

ПРОГРАММА ВСТУПИТЕЛЬНОГО ИСПЫТАНИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА И ГЕНОМИКА С ОСНОВАМИ БИОИНФОРМАТИКИ»

Вступительное испытание проводится в двух частях.

Первая часть вступительного испытания проводится в форме развернутого письменного ответа на один вопрос. Основной целью этой части испытания является оценка уровня знаний в области молекулярной биологии и генетики. Максимальная оценка 60 баллов.

Программа первой части вступительного испытания.

Общая генетика

Предмет генетики. Наследственность и изменчивость. Ген, генотип и фенотип. Место генетики среди биологических дисциплин. Значение генетики для решения задач медицины, биотехнологии, экологии и селекции.

Генетическая информация. Локализация генов в хромосомах. Роль цитоплазматических органелл в передаче наследственной информации. Деление клетки. Митоз. Мейоз. Гаметогенез. Синапсис (конъюгация) хромосом. Кариотип.

Нуклеиновые кислоты, их структура, свойства и функции. Генетический код.

Цели и принципы генетического анализа. Наследственный признак. Признаки качественные и количественные, элементарные и комплексные. Принцип анализа единичных признаков.

Методы генетического анализа. Моногибридное и полигибридное скрещивания. Аллели и типы их взаимодействий. Статистический характер расщеплений. Цитологические основы законов наследования. Условия выполнения менделевских закономерностей наследования признаков.

Взаимодействие генов: комплементарность, эпистаз, полимерия (кумулятивная и некумулятивная). Биохимические основы взаимодействия генов. Особенности наследования количественных признаков (полигенное наследование).

Представление о генотипе как сложной системе взаимодействующих генов. Плейотропия.

Типы детерминации пола. Половые хромосомы. Наследование признаков, сцепленных с полом. Наследование при нерасхождении половых хромосом.

Сцепленное наследование признаков. Группы сцепления. Кроссинговер. Множественный кроссинговер. Коинциденция. Интерференция. Линейное расположение генов в хромосомах. Генетические карты. Митотический кроссинговер.

Хромосомная теория наследственности и роль Т. Моргана в ее формировании.

Критерии нехромосомного наследования. Материнский эффект. Пластидная наследственность. Митохондриальная наследственность. Организация геномов хлоропластов и митохондрий. Взаимодействие ядерных и неядерных генов. Инфекционные факторы и неядерная наследственность.

Понятие о наследственной и ненаследственной (модификационной) изменчивости. Взаимодействие генотипа и окружающей среды. Норма реакции генотипа. Пенетрантность и экспрессивность.

Комбинативная изменчивость, механизмы ее возникновения и роль в эволюции.

Мутационный процесс. Геномные изменения: полиплоидия (эуплоидия и анеуплоидия). Автополиплоиды. Аллополиплоиды. Межвидовая гибридизация. Хромосомные перестройки. Внутри- и межхромосомные перестройки: делеции,

дупликации, инверсии, транслокации, транспозиции. Генные мутации. Классификация генных мутаций.

Генетическая регуляция процессов онтогенеза. Онтогенез как реализация наследственно детерминированной программы развития. Действие генов в раннем эмбриогенезе. Гомеозисные гены. Тканеспецифическая активность генов. Взаимоотношения генов и клеток в морфогенезе.

Генетические процессы в популяциях. Вид и популяция. Частоты фенотипов, генотипов, генов и аллелей. Математические модели в популяционной генетике. Закон Харди-Вайнберга.

Генетическая гетерогенность популяций. Факторы динамики генетического состава популяции: ограничение численности (дрейф генов, эффект «бутылочного горлышка»), мутации, миграции, естественный отбор. Взаимодействие факторов динамики генетической структуры в природных популяциях. Внутрипопуляционный генетический полиморфизм. Генофонд. Генетический груз. Приспособленность. Коэффициент отбора. Роль генетических факторов в эволюции.

Рекомендуемая литература:

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Санкт-Петербург: Издательство Н-Л, 2015.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство, 2007 г.

Молекулярная генетика

Структура ДНК. Модель репликации по Уотсону и Крику - полуконсервативный способ репликации ДНК. Взаимодействие генетического подхода с биохимическими и физическими методами в изучение синтеза ДНК у *E.coli*. Роль генетического анализа в исследовании сложных биологических процессов.

