



Программа курса «Молекулярная биология» для группы 10-профи

АМИНОКИСЛОТЫ, БЕЛКИ, НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Какие аминокислоты входят в состав белков. Классы аминокислот. Как заряд аминокислот зависит от pH. Уровни организации белковой молекулы. Первичная структура. Вторичная структура: что заставляет полипептидную цепочку принимать ее, и что ограничивает количество таких структур. Водородные связи. Ван-дер-Ваальсов радиус атомов. Как ограничена подвижность связей в пептидной цепочке. Карты Рамачандрана. Альфа-спираль и бета-слои. Третичная структура, что ее поддерживает. Доменная организация. Четвертичная структура. Фолдинг белка. Шапероны.

Посттрансляционные модификации. Фосфорилирование, убиквитинилирование, сумоилирование, поли(АДФрибозил)ирование, метилирование, ацетилирование.

Конформации рибозы. Азотистые основания. Пурины и пиримидины. Уотсон-криковские и Хугстиновские взаимодействия. Роль стэкинг-взаимодействий. Причины образования двойной спирали. Антипараллельность цепей, большая и малая бороздки. Формы ДНК-спирали: А, В, Z. Триплексы и квадруплексы.

РНК: гидролиз, элементы вторичной структуры РНК: квадруплекс, А-минорное взаимодействие, рибозная застежка, псевдоузел, тетрапетля.

Принцип работы полимераз. Точность полимераз. Почему синтез идет от 5' к 3' концу.

Топология ДНК. Число зацеплений, число витков, супервитки. Знак супервитков (положительные и отрицательные). Плектонемные и тороидальные супервитки. Поведение ДНК при изменении числа зацеплений. Топоизомеразы 1 и 2 типа. Принцип работы. Гириза прокариот. Обратная гириза термофилов.

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Рибосомы. Большая и малая субъединицы. Синтез рРНК у прокариот и эукариот. Сборка рибосом у эукариот. тРНК: особенности первичной, вторичной структур, формирование третичной структуры. Процессинг тРНК.

Аминоацилирование. Механизм реакции. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Распознавание тРНК и аминокислот АРСазой: модель сита.

Элонгационный цикл. Связывание аминоацил-тРНК. Фактор EF1A (EF-Tu). Проверка правильности связывания. Транспептидация. Транслокация, фактор EF2 (EF-G). Роль фактора EF1B (EF-Ts). Инициация. У прокариот: RBS, формилметионил-тРНК. Факторы инициации. Регуляции инициации трансляции. Инициация трансляции мРНК рибосомных белков. Эукариоты: роль кэпа, поли(А)-хвоста, механизм сканирования, факторы инициации. IRES. Терминация трансляции. Факторы терминации RF. Молекулярная мимикрия факторов трансляции и аминоацил-тРНК.

Воббл-гипотеза Крика. Идеальный генетический код. Включение селеноцистеина в пептид. Транспортно-матричная РНК у прокариот и non-stop decay эукариот. Синтез белка на ЭПР, SRP.

ТРАНСКРИПЦИЯ У ПРОКАРИОТ

Транскрипция у прокариот. Оперон. РНК-полимераза: сигма-фактор и кор-фермент, реакция, осуществляемая полимеразой. Принцип движения полимеразы. Особенности промотора. Последовательность событий при инициации. Abortивный синтез. Активности полимеразы в процессе элонгации. Обратный ход полимеразы. Терминация: ро-зависимая и ро-независимая.

Регуляция работы оперона. Регуляция профиля экспрессии генов путем смены сигма-факторов в клетке. Лактозный оперон: негативная индукция и позитивная регуляция. Доминантные и рецессивные мутации. Регуляция при участии нетранслируемых областей РНК. Триптофановый оперон. Атенуация. Рибопереключатели: мРНК оперона, отвечающего за синтез TPP, мРНК аминоацил-тРНК синтетазы.

Молекулярный термометр у мРНК сигма-фактора генов белков теплового шока. Антитерминация.

