**Программа курса**

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ**

**Введение**.

**Определение предмета молекулярной биологии**. Взаимосвязь с естественнонаучными дисциплинами – физикой, химией и биологией. История возникновения и развития молекулярной биологии. Основные открытия. Молекулярная биология сегодня, её влияние на отрасли человеческой деятельности.

Молекулярная генетика. Общая схема строения и функционирования наследственного аппарата.

**Молекулярно-биологические методы изучения генома (краткий обзор**). Методы эстрагирования нуклеиновых кислот. Электрофорез в ПААГ и агарозном гелях. Полимеразная цепная реакция. Рестрикционный анализ. Молекулярное мечение. Гибридизация. Секвенирование ДНК. Создание баз данных нуклеотидных последовательностей.

**1. Молекулы генетического аппарата**

**1.1. Структура и свойства нуклеиновых кислот**

Экспериментальные доказательства генетической роли нуклеиновых кислот. Опыты по трансформации пневмококков Ф. Гриффита, эксперимент с бактериофагом А. Херши и М. Чейз, опыты Френкеля-Конрата с вирусом табачной мозаики. Локализация нуклеиновых кислот в прокариотической и эукариотическок клетках.

Структура нуклеиновых кислот. Химический состав ДНК и РНК. Нуклеотиды – мономеры нуклеиновых кислот. Нуклеозиды. Пуриновые и пиримидиновые азотистые основания. Основные и минорные нуклетиды. Полинуклеотидная цепь - первичная структура нуклеиновых кислот. Фосфодиэфирные связи и сахарофосфатный остов.

Макромолекулярная структура ДНК. Модель ДНК Уотсона и Крика и предпосылки её создания. Правила Чаргаффа. Вторичая (спиральная) структура ДНК. Принципы строения ДНК (комплементарность, антипараллельность, регулярная вторичная структкра). Параметры ДНК. Межцепочечные и внутрицепочечные (стэкинг) взаимодействия в ДНК. Конформационные формы ДНК (B, A, C, D, E). Неканонические формы ДНК (Z, H, кресты, P).

Третичная структура ДНК. Размеры молекул ДНК Разнообразие форм ДНК. Свойства кольцевых ковалентно замкнутых ДНК. Явление суперспирализации ДНК. Топоизомеразы I и II типа про- и эукариот, их биологические функции. Бактериальные ДНК-гиразы.

Денатурация и ренатурация ДНК.  Плавление двойной спирали. Гипохромный эффект. Функции ДНК.

Особенности структуры РНК. Первичная, вторичная, третичная структура РНК. Виды РНК, их функции.

**1. 2. Структура и свойства белков.**

Классификация аминокислот. Первичная структура белка. Пептидная связь, полипептид. Вторичная структура белка. Альфа-спираль и бета-складчатая структура. Третичная и четвертичная структура белка. Глобулярные и фибриллярные белки. Денатурация и ренатурация белков. Основные биологические функции белков. Белки ферменты. Регуляторная и рецепторная функции белков.

**2. Организация генома**

Определение генома. Структурная организация генома как фундаментальный таксономический признак, лежащий в основе систематики живых организмов. Надцарства прокариот и эукариот.

**Геном прокариот.** Характеристика геномной ДНК. Компактность генома бактерий. Нуклеоид. Компактизация ДНК бактерий. Суперспирализованные петли нуклеоида. ДНК-связывающие белки петель, структура и функции. Роль доменной организации в функционировании бактериального генома. Особенности генома архебактерий. Внехромосомные элементы – плазмиды.

**Геном эукариот.** Основные свойства генома эукариот: избыточность, компактность, компартментализация и нестабильность. Отличия генома эукариот от генома прокариот. Плнятие о хроматине, хромосомах, кариотипе, гаплоидном и диплоидном наборах хромосом.

Структурные элементы генома: сателлитная ДНК, умеренно повторяющиеся и уникальные последовательности. Сателлитные ДНК: организация, роль в организации и функционировании хромосом эукариотов. Структурные и регуляторные участки генома. Некодирующие последовательности. Диспергированные повторяющиеся последовательности. Гены "домашнего хозяйства" и гены "роскоши". Экзон-интронная структура генов.

