

Краткая программа курса молекулярной биологии

ЛМШ-2024

Лекция 1

Нерегулярные полимеры и принцип матричного синтеза.

Формы нуклеотидов и геометрия комплементарных пар. Взаимодействия азотистых оснований.

Три типа спиралей нуклеиновых кислот. Отличия в экспонировании разных функциональных групп в большую и малую бороздки у разных пар нуклеотидов.

Вторичные структуры, образуемые РНК. А-минорное взаимодействие. Аптамерные модули РНК.

Функции, выполняемые ДНК и РНК. Особенности ДНК по сравнению с РНК, делающие ее более пригодной для хранения информации в клетке. Многообразие функций РНК в клетке.

Сверхспирализация ДНК, формула, описывающая параметры перекрещивания цепей ДНК в пространстве: число зацеплений, число витков спирали, супервитки. Биологический смысл и механизмы изменения числа супервитков топоизомеразами.

Лекция 2

Первичная структура белка: основная цепь и боковые группы. Вторичные структуры: альфа-спираль и бета-слой.

Вклад разных типов взаимодействий в формирование пространственной структуры. Формирование гидрофобного ядра белковой глобулы. Вандерваальсовы взаимодействия внутри глобулы. Дисульфидные связи. Доменная структура белков. Организация пептидов в макромолекулярные комплексы.

Эксперимент Анфинсена. Парадокс Левинтала и путь сворачивания белка. Механизмы работы шаперонов: работа на стадии синтеза полипептида, исправление неправильно свернувшихся белков.

Аллостерическое воздействие лиганда на белок. Посттрансляционные модификации.

Принципы функционирования белков-ферментов. Понижение энергии переходного состояния. Специфичность ферментов. Важность образования более сильной связи фермента с переходным состоянием по сравнению со связью фермента с субстратом. Важность жесткой структуры активного центра фермента и, как следствие, наличия большого количества аминокислот в глобуле, не участвующих непосредственно в реакции.

Распознавание последовательности ДНК белками. ДНК-узнающий мотив «спираль-поворот-спираль». Гомеодомены. Лейциновая застежка. Цинковые пальцы. Узнавание белком последовательности ДНК с помощью направляющей (гидовой) РНК, комплементарной мишени.

Лекция 3

Центральная догма молекулярной биологии. Свойства генетического кода.

Адаптерная гипотеза, тРНК и ее пространственная структура. Wobble-гипотеза Крика. Следствия из этой гипотезы для генетического кода.

Аминоацилирование тРНК. Важность АРСаз: исполнение генетического кода и сопряжение соединения аминокислот и гидролиза АТФ. Распознавание аминокислот АРСазами. Принцип коррекции аминоацилирования.

Лекция 4

Общие принципы транскрипции. Реакция, осуществляемая РНК-полимеразой. Транскрипционный пузырь, кодирующая и матричная цепи, асимметричность транскрипции. Промотор и терминатор. Важность регуляции транскрипции.

Бактериальная РНК-полимераза. Сигма-субъединица, холофермент и апофермент, специфичность полимеразы к последовательностям ДНК. Функции сигма-субъединицы. Бактериальный промотор. Механизм плавления промотора и последовательность событий при инициации транскрипции у бактерий. Терминация транскрипции: внутренняя и р-зависимая. Оперонная структура генов бактерий. Сопряженность транскрипции и трансляции.

Регуляция транскрипции с помощью смены сигма-факторов. Регуляция транскрипции белками-репрессорами и активаторами на примере лактозного и триптофанового оперонов.

Бактериальная рибосома, роль рРНК и белков. Рабочий цикл рибосом.

Инициация трансляции у бактерий. Сайт посадки рибосом. Инициаторная аминоацил-тРНК.

Элонгационный цикл трансляции. Факторы элонгации EF1A (EF-Tu) и EF2 (EF-G).

Терминация трансляции: две основные задачи, решаемые на стадии терминации.

Аттенюация на примере работы триптофанового оперона. Рибопереключатели и РНК-термометры.

