

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА»

ФИЛИАЛ МГУ В Г. ГРОЗНОМ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора филиала – руководитель  
образовательных программ  
А. С. Воронцов



20\_\_ г.

**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ**

Наименование дисциплины:

**Основы молекулярной биологии**

Уровень высшего образования:

**Специалитет**

Специальность:

**06.05.02 Фундаментальная и прикладная биология**

Направленность (профиль)/специализация образовательной программы:

**Биотехнология**

Форма обучения:

**Очная**

Москва 2024

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с самостоятельно установленным МГУ образовательным стандартом (ОС МГУ) для реализуемых основных профессиональных образовательных программ высшего образования по специальности 06.05.02 «ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ И ПРИКЛАДНАЯ БИОЛОГИЯ» (образовательная программа специалитета «Биотехнология»).

ОС МГУ утвержден решением Ученого совета МГУ имени М.В.Ломоносова 20.01.2022 года.

Год приема на обучение 2024.

### 1. Место дисциплины в структуре ОПОП

Дисциплина относится к обязательной части ОПОП ВО, входит в блок «Общепрофессиональные дисциплины» раздела учебного плана: Базовая часть. Изучается в 7 семестре.

Дисциплина «Молекулярная биология» предназначена для формирования у студентов комплекса знаний, умений и навыков в области молекулярной биологии. В результате изучения дисциплины студент должен: знать основные классы биологических макромолекул, их функции и пути образования; уметь критически оценивать методы выделения, очистки и анализа биологических макромолекул и анализировать полученные с их помощью результаты.

Дисциплина «Молекулярная биология» предваряет дисциплину «Вирусология и иммунология» и работу студентов над ВКР.

#### **Цели освоения дисциплины**

В результате освоения дисциплины обучающийся должен знать основные классы биологических макромолекул, их функции и пути образования; уметь критически оценивать методы выделения, очистки и анализа биологических макромолекул и анализировать полученные с их помощью результаты.

### 2. Входные требования

Перед началом освоения дисциплины «Молекулярная биология» студент должен изучить дисциплины «Общая химия», «Органическая химия», «Физическая химия», «Цитология», «Математические методы в биологии», «Биохимия».

### 3. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с требуемыми компетенциями выпускников

Компетенция	Индикатор достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с индикаторами достижения компетенций
<b>ОПК-1.</b> Способен применять знание о разнообразии, развитии и эволюции биологических объектов различных уровней организации для решения профессиональных задач в полевых и лабораторных	ОПК-1.5. Использует знания о биологических макромолекулах, их функциях и путях образования для осуществления профильной экспериментальной	<b>Знает:</b> основные классы биологических макромолекул, их функции и пути образования  <b>Умеет:</b> анализировать современную научную информацию для

<p>условиях, в том числе с привлечением современных методов структурной биологии, биоинформатики, математического и молекулярного моделирования; способен понимать значение биоразнообразия для устойчивости биосферы.</p>	<p>деятельности.</p>	<p>адекватного планирования собственных исследований</p> <p><b>Владеет навыками:</b> критически оценивать методы выделения, очистки и анализа биологических макромолекул и анализировать полученные с их помощью результаты;</p>
<p><b>ОПК-2.</b> Способен планировать и проводить биологические эксперименты, наблюдение, описание, идентификацию, классификацию и культивирование биологических объектов, опираясь на знание их структурной и функциональной организации, механизмов жизнедеятельности, используя современное оборудование, информационные технологии и профессиональные базы данных, физико-химические методы и методы моделирования, соблюдая требования биоэтики, техники безопасности и информационной безопасности</p>	<p><b>ОПК-2.6.</b> Использует знания о методах исследования биологических макромолекул, их функций и путей образования для осуществления профильной экспериментальной деятельности</p>	<p><b>Знает:</b> основные экспериментальные способы выделения биологических макромолекул из живых организмов и их анализа</p> <p><b>Умеет:</b> выделять биологические макромолекулы из живых организмов и анализировать их</p> <p><b>Владеет навыками:</b> выбирать методы выделения биологических макромолекул из живых организмов и их анализа, наиболее пригодные для решения конкретных экспериментальных задач</p>

#### 4. Объем дисциплины

Объем дисциплины - 3 з.е. (108 ак.ч), из них 28 ак.ч - контактная работа обучающихся с преподавателем на занятиях лекционного типа (лекции - 28 ак.ч). Самостоятельная работа обучающихся – 80 ак.ч. Форма промежуточной аттестации – экзамен (7 семестр).

#### 5. Форма обучения – очная

**6. Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов, и виды учебных занятий**

№ п/п	Раздел (тема) дисциплины	Занятия лекционного типа (лекции), ак.ч.	Самостоятельная работа, ак.ч.
1	Предмет изучения молекулярной биологии	2	8
2	Белки	3	8
3	Центральная догма молекулярной биологии и генетический код	2	8
4	Транскрипция	3	8
5	Регуляция экспрессии генов	3	8
6	Процессинг РНК и трансляция	3	8
7	Репликация	3	8
8	Рекомбинация и репарация	3	8
9	Мобильные элементы и эволюция генома	3	8
10	Современные методы молекулярной биологии и генной инженерии	3	8
	<b>Всего:</b>	<i>28</i>	<i>80</i>

**6.1. Содержание дисциплины по разделам (темам)**

**Тема 1. Предмет изучения молекулярной биологии.**

Предмет изучения молекулярной биологии. Нерегулярные полимеры и принцип матричного синтеза.

Открытие генетической роли нуклеиновых кислот. Опыт Гриффита по трансформации бактерий. Определение химического вещества, отвечающего за перенос генетической информации: опыт Эвери, Маклеода и Маккарти, опыт Херши и Чейз, опыт Френкель-Конрата.

