



**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА**

**Биологический факультет**

**ПРОГРАММА**

**экзаменов кандидатского минимума  
по специальности 03.01.03 – молекулярная биология**

**Москва, 2010 г.**

Программа составлена сотрудниками кафедры молекулярной биологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова:

зав. кафедрой, академиком РАН А.С. Спириным,  
профессором кафедры, академиком РАН В.А. Гвоздевым,  
профессором кафедры, член-корр. РАН С.В. Разиным,  
профессором кафедры, член-корр. РАН А.В. Финкельштейном,  
профессором кафедры И.А. Крашенинниковым  
при участии профессоров кафедры член-корр. РАН В.И. Цетлина,  
д.б.н. Е.С. Надеждиной и старшего преподавателя, к.б.н. Ф.К. Гюевой.

Издание подготовлено к печати на средства Российско-Американской образовательной программы (договор № 1-38/09).

Отв. исполнитель – в.н.с., к.б.н. Н.А. Шанина при активном участии н.с., к.б.н. Т.А. Плотниковой.

Для студентов 4-го курса физиолого-биохимического отделения биологического факультета МГУ, аспирантов и соискателей по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Утверждено на заседании Ученого Совета Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Протокол № 10 от 25 ноября 2010 года

**Кафедра Молекулярной биологии**

Биологического ф-та МГУ

## **Часть I. Молекула ДНК. Процессы репликации, рекомбинации, репарации, и транскрипции. Регуляция экспрессии генов.**

### **1. Молекула ДНК.**

История доказательства генетической функции ДНК. Опыты Эвери, Херши и Чейз. Физические свойства молекулы ДНК. Конформационные формы ДНК А, В, и Z, их физические параметры. Денатурация и ренатурация ДНК. Нуклеотидные последовательности ДНК, определяющие конформацию ДНК, гибкость или жесткость молекулы. Комплементарные пары оснований Уотсона-Крика и Хугстина. Триплексы и параллельная ДНК. Кольцевые молекулы ДНК и понятие о сверхспирализации ДНК. Параметры сверхспирализованной молекулы ДНК и конформационные переходы в сверхспирализованной молекуле ДНК. ДНК топоизомеры. I и II типов. Механизмы действия топоизомераз. ДНК-гираза бактерий.

### **2. Репликация ДНК у бактерий.**

Доказательство полуконсервативного характера репликации ДНК. Полимеразы, участвующие в репликации, характеристика их ферментативных активностей. Точность воспроизведения ДНК. Роль стерических взаимодействий между парами оснований ДНК при репликации. Полимеразы I, II и III *E.coli*. Субъединицы полимеразы III. Понятие о процессивности ДНК полимераз. Полимеразы ("мутазы"), обеспечивающие неточное воспроизведение ДНК. Вилка репликации, "ведущая" и "отстающая" нити при репликации. Фрагменты Оказаки. Координации синтеза ДНК на комплементарных нитях. Комплекс белков в репликационной вилке. Регуляция инициации репликации у *E.coli*. Структура участка старта репликации (origin, *ori*). Структурные переходы ДНК в районе старта репликации. Двухнаправленная репликация.

### **3. Репликация ДНК у эукариот.**

Репликативные ДНК-полимеразы. Праймаза-ДНК-полимераза. Фрагменты Оказаки и особенности их "процессинга". Автономно-реплицирующиеся последовательности (ARS) и участки начала репликации (*ori*) у дрожжей, их структурно-функциональная организация. Белки ORC и MCM. Методы установления позиций участков начала репликации в геномах низших и высших эукариот. Особенности участков начала репликации ДНК высших эукариот. Методические подходы, используемые для функционального анализа участков начала репликации. Основные этапы инициации репликации у высших эукариот, Молекулярные механизмы, препятствующие новой инициации репликации до завершения клеточного цикла. Репликация концевых участков линейных хромосом. Теломера, теломераза и комплексы белков, регулирующих активность теломеразы.

#### **4. Репликация ДНК и клеточный цикл.**

Молекулярные механизмы, координирующие клеточный цикл и репликацию ДНК. Понятие о “сверочных точках” (checkpoints). Циклины и протеинкиназы. Протоонкогены, участвующие в регуляции клеточного цикла. “Расписание репликации” участков хромосомы в клеточном цикле. Механизмы упаковки ДНК при подготовке к делению клетки. Когезины и конденсины в расхождении и упаковке хромосом.

#### **5. Репликоны и «расписание репликации» отдельных участков генома по ходу клеточного цикла.**

Понятие о репликонах. Доказательство одновременной инициации ДНК в нескольких местах эукариотической хромосомы. Размер репликонов, скорость движения репликативных вилок. Симметричные и асимметричные репликоны. Методы изучения организации индивидуальных областей генома в репликоны. Изменение размера репликонов в ответ на изменение условий культивирования клеток. Кластеры репликонов и репликативные фабрики. Ранние и поздние репликоны. Методы определения времени репликации индивидуальных генов по ходу S-фазы. Корреляция между временем репликации различных участков генома и транскрипционной активностью генов.

#### **6. Репарация ДНК.**

Классификация типов репарации. Прямая репарация тиминовых димеров и метилированного гуанина. Вырезание оснований. Гликозилазы. Урацилгликозилаза. “Внеспиральное узнавание” оснований ферментами репарации. Вырезание (эксцизия) поврежденных нуклеотидов. Ферменты, осуществляющие эксцизионную репарацию у прокариот и эукариот. Механизм репарации, направленный на исправление активно транскрибируемых генов. Механизм репарации неспаренных нуклеотидов (mismatch репарация). Выбор репарируемой нити ДНК. SOS-репарация. Свойства ДНК полимераз, участвующих в SOS-репарации (ДНК-мутазы) у прокариот и эукариот. Репарация двухнитевых разрывов: гомологичная пострепликативная рекомбинация и объединение негомологичных концов молекулы ДНК. Сигналы, обеспечивающие репарацию двухнитевых разрывов и задержку репликации ДНК до завершения репарации. Болезни, обусловленные дефектами разных систем репарации.

#### **7. Общая, или гомологичная рекомбинация.**

Двухнитевые разрывы ДНК, иницирующие рекомбинацию. Роль рекомбинации в пострепликативной репарации двухнитевых разрывов. Структура Холлидея в модели рекомбинации. Миграция ветви, гетеродуплексы, “разрешение” структуры Холлидея. Энзимология рекомбинации у E.coli. RecBCD комплекс. RecA белок. Пресинаптическая

нить, параметры ее молекулярной структуры. Обмен нитей ДНК при синапсе. Особенности “миграции ветви”. Ферменты, участвующие в миграции ветви и разрешении структуры Холлидея. Роль рекомбинации в обеспечении синтеза ДНК при повреждениях ДНК, прерывающих репликацию. Рекомбинация у эукариот. Ферменты рекомбинации у эукариот. Ортологи RecA белка. Синаптонемный комплекс. Генная конверсия, асимметричность генной конверсии. Локус спаривания у дрожжей, переключение типов спаривания.