Компактность геном эукариот. Структура хроматина. Основные компоненты хроматина (ДНК, гистоны, негистоновые белки, РНК): структура и функции. Эухроматин и гетерохроматин. Конститутивный и факультативный гетерохроматин. Уровни компактизации ДНК. Гистоны: особенности химической структуры, фракции, роль в компактизации хроматина и регуляции метаболизма ДНК.

Концепция нуклеосомной организации ДНК в хроматине. Кор нуклеосомы, нуклеосома. Структура соленоида. Высшие уровни организации хроматина: доменно-петлевой (60—80 нм) и фибрилла 100—130 нм, интерфазный хроматин, хромосома. Хромомеры. Роль MAR/SAR-последовательностей в компактизации и регуляции функциональной активности хроматина. Негистоновые белки хроматина.

Геномы клеточных органелл – митохондрий и пластид. Координация работы геномов ядра и органелл. Особенности генетического кода, транскрипционной и трансляционной систем митохондрий и пластид. Цитоплазматическая наследственность. Возможные пути эволюции митохондриального генома.

Варианты организации генома **вирусов**.

**3.1. Репликация ДНК**

Принципы репликации ДНК. Доказательства полуконсервативного способа репликации ДНК (эксперимент Мезельсона и Сталя).

**Репликация ДНК у прокариот.** Ферментативный аппарат и вспомогательные белки репликации. Ферментативная система синтеза ДНК *in vitro.* ДНК-полимеразы прокариот (I, II, III). Понятие о процессивности ДНК-полимераз. Точность синтеза ДНК и репаративные функции ДНК-полимераз.

Белки, участвующие в репликации. Геликазы, SSB-белки, топоизомеразы. Понятие о катенанах. Праймаза. Понятие о затравке. Праймосома и белки препрайминга. ДНК-лигазы. Реплисома.

Схема непрерывной антипараллельной репликации Корнберга. Схема прерывистой антипараллельной репликации Оказаки. Лидирующая и запаздывающая цепи.

Регуляция инициации репликации у *E.соli.* Инициация репликации. Структура участка старта репликации (origin, ori). Репликатор. Белок DnaA. Роль метилирования ДНК в инициации репликации Понятие о репликоне. Вилка репликации, последовательность процессов и механизм действия ферментов в вилке репликации. Терминация репликации у бактерий: последовательности ter и белок TUS, их роль в терминации. Топологические проблемы репликации.

**Особенности репликации ДНК у эукариот.** Полирепликонный характер репликации. Ориджины репликации у эукариот: ARS и другие ориджины. Комплекс ORC и инициация репликации. ДНК-полимеразы эукариот (a, b, g, d, e, x).

Проблема репликации линейных молекул ДНК. Особенности структуры теломер хромосом тетрахимены и млекопитающих. Оверхенги. Теломераза, ее РНК-компонент. Репрессия теломеразы и старение клеток в культуре (предел Хейфлика).

Пространственная организация репликативного синтеза у эукариот. Белки, RP-A, PCNA. Понятие о сегрегации эукариотических хромосом при делении клеток. Аппарат веретена деления, кинетохора, центромера.

Место репликации в клеточном цикле, взаимосвязь с процессами деления клеток. Молекулярные механизмы, координирующие клеточный цикл и репликацию ДНК. Понятие о “сверочных точках” (checkpoints). Циклины и протеинкиназы, а также их ингибиторы. Понятие о пролиферативных сигналах, генах раннего и позднего ответа.

**3.2. Репарация генетических повреждений**

Классификация генных мутаций. Основные причины мутаций. Понятие о предмутацинном состоянии. Агенты, повреждающие ДНК. Механизмы защиты генома от мутаций. Классификация типов репарации.

Прямое исправление повреждений. Система ферментативной фотореактивации: устранение тиминовых димеров фотолиазой. Репарация и метилированного гуанина, участие метилтрансфераз и оксидоредуктаз. Репарация однонитевых разрывов ДНК с участием ДНК-полинуклеотидлигазы. Репарация АП-сайтов за счет прямой вставки пуринов инсертазами.

Эксцизионная репарация оснований. Гликозилазы. Вырезание (эксцизия) поврежденных нуклеотидов.

Эксцизионная репарация нуклеотидов. Эксцизионная нуклеаза.

Репарация неспаренных оснований (mismatch репарация). Выбор репарируемой нити ДНК. ДНК-метилазы.

Пострепликативная репарация. SOS-репарация. Представление об “адаптивных мутациях” у бактерий.