Лекция 5

Сценарий эукариогенеза, предполагающий появление ядра в ответ на экспансию мобильных генетических элементов из эндосимбионта в геном хозяина: плотность записи информации в геноме, разобщение транскрипции и трансляции, появление сплайсосом и других отличительных признаков эукариот.

Нуклеосомы. Модификации хвостов гистонов. Упаковка ДНК: 10-нм нить, хроматиновые домены. Ремоделирование хроматина.

РНК-полимеразы эукариот, их специализация. Промоторы РНК-полимеразы II, энхансер. Общие факторы и белки-коактиваторы транскрипции. Инициация транскрипции РНК-полимеразой II, роль факторов TFIID и TFIIF. С-терминальный домен РНК-полимеразы II. Механизм влияния энхансера на транскрипцию.

Лекция 6

Кэпирование мРНК. Общий механизм сплайсосомального вырезания интронов. Альтернативный сплайсинг. Полиаденилирование и терминация транскрипции.

Транскрипция рибосомальной ДНК РНК-полимеразой I, процессинг пре-рРНК. Особенность промоторов РНК-полимеразы III.

Принципы регуляции экспрессии генов у эукариот.

Комбинаторный принцип контроля транскрипции.

Эухроматин и ацетилирование гистонов. Особенности гетерохроматина: метилирование ДНК, деацетилирование гистонов и репрессия генов. Сохранение эпигенетических меток после репликации.

Влияние упаковки и трехмерной структуры хромосом на транскрипцию.

Особенности эукариотической трансляции. Инициация трансляции путем сканирования. Биосинтез мембранных и внеклеточных белков. Нонсенс-опосредованная деградация мРНК.

Лекция 7

Матричный принцип репликации. Реакция синтеза ДНК.

Основные свойства репликативной машины. Общая характеристика ДНК-полимераз. Праймирование у бактерий и у эукариот. Процессивность полимеразы, скользящий зажим.

Репликативная вилка. Прерывистость репликации. Хеликаза бактерий и хеликаза архей и эукариот. Реплисома. Образование супервитков и борьба с ними. Удаление праймеров: работа ДНК-полимеразы I у *E.coli* и удаление праймеров у эукариот путем вытеснения цепи полимеразой. Лигирование ника.

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

Важность регуляции работы ориджинов у эукариот. Место в клеточном цикле событий загрузки и активации хеликазы. Контроль запуска этих событий.

Проблема недорепликации концов линейных хромосом и механизм удлинения теломер.

Лекция 8

Повреждения ДНК, ошибки репликации и мутации. Основные источники повреждений ДНК и возникновения мутаций. Прямое удаление повреждений. Эксцизия оснований (BER). Эксцизия нуклеотидов (NER), пути узнавания повреждений ДНК. Репарация неспаренных оснований (MMR).

Причины возникновения двуцепочечных разрывов (ДЦР) ДНК. Пути репарации ДЦР и их место в клеточном цикле. Негомологичное соединение концов (NHEJ). Репарация, направляемая гомологией (гомологичная рекомбинация). Пути гомологичной рекомбинации: синтез-зависимый отжиг цепи (SDSA), образование структуры Холлидея и способы ее разрешения – «растворение» и разрешение двойной структуры Холлидея с образованием кроссоверов и некроссоверных продуктов. Хеликаза BLM и синдром Блума. Фосфорилирование гистона H2AX.

Рекомбинация как центральное событие мейоза. Сравнение мейотической рекомбинации и репарации ДЦР по пути рекомбинации.

Лекция 9

Мобильные генетические элементы. Транспозоны, классификация. Особенности ДНК-транспозонов. MITE-элементы. Полинтонны. LTR-ретротранспозоны. Не-LTR ретротранспозоны (LINE, SINE). Самосплайсирующие интроны II группы, механизмы автосплайсинга, ретрохоуминга и ретромобильности. Самосплайсирующие интроны I группы, механизм автосплайсинга и хоуминга. Интеины. Причины неактивности транспозонов у эукариот. Эволюционное значение МГЭ.

Структура генома эукариот. Сателлитные и перемежающиеся (interspersed) повторы. Процессированные псевдогены.

Тенденция к увеличению размера геномов эукариот. Механизмы возникновения новых генов.