Репликационная вилка. Понятие о репликоне. Особенности организации и репликации хромосом про- и эукариот. Основные принципы репликации: матричный процесс, комплементарный, полуконсервативный, однонаправленный (направления роста и полярности цепей ДНК), полунепрерывный - отстающая и лидирующая цепи, необходимость в праймерах. Структура ориджина репликации у *E.coli*. Инициация репликации и расплетание двойной спирали ДНК. Схема событий в вилке репликации. Полигенный контроль процесса репликации. Представление о функциях основных белков, принимающих участие в репликации ДНК. Репликация и метилирование ДНК. Роль метилазы Dam у *E.coli*. Другие типы синтезов ДНК.

Генетическая рекомбинация. Межмолекулярная и внутримолекулярная рекомбинация ДНК. Типы рекомбинации: гомологичная или общая рекомбинация (кроссинговер), сайт-специфическая рекомбинация, транспозиция, незаконная рекомбинация. Общая схема кроссинговера. Эктопическая рекомбинация - частный случай гомологичной рекомбинации. Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации (межмолекулярная и внутримолекулярная рекомбинация). Биологическое значение гомологичной рекомбинации и эктопической рекомбинации в частности. Молекулярные механизмы рекомбинации. Генетический контроль и энзимология общей рекомбинации у *E.coli*, роль белка RecA. Сайт-специфическая рекомбинация: схема интеграции и исключения ДНК фага лямбда. Структура рекомбинационных сайтов attP и attB.

Генетический анализ у прокариот. Особенности микроорганизмов как объекта генетических исследований. Основные термины: штамм, дикий тип, клон, клонирование как метод генетического анализа в культуре микроорганизмов. Методы, применяемые в генетическом анализе у бактерий и бактериофагов: клональный анализ, метод селективных

сред, метод отпечатков и др. Генетические элементы бактериальной клетки: хромосома, плазмиды, профаги, мигрирующие элементы. Организация генетического аппарата у бактерий (топология бактериальных геномов). Общее представление о плазмидах и их разнообразии. Строгий и ослабленный контроль репликации. Плазмиды конъюгативные и неконъюгативные. Плазмиды с узким и широким кругом хозяев. Гены устойчивости к антибиотикам. Характеристика плазмид ColE1, F-фактора, RK2, RSF1010.

Процессы передачи генетической информации у бактерий, приводящие к рекомбинации генетического материала, и их особенности. Конъюгация у бактерий. Структура F-фактора. Перенос конъюгативных плазмид на примере F-фактора у *E.coli*. Схема интеграции F-фактора в хромосому. Схема переноса хромосомных генов при конъюгации. Рекомбинация после Hfr-конъюгации. Кольцевая карта хромосомы *E.coli*. Трансдукция у бактерий. Общее представление о бактериофагах. Фаги вирулентные и умеренные, размножение фагов, литический и лизогенный циклы. Профаг, лизогенные клетки. Лизогенная (фаговая) конверсия - пример горизонтального переноса генов. Механизм общей трансдукции. Схема интеграции фага X в хромосому *E.coli* и образование трансдуцирующего фага. Специфическая трансдукция, опосредованная фагом X. Трансформация. Компетентность, стадии трансформации. Генетическая рекомбинация при трансформации. Использование трансформации для картирования генов (для семинарских занятий у генетиков).

Транспозиция. Схема строения подвижных элементов и их инсерции в ДНК-мишень. Роль подвижных элементов в регуляции генного действия и в хромосомных перестройках. Подвижные элементы прокариот: классификация, структурная организация IS-элементов, составных и несоставных (комплексных) транспозонов, генетический контроль и основные механизмы транспозиции (консервативный и репликативный). Роль подвижных элементов и плазмид в горизонтальном переносе генов у прокариот. Подвижные элементы эукариот. Ac и Ds-элементы у кукурузы как представители эукариотических элементов класса II (ДНК-транспозонов). Подвижные элементы эукариот: ретротранспозоны (ретроэлементы). Механизм транспозиции ретротранспозонов. Типы ретроэлементов. Структурная организация LTR-ретротранспозонов. Сравнительная характеристика не-LTR ретротранспозонов SINE и LINE. Геномы и ретротранспозоны. Биологическая роль подвижных элементов в онтогенезе и филогенезе. Использование подвижных элементов.