**3.3. Генетическая рекомбинация**

Биологические процессы, приводящие к генетической рекомбинации. Понятие об общей (гомологичной) и негомологичной рекомбинации. Основные последствия рекомбинационных перестроек.

Гомологичная рекомбинация. Модель кроссинговера, предложенная Холлидеем. «Полухиазма» Холлидея, миграция ветвления, гетеродуплексы, изомеризация гетеродуплексов, разрешение структур Холлидея (ферменты). Понятие о конверсии гена.

Молекулярный механизм рекомбинации у у Е.соli. Понятие о коньюгации и трансдукции. RесА-белок. RесВCD комплекс. Пресинаптический филамент, D-петля. Обмен нитями при синапсе. Особенности миграции ветвления. RecBCD-нуклеаза.

Негомологичная рекомбинация. Различия молекулярных механизмов гомологичной и негомологичной рекомбинации.

Сайт-специфическая рекомбинация. Типы хромосомных перестроек, осуществляемых при сайт-специфичной рекомбинации. Интеграза. Роль в регуляции активности генов.

Транспозиции. Подвижные элементы геномов про- и эукариот. IS-последовательности, их структура. Транспозоны бактерий. Транспозаза Понятие о ретротранспозонах. Нерепликативный и репликативный механизмы транспозиции. Интеграза и резольваза и их роль в транспозициях. Представление о горизонтальном переносе транспозонов.

Незаконная рекомбинация, генетические последствия.

**3. 4. Реализация наследственной информации**

**3.4.1. Транскрипция**

Транскрипция — первый этап реализации генетической информации (экспрессии генов). Принципы транскрипции.

**Транскрипция у прокариот**. Понятие об опероне. Структура оперона. Строение промотора E. coli, регуляторная функция промотора.

РНК-полимераза E.coli. Holo- и Core- фермент. Разнообразие сигма-факторов. Ингибиторы РНК-полимеразы — рифампицин и стрептолидигин.

Основные этапы транскрипции (преинициация, инициация, элонгация и терминация). Закрытый и открытый комплексы РНК-полимеразы с матрицей. Строение транскрипционного «пузырька». r-зависимая и r-независимая терминация. Особенности структуры терминаторов транскрипции.

Регуляция транскрипции у прокариот. Негативная и позитивная регуляция. Индукция и репрессия.. Регуляторные белки (активаторы и репрессоры), индукторы (ко-активаторы) и ко-репрессоры. Лактозный оперон E. coli. Триптофановый оперон E. coli.

Строение аттенуатора. Последовательность Шайна-Дальгарно. Образование альтернативных структур аттенуатора, аттенуация с участием рибосом. Точность процесса транскрипции (в сравнении с репликацией ДНК).

**Особенности транскрипции у эукариот**. РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие полимераз в транскрипции разных клеточных РНК. РНК-полимераза IV растений.

Регуляция транскрипции у эукариот. Цис- и транс-регуляторные элементы. Промоторы, энхансеры (сайленсеры), инсуляторы. Коровый промотор. Промоторы, содержащие ТАТА-бокс и не содержащие ТАТА-бокс. Локализация промоторов и их специфичность во времени и пространстве. Базальные факторы транскрипции. Сборка преинициаторного комплекса (ПИК) напромоторе. Терминация транскрипции, её связь с процессингом 3’-конца РНК-транскрипта.

Локализация энхансеров, их модульное строение. Возможные механизмы действия энхансеров. Тканеспецифичность энхансеров. Модели, объясняющие взаимодействия промоторов, энхансеров (сайленсеров), инсуляторов. Принцип “дальнодействия” в регуляции транскрипции.

Роль структуры хроматина в регуляции транскрипции. Возможные варианты декомпактизации хроматина для обеспечения транскрипции. Метилирование как способ контроля активности генов эукариот.

**3.4.2. Обратная транскрипция**

Обратная транскрипция — синтез ДНК по матрице РНК. Открытие обратной транскрипции.

Особенности генома ретровирусов (на примере вируса саркомы птиц и ВИЧ). Гены и продукты их экспрессии, роль в обратной транскрипции и репродукции вирусов. РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза).

Этапы обратной транскрипции. Специфичность праймера. Образование провирусной ДНК, особенности её строения, проникновение в ядро и механизмы интеграции в геном хозяйской клетки. Транскрипция провирусной ДНК. Промоторы, энхансеры, терминаторы транскрипции. Сплайсинг образующихся транскриптов. Регуляция транскрипции.

