

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ
ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

(ИХБФМ СО РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИХБФМ СО РАН

чл.-корр. РАН д.х.н. профессор

Д.В. Пышный



**ВРЕМЕННАЯ
ПРОГРАММА-МИНИМУМ**

кандидатского экзамена
по научной специальности

1.5.7. «Генетика»

по биологическим наукам

Введение

Основу настоящей программы составляют современные данные по генетике, включающие представления об общих принципах структурно-функциональной организации геномов высших организмов, в том числе о геноме человека, сведения по полиморфизму ДНК, изменчивости организмов, теории мутагенеза. Особое внимание уделено вопросам организации и экспрессии генов, структуре хроматина и хромосом, молекулярным основам развития, старения, иммунитета и канцерогенеза, соотношению генетических и эпигенетических механизмов в развитии.

Программу составили:

академик РАН, д.б.н., профессор И.Ф. Жимулев.

Программа утверждена Ученым советом ИХБФМ СО РАН от 28.10.2022 протокол № 10.

1. Хромосомная теория наследственности.

Открытие законов наследственности. Работы Г. Менделя.
Доминантность и рецессивность. Расщепление признаков.

Гены - носители наследственности. Локализация генов в хромосомах.

Т. Морган. Принцип линейного расположения генов. Кроссинговер. Карты генов в хромосомах. Доказательства хромосомной теории наследственности. Генотип и фенотип. Типы взаимодействия генов.

2. Структура и функции гена.

2.1. Теория гена.

Предпосылки молекулярной генетики. Ступенчатый аллеломорфизм. Псевдоаллелизм. Межаллельная комплементация. Структура гена у бактериофага. Теория гена от Т. Моргана до С. Бензера. Основные понятия теории гена.

2.2. Строение прокариотического генома на примере бактерии *Escherichia coli*.

Размеры, кольцевая хромосома, эписомы, F-фактор. Генетические и физические карты, их соответствие, методы построения.

2.3. Организация эукариотического генома.

Общие особенности. Характерные отличия от прокариотического генома. Размер генома и парадокс величины С. Гипотеза эгоистической ДНК. Блочная организация генома и компактизация ДНК в клетке.

Основные компоненты эукариотического генома. Кинетика реассоциации ДНК. Сателлитная ДНК. Гомополимерные и простые повторяющиеся последовательности. Минисателлитные ДНК. Изохоры Бернарди.

2.4. Тонкая организация эукариотических генов.

Общие характеристики. Прерывистое строение - экзоны и интроны. Методы обнаружения и изучения прерывистого строения генов: электронный микроскоп (D-петли, R-петли), рестрикционный анализ, S1-анализ.

Особенности экзон-интронной организации. Альтернативный сплайсинг. Экзоны и белковые домены.

Строение глобиновых генов, коллагеновых генов (в качестве типичных примеров).

2.5. Основы иммуногенетики.

Организация генов иммуноглобулинов. Перестройки последовательностей ДНК и их роль в создании функциональных генов иммуноглобулинов. Природа разнообразия иммуноглобулинов.

2.6. Онкогены и обратная транскрипция.

Представление об онкогенах. Трансформирующие последовательности онкогенных ретровирусов и их клеточные гомологи (V-onc и c-onc). Онкогены и их клеточные функции. Онкобелки и метаболические пути живой клетки. Механизмы обратной транскрипции, ее функции.

2.7. Гены и псевдогены.

Роль обратной транскрипции в образовании и эволюции генома эукариот.

2.8. Подвижные генетические элементы генома про- и эукариот.

Транспозоны бактерии и их роль в эволюции бактерий. Основные типы организации последовательностей ДНК и генов. Различные типы чередования повторяющихся и уникальных последовательностей ДНК. Повторяющиеся сгруппированные гены. Повторяющиеся диспергированные гены. Тканеспецифические гены и гены «домашнего хозяйства».

Перемещающиеся генетические элементы Б. Макклиток. Мобильные диспергированные гены дрозофилы (мдг). FB-элементы дрозофилы. P- и I-элементы дрозофилы. Tu-элементы дрожжей. Ретротранспозоны млекопитающих: короткие (SINE), длинные (LINE). Классификация мобильных элементов, механизмы транспозиции, возможные функции и биологическая значимость. Использование мобильных элементов в генетических экспериментах (транспозоны, репортерные гены).

2.9. Полиморфизм ДНК.

Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов ДНК. Гипервариабельные ДНК: мини- и микросателлиты. Физическое и генетическое картирование генома. Популяционно-семейный анализ и картирование наследственных заболеваний. Пре-постнатальная диагностика наследственных болезней. Проблемы и методы изучения генетического разнообразия и генетическая дифференциация.

2.10. Редактирование генома.

Подходы и методы.

2.11. Геном человека.