Генетический контроль мутационного процесса. Проблемы стабильности генетического материала. Основные повреждения ДНК. Эндогенные и экзогенные ДНК-повреждающие факторы. Повреждения ДНК и их основные следствия: возникновение мутаций и гибель клетки. Повреждение ДНК - неотъемлемый аспект жизни в биосфере.

Генетический код и его свойства. Точковые мутации. Замены оснований: транзиции и трансверсии. Точковые мутации в кодирующих участках на молекулярном уровне: молчащие мутации, миссенс-мутации нейтральные (неконсервативные) и радикальные (неконсервативные), нонсенс-мутации, мутации со сдвигом рамки считывания (frameshift). Генетический контроль мутационного процесса. Темпы спонтанного мутирования.

Механизмы спонтанного мутагенеза: роль генетических процессов (репликация, репарация, рекомбинация). Гены мутаторы и антимутаторы. Связь мутабельности с функциями аппарата репликации. Ошибки репликации, приводящие к инсерциям и делециям.

Понятие о мутагенных индуцибельных путях репарации. Мутагенез, опосредованный через процессы рекомбинации. Механизмы спонтанного мутагенеза: химическая модификация оснований ДНК и их утрата, окислительные нарушения ДНК. Механизмы автономной нестабильности генома, роль мобильных генетических элементов. Гипермутабельные гены.

Индукцированный мутагенез. Химические агенты. Механизмы действия аналогов оснований, интеркалирующих агентов, алкилирующих агентов, соединений, реагирующие

с ДНК непосредственно или после метаболических превращений. Понятие о мутагенных индуцибельных путях репарации; УФ-мутагенез. Физические агенты: УФ-излучение и ионизирующее излучение. Мутагенность и канцерогенность. Гены-супрессоры опухолей у человека (ген p53).

Генетический контроль репарационных процессов. Основные ферменты, участвующие в репарации (эндонуклеазы, экзонуклеазы, ДНК-полимеразы, ДНК-лигаза, хеликазы). Репарация ДНК путем прямого восстановления нарушений. Генетический контроль и механизмы эксцизионной и пострепликативной репарации. Вырезание поврежденных оснований. Вырезание нуклеотидов. Репарация неспаренных оснований. Эксцизионная репарация и гены-мутаторы. Пострепликативная рекомбинационная репарация. Понятие о мутагенных индуцибельных путях репарации. SOS-репарация у *E.coli* и её генетический контроль. Роль репарационных систем в поддержании стабильности генетического аппарата в филогенезе и онтогенезе.

Молекулярные механизмы регуляции действия генов. Уровни регуляции экспрессии генов. Хроматин. Эухроматин и гетерохроматин. Динамичная структура хроматина. Изменение экспрессии генов, ассоциированное с ацетилированием гистонов. Метилирование ДНК и его роль в регуляции экспрессии генов. Системы метилирования и наследование паттернов метилирования.

Регуляция на уровне транскрипции. Принципы регуляции действия генов у прокариот. Принципы негативного и позитивного контроля; регуляторные белки, индукторы, корепрессоры и ингибиторы. Схема строения и функционирования прокариотического гена. Оперонные системы регуляции (теория Жакоба и Моно). Принципы негативного и позитивного контроля на примере лактозного оперона *E.coli*. Генетический анализ лактозного оперона. Полярные мутации у прокариот и их связь с оперонной организацией генов и особенностью транскрипции и трансляции. Принципы регуляции действия генов у эукариот. Схема строения и функционирования эукариотического гена, кодирующие и некодирующие гены. Связь между сложностью организмов, размером геномов, размерами генов и межгенных участков. Посттранскрипционный процессинг РНК. Альтернативный сплайсинг и его роль.