#### **8. Сайт-специфичная рекомбинация.**

Различия молекулярных механизмов общей и сайт-специфичной рекомбинации. Классификация рекомбиназ. Типы хромосомных перестроек, осуществляемых при сайт-специфичной рекомбинации. Регуляторная роль сайт-специфичной рекомбинации у бактерий. Конструирование хромосом многоклеточных эукариот с помощью системы сайт-специфичной рекомбинации фага.

#### **9. Структура генома высших эукариот.**

Кинетика ренатурации прокариотической и эукариотической ДНК. Определение размеров генома с использованием анализа кинетики ренатурации. Уникальные и повторяющиеся последовательности. Основные классы повторяющихся последовательностей в геномах позвоночных животных.

#### **10. ДНК-транспозоны в геномах прокариот и эукариот.**

IS-последовательности бактерий, их структура. IS-последовательности как компонент F-фактора бактерий, определяющего способность передачи генетического материала при конъюгации. Транспозоны бактерий (Tn3, Tn5, Tn9 и Tn10). Прямой нерепликативный и репликативный механизмы транспозиций. Резольваза и ее функции при репликативной транспозиции. Роль сверхспирализации при транспозиции. Регуляция транспозиций Tn10. ДНК-транспозоны у эукариот. Двухкомпонентная система ДНК-транспозонов: автономный и дефектный транспозоны. Представление о горизонтальном переносе транспозонов и их роли в структурных перестройках (эктопическая рекомбинация) и в эволюции генома.

#### **11. Подвижные элементы, перемещающиеся с помощью обратной транскрипции (ретроэлементы).**

Классификация ретроэлементов. Различия механизмов перемещения элементов с длинными концевыми повторами (ретротранспозонов и ретровирусов) и LINE-элементов. Ту элементы в геноме дрожжей. Элементы L1 и Alu в геноме человека. Ретротранспозоны и эволюция геномов. Ретрогены, или “процессированные гены” и псевдогены. LINE элементы теломер в геноме дрозофилы. Подвижные интроны дрожжей.

## **12. Транскрипция у прокариот.**

РНК-полимераза прокариот, ее субъединичная и трехмерная структуры. Разнообразие сигма-факторов. Промотор генов прокариот, его структурные элементы. Стадии транскрипционного цикла. Инициация, образование “открытого комплекса”, элонгация и терминация транскрипции. Сверхспирализация и транскрипция. Аттенуация транскрипции. Лактозный оперон. Репрессор и индуктор, модель Жакоба и Моно. Регуляция экспрессии триптофанового оперона. “Рибопереключателы”. Механизмы терминация транскрипции. Полярные мутации. Негативная и позитивная регуляция транскрипции. Принципы узнавания ДНК регуляторными белками (CAP-белок и репрессор фага лямбда). Принципы аутогенной регуляции и кооперативности на примере регуляции экспрессии репрессора фага лямбда.

## **13. Транскрипция у эукариот.**

РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие разных полимераз в транскрипции разных клеточных РНК. Регуляция транскрипции полимеразой II. Понятие о цис- и транс-регуляции транскрипции. “Модули” промоторов полимеразы II у эукариот. Общие факторы транскрипции, этапы сборки преинициаторного комплекса. TBP и TAF факторы. Узнавание ДНК фактором TBP. Медиатор. Фосфорилирование субъединицы РНК-полимеразы II и элонгация транскрипции. Белки - активаторы транскрипции, их доменные структуры. Типы доменов, узнающих регуляторные цис-действующие элементы. Комбинаторный принцип в регуляции транскрипции. Коактиваторы и корепрессоры. Эхансеры и эхансеосома. Принцип “дальнодействия” в регуляции транскрипции. Модели, объясняющие механизм действия эхансеров. Области контроля локуса, инсуляторы. Домен бета-глобиновых генов человека как модель для изучения механизмов, контролирующих транскрипцию эукариотических генов. Полимеразы I и III. Особенности структуры промоторов генов, транскрибируемых с помощью этих полимераз.

## **14. Регуляция транскрипции в развитии эукариот.**

Гомеодомены регуляторных белков и явление гомейозиса. Комбинаторные механизмы, обеспечивающие специфичность взаимодействий гомеодоменов с регуляторными модулями ДНК. Гены-мишени гомеодоменных белков. Принципы структурной организации и регуляции активности генов НОХ-кластеров, определяющих план строения тела. Транскрипционные факторы как морфогены в развитии многоклеточных организмов. Понятие о позиционной информации. Механизмы возникновения пространственно ограниченных морфогенетических градиентов факторов транскрипции.

Особенности структуры промоторов генов, ответственных за сегментную экспрессию белков-морфогенов в развитии дрозофилы.

### **15. Гормональная регуляция и сигнальные системы, регулирующие экспрессию генов.**

Внешние сигналы (митогенные факторы, гормоны), регулирующие транскрипцию генов. Примеры систем передачи сигналов. Ядерные рецепторы гормонов, их домены, особенности "узнавания" ими регуляторных последовательностей ДНК. Глюкокортикоидный и тиреоидный рецепторы, рецептор эрдистерона, ретиноевой кислоты и ее метаболитов. Гетеродимеры рецепторов, ответственных за разнообразие физиологических эффектов, индуцированных гормонами.

### **16. Структура хроматина.**

Нуклеосома как единица структурной организация хроматина. Октамер гистонов в составе нуклеосомы. Вариантные формы гистонов. Центромерные варианты гистона H3. Линкер и линкерные гистоны. Расположение нуклеосом на молекуле ДНК, «фэйзинг» и «спейсинг». Последовательности ДНК, определяющие предпочтительную посадку нуклеосом. Предсказание наиболее вероятных позиций посадки нуклеосом на ДНК. Участки гиперчувствительности к ДНКазе I. Перемещение нуклеосом вдоль молекулы ДНК. АТР-зависимое "ремоделирование" хроматина. Молекулярные машины ремоделирования. Структура 30 нм фибриллы. Роль гистона H1 и взаимодействий между соседними нуклеосомами. Сборка нуклеосом при репликации ДНК. Переносчики гистонов. Не зависящая от репликации сборка нуклеосом. Замена обычных гистонов на варианты формы.

### **17. Хроматин и регуляция активности генов.**

Химические модификации гистонов: ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинилирование и ADP-рибозилирование. Понятие о "гистоновом коде". Активный хроматин. Способы выделения активного хроматина. Особенности нуклеосом в транскрипционно-активной фракции хроматина. Транскрипция «через нуклеосомы». Роль диссоциации димеров H2A-H2B. Роль белкового комплекса FACT в осуществлении транскрипции через нуклеосомы. Характерные для активного хроматина модификации гистонов. Вариантные формы гистонов, предпочтительно представленные в активном хроматине. Неактивный хроматин. Различные механизмы создания неактивных хроматиновых доменов. Роль метилирования ДНК и деацетилирования гистонов в инактивации генов. Характерные для неактивного хроматина модификации гистонов. Вариантные формы гистонов, предпочтительно представленные в неактивном хроматине. Роль белков HP1 и Polysomb в создании неактивного хроматина. Гетерохроматин.

Распространение гетерохроматина по хромосоме. Механизм инактивации X хромосомы у млекопитающих. Роль Xist РНК. Некодирующая РНК как структурный компонент хроматина. Короткие РНК (21-23 нуклеотида) в организации структуры неактивного хроматина.