Нуклеотид. Азотистые основания. Цепочка нуклеотидов, ее полярность.

Расшифровка структуры ДНК Уотсоном и Криком. Правила Чаргаффа. Данные рентгеноструктурного анализа ДНК Франклин и Уилкинса. Формы нуклеотидов и геометрия комплементарных пар, антипараллельность цепей ДНК.

Причины образования двойных спиралей нуклеиновых кислот. Конформации сахара в составе нуклеозидов. Стэкинг-взаимодействия азотистых оснований. Влияние стэкинга на форму двойной цепочки ДНК. Три типа спиралей нуклеиновых кислот. Причины отличия спиралей друг от друга. Большая и маленькая бороздки. Отличия в

экспонировании разных функциональных групп в большую и малую бороздки у разных пар нуклеотидов. Особенность Z-формы ДНК.

Хугстиновские взаимодействия между нуклеотидами. Тройная спираль нуклеиновых кислот. Квадруплекс ДНК.

Вторичные структуры, образуемые РНК. А-минорное взаимодействие. Некоторые часто встречаемые пространственные структуры РНК: целующиеся шпильки, псевдоузлы, клеверные листья. Минорные азотистые основания, встречающиеся в РНК. Аптамерные модули и рРНК как примеры сложных пространственных структур, образуемых молекулами РНК.

Функции, выполняемые ДНК и РНК. Особенности ДНК по сравнению с РНК, делающие ее более пригодной для хранения информации в клетке. Причина использования тимина в ДНК. Гидролиз РНК в щелочных условиях. Многообразие функций РНК в клетке. Гипотеза об РНК-мире. Особые функции РНК, которые не были переданы белкам в клетке.

Топология ДНК. Сверхспирализация ДНК. Формула, описывающая параметры перекрещивания цепей ДНК в пространстве: число зацеплений, число витков спирали, супервитки. Плектонемные и тороидальные супервитки.

Топоизомеразы I и II типов. Механизм изменения числа супервитков. Биологический смысл изменения числа витков и супервитков.

## **Тема 2. Белки.**

Важность белков для клетки. Белки как катализаторы реакций, преимущества белков перед РНК в катализе реакций. Протеиногенные аминокислоты, их классификация.

Уровни организации белковой молекулы. Первичная структура. Основная цепь и боковые группы полипептида, пептидная связь. Вторичные структуры: альфа-спираль и бета-слой. Энтальпийная и энтропийная составляющие энергетической выгоды при формировании водородных связей вторичными структурами полипептида. Ван-дер-Ваальсов радиус атома и ограничение числа вторичных структур. Бета-повороты и важность пролина и глицина для их образования.

Третичная структура. Вклад разных типов взаимодействий в формирование пространственной структуры. Гидрофобные взаимодействия. Формирование гидрофобного ядра белковой глобулы. Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия внутри глобулы. Дисульфидные связи. Причина малого вклада ковалентных связей в формирование третичной структуры. Аллостерическое воздействие лиганда на структуру белка. Доменная структура белков. Белковые домены и их взаимодействия. Четвертичная структура белков. Принцип разделения фаз в клетке. Формирование биомолекулярных конденсатов, особенности структуры белков, участвующих в этом.

Принципы функционирования белков. Понижение энергии активации переходного состояния. Сопряжение реакций. Гидролиз пептидной связи с помощью химотрипсина. Сбор участников реакции. Стабилизация переходного состояния ферментом. Обеспечение специфичности ферментов. Взаимодействие с субстратом по модели ключ-замок и по модели индуцированного соответствия. Важность образования более сильной связи фермента с переходным состоянием по сравнению с связью фермента с субстратом. Важность жесткой структуры активного центра фермента и, как следствие, наличия большого количества аминокислот, не участвующих непосредственно в реакции, но поддерживающих форму белковой глобулы.

Распознавание последовательности ДНК белками. ДНК-узнающий мотив «спираль-поворот-спираль». Гомеодомены. Лейциновая застежка. Цинковые пальцы. TAL-белки. Узнавание белком последовательности ДНК с помощью направляющей (гидовой) РНК, комплементарной мишени: Cas-белки, белки-аргонавты. Конструирование нуклеаз, узнающих целевые локусы.

Фолдинг глобулярных белков. Эксперимент Анфинсена. Многочисленность конформаций, которые может принимать полипептид, влияние окружения на выбор конформации. Амилоиды. Парадокс Левинталя и путь сворачивания белка. Эволюционная причина быстрого сворачивания белков.

Шапероны. Гомология шаперонов в разных группах организмов. Механизм работы шаперонов: на стадии синтеза полипептида и исправление неправильно свернувшихся белков.

Посттрансляционные модификации белков. Фосфорилирование, ацетилирование, метилирование, гликозилирование, убиквитинилирование. Убиквитин-лигазная система. Протеасомное расщепление белков. Поли(АДФ)-рибозилирование.

### **Тема 3. Центральная догма молекулярной биологии и генетический код**

Центральная догма молекулярной биологии. Обоснование однонаправленности переноса информации от нуклеиновых кислот к белкам.

Генетический код, его основные свойства. Устойчивость современного генетического кода к точечным мутациям, корреляция второй буквы кодона и класса аминокислоты, способность кода нести дополнительную информацию и устойчивость к сдвигу рамки считывания. Исключения из универсальности генетического кода. Теория замороженной случайности о формировании современного генетического кода. Эволюция генетического кода. Кодоновые предпочтения.

Открытие рРНК и мРНК. Адаптерная гипотеза, тРНК и ее пространственная структура, важность минорных азотистых оснований. Процессинг тРНК. Wobble-гипотеза Ф. Крика: модификации нуклеотидов антикодона, возможные взаимодействия в третьем положении кодона — первом положении антикодона. Последствия для генетического кода. Идеальный генетический код митохондрий.