Регуляторные РНК. Регуляторные РНК у бактерий, которые функционируют посредством спаривания с мРНК (антисмысловые РНК), - посттранскрипционный уровень регуляции. Использование антисмысловых РНК в функциональном анализе у про- и эукариот. Некодирующие РНК у эукариот. РНК-интерференция и РНК-сайленсинг. Малые регуляторные РНК (siRNA и miRNA) у эукариот, их сходства и различия. РНК-интерференция как один из механизмов регуляции действия генов у эукариот с помощью малых РНК. РНК-интерференция: основные свойства и механизм. Источники двуцепочечной РНК и биологическая роль РНК-интерференции. РНК-интерференция как инструмент функциональной геномики. Образование и основная функция miRNA. Связь между генетическим контролем и механизмами функционирования miRNA и siRNA. Механизм действия малых РНК и характер спаривания мРНК-мишенью. Основные активности малых регуляторных РНК: пост-транскрипционное разрезание мРНК-мишени, трансляционная репрессия мРНК, транскрипционный сайленсинг. Гены ш1РНК и их локализация. Биологическая роль ш1РНК и их использование в диагностике.

Многообразие механизмов посттрансляционной регуляции генного действия: роль пептидаз, шаперонов и ковалентной модификации белков у про- и эукариотических организмов.

Рекомендуемая литература:

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Санкт-Петербург: Издательство Н-Л, 2015.

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство, 2007 г.

Клаг У.С., Каммингс М.Р., Спенсер Ш.А., Палладино М. А. Основы генетики. Техносфера, 2016

Кребс Дж, Голдштейн Э., Килпатрик С. Гены по Льюису М.: Лаборатория знаний, 2017.

Генетика человека

Основные направления исследований в генетике человека. Генетика человека как фундаментальная и прикладная наука. Человек как объект генетических исследований: преимущества и недостатки. Методы генетики человека. Генеалогический метод. Близнецовый метод. Популяционно-генетический метод. Цитогенетический метод. Биохимические методы. Иммуногенетические методы. Молекулярно-генетические методы.

Хромосомы человека. Нормальный кариотип человека. Структура и функции хромосом. Аутосомы и половые хромосомы. Механизмы инактивации X-хромосомы. Аномалии числа хромосом: полиплоидия, анеуплоидия, миксоплоидия. Клиническая картина хромосомных болезней. Структурные аномалии хромосом. Микроделеции аутосом и X-хромосомы. Делеции концевых сегментов хромосом. Однородительские дисомии человека. Хромосомный импринтинг.

Генетическое картирование у человека. Этапы идентификации генов: генетическое картирование, молекулярное (физическое) картирование, клонирование, секвенирование. Сравнение цитологической, генетической и физической карт генома человека. Анализ генетического сцепления на основе частот рекомбинации. Метод максимального правдоподобия (компьютерные программы LIPED, CRIMAP, LINKAGE). Поиск специфических нуклеотидных последовательностей и продуктов их экспрессии в гибридах соматических клеток человека и грызунов, содержащих одну или несколько хромосом (фрагментов хромосом) человека. Ассоциации заболеваний с определенными хромосомными. Молекулярное картирование. Биоинформатический и молекулярный анализ. Проблемы картирования генов. Картирование генов комплексных признаков. Метод идентичных по происхождению аллелей (IBD), ассоциации в популяциях и семьях, опыты на модельных объектах.

Структурная и функциональная геномика человека. Общая характеристика генома человека. Митохондриальный геном. Ядерный геном. Гены человека: структурно-функциональная организация. Типы генных кластеров и эволюционные механизмы их образования. Мультигенные семейства. Псевдогены. Мобильные элементы в геноме человека. Геномные проекты.

Генетика развития, старения и продолжительности жизни человека. Генетический анализ эмбриогенеза. Критические периоды эмбриогенеза. Врожденные пороки развития и тератогены (лекарственные препараты, никотин, алкоголь, инфекции, радиация). Генетика старения. Болезни раннего старения. Генетика продолжительности жизни. Генетические и эпигенетические механизмы, контролирующие процесс старения.

Мутационный процесс у человека. Мутации и полиморфизмы. Зависимость частоты возникновения мутаций от возраста и пола. Фенотипические эффекты хромосомных и геномных мутаций на разных стадиях онтогенеза. Соматические мутации как фактор развития опухолей. Соматические мутации и процесс старения. Влияние мутаций в различных генах на возраст начала проявления заболевания. Методы идентификации и диагностики мутаций. Разработка молекулярных тестов для идентификации известных мутаций.

Классификация моногенных болезней человека. Гено- и фенкопии болезней. Неполная пенетрантность и варьирующая экспрессивность патологии. Молекулярные

основы наиболее частых моногенных заболеваний. Болезни геномного импринтинга. Болезни экспансии микросателлитных повторов. Митохондриальные болезни.