### **18. Механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов.**

Модификация гистонов как сигнал для метилирования ДНК. Механизмы инактивации генов при метилировании ДНК. Репликативное (поддерживающее) метилирование ДНК. Дезаминирование 5-метилцитозина и мутации. ДНК-метилтрансферазы эукариот. Деметилазы гистонов. Наследование метилированного состояния и метилирование de novo. “Родительский” геномный импринтинг как эпигенетическая регуляция экспрессии генов. Характер метилирования ДНК, его изменчивость в развитии млекопитающих. Эффекты положения генов. Белковые комплексы в определении эпигеномного наследования.

### **19. Пространственная организация хромосом в ядре и регуляция генной активности.**

Понятие об активных и неактивных доменах в ядре. Роль блоков конститутивного гетерохроматина и белков ядерной ламины в инактивации генов. Хромосомные территории. Особенности расположения в ядре богатых и бедных генами хромосом. Выпетливание активно транскрибирующихся генов за пределы хромосомных территорий. Функциональная компартментализация клеточного ядра. Компартменты, содержащие факторы сплайсинга, репликационные и транскрипционные фабрики.

### **20. Процессинг РНК.**

Кепирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых полимеразой II. Механизмы сплайсинга. Роль малых ядерных РНК и белковых факторов. Сплайсосома. Альтернативный сплайсинг, примеры. Эхансеры сплайсинга. Биологическая роль альтернативного сплайсинга, примеры. “Контроль качества” пре-мРНК в ядре. Сопряжение транскрипции, сплайсинга и транспорта РНК из ядра в цитоплазму. Ядерные поры. Транс-сплайсинг, его распространение. “Самосплайсинг”. Процессинг тРНК и рРНК у про- и эукариот. РНКазы Р как рибозим при процессинге предшественников тРНК. Метилирование рибозы и образование псевдоуридина. Роль малых ядрышковых РНК. Интроны групп 1 и 2. Интроны группы 1 как рибозимы. Редактирование РНК. Типы редактирования. Инсерции уридиловых остатков, дезаминирование урацила и аденина. Редактирование двухцепочечных участков РНК. Редактирование и регуляция сплайсинга.



### **Рекомендуемая литература:**

1. «Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот». 1990
2. М.Сингер, П.Берг. «Гены и геномы». Мир. 1998. т.2
3. Льюин. «Гены». Мир. 1987
4. Жимулев И.Ф. «Общая и молекулярная генетика». 2003
5. Щелкунов С.Н. «Генетическая инженерия». 2-е изд. Новосибирск: Сиб.унив. изд-во.2004.
6. Разин С.В., Быстрицкий А.А. «Хроматин: упакованный геном» изд. Бином, 2009
7. Warson J.D., Baker T.A., Bell S.P., Gann F., Levine V., Losick R. «Molecular Biology of the gene» 2004, 5th edition Intern Edition.

## **Часть II. Мир РНК и биосинтез белков.**

### **1. Центральная догма молекулярной биологии и генетический код.**

Принцип комплементарности в структуре ДНК, ее редупликации и ее транскрипции. Поток генетической информации ДНК → РНК → белок. Информационная (кодирующая) РНК, или мРНК. История расшифровки генетического кода. Основные свойства кода: триплетность, код без запятых, вырожденность. Особенности кодового словаря, семьи кодонов, смысловые и «бессмысленные» кодоны. Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые некодирующие РНК. Современный мир РНК.

### **2. Основные принципы структуры РНК.**

Первичная структура. Модифицированные основания. Одноцепочечность. Вторичная структура: формирование коротких двойных спиралей за счет взаимодействия смежных участков внутри цепи. А-форма двойной спирали РНК. Принцип комплементарности и отклонения от него. «Дефекты» коротких двойных спиралей и отклонения от двуспиральной структуры. «Тетралупы». Псевдоузлы. Тройные взаимодействия. Третичная структура: компактное сворачивание полирибонуклеотидной цепи, дальние комплементарные взаимодействия, спираль-спиральные взаимодействия, формирование крупных доменов. Структура тРНК. Структура рибосомных РНК.

### **3. Генетические и негенетические функции РНК.**

Комплементарное воспроизведение первичной структуры в реакциях репликации и обратной транскрипции. Кодирование первичной структуры полипептидов (белков). Пространственное структурообразование. Функции специфического узнавания и связывания лигандов. Каталитические функции.

### **4. Древний мир РНК и происхождение жизни.**

Гипотеза А.И. Опарина о первичном возникновении белков и ее основной недостаток. Гипотеза о первичном возникновении мира РНК. Элонгация и компартиментализация РНК; колонии РНК. Циклы амплификации и селекции РНК. Коммунальный характер мира РНК. Гипотеза К. Вуза (С. Woese) о коммунальном универсальном предшественнике живых существ. Возникновение биосинтеза белка на базе мира РНК. Происхождение ДНК из РНК и закрепление универсального генетического кода. Происхождение трех основных ветвей живых существ из мира РНК.

### **5. Структура рибосом.**

Локализация рибосом в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом; 70S и 80S рибосомы. Морфология рибосом. Подразделение на субчастицы (субъединицы); диссоциация. Тонкая морфология субчастиц. Рибосомные белки, разнообразие,

разделение, номенклатура, особенности структуры. Разборка («раздевание») субчастиц; кооперативный характер диссоциации белков. Самосборка, ее последовательные этапы, независимое формирование РНП-доменов. Разворачивание субчастиц; ступенчатый характер разворачивания. Периферийное расположение белков на компактных ядрах РНК. Идентификация рибосомных белков на поверхности рибосомы методом иммунной электронной микроскопии. РНК-РНК-контакты при ассоциации рибосомных субчастиц. Рентгеноструктурный анализ рибосомных субчастиц и полных 70S рибосом.

#### **6. Активация аминокислот и образование аминоацил-тРНК.**

Химические реакции, приводящие к образованию пептидной связи в процессе биосинтеза белка. Активация аминокислоты в реакции с АТФ; образование аминоациладенилата. Перенос аминоацильного остатка на тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Активные центры синтетаз и их специфичность. Принцип «реактивности половины центров» при функционировании синтетаз. Два класса аминоацил-тРНК-синтетаз, их структурные и функциональные различия. Участки взаимодействия молекул тРНК с аминоацил-тРНК-синтетазами; различия двух классов.

#### **7. Эпицикл трансляции и рабочий элонгационный цикл.**

Эпицикл трансляции: инициация, элонгация и терминация. Полирибосома. Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот. Рабочий элонгационный цикл рибосомы; три основных этапа цикла. Парциальные функции рибосомы в ходе трансляции. Локализация функциональных центров рибосомы. А, Р и Е участки связывания тРНК. Полярность считывания матрицы (мРНК) в ходе трансляции.

#### **8. Бесклеточные системы биосинтеза белка.**

История бесклеточных систем. Системы трансляции, сопряженной транскрипции-трансляции и совмещенной транскрипции-трансляции. Прокариотические и эукариотические системы. Основные компоненты систем. «Грубые» и «чистые» системы. Системы непрерывного действия (проточные, обменные).