Явление транспозиции. Открытие транспозиции у бактерий. Перемещающиеся (мобильные) элементы бактерий (IS, Tn, эписомы, m-подобные фаги), их характеристика, особенности. Функция транспозазы и резольвазы. Молекулярные механизмы транспозиции (репликативная и нерепликативная транспозиция).

**3.4.3. Процессинг**

**Процессинг у прокариот**. Полицистронная и моноцистронная мРНК. Полиаденилирование мРНК. Первичные транскрипты рРНК и тРНК, их процессинг. Специфичность нуклеаз процессинга (РНКаза III, эндонуклеаза М, экзо-3'-нуклеаза D, РНКаза Р).

**Процессинг у эукариот**. Прерывистое (экзон-интронное) строение эукариотических генов. Распространение экзон-интронного строения генов у прокариот, эукариот и вирусов. Сплайсинг.

Процессинг пре-мРНК. Гетерогенные ядерные РНК (гяРНК) и гяРНП. Кэпирование 5'-конца гяРНК. Полиаденилирование 3’-конца транскрипта.

Сплайсинг пре-мРНК. Механизм сплайсинга, роль инвариантного аденозина в этом процессе. Роль мяРНП и отдельных белков в сплайсинге гяРНК в бесклеточных системах. Сплайсосома. Конститутивный и альтернативный сплайсинг. Роль альтернативного сплайсинга в регуляции экспрессии генов.

Основные собенности процессинга рРНК и тРНК.

**Редактирование (эдитинг) РНК.** Редактирование пре-мРНК митохондрий трипаносомы. Обнаружение РНК-гидов (gRNA,guide RNA). Возможные механизмы инсерционного и делеционного редактирования. Редактирование пре-мРНК млекопитающих по механизму сайт-специфического дезаминирования аденозина. Роль редактирования РНК.

**3.4.4. Трансляция**

Трансляция – рибосомный синтез белка. Центральная догма молекулярной биологии и генетический код. История расшифровки генетического кода. Основные свойства кода.

Участники процесса трансляции: рибосомы, иРНК, тРНК, аминоацил-тРНК-синтетазы, их характеристика (структура и функции).

***Рибосомы***.  Локализация в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы. Морфология рибосом. Рибосомные РНК и рибосомные белки. Функциональные сайты рибосомы: сайты связывания аминоацил-тРНК, пептидил-тРНК и деацилированной тРНК (А-, Р-, Е-сайты); сайты связывания факторов элонгации трансляции (EF-Tu и EF-G), сайт выхода синтезированного белка. Роль рибосомных РНК и белков для функционирования активных сайтов рибосомы.

***Подготовка аминокислот к трансляции.*** Активация аминокислот. Аминоацил-тРНК-синтетазы, механизм специфического узнавания субстратов (аминокислот и тРНК-адаптеров). ***Инициация трансляции.*** Связывание мРНК с малой субчастицей рибосомы. Образование инициаторного комплекса на связывающем сайте рибосомы. Инициирующие кодоны и инициаторные тРНК у про- и эукариот. Принципы кодон-антикодонового взаимодействия. Неоднозначность генетического кода; «гипотеза качаний» Ф. Крика. Вспомогательные факторы инициации. ***Элонгация трансляции.*** Роль 50S субчастицы рибосомы в реакции транспептидации, механизм реакции. Характеристика этапа транслокации. Роль конформационных изменений факторов элонгации. Полирибосома. ***Терминация******трансляции****.* Терминирующие кодоны и факторы терминации у прокариот и  эукариот. Механизмы освобождения полипептида, вытеснения тРНК из рибосомы и отделение рибосомы от мРНК. Диссоциация рибосомы.

***Регуляция трансляции*** у про- и эукариот, способы регуляции. Регуляция трансляции с участием микро-РНК и малых интерферирующих РНК (РНК-интерференция, пост-транскрипционный сайленсинг генов – PTGS).

**Альтернативные пути новосинтезированного полипептида.** Котрансляционное сворачивание в компактную глобулу. Взаимодействие недосвернутого или неправильно свернутого белка с шаперонами. Шапероны и шаперонины прокариот и эукариот – основные типы. Трансмембранная транслокация растущего пептида.