Полигенные и мультифакториальные болезни человека. Вклад факторов среды в развитие болезни. Распространенные мультифакториальные заболевания: сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, бронхолегочные заболевания, язвенная болезнь, онкологические заболевания. Клинический полиморфизм и гетерогенность мультифакториальных заболеваний. Факторы риска развития заболеваний. Молекулярные основы распространенных мультифакториальных болезней.

Популяционно-генетический анализ у человека. Использование закона Харди-Вайнберга в медико-генетических популяционных исследованиях. Генетический полиморфизм в популяциях человека и индивидуальные патологические реакции на факторы среды (экогенетические болезни). Доказательства наличия естественного отбора у человека.

Генетика человека и медицина. Наследственность и биотрансформация (фармакодинамика) лекарственного препарата. Клинически выраженные патологические реакции на лекарства. Механизмы толерантности к лекарствам. Фармакогенетика - изучение наследственных различий в реакциях организма на лекарства. Фармакогенетика и наследственные заболевания. Предиктивная медицина. Ранняя профилактика, лечение и диагностика, основанные на индивидуальном подходе к каждому больному. Медико-генетическое консультирование: основные этапы. Понятие о первичной и вторичной профилактике наследственных болезней. Просеивающие программы диагностики болезней у новорожденных. Болезни, доступные для генетического тестирования.

Методы коррекции наследственной патологии. Этические и социальные вопросы генетики человека и медицинской генетики. Генотерапия *in vivo* и *ex vivo*. Генотерапия при коррекции различного типа наследственных и ненаследственных патологий. Моногенные заболевания, поддающиеся генотерапии. Успехи генотерапии. Проблемы генотерапии и генетическая безопасность. Оценка генетического риска при генотерапии. Основные этические принципы генетики: доступность медико-генетической помощи, автономия личности, добровольное согласие на проведение обследований и процедур.

Рекомендуемая литература:

Спейчерс М.Р., Антонаракис С.Е., Мотулски А.Г. Генетика человека по Фогелю и Мотулски. Проблемы и подходы. С.-П.: Издательство Н-Л, 2014 г.

Бочков Н.П. Клиническая генетика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.

Иванов В.И. Генетика. М.: Академкнига ИКЦ, 2008.

Вторая часть вступительного испытания проводится в форме индивидуального собеседования с каждым абитуриентом по двум вопросам из программы. Основной целью этой части испытания является оценка уровня знаний абитуриентов в области генной и геномной инженерии и биоинформатики, а также оценка их коммуникативных навыков, умения вести дискуссию, выразить собственное мнение. Максимальная оценка 40 баллов.

Программа второй части вступительного испытания.

Молекулярная биология

Транскрипция у прокариот. Особенности структуры РНК-полимеразы. РНК-полимераза *E. coli*: минимальный фермент и холофермент. Транскрипционные факторы. Сборка преинициаторного комплекса, освобождение промотора и элонгация. Стадии транскрипционного цикла. Сверхспирализация и транскрипция. Промоторы и роль сигма-фактора в узнавании промоторов. Сигма 54. "Эукариотические элементы" в регуляции транскрипции. Терминация транскрипции у прокариот. Узнавание ДНК белками в прокариотических системах. Роль структурного мотива "спираль-поворот-спираль" в узнавании белками нуклеотидной последовательности. Репрессор и Сго-белок. Аллостерический контроль связывания белков с ДНК.

Транскрипция у эукариот. Базальная транскрипция, факторы транскрипции. Понятие о *cis*-действующих элементах. Трансактивация транскрипции. Энхансеры и сайленсеры. "Модули" последовательностей ДНК, узнаваемые специфическими белками. Роль "обратной генетики" в развитии представлений о регуляции транскрипции у эукариот. Белковые домены, узнающий специфические последовательности ДНК. Гемеодомен и гены - селекторы. "Лейциновые молнии", "цинковые пальцы". Рецепторы гормонов, типы, особенности узнавания ДНК. Рецепторы-сироты. Ретиноевая кислота. Элементы консерватизма в системах регуляции транскрипции. Внешние сигналы, активирующие транскрипцию генов. Передача сигналов. Семейства протоонкогенов: Jun, Fos. Транскрипционные факторы в развитии многоклеточных организмах, понятие о морфогенах.