Аминоацилирование тРНК. Активация аминокислоты и перенос аминокислоты на тРНК. Аминоацил-тРНК синтетазы (АРСазы). Важность АРСаз: исполнение генетического кода и сопряжение соединения аминокислот и гидролиза АТФ. Распознавание аминокислот АРСазами, корректирующая активность и модель молекулярного сайта. 2 класса аминокислот-тРНК синтетаз.

Гипотеза о возникновении трансляции через стадию рибозимов с аминокислотными кофакторами.

Основные отличия экспрессии генов у прокариот и эукариот. Общие принципы транскрипции. Реакция, осуществляемая РНК-полимеразой. Распознавание ферментом рибонуклеозидтрифосфатов. Роль мостика в пошаговой работе полимеразы. Причина направления  $5' \rightarrow 3'$  при биосинтезе нуклеиновых кислот. Транскрипционный пузырек, кодирующая и матричная цепи, асимметричность транскрипции. Промотор и терминатор. Важность регуляции транскрипции.

### **Тема 4. Транскрипция**

Бактериальная РНК-полимераза: субъединичный состав. Сигма-субъединица, холофермент и апофермент, специфичность сродства полимеразы к последовательностям ДНК. Функции сигма-субъединицы. Бактериальный промотор, -35 и -10 последовательности. Узнавание промотора РНК-полимеразой. Механизм плавления промотора и последовательность событий при инициации транскрипции у бактерий. Элонгация транскрипции. Обратный ход РНК-полимеразы. Гре-факторы. Терминация транскрипции: внутренняя и ро-зависимая. Оперонная структура. Роль горизонтального переноса генов в поддержании оперонной структуры геномов бактерий. Сопряженность транскрипции и трансляции.

Регуляция экспрессии у прокариот. Регуляция с помощью смены сигма-факторов: запуск ответа на тепловой шок. Лактозный оперон. Структура лак-оперона, оператор,

белок-репрессор, особенность -35 последовательности лак-оперона. Белок-активатор катаболизма и ответ клетки на отсутствие глюкозы. Триптофановый оперон: негативная репрессия транскрипции белком-репрессором.

Основные компоненты системы трансляции. Бактериальная рибосома: состав, большая и малая субъединицы, роль рРНК и белков. Центры связывания тРНК. Рабочий цикл рибосом.

Инициация трансляции у бактерий. Факторы инициации. Сайт посадки рибосом на мРНК. Последовательность Шайна-Дальгарно. Инициаторная аминоксил-тРНК.

Элонгационный цикл трансляции. Связывание аминоксил-тРНК. Проверка правильности связывания. Аминогликозидные антибиотики. Функции фактора элонгации EF1A (EF-Tu). Транспептидация. Пурамицин. Стадия транслокации рибосомы. Функции фактора элонгации EF2 (EF-G).

Терминация трансляции: задачи, решаемые на этой стадии трансляции. Роль факторов RF1/2, RF3, RRF, EF-2, IF3. Молекулярная мимикрия факторов трансляции. Включение селеноцистеина в пептиды.

Регуляция экспрессии у прокариот, основанная на последовательностях мРНК. Аттenuация на примере работы триптофанового оперона. Рибопереключателы, 2 типа действия. РНК-термометры.

## **Тема 5. Регуляция экспрессии генов**

Особенности экспрессии генов у эукариот. Плотность записи информации в геноме разных организмов. Происхождение эукариот. Аргументы в пользу теории происхождения эукариот от Асгардархей. Возможные сценарии эукариогенеза. Сценарий, предполагающий появление ядра в ответ на экспансию мобильных генетических элементов из эндосимбионта в геном хозяина: разобщение транскрипции и трансляции, появление сплайсосом и других отличительных признаков эукариот.

Хроматин. Нуклеосомы. Гистоновые белки. Сборка нуклеосомы. Модификации хвостов гистонов. Гистоновый код. Распространение гистоновых меток по хроматину. Гистон H1. Вариантные формы гистонов: гистон СENP-A, гистон H2A.X. Упаковка ДНК: 10-нм нить, хроматиновые домены. Ремоделирование хроматина.

Гомология РНК-полимераз разных групп организмов. РНК-полимеразы эукариот, их специализация. Цис- и транс-регуляция. РНК-полимераза II. Канонический и неканонический промоторы РНК-полимеразы II. Тканеспецифичные гены и гены домашнего хозяйства. Цис-элементы, необходимые для работы канонического промотора РНК-полимеразы II: коровый и проксимальный промоторы, энхансер. Элементы корового и проксимального промотора. Общие факторы и белки-коактиваторы транскрипции. Хроматиновый контекст промоторов и энхансеров.

Инициация транскрипции РНК-полимеразой II. Пионерные факторы и привлечение белков-ремоделеров хроматина. Сборка общих факторов транскрипции на промоторе. Фактор TFIID, белок TBP, привлечение TFIID на промотор. Факторы TFIIA и В. Фактор TFIIN и плавление ДНК. С-терминальный домен РНК-полимеразы II. CpG-островки. Инициация транскрипции на CpG-островках. Механизм влияния энхансера на транскрипцию. Медиатор. Инсулятор. Эволюционное значение мутаций в регуляторных элементах.

## **Тема 6. Процессинг РНК и трансляция**

Элонгация транскрипции. Транскрипционные паузы. Регуляция скорости элонгации факторами NELF и Р-TEFb. Транскрипция через нуклеосомы, белок FACT. Фактор TFIIS, необходимый при обратном ходе РНК-полимеразы.