#### **9. Кодон-зависимое связывание аминоацил-тРНК в элонгационном цикле.**

Адапторная гипотеза Ф. Крика (1955) и ее экспериментальное доказательство (1962 – 1963). Кодон-антикодонное взаимодействие. Гипотеза Ф. Крика о неоднозначном взаимодействии первого положения антикодона с третьим положением кодона (1966). Характер вырожденности генетического кода как основная фактическая предпосылка гипотезы. Физические предпосылки гипотезы. Таблица взаимодействий первого положения антикодона. Особенности митохондриального кода и взаимодействий первого положения антикодона. Отклонения от универсальности генетического кода в митохондриях и у некоторых бактерий и простейших эукариот. Участие фактора

элонгации EF1 (EF-Tu) в связывании аминоктил-тРНК с рибосомой. Структура EF1 (EF-Tu), его взаимодействия с ГТФ и ГДФ и его структурные переходы («закрытая» и «открытая» конформации). Связывание аминоктил-тРНК комплексом EF1 (EF-Tu) с ГТФ, образование тройственного комплекса. EF1 (EF-Tu) как катализатор этапа связывания аминоктил-тРНК. Нерасщепляемые и медленно расщепляемые аналоги ГТФ; их эффект на этап связывания аминоктил-тРНК с рибосомой. Роль гидролиза ГТФ в процессе связывания. Фактор элонгации EF1В (EF-Ts), его функция, последовательность реакций с его участием. Антибиотики, воздействующие на этап кодон-зависимого связывания аминоктил-тРНК с рибосомой. Аминогликозиды антибиотики (стрептомицин, неомицин, канамицин, гентамицин и др.), механизм их действия. Тетрациклины как ингибиторы связывания аминоктил-тРНК с рибосомой. Механизмы устойчивости к тетрациклинам.

#### **10. Ложное кодирование и сдвиги рамки считывания на этапе кодон-зависимого связывания аминоктил-тРНК с рибосомой.**

Трансляция полиуридиловой кислоты, ложное включение аминокислот в полифенилаланиновую цепь. Прочитывание «бессмысленных» (терминирующих) кодонов. Основные закономерности ложного кодирования. Кинетические основы ложного кодирования. Кинетическая коррекция («редактирование») ложного кодирования. Факторы, стимулирующие ложное кодирование. Сдвиг рамки считывания: +1 и -1 сдвиги. Последствия сдвига. Сдвиг рамки при синтезе антизима орнитин-декарбоксилазы.

#### **11. Особенности кодирования и включения селеноцистеина в полипептидную цепь белка в процессе элонгации.**

Образование селеноцистеинил-тРНК из серил-тРНК. Связывание селеноцистеинил-тРНК терминирующим кодоном UGA. Необходимость специального структурного элемента – специальной «шпильки» на мРНК вслед за UGA у прокариот или специальной структуры в 3'-нетранслируемой области мРНК у эукариот. Участие специального фактора элонгации SELB – аналога и гомолога EF1 (EF-Tu).

#### **12. Транспептидация.**

Химия реакции. Пептидил-трансферазный центр большой рибосомной субчастицы; рибозимный катализ. Тетраэдрический интермедиат реакции транспептидации, стереохимия его образования и распада. Ингибиторы транспептидации: хлорамфеникол, линкомицин, амицетин, стрептограммины, анизомицин. Механизм действия пурамицина.

#### **13. Транслокация.**

Определение транслокации, физические события транслокации, экспериментальные тесты. Участие фактора элонгации EF2 (EF-G) с ГТФ. Доменная структура EF-G; особенности домена IV. «Молекулярная мимикрия» (сходство EF-G с комплексом EF-

Tu:Aa-tRNA). «Энзиматическая» и «неэнзиматическая» (бесфакторная) транслокация. Основные следствия открытия бесфакторной транслокации: транслокация как свойство рибосомы, термодинамическая спонтанность транслокации, каталитическая функция EF-G, зависимость конформационного катализа от ГТФ. Ингибиторы транслокации: фузидовая кислота, виомицин, их механизмы действия.

#### **14. Ошибки транслокации.**

«Непотриплетная» транслокация: проскальзывание по гомополимерному участку мРНК, соскальзывание на смежный триплет, «прыжок» через несколько нуклеотидов мРНК. Транслокационный сдвиг рамки. Соскальзывание и сдвиг рамки при трансляции RF2-мРНК. «Прыжок» при трансляции мРНК гена топоизомеразы фага T4. «Прыжок» с домена тРНК на домен мРНК в случае тмРНК («транс-трансляция»).

#### **15. Рибосома как молекулярная машина.**

Транслокация как проявление транспортной функции рибосомы. Крупноблочная подвижность рибосомы. Принцип смыкания – размыкания. Первые экспериментальные доказательства подвижности этого типа в рибосоме при транслокации (малоугловое нейтронное рассеяние). Подвижность доменов малой субчастицы рибосомы при кодон-зависимом связывании аминоксил-тРНК (рентгеноструктурный анализ). Подвижность в большой субъединице и межсубъединичные сдвиги при связывании аминоксил-тРНК и транслокации. Особенности молекулярных машин; тепловые движения как движущая сила. Отбор движений («демон Максвелла») в молекулярных машинах. Роль связывания ГТФ и его гидролиза в отборе движений. Полный рабочий цикл рибосомы как молекулярной машины.

#### **16. Инициация трансляции.**

Функциональное назначение инициации трансляции. Участники процесса инициации. Основные этапы процесса инициации. Инициация трансляции у прокариот: факторы инициации, инициаторные кодоны, 3'-конец РНК малой рибосомной субчастицы и последовательность Шайна-Дальгарно в мРНК; «сила» мРНК. Независимая инициация и трансляционное сопряжение (индуцированная инициация и скольжение-реинициация) на полицистронных мРНК прокариот. Инициация трансляции у эукариот: факторы инициации, инициаторные кодоны, 5'-нетранслируемая область и кэп-зависимая «концевая» инициация. Сканирование 5'-нетранслируемой области. Возможность шунтирования участков 5'-нетранслируемой области при сканировании (РНК мозаики цветной капусты). «Внутренняя» кэп-независимая инициация у эукариот. «Внутренняя» инициация трансляции вирусных РНК (IRES-модули). «Внутренняя» инициация без факторов инициации (РНК вируса паралича сверчка). Последовательность событий

эукариотической инициации; 43S и 48S инициаторные комплексы рибосомы. Цикл инициаторных факторов eIF2:GDP/GTP и eIF2B. 3'-концевые усилители инициации трансляции у эукариот; роль полиаденилового «хвоста» мРНК; циркуляризация эукариотических полирибосом. «Внутренняя» инициация без факторов инициации (РНК вируса паралича сверчка).

#### **17. Регуляция трансляции у прокариот.**

Трансляционная репрессия. Регуляция синтеза рибосомных белков. Ауторегуляция синтеза треонил-тРНК-синтетазы. Регуляция трансляции РНК бактериофага MS-2. Трансляционная регуляция антисмысловыми РНК. «Рибопереключателю» - аптамерные модули 5'-нетранслируемых областей мРНК как регуляторы трансляции. Эволюция механизмов регуляции инициации трансляции.

