

Белорусский государственный университет



« 30 » 06 2017 г.

Регистрационный № УД - 4068 /уч.

Молекулярная биология дрожжей

**Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности:**

1-31 01 03 Микробиология
специализации 1-31 01 03 02 Молекулярная микробиология

2017 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 03-2013, учебного плана УВО № G 31-129/уч. 2013 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Александр Леонидович Лагоненко, доцент кафедры молекулярной биологии биологического факультета Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой молекулярной биологии Белорусского государственного университета (протокол № 20 от 12 мая 2017 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 10 от 31 мая 2017 г.)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине «Молекулярная биология дрожжей» составлена на основе образовательного стандарта высшего образования первой ступени по специальности 1-31 01 03 «Микробиология». Учебная дисциплина относится к циклу дисциплин специализации.

Молекулярная биология представляет собой одну из ведущих биологических дисциплин, которая дает фундаментальные знания специалисту-биологу и формирует его научное мировоззрение. Начиная с 60-х годов прошлого века, дрожжи *S. cerevisiae* начали использоваться в качестве экспериментальной системы для молекулярной биологии. В 1996 г. дрожжи стали первым эукариотическим организмом, для которого была полностью определена нуклеотидная последовательность генома. Кроме того, простота генетических манипуляций в дрожжах открыла возможность исследовать функции генов других эукариотических организмов в дрожжевой системе. Сейчас, в «постгеномную эру», дрожжи вновь оказались на острие функциональной геномики.

Цель учебной дисциплины – сформировать представление о ключевых молекулярно-биологических процессах в клетках дрожжей - репликации, транскрипции, трансляции. В задачи учебной дисциплины входит рассмотрение таких явлений как процессинг РНК, фолдинг, деградация и транспорт белков, подходы к регуляции экспрессии генов. Особое внимание уделяется современным молекулярно-биологическим методам исследования дрожжей.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- механизмы ключевых молекулярно-биологических процессов, происходящих в дрожжевой клетке - репликации, транскрипции и трансляции, способы регуляции экспрессии генов;
- регуляцию клеточного цикла дрожжей;
- механизмы процессинга РНК и белков в клетках дрожжей;
- методы получения мутаций в дрожжевых клетках, методы оценки уровня экспрессии генов, подходы к изучению белок-белковых взаимодействий, основы молекулярной филогении;

уметь:

- проанализировать аминокислотные последовательности белков *in silico*, выявить возможные трансмембранные домены, предсказать локализацию белка в эукариотической клетке.
- построить филогенетическое дерево, отражающее возможную эволюцию конкретной аминокислотной или нуклеотидной последовательности;

владеть:

- методами трансформации клеток *S. cerevisiae* плазмидной ДНК

- методами выделения плазмидной и хромосомной ДНК из дрожжевых клеток.

Учебная программа составлена на основе межпредметных связей и учебных программ по смежным дисциплинам («Молекулярная биология», «Генетика микроорганизмов» и др.).

Изучение учебной дисциплины должно обеспечить формирование у студента следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-5. Быть способным порождать новые идеи (обладать креативностью).

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

АК-7. Иметь навыки, связанные с использованием технических устройств, управлением информацией и работой с компьютером.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, разрабатывать новые методические подходы.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, доклады и материалы к презентациям.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

В соответствии с учебным планом преподавание учебной дисциплины осуществляется в 9 семестре. Программа рассчитана на 86 часов, из них аудиторных 36 часов. Распределение по видам занятий: лекции – 20 часов, лабораторные занятия – 14 часов, аудиторный контроль управляемой самостоятельной работы – 2 часа.

Форма текущей аттестации по учебной дисциплине – зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. ВВЕДЕНИЕ. ДРОЖЖИ КАК МНОГОГРАННАЯ МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Введение в молекулярную биологию дрожжей. Применение дрожжей в биотехнологии. Преимущества дрожжей как модельного эукариотического организма. Организация дрожжевого генома. Проект «Секвенирование генома дрожжей». Организация генов рибосомальных РНК и тРНК. Ту-элементы. Плотность генов и расположение генов, кодирующих белки. Дрожжевой митохондриальный геном. Архитектура дрожжевых клеток.

II. МЕХАНИЗМЫ ТРАНСКРИПЦИИ ДРОЖЖЕВЫХ ГЕНОВ. ПРОЦЕССИНГ РНК

Субъединицы дрожжевой РНК-полимеразы I. Транскрипционные факторы РНК полимеразы I. Последовательность событий при инициации транскрипции генов рРНК у дрожжей. Субъединицы дрожжевой РНК-полимеразы II. Основные транскрипционные факторы (GTFs). Последовательность событий при инициации транскрипции генов мРНК у дрожжей. Транскрипционная регуляция вспомогательными комплексами. Понятие о медиаторе. Перестройки хроматина в процессе транскрипции. Хроматин-модифицирующие и хроматин-ремоделирующие комплексы. Активация и репрессия генов путем модификации гистонов. Субъединицы дрожжевой РНК-полимеразы I. Инициация транскрипции генов тРНК.