Структурная организация нуклеосом. Нуклеосомы и транскрипция. Модификации генов и динамическая структура хроматина. Представление о перемоделировании хроматина. Роль нуклеосомных структур в активации экспрессии генов.

Процессинг РНК. Особенности процессинга, интроны, сплайсинг. Классификация интронов. Интроны группы I: особенности структуры и механизмы сплайсинга. Рибозимы, их специфичность. Интроны группы II: механизм сплайсинга. Сплайсинг пре-мРНК в ядре, роль малых ядерных РНК и белковых факторов, сплайсосома. Особенности процессинга тРНК и рРНК бактерий. РНКазы Р как рибозим. Транс-сплайсинг, его распространение. Альтернативный сплайсинг. Редактирование РНК, молекулярные механизмы.

Компартментализация эукариотического ядра. Ядрышко и другие ядерные компартменты. Транскрипционные и репликационные фабрики. Позиционирование интерфазных хромосом в клеточном ядре.

Роль РНК. Информационная РНК, ее структура, функциональные участки. Расшифровка и общие свойства генетического кода.

Рибосомы, их локализация в клетке. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Последовательное считывание мРНК рибосомами, полирибосомы. Стадии трансляции. Химические реакции и общий энергетический баланс биосинтеза белка. Морфология рибосом, рибосомные РНК, их виды, структура. Структурные домены и компактная укладка молекул РНК. Значение рибосомной РНК. Рибосомные белки, их разнообразие, белковые комплексы, их взаимодействие с рибосомальной РНК. Четвертичная структура рибосомы. Структурные превращения рибосом. Диссоциация рибосом на субъединицы.

Фолдинг белков. Котрансляционное сворачивание белков. Роль шаперонов. Посттрансляционные модификации белков. Образование дисульфидных связей, йодирование и сульфирование остатков тирозина. Образование остатков карбоксиглутаминовой кислоты. Фосфорилирование белков. Липопротеины. Пренилирование белков. Ограниченный протеолиз. Каскады фосфорилирования и протеолиза в клеточной сигнализации. Белковый сплайсинг, его механизм, Процессы N- О- и N-S - ацильных перестроек, трансэстерификация. Биологическое значение белкового сплайсинга.

N- и O-гликозилирование белков, особенности процессов, гликопротеины. Физиологическое значение углеводного компонента. Углеводные сигналы сортировки белков. Обратимое гликозилирование цитоплазматических белков. Лектины. Строение и классификация лектинов. Лектины бактерий и растений. Функция тканевой адгезии. Бактериальные токсины. Время жизни белковых молекул.

Рекомендуемая литература:

Альбертс Б. и др. «Молекулярная биология клетки.» В 3 т. R&D Dynamics, 2013.

Разин С.В., Быстрицкий А.А. «Хроматин: упакованный геном». Бином, 2009.

Спирин А.С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. М., Лаборатория знаний. 2019.

Основы генетической и геномной инженерии

Теоретические основы генетической инженерии. Задачи и методология генетической инженерии. Схема типичного эксперимента.

Системы рестрикции и модификации ДНК. Характеристика рестриктаз II типа. Рестрикционные фрагменты.

Синтез и клонирование кДНК. Синтез первой цепи кДНК. Синтез второй цепи кДНК. Праймеры для синтеза первой и второй цепей кДНК. Метилирование кДНК. Клонирование кДНК. Использование синтетических линкеров и адапторов при клонировании кДНК. Библиотеки кДНК.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Основы ПЦР. Использование ПЦР для получения и анализа рекомбинантных молекул ДНК. Ассиметричная ПЦР. Амплификация фрагментов ДНК с неизвестной последовательностью нуклеотидов (инверсная ПЦР). Сайт-специфическая ПЦР. Клонирование ПЦР-фрагментов. Векторы для клонирования ПЦР-фрагментов. Использование ПЦР для секвенирования ДНК. Применение ПЦР в генетическом анализе.

Методы отбора и анализа рекомбинантных молекул ДНК. Понятие о векторах. Основные и дополнительные свойства векторов. Векторы на основе плазмид, ДНК фагов и искусственных хромосом. Клонирование в генетической инженерии. Методы отбора, основанные на фенотипическом различии рекомбинантных и нерекомбинантных клонов. Метод прямого отбора рекомбинантных клонов по фенотипической комплементации. Клонирование с инсерционной инактивацией. Ген *lacZE.coli* как маркер при клонировании. Векторы прямой селекции рекомбинантных клонов.

Методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот. Принципы гибридизации нуклеиновых кислот. Гибридизация нуклеиновых кислот в смешанных фазах. Способы переноса нуклеиновых кислот на мембранные фильтры: гибридизация в пятнах ("dot-blotting", гибридизация колоний и фаговых бляшек *in situ*, капиллярный перенос ДНК по Саузерну (Southern-blotting) и РНК (Northern-blotting), другие способы переноса ДНК на мембраны. Способы введения метки в нуклеиновые кислоты. Радиоактивные и нерадиоактивные метки. Методы выявления меченных нуклеиновых кислот.

Методы введения рекомбинантных молекул в клетки различных организмов. Трансформация *E.coli* плазмидной ДНК. Основы генетической инженерии растений. Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*: структурно-функциональная организация и использование для трансформации клеток растений. Технология получения трансгенных растений. Основы генетической инженерии животных. Векторы клонирования для животных. Введение генов в зародышевые и соматические клетки животных. Методические подходы получения трансгенных животных. Трансгенные животные как биореакторы.

Методы определения первичной структуры. Секвенирование по Максаму-Гилберту, по Сэнгеру. Высокопроизводительное секвенирование: платформы Illumina и MGI. Секвенирование третьего поколения: платформы Pacific Biosystems и Oxford Nanopore.

Значение генетической инженерии для решения задач биотехнологии, сельского хозяйства, медицины и различных отраслей народного хозяйства. Использование методов генетической инженерии для изучения фундаментальных проблем генетики и других биологических наук. Социальные аспекты генетической инженерии. Этические проблемы получения и использования трансгенных животных. Генетически модифицированные продукты питания - проблема ГМО.

Рекомендуемая литература:

Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. Издательство СПбГТУ, 1999.

Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство. 2004.

Журавлева Г.А. Генная инженерия в биотехнологии. Издательство: Эко-Вектор, 2016.

Ребриков Д.В. Высокопроизводительное секвенирование. Бином: Лаборатория знаний, 2019.

Биоинформатика и основы геномики

Биологические базы данных. Центры биологических баз данных. Реферативные базы данных и поиск научной литературы. Базы данных нуклеотидных последовательностей.

Базы данных белковых последовательностей. Базы данных трехмерных структур. Базы данных химических соединений. Геномные базы данных. Базы данных геном-фенотип. Базы данных взаимодействий, сигнальных путей. Базы данных результатов секвенирования. Базы данных заболеваний и медицинской информации. Базы данных по экспрессии генов/гистологии. Таксономические базы данных.

Сравнение последовательностей. Точечная матрица сходства. Матрицы замен (РАМ, Blosum, JTT и др.). Динамическое программирование, локальное и глобальное выравнивание, алгоритмы Нидлмана-Вунша и Смита-Уотермана. Множественные выравнивания. Экспресс-методы сравнения последовательностей. Значимость выравнивания. Множественное выравнивание аминокислотных и нуклеотидных последовательностей, динамическое программирование и его недостатки. Визуализация выравниваний: профили. Связь между числом мутаций и числом консервативных позиций в множественном выравнивании. Скрытые марковские модели (СММ). Задачи СММ: задача оценки, задача дешифровки, задача обучения. Алгоритм прямого-обратного хода. Оценка множественного выравнивания. Проблемы множественного выравнивания при большом числе замен.

Филогенетические деревья. Методы кластеризации и филогенетические деревья. Прогрессивное выравнивание. Итеративное выравнивание. Модели эволюции. Филогенетические деревья: переменная скорость эволюции и притяжение длинных ветвей, методы проверки. Скобочная формула.

NGS-методы секвенирования генома. Сравнение технологий секвенирования. Сборка генома. Цели, задачи, подходы. Сборка генома *de novo*. Основные проблемы,

стоящие перед сборщиком: ошибки секвенирования, повторы, естественный полиморфизм, контаминация образца. Влияние длины прочтения и покрытия на качество сборки. Оценка качества сборки. Источники ошибок в сборках. Картирование прочтений и алгоритмы, лежащие в его основе.