#### **18. Регуляция трансляции у эукариот.**

Особая роль регуляции на уровне трансляции у эукариот. Тотальная регуляция трансляции путем фосфорилирования фактора инициации eIF2 (гем-регулируемая фосфокиназа, dsРНК-регулируемая фосфокиназа, фосфокиназа, индуцируемая голоданием, стресс-индуцируемая фосфокиназа). Механизм тотального подавления трансляции при фосфорилировании eIF2. Регуляция инициации короткими рамками считывания, предшествующими основной кодирующей последовательности мРНК. Трансляционная репрессия индивидуальных мРНК. Трансляционная регуляция синтеза ферритина. Регуляция трансляции с помощью микроРНК: деградиционный механизм через комплементарное связывание с кодирующей областью мРНК («РНК-интерференция»); механизм подавления трансляции через воздействие на 3'-нетранслируемую область.

#### **19. Маскирование – демаскирование мРНК в процессах оогенеза, сперматогенеза и клеточной дифференцировки.**

Маскирование мРНК, ее особенности. Маскированные рибонуклеопротеидные частицы (информосомы). Основные белки информосом и их роль в переходах из маскированного состояния в активное и обратно. Роль специальных последовательностей («маскирующих элементов») 3'-нетранслируемой области и их узнающего белка («маскирующего» белка). Маскирование мРНК в оогенезе *Spisula solidissima* и ее демаскирование после оплодотворения. Маскирование fem-3 мРНК *Caenorhabditis elegans* при переходе из личиночной стадии самца во взрослую стадию самки (смена сперматогенеза на оогенез). Маскирование и демаскирование мРНК в оогенезе и раннем эмбриогенезе лягушки и дрозофилы; роль белков, контролирующего полиаденилирование и блокирующих инициацию трансляции. Маскирование и демаскирование мРНК липоксигеназы в

процессе эритропоэза млекопитающих. Маскирование и демаскирование мРНК anteriоральных (bicoid, hunchback) и posteriоральных (nanos) детерминант яйца дрозофилы в оогенезе и после оплодотворения: демаскирование nanos мРНК путем «заякоривания» в заднем отделе яйца и установление задне-переднего градиента Nos-белка, являющегося маскирующим белком hunchback мРНК; детерминация передне-задней оси эмбриона. Наличие сигналов внутриклеточного транспорта и локализации в 3'-нетранслируемой области мРНК. Возможная роль циркуляризации мРНК и конденсации мРНК (информосом) в маскировании. Конденсация и олигомеризация мРНК (информосом) как заключительная фаза маскирования.

## **20. Регуляция скорости элонгации.**

Время элонгации полипептидной цепи на рибосоме; экспериментальное определение «транзитного времени». Профиль распределения полирибосом как отражение соотношения скоростей инициации и элонгации. Неравномерность скорости элонгации; трансляционные паузы. Минорные синонимные тРНК и редкие кодоны; паузы на редких («модулирующих») кодонах мРНК. Структурные барьеры вдоль цепи мРНК как возможная причина трансляционных пауз. Ингибиторные аминокислотные последовательности растущих полипептидов.

## **21. Терминация трансляции.**

Терминирующие кодоны. Белковые факторы терминации прокариот и эукариот; два класса факторов терминации. Узнавание терминирующего кодона фактором терминации 1-го класса в А-участке рибосомы. Схема доменной структуры фактора терминации 1-го класса. Индукция гидролиза сложноэфирной связи пептидил-тРНК в пептидил-трансферазном центре. Эвакуация деацилированной тРНК из Р-участка и факторов терминации из А-участка с участием факторов терминации 2-го класса и ГТФ/ГДФ. Фактор освобождения рибосом (RRF, RF4) прокариот.

## **22. Альтернативные пути новосинтезированного полипептида.**

Котрансляционное сворачивание в компактную глобулу. Экспериментальные подходы к изучению котрансляционного сворачивания. Взаимодействие недосвернутого или неправильно свернутого белка с шаперонами. Шапероны и шаперонины прокариот и эукариот – основные типы. Трансмембранная транслокация растущего пептида. Сигнальный пептид. Сигнал-узнающая частица (SRP), ее нуклеопротеидная природа. Взаимодействие сигнал-узнающей частицы с сигнальным пептидом, остановка трансляции, взаимодействие с сигнальным рецептором мембраны эндоплазматического ретикулула. Транслокационный (полипептид-проводящий) канал мембраны эндоплазматического ретикулула – схема строения. Котрансляционное прохождение

растущего пептида через канал; латеральные ворота канала; трансмембранное встраивание синтезируемого белка в мембрану эндоплазматического ретикулума. Котрансляционное встраивание синтезируемого белка в плазматическую мембрану бактерий. Пост-трансляционная трансмембранная транслокация белков у бактерий.

**Рекомендуемая литература:**

1. А.С. Спирин «Структура рибосом и биосинтез белка». Москва. Высшая школа, 1986.
2. A.S. Spirin “Ribosomes”. Kluwer Academic/Plenum Press, 1999.
3. A.S. Spirin “The ribosome as a conveying thermal ratchet machine”. J. Biol. Chem., 2009 vol. 284(32) p.p. 21103-19.



## Часть III. Структуры белков, их превращения, и функции белков.

### Физика белка

#### 1. Белки: предварительный обзор.

Общее строение и основные функции белков. Первичная, вторичная, третичная, четвертичная структура белка. Глобулярные, фибриллярные и мембранные белки. Понятие о биосинтезе белка, о его сворачивании *in vivo* и *in vitro*. Пост-трансляционные модификации.

#### 2. Элементарные взаимодействия в белках и вокруг них.

Стереохимия аминокислотных остатков. L- и D-аминокислотные остатки. Валентные связи и углы между ними. Вращение вокруг валентных связей (примеры). Пептидная группа. Транс- и цис-пролины. Вандерваальсово взаимодействие: притяжение на больших расстояниях, отталкивание на малых. Разрешенные конформации аминокислотного остатка (карты Рамачандрана для глицина, аланина, валина, пролина). Водородные связи. Их электрическая природа. Их энергия и геометрия в кристаллах. Разболтанность водородных связей в воде (как это показано на опыте?). Водородные связи в водном окружении имеют энтропийную природу. Гидрофобные взаимодействия (в чем их особенность проявляется на опыте?). Их связь с необходимостью насыщения водородных связей в воде. Гидрофобность и доступная воде неполярная поверхность. Гидрофобность аминокислот. Влияние окружения, в особенности водного, на электростатические взаимодействия. Электрическое поле у поверхности и внутри белка. Измерение электрических полей в белках при помощи белковой инженерии. Дисульфидные связи. Координационные связи. Энергия, энтропия, свободная энергия и химический потенциал. Связь температуры с изменением энергии и энтропии. Вероятности состояний с различной энергией и энтропией (распределение Больцмана-Гиббса). Конформационные превращения. Понятие о фазовом переходе первого рода (переходе "все-или-ничего") и о не-фазовых переходах. Кинетика преодоления свободно-энергетического барьера при конформационных превращениях. Понятие о теории абсолютных скоростей реакций. Влияние вязкости. Диффузия.

#### 3. Вторичная структура полипептидных цепей.

Вторичная структура полипептидов. Спирали:  $2_7$ ,  $3_{10}$ ,  $\alpha$ , poly(Pro) II. Антипараллельная и параллельная  $\beta$ -структура,  $\beta$ -изгибы. Методы экспериментального обнаружения вторичной структуры. Что такое "клубок"? Что такое "нативно-развернутые" белки?