Процессинг предшественников РНК у дрожжей. Процессинг предшественников рРНК. Процессинг предшественников тРНК. Процессинг пре-мРНК. Кэпирование и полиаденилирование мРНК. Комплексы, вовлеченные в полиаденилирование мРНК. Сигналы, детерминирующие сайт полиаденилирования. Сопряженность терминации транскрипции с полиаденилированием. Механизм сплайсинга мРНК. Роль мяРНК в сплайсинге. Роль фосфорилированного карбоксиконцевого домена РНК-полимеразы II в процессе кэпирования, полиаденилирования и сплайсинга.

Факторы деградации мРНК у дрожжей. Компоненты дрожжевой экзосомы. Нонсенс-опосредованная деградация РНК (NMD).

III. МЕХАНИЗМ ТРАНСЛЯЦИИ. ФОЛДИНГ, ДЕГРАДАЦИЯ И СЕКРЕЦИЯ БЕЛКОВ В ДРОЖЖАХ

Инициация элонгация и терминация трансляции. Дрожжевые факторы трансляции. Строение иницирующего комплекса. Роль кэпирования и полиаденилирования в инициации транскрипции у дрожжей.

Посттранскрипционный контроль экспрессии генов в дрожжах – точки приложения. Строение дрожжевой мРНК, вовлеченной в трансляционный контроль экспрессии. Механизмы трансляционной регуляции. Зависимая от железа трансляционная регуляция (IRE-система).

Механизм транспорта белков в эндоплазматический ретикулум. Доказательство котрансляционного транспорта в ЭПР. Строение сигнальной последовательности. Строение SRP-частицы и ее роль в транспорте белков в ЭПР. Посттрансляционный транспорт белков в ЭПР. Встраивание в мембрану ЭПР интегральных белков I типа. Встраивание в мембрану ЭПР интегральных белков II типа. Понятие о якорных и сигнально-якорных последовательностях. GPI-заякоренные белки.

Четыре системы транспорта белков в дрожжевые митохондрии. Строение сигнальной последовательности. Механизм посттрансляционного транспорта

белков в митохондрии. Мембранные комплексы TOM, TIM23, TIM22, SAM и MIA.

Механизм транспорта белков в пероксисомы. Pex-система.

Транспорт белков в ядро и из ядра. Сигналы ядерной локализации (NLS) и сигналы экспорта из ядра (NES). Рецепторы импорта и экспорта. Ключевой компонент ядерного транспорта - мономерный G-белок Ran.

Убиквитин и родственные белки. Убиквитин-протеасомный путь. RING и NECT E3-убиквитин-лигазы. Система деградации белков SUMO. Программируемый протеолиз. Строение дрожжевой 26S протеасомы. Понятие о молекулярных шаперонах. Молекулярные шапероны семейств Hsp60 и Hsp70.

IV. СИГНАЛЬНЫЕ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЦЕПИ ДРОЖЖЕЙ

Пять MAP киназных каскадов, описанных у *S. cerevisiae*. Активизация генов, контролирующая спаривание гаплоидов *S. cerevisiae*. HOG (high osmolarity growth) каскад. Модель репрессии дрожжевых генов комплексом Ssn6-Tup1. Активация и репрессия белком Rap1. Контроль роста дрожжевых клеток питательными веществами. Система TOR. Регуляция метаболизма глюкозы (путь Snf1/Snf4). Регуляция метаболизма глюкозы (путь Snf3/Rgt2). Регуляция метаболизма галактозы у дрожжей. Гены, вовлеченные в регуляцию GAL. Общий контроль метаболизма аминокислот у дрожжей.

V. РЕПЛИКАЦИЯ ДНК. РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА У ДРОЖЖЕЙ

Инициация репликации ДНК у *S. cerevisiae*. Понятие о лицензирующих факторах. Ключевые ферменты репликации ДНК. Теломераза. Механизм репликации теломерных концов хромосом. Фазы клеточного цикла дрожжей. Циклины, циклин-зависимые киназы и регуляция клеточного цикла. Роль протеолиза в контроле клеточного цикла.

VI. АНАЛИЗ БЕЛКОВЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ IN SILICO. ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ ФИЛОГЕНИЮ

Интернет-ресурсы и программы, позволяющие предсказывать элементы вторичной структуры белка. Предсказание локализации белка в клетке.

Понятие о молекулярной филогении. Задачи построения филогенетических деревьев. Множественные выравнивания последовательностей. Топология филогенетического дерева. Укорененные и бескорневые деревья. Узлы, листья, ветви и корень филогенетического дерева. Бинарные разрешенные и неразрешенные деревья. Понятие об ортологах и паралогах. Кладограммы и филограммы. Основные алгоритмы построения филогенетических деревьев. UPGMA, метод ближайших соседей. Определение достоверности топологии филогенетического дерева. Bootstrap.