Анализ экспрессии генов из данных NGS. Понятие дифференциальной экспрессии. Особенности подсчета числа прочтений, приходящихся на ген. Статистические методы обнаружения дифференциальной экспрессии. Алгоритм DEseq2. Способы представления результатов: volcano plot, MA plot. Анализ альтернативного сплайсинга. GO категории, обогащение GO категориями.

Проблемы аннотации последовательностей. Методы поиска генов и кодирующие потенциалы. Периодичность кодирующих последовательностей. Применение марковских моделей, нейронных сетей и теории информации для поиска генов. Сайты для аннотации нуклеотидных последовательностей. Проблема аннотации бактериальных генов. Недостатки существующих систем аннотации. Система аннотации бактериальных генов, основанная на филогенетической группировке. Мутации в генах типа «сдвиг рамки считывания» и «склеек» генов. Математические методы и алгоритмические подходы для поиска этих мутаций. Классы триплетной периодичности в генах. Базы данных и web-сайты для поиска склеек и сдвигов рамки считывания.

Объекты и методы структурной биоинформатики. Уровни структурной организации белков и нуклеиновых кислот (НК). Типы вторичной структуры белков и НК. Структура РНК и теория узлов. Разнообразие структур биомакромолекул. Неупорядоченные белки. Эволюция и консервативность структуры белков, классификация структур белков, поиск белков со схожим типом укладки. Структурная геномика.

Предсказание структуры белков. Предсказание вторичной структуры и искусственные нейронные сети. Гидрофобность: энтропийная природа и методы определения. Профили гидрофобности и предсказание топологии белка. Моделирование структуры на основании гомологии. Алгоритмы распознавания пространственной укладки белка (фолда), протягивание. Радиальные функции распределения как способ оценки качества упаковки пространственных структур. Лейциновая застежка и предсказание суперспиралей. Прионные белки.

Рекомендуемая литература:

Леск А. Введение в биоинформатику/ М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2017.

Бенхэм К.Дж., Блейсделл Б.Э., Буркс К. и др. Математические методы для анализа последовательностей ДНК / М.: Мир, 1999.

Рапанорт Д.К. Искусство молекулярной динамики. Ижевск: Ин-т компьютер. исслед., 2012.

Вычислительная биология

Теории вероятностей: Условные вероятности. Определение условной вероятности, формула полной вероятности, формула Байеса. Независимость событий.

Теория вероятностей: Случайная величина, функция распределения. Математическое ожидание, дисперсия, корреляция, ковариации, их свойства.

Теория вероятностей: Основные теоремы теории вероятностей. Неравенство Чебышева. Закон больших чисел. Центральная предельная теорема.

Теория вероятностей: Распределения. Стандартные дискретные и непрерывные распределения, их математические ожидания, дисперсии и свойства (биномиальное, равномерное, нормальное, пуассоновское, показательное, геометрическое).

Теория вероятностей: Понятие о цепи Маркова. Стационарное состояние.

Программирование, алгоритмы и анализ данных. Простейшие конструкции языка программирования. Циклы, ветвления, рекурсия.

Основные команды UNIX.

Программирование и алгоритмы: двоичный поиск и деревья поиска. Хэш-таблицы.

Программирование и алгоритмы: Графы, обход графа в ширину и в глубину.

Программирование и алгоритмы: Сортировки, средняя и наихудшая сложность алгоритмов.

Программирование и алгоритмы: Регулярные выражения.

Статистика и анализ данных: Выборка, правдоподобие.

Статистика и анализ данных: Оценивание параметров распределений, метод максимального правдоподобия.

Статистика и анализ данных: Доверительные интервалы.

Статистика и анализ данных: Основные понятия машинного обучения. Отложенная выборка, ее недостатки. Кросс-валидация. Leave-one-out. Переобученность.

Статистика и анализ данных: Кластеризация. Алгоритм K-Means. Оценки качества кластеризации.

Рекомендуемая литература:

Гнеденко Б.В. Курс теории вероятностей, УРСС. М.: 2001;

Гнеденко Б.В., Хинчин А.Я. Элементарное введение в теорию вероятностей, 1970;

Кормен Т., Леизерсон Ч., Ривест Р., Штайн К. Алгоритмы: построение и анализ, издание. -М. Издательский дом Вильямс, 2005.