ТРАНСКРИПЦИЯ И ПРОЦЕССИНГ У ЭУКАРИОТ

Три типа эукариотических полимераз. Транскрипционные факторы, цис- и трансрегуляторные элементы. Промотор. Сборка инициаторного комплекса. Узнавание ДНК. Узнающие домены – цинковые пальцы, гомеодомены, лейциновая молния.

Процессинг РНК и связь с транскрипцией. С-концевой домен (CTD) полимеразы. Транскрипционные паузы. Кэпирование и функции кэпа. Сплайсинг: 3 типа сплайсинга. Общий механизм обычного сплайсинга. Структура лассо. Детальный механизм: роль малых ядерных РНК. Альтернативный сплайсинг. Ген DSCAM. Механизмы регуляции альтернативного сплайсинга. Сходство автосплайсинга II типа с обычным сплайсингом. Автосплайсинг I типа. Редактирование РНК. Полиаденилирование и терминация транскрипции. Аллостерическая модель и модель торпеды. Поли(А)-хвост. Альтернативное полиаденилирование. Промоторы полимераз I и III и механизмы инициации транскрипции с них. Деградация мРНК.

ХРОМАТИН

Иерархическая модель упаковки ДНК. Нуклеосомный уровень, гистоны, сборка нуклеосомы, модификации хвостов гистонов, гистоновый код, гистон H1. Вариантные формы гистонов. Отличия в экспрессии канонических гистонов и вариантных форм. 10-нм фибрилла. Хроматиновые домены. Ремоделирование хроматина.

Активный хроматин: ацетилирование гистонов и гиперчувствительность к нуклеазам. Ацетилирование. Распространение по хроматину. Следствия ацетилирования нуклеосом. Неактивный хроматин. Метилирование ДНК. CpG-островки. Превращение активного хроматина в неактивный. Распространение неактивного хроматина.

Связь временной дезактивации или активации гена и формирования хроматиновых доменов определенного типа. Роль в дифференцировке клеток.

Внутреннее устройство ядра. Ядерный матрикс. Метод FISH. Хромосомные территории. Hi-C метод, анализ Hi-C библиотек. Модель укладки генома. ТАДы и регуляция экспрессии генов. Инсуляторы. Когезин и CTCF.

РЕПЛИКАЦИЯ

Общая схема репликативной вилки. Хеликаза DnaB и ее загрузка. Хеликаза MCM и ее активация. Белки, стабилизирующие ssDNA. Праймирование у прокариот и эукариот. Праймирование у ретровирусов. ДНК-полимераза и ее активности. Процессивность полимеразы. Скользящий зажим. Установщик зажима. Модель тромбона. Удаление праймеров у прокариот и эукариот: особенности ДНК-полимеразы I, механизм вытеснения праймера у эукариот. Лигирование ника.

Инициация репликации. Ориджин прокариот, ограничение активности dnaA и ограничение активности Ori. Терминация репликации у бактерий. ARS дрожжей. Цикл репликативного комплекса ORC. Ранне- и поздне-реплицирующиеся области генома у высших эукариот, и почему нет точных мест начала репликации. Структура теломер. Проблема недорепликации концов хромосом. Теломераза.

РЕПАРАЦИЯ

Повреждения ДНК: гидролиз, дезаминирование, таутомерия, алкилирование, тиминовые димеры. Прямое удаление повреждений: MGMT, AlkB, фотолиаза. Эксцизионные пути. BER у прокариот и эукариот. RER (эксцизия нуклеотидов). NER у прокариот и эукариот. Транскрипцией опосредованная репарация. Мисматч-репарация.

SOS-система: LexA, неточные полимеразы, модель скотосбрасывателя.

Репарация двуцепочечных разрывов: направляемая гомологией репарация (HDR), негомологичное соединение концов (NHEJ). Структура Холлидея и разрешение. Отличия гомологической рекомбинации, происходящей в соматических клетках и в гаметах.

ЛИТЕРАТУРА

James D. Watson, Tania A. Baker, Stephen P. Bell, Alexander Gann, Michael Levine, Richard Losick Molecular Biology of the Gene, 2013

Льюин Б. "Гены"

Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. "Молекулярная биология клетки"

Уилсон Дж., Хант Т. "Молекулярная биология клетки: Сборник задач"