карти (1944). Заражение бактерии бактериофаговой ДНК. Опыт Херши и Чейз (1952).

39. Многочисленность генов на одной молекуле ДНК. Пример с ДНК бактериофага. Отождествление гена с ограниченным участком ДНК. Фиксированное расположение генов вдоль молекулы ДНК.

40. Понятие о мутации как точечном изменении в определенном участке ДНК. Фенотипическое выражение мутации: изменение, ослабление или выпадение функции. Мутации разных генов. Мутации внутри одного гена. Транзиции и трансверсии.

41. Белок заданной структуры как реализация специфичности гена. Гипотеза "один ген - один фермент" как следствие развития молекулярной генетики. Дальнейшее развитие гипотезы: "один ген - одна полипептидная цепь". Предшественники белков и случаи "один ген - несколько полипептидов" (например, нейрогормоны). Замена аминокислоты как структурное проявление мутации гена. Гемоглобиновые мутанты человека. Перекрывающиеся гены. Некодирующие вставки ("интроны") внутри кодирующей последовательности в генах эукариот. Процессинг и сплайсинг про-мРНК.

42. Редупликация ДНК. Полуконсервативный механизм редупликации (опыт Меселсона и Сталя, 1958).

43. Механизм биосинтеза ДНК. Роль матрицы, дНТФ, образование комплементарного продукта. Аналоги обычных оснований, роль в мутагенезе, в ДНК фагов. Точность редупликации ДНК и измененные ДНК-полимеразы как мутаторы. Синтез ДНК как последовательное присоединение нуклеотидов к 5'-ОН-концу затравки. Направление редупликации хромосомы и парных нитей ДНК-матрицы. Расплетение двойной спирали ДНК-матрицы. "Расплетающие" белки. Инициация с ДНК-затравкой, фрагменты Оказаки.

44. ДНК-полимераза I. Ее ферментативные активности (полимеризующая, 3'-5', 5'-3' экзонуклеотические), их роль в синтезе ДНК. ДНК-лигазы. Роль в образовании ДНК. Мутации по ДНК-полимеразе I и открытие ДНК-полимераз II и III. Гены *E. coli*, кодирующие ДНК-полимеразы. Механизм образования второй нити на однонитевого ДНК бактериофага M13. Синтез однонитевой ДНК на репликативной форме вирусных ДНК. РНК-полимеразы, образующие РНК-затравки для инициации синтеза ДНК. Инициационный комплекс: ДНК-полимераза III, белковые кофакторы, ДНК-зависимая АТФаза, "расплетающий" белок, АТФ. Элонгация ДНК. Роль ДНК-

полимеразы I.

45. Белки, катализирующие разрыв-воссоединение нитей ДНК: ДНК-топоизомераза I ("ДНК-релаксаза") и II ("ДНК-гираза"). Образование и снятие сверхспирали. Роль в редупликации ДНК. Сверхспирализация ДНК при сборке нуклеосом.

46. Регуляция редупликации хромосом бактерий. Понятие о репликоне. Плазмиды, эписомы, бактериогенные факторы, факторы резистентности и токсичности. Значение для бактериологии. Схема репликона. Нуклеотидная последовательность места начала репликации.

47. Синтез ДНК на матрице РНК ("обратная" транскрипция). Роль затравки.

48. Молекулярный механизм мутаций. Мутации, возникающие в процессе редупликации ДНК. Точечные мутации, вызываемые прямым химическим изменением нуклеотидов в ДНК. Генетические и структурные последствия точечных мутаций (аминокислотные замены). Мутации со "сдвигом фазы" (делеции и вставки нуклеотидов). Акридиновые красители как мутагены. Генетические и структурные последствия мутаций со "сдвигом фазы". Полярные мутации в результате вставок IS -элементов и фагов типа Мю.

49. Экспериментальная расшифровка общих черт генетического кода. Понятие о кодовом отношении, о кодонах, о перекрываемости кодонов, о "запятых", о вырожденности кодонов с помощью точечных мутаций.

50. Модификация и рестрикция ДНК. Метилирование ДНК. Донатор - S-аденозил-метионин; акцепторные азотистые основания, роль последовательности нуклеотидов. Энзимология метилирования ДНК. Метилирование ДНК фагов и бактерий. Рестрикция неметилированной ДНК. Ферменты рестрикции и модификации. Генетические и биохимические данные об их структуре. Последовательность нуклеотидов, специфичность рестриктаз, механизм их действия. Рестриктазы I, II и III классов.

51. Репарация повреждений ДНК. Система световой репарации ДНК. Темновая репарация ДНК. Вырезание тиминовых димеров и застройка бреши. Этапы процесса. Роль ферментов: эндонуклеазы, ДНКазы, ДНК-полимеразы I, лигазы.

52. Генетическая рекомбинация. Типы генетической рекомбинации у бактерий и фагов. Пол и конъюгация у бактерий. Половой фактор - эписома. Автономное и интегрированное состояние полового фактора. Половые ворсинки. Генетическая структура полового фактора. Передача ДНК от донорных клеток реципиентным.

53. Транспозоны: перемещающиеся элементы, заключенные между IS -элементами. Роль повторяющихся последовательностей ДНК в рекомбинации. Роль повторяющихся элементов генома (IS, транспозонов, плазмид) в эволюции бактерий.

54. Молекулярные механизмы трансдукции, трансформации, рекомбинации фагов и эписом.

55. Перемещающиеся генетические элементы эукариот и генетическая

нестабильность: Ту-элементы дрожжей, МДГ дрозофилы. Общность строения перемещающихся элементов. Ретровирусы как перемещающиеся элементы позвоночных животных.