Процессинг мРНК. Сопряжение транскрипции и процессинга. Кэпирование мРНК. Сплайсинг. Общий механизм сплайсосомального вырезания интронов. Детали узнавания сайтов сплайсинга и точки ветвления в мРНК: роль малых ядерных РНК в каталитической сплайсосоме. Альтернативный сплайсинг. Варианты альтернативного сплайсинга. Альтернативный сплайсинг как способ получения множества вариантов белков-каналов, отличающихся чувствительностью к стимулу. Ген DSCAM как пример крайнего многообразия мРНК, считанных с одного гена.

Полиаденилирование и терминация транскрипции. Модель торпеды. Роль 5'-терминального домена РНК-полимеразы II в привлечении ферментов процессинга. Редактирование мРНК. Дезаминирование цитозина или аденина.

Рибосомальная ДНК. Промотор РНК-полимеразы I. Инициация транскрипции на нем. Процессинг рРНК. Промоторы РНК-полимеразы III. Инициация транскрипции на них.

Принципы регуляции экспрессии генов у эукариот. Комбинаторный принцип контроля транскрипции. Транскрипционные факторы — компоненты системы передачи сигнала. Механизм регуляции развития конечностей и полидактилия как иллюстрация комбинаторного принципа регуляции.

Эухроматин и гетерохроматин. Ацетилирование гистонов. Особенности гетерохроматина. Метилирование ДНК и репрессия генов. Изменение паттерна метилирования генома в онтогенезе. Метилирование гистонов и распространение гетерохроматина. Сохранение гистоновых меток после репликации.

Трехмерная укладка генома. Методы изучения трехмерной организации хромосом: FISH, Hi-C. Карты Hi-C. Хромосомные территории. Топологически ассоциированные домены (ТАДы), хроматиновые компартменты. Уровни упаковки ДНК. Влияние трехмерной структуры хромосом на транскрипцию.

Регуляция активности участков генома с помощью некодирующей РНК на примере инактивации X-хромосомы.

Особенности эукариотической трансляции. Эукариотическая рибосома. Строение мРНК. Инициации трансляции, механизм сканирования. Полирибосомы. Терминация трансляции у эукариот. Биосинтез мембранных и внеклеточных белков. Сигнал-распознающая частица и транслокон. Гликозилирование белков.

Контроль стабильности мРНК в цитоплазме. Маскирование цитоплазматических мРНК. Деградация мРНК. Терминация без стоп-кодона и деградация такой мРНК. Р-тельца и стресс-гранулы в цитоплазме. РНК-интерференция: микро-РНК и короткие интерферирующие РНК. Нонсенс-опосредованная деградация мРНК.

## **Тема 7. Репликация**

Структура ДНК и механизм репликации. Консервативная, полуконсервативная и дисперсная модели репликации. Опыт Мезельсона и Сталя. Работы Корнберга по изучению репликации. Реакция синтеза ДНК.

Основные свойства репликативной машины. Разнообразие ДНК-полимераз. Общая характеристика ДНК-полимераз, активный центр, корректирующая активность. Необходимость в затравке. Праймирование у бактерий и у эукариот. Процессивность полимеразы, скользящий зажим. Установщик зажима.

Репликация по механизму катящегося кольца и тета-репликация. Репликативная вилка. Прерывистость репликации. Хеликаза, ее загрузка. Праймосома. Хеликаза архей и эукариот МСМ. Эукариотический загрузчик хеликазы. Реплисома. Белки, стабилизирующие одноцепочечную ДНК. Роль установщика зажима в организации реплисомы. Модель тромбона, объясняющая организацию репликативной вилки. Образование супервитков и борьба с ними. Удаление праймеров: работа ДНК-полимеразы I у *E.coli* и удаление праймеров у эукариот с помощью РНКазы H и путем



вытеснения цепи с образованием флэпа. Лигирование ника. Механизм работы лигазы. Разборка нуклеосом при репликации у эукариот.

Инициация репликации у бактерий. Ориджин репликации. Образование репликативного пузырька с помощью олигомеризации белков DnaA. Ограничение (секвестирование) работы ориджинов. Образование катенанов и их разрешение при репликации и расхождении кольцевых хромосом в дочерние клетки.

Репликация у эукариот. Множественность ориджинов. Важность регуляции работы ориджинов. Загрузка хеликазы МСМ на ДНК. Активация хеликазы дополнительными белками Cdc45 и GINS. Место в клеточном цикле событий загрузки и активации хеликазы. Контроль запуска этих событий с помощью уровня циклин-зависимой киназы. Особенности инициации репликации у эукариот. Влияние пространственной структуры генома на тайминг репликации его частей.

Проблема недорепликации концов линейных хромосом. Теломераза, механизм удлинения теломер. Удлинение теломер с помощью транспозонов у дрозофилы.

Репликация через повреждения ДНК. SOS-система бактерий: биологический смысл работы этой системы. Роль белка RecA. Гены, активирующиеся этой системой. ДНК-полимеразы IV и V. Модель скотосбрасывателя, иллюстрирующая работу этих полимераз. Синтез ДНК через повреждения у эукариот с участием специальных ДНК-полимераз.

## **Тема 8. Рекомбинация и репарация**

Важность исправления повреждений и ошибок в ДНК. Разница между понятиями «повреждения ДНК» и «мутации». Основные источники мутаций. Таутомерные формы азотистых оснований как причина ошибок репликации. Спонтанный гидролиз в нуклеотидах. Окисление азотистых оснований активными формами кислорода. Алкилирование азотистых оснований. Образование тиминовых димеров.

Прямое уделение повреждений. Белок MGMT. Фототиаза. Эксцизия оснований (BER). ДНК-гликозилазы. Эксцизия нуклеотидов (NER), общая и спаренная с транскрипцией. Эксцизия нуклеотидов у *E.coli* (белки UvrA-D) и у млекопитающих (белки CS и XP).