Теорема Ландау и не-фазовость перехода спираль-клубок. Размер кооперативного участка при переходе спираль-клубок. Стабильность  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -структуры в воде. Скорость образования  $\beta$ -структуры (шпилек и листов) и  $\alpha$ -спиралей.

#### **4. Пространственное строение белков.**

Фибриллы, сложенные из глобул и «истинно» фибриллярные белки; функции и периодичные первичные и вторичные структуры последних; примеры. Упаковка длинных  $\alpha$ -спиралей и обширных  $\beta$ -листов. Белки, образующие матрикс; эластин. Амилоиды. Мембранные белки, особенности их строения и функции. Бактериородопсин, порин, фотосинтетический центр. Селективная проницаемость мембранных пор. Работа фотосинтетического центра. Понятие о туннельном эффекте. Глобулярные белки. Упрощенное представление структур белковых глобул; структурные классы. Аминокислотная последовательность определяет пространственную структуру, пространственная структура — функцию. Обратное — неверно. Строение  $\beta$ -белков:  $\beta$ -слои, их продольная и перпендикулярная укладка;  $\beta$ -призмы. Правопропеллерная скрученность  $\beta$ -листов. Примеры. Строение  $\alpha$ -белков. Пучки и слои спиралей. Укладка  $\alpha$ -спиралей вокруг квазишарового ядра. Примеры. Плотная упаковка при контакте  $\alpha$ -спиралей. Строение  $\alpha/\beta$ -белков: параллельный  $\beta$ -слой, прикрытый  $\alpha$ -спиралями (укладка Росманна) и  $\alpha/\beta$ -цилиндр. Топология  $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  субъединиц. Строение  $\alpha+\beta$  белков. Примеры. Классификация структур белков. “Стандартные” третичные структуры (примеры). Отсутствие прямой связи архитектуры белка с его функцией (примеры). Есть ли эволюция белковых структур? Дупликация гена и специализация. Эволюция путем перемешивания доменов. Основные закономерности, наблюдаемые в структурах белковых глобул: наличие отдельно  $\alpha$ - и отдельно  $\beta$ -слоев; редкость перекрывания петель; редкость параллельности соседних по цепи структурных сегментов; редкость левых  $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  суперспиралей. Физические причины этих феноменов. Связь частоты встречаемости разнообразных структурных элементов в нативных глобулярных белках с собственной свободной энергией этих элементов. Примеры.

#### **5. Кооперативные переходы в белковых молекулах.**

Кооперативные переходы. Обратимость денатурации белков. Денатурация глобулярного белка — переход типа “все-или-ничего”. Критерий Вант-Гоффа для перехода “все-или-ничего”. Тепловая и холодовая денатурация, денатурация растворителем. Диаграмма фазовых состояний белковой молекулы. Как выглядит денатурированный белок? Клубок и расплавленная глобула. Почему денатурация глобулярного белка — переход типа “все-или-ничего”? Распад плотной упаковки ядра белка и раскрепощение боковых групп. Самоорганизация белка *in vivo* и *in vitro*. Вспомогательные механизмы при самоорганизации *in vivo*: ко-трансляционное сворачивание, шапероны, и т.д. Спонтанная самоорганизация возможна *in vitro*. Понятие о “парадоксе Левинталя”. Опыты по сворачиванию белка *in vitro*. Обнаружение метастабильных (накапливающихся)

интермедиатов сворачивания многих белков. Расплавленная глобула — обычно (но не обязательно) наблюдаемый интермедиат сворачивания белка в нативных условиях. Одностадийное сворачивание малых белков. Теория переходных состояний. Ядро сворачивания нативной структуры белка. Его экспериментальное обнаружение *in vitro* методами белковой инженерии. Решение "парадокса Левинтала": к стабильной структуре цепи автоматически ведет сеть быстрых путей сворачивания. Оценка времени сворачивания белка.

## **6. Предсказание и дизайн белковых структур.**

Опознавание сходства пространственных структур белков по сходству их аминокислотных последовательностей. Попытки предсказания пространственных структур белков их аминокислотным последовательностям *ab initio*.

Свойства аминокислотных остатков (примеры: аланин, глицин, пролин, валин). Неполярные и полярные боковые группы. Заряженные боковые группы. Предпочтительные места для включения тех или иных аминокислотных остатков во вторичную и в третичную структуру. Гидрофобные поверхности на вторичных структурах в белках. Белковая инженерия (с примерами) и дизайн (с примерами). Подтверждение теории переходного состояния в катализе методами белковой инженерии. Абзимы.

## **7. Физические основы функционирования белков.**

Элементарные функции белков. Связывающие белки: ДНК-связывающие белки, иммуноглобины. Ферменты и катализ. Каталитический и субстрат-связывающий центры. Ингибирование. Кофакторы. Механизм ферментативного катализа (на примере сериновых протеаз). Переходные состояния и интермедиаты. Почему твердость белка важна для элементарной ферментативной функции? Сопряжение элементарных функций белка и гибкость его структуры. Индуцированное соответствие. Подвижность доменов белка. Доменная структура: киназы, дегидрогеназы. Когда белку нужна (и когда не нужна) гибкость? Аллостерическая регуляция функции белка. Гемоглобин и миоглобин. Понятие о механохимическом цикле. Пример: движение кинезина.

## **Структура и функция белка**

### **1. Биологические функции белков и пептидов.**

История изучения химии белка. Представления о белках как о биополимерах. Общие свойства белков и принципы их организации. Основные функции белков. Принципы классификации белков, их разнообразие. Белки, включающие небелковые компоненты: металлопротеиды, хромопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды. Уровни структурной организации белковой молекулы.

## **2. Аминокислоты как строительные блоки белковой молекулы.**

Классификация, строение и физико-химические свойства аминокислот. Оптическая изомерия. Физико-химические свойства боковых радикалов (боковых цепей) аминокислот. Селеноцистеин. Свойства боковых радикалов аминокислот в составе белков, важные для формирования молекулы. Биохимические методы определения аминокислот и белков. Принципы выделения и очистки белков. Доказательства индивидуальности белка. Микрогетерогенность белка.

## **3. Методы исследования структуры белков.**

Методы определения аминокислотного состава и первичной структуры белков. Масс-спектрометрия белков. Принципы метода, подготовка образцов к анализу. Реакции химической модификации функциональных групп аминокислот. Методы специфической и неспецифической фрагментации полипептидной цепи - химические и ферментативные. Области применения метода. Разделение пептидов, получаемых при расщеплении белков. Определение N-концевых аминокислот. Метод Сэнгера. Определение C-концевых аминокислот и последовательностей. Автоматическое секвенирование белков по Эдману. Локализация дисульфидных связей в белках. Пептидное картирование; идентификация белков сравнением результатов масс-спектрометрии и баз данных. Методы изучения молекулярных комплексов. Методы и задачи протеомики.

## **4. Пептидная связь.**

История изучения пептидной связи. Химическое строение пептидной связи. Цис-транс-изомерия. Стехиометрические параметры пептидной связи, стерические ограничения. Карты Рамачандрана. Регулярная и нерегулярная структура белка.