56. Генная инженерия. Создание специфических трансдуцирующих фагов, несущих заданные гены. Химический синтез гена по Корана. Использование лигазы. Олигонуклеотиды. Синтез генов на информационных РНК РНК-зависимыми ДНК-полимеразами.

57. Включение фрагментов в состав плазмид и фагов *in vitro*. Использование рестриктаз и ДНК-лигазы. Трансформация (трансфекция) бактерий гибридными плазмидами и фагами. Селекция трансформантов. Присоединение к плазмидам и фагам генов животных. Транскрипция и трансляция чужеродных генов в клетках бактерий. Трансгенные растения и животные.

58. Открытие информационной РНК. Матричный синтез РНК. РНК-полимеразная реакция. Условия и ход реакции. Комплементарность продукта матрице. "Скользкий" синтез полиА. Этапы синтеза РНК. Присоединение РНК-полимеразы к ДНК. Понятие о промоторах. Последовательность нуклеотидов в промоторах. Инициация, элонгация и терминация синтеза РНК. Антибиотики - ингибиторы транскрипции.

59. Структура РНК-полимеразы. Роль ее субъединиц в транскрипции. Сигма-фактор инициации. Модификация РНК-полимеразы при развитии бактериофагов. Новые полипептиды в РНК-полимеразе при фаговой инфекции и специфичность синтеза РНК.

60. Регуляция транскрипции у бактерий. "Классическая" схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и репрессия синтеза ферментов. Репрессор лактозного оперона. Эффекторы. Генетическое изучение структуры оперона. Оператор. Разные типы мутаций по репрессору и оператору. Последовательность нуклеотидов в операторе, его структурные взаимоотношения с промотором и структурными генами. Взаимодействие и роль разных механизмов регуляции транскрипции у прокариот.

61. Регуляция транскрипции у эукариот. Стабильность мРНК. Субстратная индукция. Данные о регуляторных участках генов.

62. Возможная роль гистонов и негистоновых белков хроматина. Модификация гистонов. Матричная активность хроматина. Изменение структуры хроматина как механизм регуляции транскрипции. Пуффы на хромосомах, петли на хромосомах типа "ламповых щеток", структура и активность половых хромосом, гетерохроматин и эухроматин, эффект положения гена. Гипотеза "один ген -один хромомер".

63. Уникальные и повторяющиеся структурные гены белков. Псевдогены. Общая структура генома; уникальные и повторяющиеся последовательности в ДНК. Гены рибосомных РНК у эукариот. Предшественники рРНК и их созревание. Организаторы ядрышек.

64. Три типа РНК-полимераз животных.

65. Гигантские предшественники мРНК, их структура и созревание. Устранение "интронов" ("сплайсинг"). Образование 5'-концевой полиА и 5-

метил-гуаниловой группы.

66. Ферментативный синтез РНК на матрице РНК при вирусной инфекции (РНК-содержащими вирусами). Проблема редупликации вирусной РНК. РНК-зависимая РНК-полимераза. Бактериальные РНК-содержащие вирусы.

67. Этапы вирусной инфекции при заражении РНК-содержащими бактериофагами, у которых геном представляет собой "+" РНК: депротенинизация вирусной РНК в клетке, соединение вирусной РНК с рибосомами клетки хозяина, синтез РНК-синтетазы, репликация "+" и "-" цепи вирусной РНК и дальнейший синтез белков, самосборка вирусных частиц. Особенности репликации РНК у вирусов, у которых геном представляет собой "-" РНК и двуцепочечную РНК.

68. Информационная РНК и генетический код. Открытие мРНК. Расшифровка генетического кода: триплетность и неперекрываемость; состав кодонов; нуклеотидная последовательность кодонов; подтверждение на основе синтетических регулярных матриц. Некоторые особенности кодового словаря: вырожденность, кодоновые семьи; универсальность. Первичная структура мРНК, функциональные участки; пространственная структура и ее роль в синтезе белка.

69. Открытие тРНК. Адапторная гипотеза Крика и ее доказательство. Изоакцепторные тРНК. Структура тРНК. первичная структура: длина цепей, 3'-конец, "минорные" нуклеотиды, консервативные участки; вторичная структура: "клеверный лист", двуспиральные и односпиральные 8 участки, каноническое и неканоническое спаривание оснований; третичная структура. Аминоацил-тРНК-синтетазы: специфичность, разнообразие, субъединичная структура. Особенности эукариотических синтетаз.

70. Общее представление о трансляции. Стадии трансляции: инициация, элонгация и терминация. Последовательное считывание мРНК рибосомами. Полирибосомы. Рабочий (элонгационный) цикл рибосомы. Химические реакции и энергетический баланс биосинтеза белка. Бесклеточные системы.

71. Современные молекулярно-биологические методы. Клонирование ДНК. Полимеразная цепная реакция. Полимеразная цепная реакция в реальном времени. Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени.

72. CRISPR (короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами). Геномное редактирование на основе CRISPR/Cas. Подбор гидовых РНК. Доставка компонентов CRISPR/Cas в клетки растений и животных. Прайм-редактирование.

73. Молекулярные векторы. Развитие плазмидных векторов. Векторы на основе фагов. Фагмиды. Космиды и фазмиды. Искусственные хромосомы дрожжей (YAC), бактерий (BAC) и млекопитающих (MAC). Экспрессирующие векторы. Коинтегративная и бинарная векторные системы, используемые для создания трансгенных растений.

74. Получение трансгенных растений с помощью бинарной системы *A. tumefaciens*. Агробактериальная трансформация растений методом погружения

Программа вступительных испытаний в аспирантуру составлена в соответствии с федеральными государственными требованиями и паспортом научной специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Программу вступительных испытаний по специальной дисциплине научной специальности 1.5.3. Молекулярная биология разработал(и):
Д-р биол. наук, Б.Р. Кулуев

Кулуев Б.Р.