Репарация неспаренных оснований (MMR). Основная задача системы MMR. Белки MutS, L, H. Роль метилирования в распознавании дочерней цепи ДНК у *E.coli*. MMR у эукариот: 5'-MMR и 3'-MMR. Роль ошибочно вставляемых рибонуклеотидов и роль скользящего зажима PCNA в распознавании дочерней цепи ДНК.

Причины образования двуцепочечных разрывов (ДЦР) ДНК. Возникновение разорванного конца при репликации. Регрессия репликативной вилки. Структура Холлидея, миграция ветвей. Пути репарации ДЦР и их место в клеточном цикле.

Негомологичное соединение концов разрыва (NHEJ). Репарация, направляемая гомологией (рекомбинация): процессинг концов разрыва, поиск гомолога, D-петля. Синтез-зависимый отжиг цепи (SDSA). Образование двойной структуры Холлидея, «растворение» (dissolution) и разрешение (resolution). Кроссоверные и некроссоверные продукты рекомбинации. Гетеродуплексы и мисматчи. Белки рекомбинации у *E.coli*: комплекс RecBCD, RecA, комплекс RuvABC. Белки рекомбинации у эукариот: MRN, BRCA1/2, Rad51. Начальные стадии репарации ДЦР: привлечение комплекса MRN, работа киназы ATM, фосфорилирование гистона H2A.X.

Рекомбинация, как центральное событие мейоза. Запуск мейотической рекомбинации. Комплекс Spo11. Сравнение мейотической рекомбинации и репарации ДЦР по пути рекомбинации. V(D)J-рекомбинация. Отличие теломер хромосом от концов ДЦР. Хромосомные транслокации и их возможные последствия для организма.

## **Тема 9. Мобильные элементы и эволюция генома**

Эгоистичная ДНК. Самосплайсирующиеся интроны. Распространение интронов разных типов в группах организмов. Автосплайсинг интронов II группы. Автосплайсинг интронов I группы. Интеины. Хоуминг интронов группы I и интеинов. Хоуминг интронов группы II. Индукция хоуминга самосплайсирующихся интронов стрессом.

Классификация транспозонов. Прямые и обратные повторы. Автономные и неавтономные транспозоны. ДНК-транспозоны: дубликации целевого сайта и инвертированные повторы. Механизм перемещения. Причина образования прямых повторов. МІТЕ-элементы. Полинтонны, их филогенетическая связь с вирусами и плазидами. Особенности ДНК-полимеразы полинтоннов. Механизм перемещения полинтоннов. Хелитроны и их связь с другими мобильными генетическими элементами. Особенности репликации хелитронов. Механизм увеличения числа ДНК-транспозонов в геноме.

Ретротранспозоны, 2 класса. LTR-ретротранспозоны. Длинные концевые повторы (LTR). Белки, кодируемые LTR-ретротранспозонами. Филогенетическая связь с ретровирусами. Обратная транскрипция РНК LTR-ретротранспозонов, механизм образования LTR. Не-LTR ретротранспозоны: LINE, SINE, Alu-элементы. Строение не-LTR ретротранспозонов, механизм их перемещения по геному (транспозиции). Распространение разных типов транспозонов у млекопитающих. Активность транспозонов у современных организмов.

Эволюционное значение транспозонов. Влияние транспозонов на экспрессию генов. Развитие устойчивости к стрессу в популяции растений, опосредованное транспозицией. Перенос экзонов за счет рекомбинации. Захват экзона при перемещении транспозонов.

Структура генома. Уникальные и повторяющиеся последовательности. Сателлиты, перемежающиеся повторы, псевдогены и сегментные дубликации хромосом. Доля функциональных последовательностей в геноме. Распределение по геному разных типов последовательностей. Короткие повторы: причины появления, синдром Хантингтона. Псевдогены и процессированные псевдогены. Хромосомные аберрации, вызванные рекомбинацией по повторам.

Эволюция генома. Соотношение размера генома с числом белок-кодирующих последовательностей у вирусов, бактерий, одноклеточных и многоклеточных эукариот. Механизмы возникновения новых генов. Дубликации генов — образование генов-паралогов. Гомологичные гены: ортологи и паралоги. Полногеномные дубликации, тетраплоидизация и последующая дубликация. Отражение полногеномных дубликаций в эволюции Нох-генов. Появление генов с совершенно новыми функциями, определяющих общие свойства целого таксона.

## **Тема 10. Современные методы молекулярной биологии и геномной инженерии**

Аmplification ДНК. Молекулярное клонирование, эндонуклеазы рестрикции, рекомбинантные молекулы ДНК. Полимеразная цепная реакция: общий принцип. Детекция ПЦР-продукта в конечной точке: электрофорез ДНК. Детекция ПЦР-продукта в реальном времени: с помощью интеркалирующего красителя и с помощью гидролизуемой пробы (например, TaqMan). ПЦР с обратной транскрипцией.

Секвенирование ДНК. Секвенирование по Сэнгеру: метод обрыва цепи. Детекция результата с помощью электрофореза и использование ддНТФ с флуорофорами. Причина ограниченной длины прочтения при сэнгеровском секвенировании.

Проект «Геном человека». Метод дробовика и иерархическое секвенирование. Упорядочивание фрагментов методом ДНК-фингерпринтинга. Компания Celera Genomic. Метод полногеномного дробовика. Сборка генома из коротких прочтений. Парное секвенирование как инструмент облегчения сборки. Метод сборки генома, использовавшийся в компании Celera Genomic. Результат работы над проектом

международной научной коллаборации и компании Celera Genomic. Важность наличия доступной последовательности генома для науки и практических целей.