Общие и характерные особенности организации. Типы сателлитных ДНК. Альфоидные ДНК. Суперсемейство повторов A_n: содержание, строение, транскрипция, происхождение. Суперсемейство повторов K_{pn} I: содержание, строение, транскрипция, происхождение.

Генные семейства. Системы глобиновых генов: кластерная организация, особенности функционирования в онтогенезе.

Наследственные дефекты экспрессии генов. Методы анализа дефектных генов. Разработка подходов генной терапии.

3. Хромосомная организация генома.

3.1. Эухроматин и гетерохроматин.

Дифференциальное окрашивание хромосом. Центромеры и теломеры хромосом.

3.2. Уровни организации хроматина.

Белки хроматина. Нуклеосомы: получение, структура, реконструкция, октамер гистонов, нуклеоплазмин. Наднуклеосомные фибриллы: 300 нм фибрилла, петли хромосомной ДНК.

3.3. Транскрипционно активный и неактивный хроматин.

Использование ДНКазы I. Уровни чувствительности к нуклеазам. Сверхчувствительные области активного хроматина. Модификации активного хроматина.

3.4. Топология ДНК.

Суперспирализация. Связанные супервитки на нуклеосомах. Ферменты, регулирующие топологический статус ДНК.

3.5. Ядерный матрикс.

Методы выявления. Белки ядерного матрикса и в местах соединения матрикса с ДНК. Структурно-функциональная роль ядерного матрикса. Компаратментализация внутриядерных синтетических процессов.

3.6. Митоз и мейоз.

Клеточный цикл. Определение понятия; этапы клеточного цикла для клеток, сохранивших способность к делению, и клеток, утративших способность к делению.

Митотический цикл. Определение понятия. Фазы цикла (интерфаза, митоз). Биологическое значение митоза. Механизм. Преобразование структурных компонентов клетки на различных этапах митоза. Роль клеточного центра в митотическом делении клеток. Морфология митотических хромосом.

Эндомитоз. Определение понятия. Основные формы, биологическое значение. Понятие о пloidности клеток. Полиплоидия; механизмы образования полиплоидных клеток (одноядерных, многоядерных), функциональное значение этого явления.

Мейоз. Его механизм и биологическое значение. Морфо-функциональная характеристика процессов роста и дифференцировки, периода активного функционирования, старения и гибели клеток.

3.7. Генетическая организация хромосом.

Ядро. Роль клеточного ядра в хранении и передаче генетической информации и в синтезе белка. Форма и количество ядер. Понятие о ядерно-цитоплазматическом отношении. Общий план строения интерфазного ядра: хроматин, ядрышко, ядерная оболочка, кариоплазма (нуклеоплазма).

Хроматин. Строение и химический состав. Структурно-химическая характеристика хроматиновых фибрилл, перихроматиновых фибрилл, перихроматиновых и интерхроматиновых гранул. Роль основных и кислых белков в структуризации и в регуляции метаболической активности хроматина. Понятие о нуклеосомах; механизм компактизации хроматиновых фибрилл. Понятие о деконденсированном и конденсированном хроматине (эухроматине, гетерохроматине, хромосомах), степень их участия в синтетических процессах. Строение хромосомы. Половой хроматин.

Ядрышко. Ядрышко как производное хромосом. Понятие о ядрышковом организаторе. Количество и размер ядрышек. Химический состав, строение, функция. Характеристика фибриллярных и гранулярных компонентов, их взаимосвязь с интенсивностью синтеза РНК. Структурно-функциональная лабильность ядрышкового аппарата.

Ядерная оболочка. Строение и функции. Структурно-функциональная характеристика наружной и внутренней мембран, перинуклеарного пространства, комплексы поры. Взаимосвязь количества ядерных пор и интенсивности метаболической активности клеток. Связь ядерной оболочки с эндоплазматической сетью; с материалом хромосом.

4. Молекулярные основы наследственности.

4.1. Отожествление генов с ДНК.

Доказательства генетической роли ДНК. Два типа нуклеиновых кислот: ДНК и РНК. Первичная структура нуклеиновых кислот. Физико-химические свойства нуклеиновых кислот. Двойная спираль и неканонические структуры ДНК.

4.2. Генетический код.

Коллинеарность гена и полипептида. Расшифровка кодонов в экспериментах *in vitro*.

4.3. Особенности митохондриальной ДНК.

Кольцевая структура, суперкомпактизация, обогащенность GC-парами, общий регуляторный район (инициация репликации и транскрипции).

5. Молекулярные основы генетических процессов.

5.1. Репликация.

Полуконсервативный механизм репликации ДНК. Репликон. Конкатемеры, катенаны и «катящиеся кольца». Вилка репликации, ферменты репликации. Инициация, участки начала репликации, методы картирования *ori*, дрожжевые ARS и организация *ori* в геноме дрожжей, элонгация, терминация, понятие о репликоне. Тайминг репликации эукариотических генов.