## **5. Вторичная структура белка.**

Роль водородных связей в формировании вторичной структуры.  $\alpha$ -Спираль как важнейший элемент регулярной вторичной структуры белка. Основные свойства  $\alpha$ -спиралей: формирование дипольного момента, роль боковых радикалов аминокислотных остатков. Виды спиральных структур.  $\beta$ -Структура: параллельное и антипараллельное расположение цепей при формировании слоев. Петли, их локализация на поверхности белков.  $\beta$ -шпилька как элемент вторичной структуры белков. Топологические диаграммы.

## **6. Принцип модульной организации белковой молекулы.**

Основные мотивы, формируемые элементами вторичной структуры белков. Мотив греческого ключа,  $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  - мотив, цинковые "пальцы",  $\beta$ -шпилька и т.д. Структурные

модули белковой молекулы: Росман-фолд, бета-баррель, бета-пропеллер и др. Биологические функции структурных модулей. Домены, их формирование и значение.

### **7. Третичная структура белка.**

Стабильность пространственной структуры белка. Формирование третичной структуры белка в процессе синтеза. Гидрофобное ядро. Форма, компактность и динамика молекулы белка. Роль дисульфидных связей в стабилизации третичной структуры некоторых белков и пептидов. Взаимосвязь элементов вторичной структуры в составе белковой глобулы. Консенсусные последовательности аминокислот в предсказании третичной структуры. Понятие структурной классификации белков.

### **8. Четвертичная структура белка.**

Стехиометрия и геометрия четвертичной структуры. Взаимодействия между субъединицами, стабилизирующие четвертичную структуру. Структурная организация контактов между субъединицами. Методы исследования четвертичной структуры. Биологическое значение четвертичной структуры. Основные классы белков.

### **9. $\alpha$ -Спиральные белки.**

Взаимодействие между двумя  $\alpha$ -спиралями. Суперспираль - способ упаковки составляющих спиралей. Гептады аминокислот. Лейциновые "молнии". Формирование олигомеризационного домена из 4х  $\alpha$ -спиралей. Семейства альфа-спиральных белков: глобины, цитохромы, циклины, аннексины. Гистоны и строение нуклеосомы.

### **10. Глобины.**

Миоглобин. Гемоглобин. Связывание кислорода миоглобином и важная роль третичной структуры в этом процессе. Функциональная роль четвертичной структуры гемоглобина. Аллостерическая регуляция функции гемоглобина. Аномальные и фетальные гемоглобины. Мультигенное семейство глобинов.

### **11. $\alpha/\beta$ -Структурные белки.**

Способы упаковки параллельных  $\beta$ -структур в белковом домене.  $\alpha/\beta$ -баррели. Роль  $\alpha/\beta$ -структур в формировании гидрофобного ядра, активных центров ферментов. Триозофосфатизомеразы. Расположение  $\alpha$ -спиралей в открытых изогнутых  $\alpha/\beta$ -слоях. НАД-связывающий домен. Возможность предсказания места расположения активных центров ферментов в  $\alpha/\beta$ -структурах. Пируваткиназа, аллостерическая регуляция фермента. "Подковообразный" фолд. Арабинозо-связывающий белок: структура сахаро-связывающего домена.

## **12. $\beta$ -Структурные белки.**

Антипараллельные  $\beta$ -тяжи как основной структурный элемент  $\beta$ -белков. Типы образуемых доменов. Белки, связывающие гидрофобные лиганды. Ретинол-связывающий белок. Структура нейраминидазы и G- $\beta$  белка. Мотив греческого ключа в структуре  $\gamma$ -кристаллинов. Строение и биологические функции фибронектина. Иммуноглобулиновый и фибронектиновый фолды. Структура гемагглютинина и его структурные перестройки. Белки с  $\beta$ -спиральными доменами: бактериальные протеазы, пектатлиаза.

## **13. Транскрипционные факторы прокариот.**

Узнавание ДНК белками в прокариотических системах. Роль структурного мотива "спираль-поворот-спираль" в узнавании белками нуклеотидной последовательности. Факторы, обуславливающие высокую специфичность узнавания ДНК белками.  $\lambda$ -Репрессор и Cro-белок. Аллостерический контроль связывания белков с ДНК. Репрессор триптофанового оперона, Lac- репрессор, репрессор метионинового оперона: участие  $\beta$ -тяжей в его взаимодействии с ДНК. CAP- белок и его взаимодействие с ДНК.

## **14. Транскрипционные факторы эукариот.**

Особенности строения генома эукариот и связанные с этим особенности строения и функционирования регуляторов транскрипции. Активация хроматина, модификации гистонов. Бромодомены. Узнавание ДНК эукариотическими факторами транскрипции. Структура ТАТА-бокс-связывающего белка, его взаимодействие с ДНК. Гомеодоменные белки, формирование гетеродимеров. Белок p53 - его функциональная роль, структура и взаимодействие с ДНК. HMG- белки, их роль в регуляции работы РНК- полимераз.

## **15. Специфические транскрипционные факторы эукариот.**

Транскрипционные факторы, содержащие мотив цинковых "пальцев" 1-го класса: структура, специфичность взаимодействия с ДНК. Zif 268. Глюкокортикоидные рецепторы, рецепторы стероидных гормонов, димеризация и связывание с ДНК. Ретиноид X-рецепторы. Транскрипционные факторы с бинуклеарными цинковыми кластерами. Строение GAL4. Димеризация транскрипционных факторов с участием "лейциновых молний". Взаимодействие с ДНК и строение GCN4, MyoD, Max. Трансактивационные домены. Формирование гомо- и гетеродимеров, взаимодействие с факторами модификации хроматина.

## **16. Белки - факторы элонгации.**

Структура факторов белкового синтеза. EF-Tu - конформационные перестройки в процессе функционирования. EF-G - "молекулярная" мимикрия. РНК-связывающий фолд.

## **17. Белки в клеточной сигнализации.**

Классы рецепторов. Организация рецепторов, способы их заякоривания в мембране. Структура белков, принимающих участие в клеточной сигнализации. G-белки: структура, функции ( $G\alpha, G\beta, G\gamma$ ). ГТФ-азный домен. Трансдукция. Ras-белок: мутантные формы, онкогенез. Малые G-белки, их разнообразие и функции. SRP-частицы эукариотических клеток и их прокариотические аналоги. Строение пептидных гормонов. Взаимодействие гормона роста с рецептором. Фермент-ассоциированные рецепторы, тирозин-киназные рецепторы. Киназные домены: SH2 и SH3 модули - структура и функция. Структура Src-тирозинкиназы. Инсулиновый рецептор и механизм передачи сигнала: инсулин/ IGF-сигнальный путь. Интегрины - доменная организация, взаимодействие с фибронектином и компонентами внеклеточного матрикса, каскадная передача сигнала.