Секвенирование нового поколения. Общие принципы секвенирования второго поколения. Общая схема секвенирования на платформе Illumina. Подготовка библиотеки секвенирования: присоединение адаптеров. Образование кластеров. Секвенирование путем синтеза. Причина ограниченной длины ридов. Парное секвенирование на платформе Illumina. Преимущества секвенирования второго поколения. Глубина прочтения.

Секвенирование третьего поколения. Преимущество длинных прочтений при секвенировании. Принцип секвенирования SMRT на платформе Pacific Bioscience. Нанопоровое секвенирование Oxford Nanopore, общий принцип. Проблемы нанопорового секвенирования.

Обогащение библиотеки секвенирования. Многообразие применения секвенирования нового поколения. Анализ транскриптома.

Генная инженерия. Плазмидные векторы. Трансфекция эукариотических клеток: транзистентная и стабильная. Принципы редактирования генома. Нокаут и нок-ин генов. Типы программируемых нуклеаз. Принцип использования системы CRISPR/Cas как инструмента редактирования генома. Пример использования технологии редактирования генома: изучение функций HOX-генов с помощью нокаута системой CRISPR/Cas.

## 7. Фонд оценочных средств для оценивания результатов обучения по дисциплине:

### 7.1. Перечень оценочных средств

Компетенция	Результат обучения по дисциплине (модулю)	Оценочные средства
<b>ОПК-1.</b> Способен применять знание о разнообразии, развитии и эволюции биологических объектов различных уровней организации для решения профессиональных задач в полевых и лабораторных условиях, в том числе с привлечением современных методов структурной биологии, биоинформатики, математического и молекулярного моделирования; способен понимать значение биоразнообразия для устойчивости биосферы.	<b>Знает:</b> основные классы биологических макромолекул, их функции и пути образования  <b>Умеет:</b> анализировать современную научную информацию для адекватного планирования собственных исследований  <b>Владет навыками:</b> критически оценивать методы выделения, очистки и анализа биологических макромолекул и анализировать полученные с их помощью результаты;	Вопросы для текущей и промежуточной аттестации (ответ подразумевается в развернутой форме, без выбора ответа из списка готовых вариантов) Вопросы для оценки навыков и умений
<b>ОПК-2.</b> Способен планировать и проводить биологические	<b>Знает:</b> основные экспериментальные способы выделения биологических	Вопросы для текущей и промежуточной аттестации (ответ

<p>эксперименты, наблюдение, описание, идентификацию, классификацию и культивирование биологических объектов, опираясь на знание их структурной и функциональной организации, механизмов жизнедеятельности, используя современное оборудование, информационные технологии и профессиональные базы данных, физико-химические методы и методы моделирования, соблюдая требования биоэтики, техники безопасности и информационной безопасности</p>	<p>макромолекул из живых организмов и их анализа</p> <p><b>Умеет:</b> выделять биологические макромолекулы из живых организмов и анализировать их</p> <p><b>Владеет навыками:</b> выбирать методы выделения биологических макромолекул из живых организмов и их анализа, наиболее пригодные для решения конкретных экспериментальных задач</p>	<p>подразумевается в развернутой форме, без выбора ответа из списка готовых вариантов) Вопросы для оценки навыков и умений</p>
---	--	--

## 7.2. Типовые задания и иные материалы, необходимые для оценки результатов обучения

### *Образцы вопросов промежуточной аттестации*

1. ДНК как носитель генетической информации: нуклеотиды, пространственная структура ДНК, связи нуклеотидов между собой и их взаимодействие с белками. Особенности ДНК по сравнению с РНК, делающие ее более предпочтительной для хранения информации в клетке.
2. Пространственные структуры, образуемые молекулами РНК. Недостатки РНК как носителя генетической информации. Гипотеза об РНК-мире. Многообразие функций РНК в клетке.
3. Пространственная структура белков. Основная цепь и боковые группы полипептида. Вторичные структуры: альфа-спираль и бета-слой. Третичная структура: вклад разных типов взаимодействий атомов в ее формирование. Доменная и четвертичная структуры белков, примеры.
4. Белки как катализаторы реакций в клетке, преимущества белков перед РНК в этой роли. Переходное состояние реакции и энергетический профиль реакции. Сопряжение реакций ферментами. Обеспечение необратимости синтеза нуклеиновых кислот. Обеспечение специфичности ферментов. Важность жесткой структуры активного центра фермента.
5. Фолдинг глобулярных белков. Эксперимент Anfinsen. Парадокс Левинталя и путь сворачивания белка. Шапероны, механизмы их работы. Дегградация белков в клетке. Причины структурного сходства белков, выполняющих разные функции.
6. Центральная догма молекулярной биологии. Генетический код, его основные свойства. Адаптерная гипотеза, тРНК и ее пространственная структура. Wobble-

гипотеза Крика: модификации нуклеотидов антикодона, возможные взаимодействия в третьем положении кодона — первом положении антикодона.

7. Аминоацилирование тРНК. Активация аминокислоты и перенос аминокислоты на тРНК. Аминоацил-тРНК синтетазы. Роль аминокислот-тРНК синтетаз в правильном выполнении генетического кода и сопряжении процессов соединения аминокислот и гидролиза АТФ.

8. Основные отличия экспрессии генов у прокариот и эукариот. Общие принципы транскрипции. Реакция, осуществляемая РНК-полимеразой. Асимметричность транскрипции. Промотор и терминатор. Важность регуляции транскрипции.

9. Бактериальная РНК-полимераза: холофермент и апофермент. Функции сигма-субъединицы. Бактериальный промотор. Инициация транскрипции и элонгация транскрипции у бактерий. Терминация транскрипции: внутренняя и ро-зависимая. Оперонная структура. Сопряженность транскрипции и трансляции у прокариот.

10. Основные принципы регуляции транскрипции у прокариот. Регуляция работы лактозного оперона и триптофанового оперона.