5.2. Репарация ДНК.

Повреждения ДНК, ее репарация после действия ультрафиолетового света. Фотореактивация. Эксцизионная репарация, пострепликативная репарация. Репарация ДНК после действия ионизирующих излучений. Генетический контроль радиочувствительности.

5.3. Рекомбинация.

Понятие о рекомбинации молекул ДНК. Тетрадный анализ механизма рекомбинации. Генетический контроль рекомбинации, *hes*-белки, участвующие в репликации. Молекулярные теории рекомбинации.

5.4. Мутагенез.

Определение мутации. Спонтанные и индуцированные мутации. Классификация мутаций. Типы мутаций и их молекулярные механизмы: точечные мутации, делеции, дупликации, инверсии, транслокации. Гибридный дисгенез, гибридная депрессия, мутации, вызывающие аномалии в развитии. Молекулярные механизмы мутагенеза. Мутационный процесс и проблема генетической безопасности.

6. Действие гена.

6.1. Транскрипция гена.

Общая характеристика, РНК-полимеразы. Процесс транскрипции, инициация, элонгация, терминация.

6.2. Понятие транскрипционной единицы и первичного транскрипта у эукариот.

Разобщение процессов транскрипции и трансляции в эукариотической клетке. Три типа ядерных РНК-полимераз.

Промоторы и инициация транскрипции, тест-системы. Энхансеры: вирусные, клеточные, основные свойства. Сайленсеры. Терминация транскрипции.

Первичные продукты транскрипции и процессинг. Пре-рРНК, альтернативные пути процессинга, роль И 3 РНК. Предшественники 5S РНК и других малых ядерных РНК. Пре-тРНК.

Пре-мРНК: общие характеристики, 5'-кэпирование, метилирование, 3'-полиаденилирование и сплайсинг.

Ядерные РНП-частицы, содержащие пре-мРНК: открытие, характеристики, функции.

6.3. Сплайсинг РНК как механизм экспрессии генов.

Основные этапы, различные механизмы. Рибозимы. Сплайсинг митохондриальных пре-мРНК дрожжей, РНК-матураза. Сплайсинг ядерных пре-мРНК, сигналы сплайсинга и роль мРНК, сплайсосомы и малые ядерные РНК, механизм сплайсинга. Альтернативный сплайсинг и регуляция генной экспрессии. Транс-сплайсинг.

6.4. Информационная РНК (мРНК).

мРНК прокариот: основные характеристики. мРНК эукариот: содержание, локализация, размеры, стабильность, методы выделения.

Структурная организация мРНК эукариот: кэп-структуры на 5'-конце. Поли (А) на 3'-конце. Нетранслируемые зоны, консервативные последовательности. Факторы, определяющие скорость деградации мРНК.

Модели координированной регуляции экспрессии генов.

Феномен «редактирования» мРНК.

6.5. Регуляция транскрипции у про- и эукариот. Оперон у прокариот.

Регуляция транскрипции у бактерий. Классическая схема оперона по Жакобу и Моно. Индукция и регрессия синтеза ферментов. Регрессор лактозного оперона. Катаболическая регрессия. Циклическая АМФ и белок-рецептор цАМФ.

Типы РНК-полимераз животных. Транскрипция рибосомных, структурных и генов низкомолекулярных РНК. Взаимодействие РНК-полимераз с факторами транскрипции. Сходство в структуре про- и эукариотических регуляторных факторов (на примере репрессора фага лямбда и регулятора дрожжевого оперона GAL), активирующая и ДНК-связывающая поверхности. Белковые факторы транскрипции, взаимодействие с ДНК, особенности структуры ДНК-связывающего домена.

6.6. Трансляция.

Компоненты белок-синтезирующей системы, адапторная теория, расшифровка генетического кода на уровне трансляции, воблинг-гипотеза.

Общая характеристика трансляции. Этапы трансляции.

Инициация трансляции в прокариотических системах. Инициаторная формилметионил-тРНК. Индуцирующие кодоны. Белковые факторы и ГТФ. Образование начального комплекса. Образование первой пептидной связи. Инициация в системах с синтетическими матрицами без иницирующих кодонов.

Особенности инициации в эукариотических системах. «Полимеризация» аминокислотных остатков («элонгация»).

Белковые факторы элонгации прокариот и эукариот, их характеристика. Участие ГТФ. Поступление в рибосому аминоацил-тРНК. Образование пептидной связи. Транслокация как механический акт. Последовательность событий в процессе транслокации. Общая схема рабочего цикла трансляции. Генетическая регуляция трансляции.