## **18. Мембранные белки.**

Биологические функции интегральных мембранных белков, их структурное разнообразие. Особенности выделения и исследования пространственной структуры. Принципы закрепления белков внутри или на поверхности мембраны. Трансмембранные домены рецепторов гормонов. Бактериородопсин, его строение и функционирование. Родопсин - пространственная структура и зрительный каскад. Кристаллические структуры других G-белокзависимых рецепторов (адренергические рецепторы). Порины и родственные им по структуре белки внешней мембраны бактерий. Особенности строения поринов, важные для их транспортной функции. Поглощение углеводов, фосфатов, ионов железа. Сидерофоры. Регуляция биосинтеза и функционирования поринов. Порины как рецепторы связывания колицинов и бактериофагов. Omp-белки. Структура и механизм действия колицинов. Аквапорины. Основные типы ионных каналов. Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы и другие лиганд-управляемые каналы. Структура и механизм действия. Водорастворимые белки, модулирующие лиганд-связывающие домены рецепторов. Калиевые каналы, строение, механизм обеспечения селективности. Нейротоксические белки (и пептиды) из ядов животных (змей, пауков, скорпионов, ядовитых морских моллюсков и др.) в исследованиях рецепторов и ионных каналов.

## **19. Посттрансляционные модификации белков.**

Образование дисульфидных связей. Йодирование и сульфирование остатков тирозина. Образование остатков  $\gamma$ -карбокситеглутаминовой кислоты. N- и O- гликозилирование белков, особенности процессов. Кальнексин и кальретикулин. Гликопротеины. Особый тип белков - протеогликаны. Муцины. Физиологическое значение углеводного компонента. Углеводные сигналы сортировки белков. Белки- антифризы. Обратимое гликозилирование цитоплазматических белков. C-C гликозилирование. Фосфорилирование белков. АДФ-рибозилирование белков. Липопротеины. LDL-рецепторы. Пренилирование и миристоилирование белков. Белки ядерной оболочки - ламины. Ограниченный протеолиз. Каскады фосфорилирования и протеолиза в клеточной сигнализации (примеры: хемотаксис, апоптоз). Формирование неканонической структуры - биосинтез инсулина. Разъединение белковых глобул в полибелках. Фосфатидилинозитолгликановые мостики для связывания мембранных белков. Клатрин-независимый эндоцитоз.

## **20. Белковый сплайсинг.**

Механизм белкового сплайсинга. Процессы N-O- и N-S-ацильных перестроек, трансэтерификация. Образование пируватидных остатков в ферментах азотного обмена и другие процессы. Структура интееинов. Биологическое значение белкового сплайсинга.

## **21. Лектины.**

Строение и классификация. C-лектины, P-лектины и другие классы лектинов. Связывание углеводного остатка - структура связывающего домена. Лектины бактерий и растений. Функция тканеспецифичной адгезии. Бактериальные токсины - структурные особенности. Холерный токсин, Шигелла токсин. Механизм действия. Дифтерийный токсин, структура, связывание с поверхностью клетки, механизм действия. Растительные токсины. Ригин.

## **22. Аминоацил-тРНК-синтетазы.**

Два класса АРСаз - особенности структурной организации. Строение сайта связывания тРНК, обеспечивающее специфичность фермента. Участки тРНК, ответственные за специфическое связывание. Взаимодействие белка с аминоацил-тРНК. Функция редактирования.

## **23. Рибосомные белки.**

Общие черты строения рибосомных белков. РНК-связывающий домен, его взаимодействие с РНК. Полифункциональность рибосомных белков.



## **24. Фибриллярные белки.**

Коллаген, эластин, кератины, фибронектин, ламинин.

## **25. Белки, организующие транспортные системы клетки.**

Микротрубочки и микрофиламенты – два типа линейных полимерных треков. Структурные единицы полимеров. Разнообразие актинов и тубулинов, их пост-трансляционные модификации. Процесс полимеризации актина и тубулина. Особенности полимеров, важные для осуществления направленного транспорта. Белки, контролирующие свойства микротрубочек и актиновых филаментов: стабилизирующие по длине, связывающиеся с концами, иницирующие полимеризацию или деполимеризацию, фрагментирующие. Белки, образующие из линейных филаментов структуры более высокого порядка и связывающие их с мембраной. Генерация силы в процессе полимеризации-деполимеризации. Моторные белки, осуществляющие транспорт по микротрубочкам и микрофиламентам, их разнообразие. Механохимический цикл миозина и кинезина. Взаимодействие моторных белков с линейными треками. Направленность и процессивность моторного белка. Карго для моторных белков. Взаимодействие моторных белков между собой. Белки, контролирующие активность моторных белков.

### **Рекомендуемая литература:**

Основная

1. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. Курс лекций. — М: Книжный дом «Университет», 2005 или 2002.
2. C. Branden, J. Tooze. "Introduction to Protein Structure", 2-nd edition, Garland Publishing, 1999.
3. Шульц Г.Е., Ширмер Р.Х. — Принципы структурной организации белков. — М: Мир, 1982.
4. Степанов В.М. "Молекулярная биология. Структура и функции белков". Под ред. А.С. Спирина. М.: В.Ш., 1996.
5. Овчинников Ю.А. "Биоорганическая химия", М.: Просвещение, 1984.

Дополнительная:

6. Фершт Э. — Структура и механизм действия ферментов, гл. 1, 8—12. — М: Мир, 1980.
7. Fersht A. — Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding. — NY: W.H.Freeman & Co., 1999.
8. Волькенштейн М.В. — Биофизика, гл.4, 6. — М: Наука, 1981.
9. Кантор Ч., Шиммель П. — Биофизическая химия, т. 1, гл. 2, 5; т.3, гл. 17, 20, 21. М: Мир, 1982.
10. T. Creighton. "Proteins", 2-nd edition: "Structures and Molecular Properties", Freeman and Company, NY, 1993.
11. Perutz M.F. — Protein structure. — NY: W.H.Freeman & Co., 1992.
12. Ленинджер А. — Основы биохимии, в 3-х т., гл.4—8, 23, 29. — М: Мир, 1985.
13. Страйер Л. — Биохимия, в 3-х т., гл.1—9, 27, 33—34. — М: Мир, 1984 (т.1) – 1985 (т.2,3).
14. Рубин А.Б. — Биофизика. т.1, гл. 7—14. — М: Книжный дом "Университет", 1999.
15. Полинг Л. — Общая химия, гл. 1—6, 9—13, 16, 24. — М: Мир, 1974.
16. Эмануэль Н. М., Кнорре Д. Г. Курс химический кинетики. 4-е изд. — М: Высшая Школа, 1984.
17. Howard J. Mechanics of motor proteins and the cytoskeleton. — Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., 2001. Part III.
18. G. Karp. "Cell and Molecular Biology", 2-nd edition, John Willey & Sons Inc., 1999.
19. R. Weaver. "Molecular Biology", 2-nd edition. International ed., 2002.
20. D. Voet, J. Voet, Ch. Pratt. "Fundamentals of Biochemistry", John Willey & Sons Inc., 1999.
21. J. Berg, J. Tomoczko, L. Stryer. "Biochemistry", 5-nd edition, International ed., 2002.
22. D. Metzler. "Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells", 2-nd edition, v1, v2, Academic Press, 2003.
23. D.G. Hardie, J.R. Coggins. "Multidomain proteins: structures and evolution", Elsevier, 1986.
24. H. Lodish et al. "Molecular and Cell Biology", Freeman and Company, 4-nd edition, 2000; 5-nd edition, 2003.
25. B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. "Molecular Biology of the Cell", Fourth Edition, 2002, Fifth Edition, 2007.