11. Основные компоненты системы трансляции. Рабочий цикл рибосом. Сравнение инициации трансляции у прокариот и эукариот. Элонгационный цикл трансляции.

12. Терминация трансляции у эукариот. Полирибосомы. Биосинтез мембранных и внеклеточных белков. Сигнал-распознающая частица и транслокон. Гликозилирование белков в ЭПР. Деградация мРНК в цитоплазме.

13. Плотность записи информации в геноме одноклеточных и многоклеточных организмов. Молекулярно-генетические особенности эукариот, связанные с их происхождением. Хроматин. Нуклеосомы. Гистоновые белки, их варианты и модификации.

14. РНК-полимеразы эукариот. Факторы транскрипции. Цис- и транс-регуляция работы гена. Тканеспецифичные гены и гены домашнего хозяйства. Цис-элементы, необходимые для работы канонического промотора РНК-полимеразы II: коровый и проксимальный промоторы, энхансер. Общие факторы транскрипции и белки-коактиваторы транскрипции.

15. Инициация транскрипции РНК-полимеразой II. Сборка общих факторов транскрипции на промоторе. Фактор TFIID, TATA-связывающий белок (ТВР). Фактор TFIIF и плавление ДНК. С-терминальный домен РНК-полимеразы II.

16. Важность регуляции экспрессии генов для многоклеточных организмов. Тканеспецифичные гены и гены домашнего хозяйства. CpG-островки. Механизм влияния энхансера на транскрипцию. Роль регуляторных элементов в эволюции.

17. Кэпирование мРНК. Сплайсинг. Общий механизм сплайсосомального вырезания интронов, роль РНК в этом процессе. Возникновение сплайсосомы у эукариот. Альтернативный сплайсинг.

18. Сопряженность транскрипции и процессинга мРНК. Роль С-терминального домена РНК-полимеразы II. Полиаденилирование и терминация транскрипции.

19. Механизм влияния энхансера на транскрипцию. Транскрипционные факторы. Морфогены. Комбинаторный принцип контроля транскрипции.

20. Эухроматин и гетерохроматин. Ацетилирование гистонов. Метилирование ДНК и репрессия генов. Метилирование гистонов и распространение гетерохроматина. Сохранение эпигенетических меток после репликации.

21. Упаковка ДНК. Нуклеосомы. 10-нм нить, хроматиновые домены, хромосомные территории. Влияние трехмерной структуры хромосом на транскрипцию. Инсуляторы.

22. Принципы репликации. Реакция синтеза ДНК. Общая характеристика ДНК-полимераз. Консервативная, полуконсервативная и дисперсная модели репликации. Праймирование и удаление праймеров у бактерий и у эукариот. Лигирование ника.

23. Репликативная вилка. Прерывистость репликации. Хеликаза зубактерий, хеликаза эукариот МСМ. Белки, стабилизирующие одноцепочечную ДНК. Процессивность полимеразы, скользящий зажим. Установщик зажима. Образование супервитков и борьба с ними. Топоизомеразы. Репликация и нуклеосомы.
24. Инициация репликации у бактерий. Ориджин репликации. Образование репликативного пузырька с помощью олигомеризации белков DnaA. Загрузка хеликазы на ДНК. Контроль инициации репликации.
25. Репликация у эукариот. Множественность ориджинов. Важность регуляции работы ориджинов. Загрузка хеликазы МСМ на ДНК и ее активация. Место в клеточном цикле событий загрузки и активации хеликазы. Контроль запуска этих событий с помощью уровня циклин-зависимой киназы.
26. Основные источники повреждений ДНК. Спонтанный гидролиз в нуклеотидах. Окисление азотистых оснований активными формами кислорода. Алкилирование азотистых оснований. Образование тиминовых димеров. Прямое уделение повреждений.
27. Важность исправления повреждений и ошибок в ДНК. Эксцизия оснований (BER). Эксцизия нуклеотидов (NER), общая и спаренная с транскрипцией.
28. Причины образования неспаренных оснований ДНК и их репарация (MMR). Основная задача системы MMR. Роль метилирования в распознавании дочерней цепи ДНК у бактерий. MMR у эукариот. Роль ошибочно вставляемых рибонуклеотидов в распознавании дочерней цепи ДНК.
29. Причины образования двуцепочечных разрывов (ДЦР) ДНК. Пути репарации ДЦР в зависимости от стадии клеточного цикла. Негомологичное соединение концов (NHEJ). Опасность ошибок репарации ДЦР.
30. Репарация, направляемая гомологией (рекомбинация). Структура Холлидея и пути ее разрешения в клетке. Рекомбинация как центральное событие мейоза. Запуск мейотической рекомбинации. Сравнение мейотической рекомбинации и репарации ДЦР по пути рекомбинации.
31. Эгоистичная ДНК. Самосплайсирующиеся интроны. Механизмы автосплайсинга интронов I и II групп. Механизмы их хоуминга. Эволюционное значение самосплайсирующихся интронов.
32. Классификация транспозонов. Прямые и обратные повторы на концах транспозонов. Автономные и неавтономные транспозоны. ДНК-транспозоны эукариот. Дубликации целевого сайта и инвертированные повторы. Механизм увеличения числа ДНК-транспозонов в геноме. Эволюционное значение.
33. Ретротранспозоны. LTR-ретротранспозоны. Длинные концевые повторы (LTR). Белки, кодируемые LTR-ретротранспозонами. Связь с ретровирусами. Не-LTR ретротранспозоны: LINE, SINE. Строение не-LTR ретротранспозонов. Эволюционное значение ретротранспозонов.
34. Уникальные и повторяющиеся последовательности в геноме. Сателлиты, перемежающиеся повторы, псевдогены и сегментные дубликации хромосом. Соотношение размера генома и числа белок-кодирующих последовательностей у разных групп организмов. Возникновение новых генов путем дубликации. Гомологичные гены: ортологи и паралоги. Полногеномные дубликации в филогенезе позвоночных животных.