Механизм действия некоторых антибиотиков на рабочий цикл трансляции. Пуромицин. Хлорамфеникол. Эритромицин. Тетрациклины. Стрептомицин. Спектиномицин. Фусидовая кислота.

Понятие о ложном кодировании в процессе элонгации. Факторы, способствующие ложному кодированию. Возможные механизмы.

Терминация трансляции. Кодоны терминации. Белковые факторы терминации. Роль пептидил-трансферазного центра в терминации.

Межцистроновая пунктуация в полицистроновых мРНК.

Образование белков у некоторых вирусов путем протеолитического «разрезания» гигантского «полипротеина» – предшественника.

Полирибосомы. Распространенность. Механизм функционирования.

Биологическая роль.

Бесфакторная трансляция.

Биоэнергетика трансляции. Роль реакции транспептидации и гидролиза ГТФ. Вклад и механизм действия белковых факторов трансляции.

6.7. Регуляция синтеза белка на уровне трансляции.

Представление о «маскированной» мРНК, цитоплазматические информосомы.

Негативная регуляция трансляции вирусных (Q β , R17, MS2) РНК. Регуляция синтеза рибосомных белков у бактерий. Данные о негативной регуляции трансляции мРНК в животных системах. Позитивная регуляция: мРНК-узнающая способность рибосом и белковых факторов инициации. Ко-трансляционные и пост-трансляционные изменения белков и их генетическая регуляция. Сигнальные полипептидные последовательности. Частичный протеолиз. Глюкозилирование и другие типы химической модификации белка. Их роль в ко-трансляционном и пост-трансляционном транспорте белков через мембраны.

6.8. Понятие о микроРНК.

Строение, участие в регуляции активности генов, микроРНК в онкогенезе.

6.9. Действие генов в развитии.

Преформизм и эпигенетика. Позиционная информация в яйцеклетке и раннее эмбриональное развитие.

Действие генов при определении пола у человека и дрозофилы.

Механизм дозовой компенсации в активности генов, сцепленных с полом.

7. Рекомбинантные молекулы ДНК. Генная инженерия как основной инструмент современной генетики.

7.1. Модификация и рестрикция ДНК и ее биологическая роль.

Ферменты рестрикции и модификации, последовательность нуклеотидов, специфичность, механизм действия. Ферменты рестрикции I и II типов. Использование рестриктаз для физического картирования ДНК.

7.2. Создание гибридных (рекомбинантных) молекул ДНК.

Ферменты, используемые для генно-инженерных манипуляций: ДНК-полимеразы (ДНК-полимераза I и ее свойства), фрагмент Кленова, ДНК-лигазы, трансферазы, обратная транскриптаза, их свойства и специфичность действия.

Понятие о векторе. Типы векторов, используемых для клонирования.

Трансформация бактериальных клеток. Отбор рекомбинантных клонов.

7.3. Создание библиотек генов.

Представление о геномной и кДНК-библиотеках. Анализ клонов. Метод блот-гибридизации по Саузерну. Рестрикционное картирование. Нозерн-блот-гибридизация. Экспрессия рекомбинантных клонов в про- и эукариотических клетках. Системы для тестирования экспрессии генов (X-Gal и др.). Вестерн-блот-гибридизация.

7.4. Перенос генов в клетки млекопитающих.

Методы введения ДНК в эукариотические клетки (трансфекция). Эукариотические векторы. Искусственные дрожжевые хромосомы (УАС). САТ-система (хлорамфениколацетил-трансфераза) и ее использование для изучения регуляции экспрессии генов млекопитающих. Трансгенные животные как система для изучения экспрессии генов млекопитающих. Автоматическое секвенирование ДНК.

7.5. Определение первичной структуры ДНК. Развитие методов секвенирования.

История развития. Метод Максама-Гилберта, секвенирование по Сэнгеру. Современные методы высокопроизводительного секвенирования.

7.6. Геномная дактилоскопия (ДНК-фингерпринтинг).

Современный метод идентификации личности по особенностям организации генома. Общая схема метода.

7.7. Полимеразная цепная реакция.

Общая схема процесса. Подбор праймеров. Применение при анализе низкокопийной ДНК.

Литература

1. Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. М.: Наука, 1989 г.
2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2007 г.
3. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Н-Л., 2010 г.

4. Корочкин Л.И., Михайлов А.Т. Введение в нейрогенетику. М.: Наука, 2000 г.
5. Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. Хромосомы. Структура и функции. Новосибирск, Издательство СО РАН, 2009 г.
6. Льюин Б. Гены. М.: Бином, 2012 г.
7. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. Под ред. Спирина А.С. М.: Высшая школа, 1986 г.
8. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998 г.
9. Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика. М.: Мир, 1981 г.
10. Уотсон Д. Молекулярная биология гена. М.: Мир, 1980 г.