### ***Образцы вопросов для оценки навыков и умений***

1. Перечислите известные вам интернет-ресурсы для поиска актуальной научной литературы по молекулярной биологии.

2. Предложите метод выделения малых РНК из клетки, не подразумевающий совыделения ДНК, основанный на разнице в физико-химических свойствах РНК и ДНК.
3. Приведите примеры растворителей, в которых нерастворимы нуклеиновые кислоты. Предложите экспериментальный способ осаждения нуклеиновых кислот из водного раствора.
4. Каким образом можно выделить из живого организма белок в нативном (неденатурированном) виде?
5. Какими методами можно оценить количество нуклеиновой кислоты и ее молекулярную массу *in vitro*?
6. Какими методами можно оценить количество белка и его молекулярную массу *in vitro*?
7. Расположите три формы одной и той же молекулы ДНК – суперскрученная, релаксированная, линейная – в порядке возрастания электрофоретической подвижности.
8. Из каких компонентов должна состоять система транскрипции *in vitro*?
9. Какие метчики можно включить в состав синтезируемой *in vitro* нуклеиновой кислоты? Как это сделать технически?
10. Какие метчики можно включить в состав синтезируемого *in vitro* белка? Как это сделать технически?
11. Предложите способы детекции фрагмента нуклеиновой кислоты известного нуклеотидного состава в живой клетке.
12. Предложите способы детекции белка известного аминокислотного состава в живой клетке.
13. Предложите способы выделения ассоциированных рибосом из живой клетки.
14. Какими способами можно внести направленные изменения в нуклеотидный состав ДНК *in vitro*?
15. Какими способами можно внести направленные изменения в нуклеотидный состав ДНК в живой клетке?
16. Какую технологию геномного редактирования вы выберете для осуществления генной дизрупции?
17. Какими методами можно убедиться в успешном прохождении генной дизрупции в живой клетке?
18. Опишите возможные проблемы гетерологической экспрессии эукариотического гена в прокариотическом организме и практические пути их преодоления.
19. Опишите возможные проблемы гетерологической экспрессии прокариотического гена в эукариотическом организме и практические пути их преодоления.
20. Используются ли методы секвенирования следующего поколения для определения нуклеотидного состава продуктов стандартного молекулярного клонирования? Обоснуйте ответ.

### 7.3. Описание критериев и шкал оценивания

Описание критериев оценивания выполнения задания

Показатель	Баллы
Студент выполняет менее 50% задания	0-20
Задание студент выполняет все или большей частью, есть отдельные неточности, способен при направляющих вопросах исправить допущенные неточности	21-32
Задание выполнено студентом правильно, самостоятельно в полном объеме	33-40

## Шкала оценивания сформированности компетенций

Уровень сформированности компетенции	Баллы	Оценка в 5-ти балльной шкале
Недостаточный	Менее 20	неудовлетворительно
Базовый	20-26	удовлетворительно
Высокий (повышенный)	27-32	хорошо
Продвинутый (повышенный)	33-40	отлично

<b>ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ результатов обучения по дисциплине (модулю)</b>				
(*оценка сформированности компетенций дается в соответствии со шкалой выше)				
Оценка Рез-т обучения	<b>2 (не зачтено)</b>	<b>3 (зачтено)</b>	<b>4 (зачтено)</b>	<b>5 (зачтено)</b>
Знания (приведены в п.3.)	Отсутствие знаний	Фрагментарные знания	Общие, но не структурированные знания	Сформированные систематические знания
Умения (приведены в п.3.)	Отсутствие умений	В целом успешное, но не систематическое умение	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение (допускает неточности непринципиального характера)	Успешное и систематическое умение
Навыки /владения/опыт деятельности (приведены в п.3.)	Отсутствие навыков (владений, опыта деятельности)	Наличие отдельных навыков	В целом, сформированные навыки (владения), но используемые не в активной форме	Сформированные навыки (владения), применяемые при решении задач

## 8. Ресурсное обеспечение

### 8.1. Перечень основной и дополнительной учебной литературы

*Основная литература:*

1. Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис. Молекулярная биология клетки. М., Мир.
2. Спирин А.С. Структура рибосомы и биосинтез белка. М., Academia

*Дополнительная литература:*

1. Разин С.В., Быстрицкий А.А. Хроматин: упакованный геном. М., Бином
2. Дж. Уилсон, Т. Хант. Молекулярная биология клетки. Сборник задач. М., Мир.

### 8.2. Перечень лицензионного и(или) свободно распространяемого программного обеспечения, в том числе отечественного производства

1. Яндекс Браузер
2. Libre Office
3. Adobe Acrobat Reader



### **8.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»**

1. Журналы и библиографические базы данных, доступные через Интернет  
<http://www.elibrary.ru>
2. Журналы и библиографические базы данных, доступные через Интернет  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

### **8.4. Описание материально-технической базы**

Для освоения дисциплины требуется свободный доступ к сети Интернет, а также:

- Аудитории для проведения лекционных и семинарских занятий, текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации
  - А. Помещения: аудитория для проведения лекционных занятий, текущего контроля и промежуточной аттестации: учебная аудитория филиала МГУ в г. Грозном;
  - Б. Оборудование: наборы ученической мебели, рабочее место преподавателя, ученическая доска, компьютер, проектор, экран, доска.

### **9. Язык преподавания**

Русский.

### **10. Преподаватели**

Ломов Николай Андреевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник каф. молекулярной биологии биологического факультета МГУ.

### **11. Авторы программы**

Ломов Николай Андреевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник каф. молекулярной биологии биологического факультета МГУ.