VII. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ДРОЖЖЕЙ

Дрожжевые векторы. Дрожжевые искусственные хромосомы (YAC). Методы получения мутаций в дрожжах. Транскрипция и определение размера транскрипта *in vitro*.

Методы выявления регуляторных участков на ДНК. 5'-делеционный анализ. Получение линкер-сканирующих мутаций. Футпринтинг с использованием ДНКазы I. Анализ с использованием трансфекции *in vivo*. Репортерная конструкция UAS_{GAL}.

Методы изучения белок-белковых взаимодействий. FGRA (Fluorescence Gel Retardation Assay). Бактериальные двугибридные системы. Дрожжевые двугибридные системы. Коиммунопреципитация. Protein-Fragment Complementation Assays (PCA). Удаленный вестерн-блоттинг.

Методы оценки уровня экспрессии генов. Репортерные системы. РТ-ПЦР. Вестерн-блоттинг и дот-блот. Нозерн-блоттинг. ДНК микроаррэй.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	Введение. Дрожжи как многогранная модельная система для молекулярно-биологических исследований	2						
II	Механизмы транскрипции дрожжевых генов. Процессинг РНК.	4			2			Устный опрос
III	Механизм трансляции. Фолдинг, деградация и секреция белков в дрожжах	4			8			Устный опрос
IV	Сигнальные и регуляторные цепи дрожжей	4			2			Устный опрос
V	Репликация ДНК. Регуляция клеточного цикла у дрожжей	2			2			Устный опрос
VI	Анализ белковых последовательностей <i>in silico</i> . Введение в молекулярную филогению	2						
VII	Молекулярно-биологические методы изучения дрожжей	2					2	Письменная работа

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

О с н о в н а я

1. *Дьяков Ю.Т.* Введение в генетику грибов / Ю.Т. Дьяков, А.В. Шнырева, А.Ю.Сергеев. М.: Academia, 2005.
2. *Патрушев Л. И.* Экспрессия генов / Л. И. Патрушев. М.: Наука, 2000.
3. *Льюин Б.* Гены / Б. Льюин. М.: Мир, 1987.
4. *Feldmann H.* Yeast molecular biology. A short compendium on basic features and novel aspects / Feldmann H. Adolf-Butenandt-Institute, University of Munich, 2005.
5. *Sherman F.* An Introduction to the Genetics and Molecular Biology of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* / Sherman F. University of Rochester Medical School, Rochester. 1998.

Д о п о л н и т е л ь н а я:

1. *Lewin B.* Genes VIII. / B. Lewin. Prentice Hall, 2004.
2. *Watson J. D.* Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition / J. D. Watson, T. A. Baker, S. P. Bell, A. Gann, M. Levine, R. Losick. CSH Laboratory Press, 2004.
3. *Lodish H.* Molecular Cell Biology (5th Edition) / H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, L. Zipursky, J. Darnell. New York: W.H. Freeman & Company. 2004.
4. *Alberts B.* Molecular Biology of the Cell, Fourth Edition / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. New York: Garland Publishing, 2002.
5. *Альбертс Б.* Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рефф, К. Робертс, Дж. Уотсон. М.: Мир, 1994. Т. 1–3.
6. *Спирин А.С.* Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / А.С. Спирин/. М.: Высшая школа. 1990.

ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

1. Письменная контрольная работа по теме «Молекулярно-биологические методы изучения дрожжей» (2 часа).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, курс лекций, мультимедийные презентации, методические указания к лабораторным занятиям, список

рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний.

ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

В качестве формы текущего контроля по учебной дисциплине рекомендован зачет. Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- устные опросы;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса;
- компьютерное тестирование.

Студент допускается к сдаче зачета при условии отработки лабораторных занятий и получении отметки не ниже 4 баллов по аудиторному контролю УСР.

МЕТОДИКА ФОРМИРОВАНИЯ ИТОГОВОЙ ОЦЕНКИ

Текущая аттестация по учебной дисциплине проводится в соответствии со следующими нормативными документами:

1) ПРАВИЛА проведения аттестации студентов, курсантов, слушателей при освоении содержания образовательных программ высшего образования, утвержденные Постановлением Министерства образования Республики Беларусь 29.05.2012 № 53;

2) ПОЛОЖЕНИЕ о рейтинговой системе оценки знаний по дисциплине в Белорусском государственном университете, утвержденное Приказом ректора БГУ от 18.08.2015 № 382-ОД;

3) Критерии оценки и компетенций студентов по 10-ти балльной шкале, утвержденные Приказом Министерства образования Республики Беларусь от 22.12.2003 №21-04-1/105.

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола) ¹
1. Молекулярная биология	Кафедра молекулярной биологии	Отсутствуют Зав. кафедрой А.Н. Евтушенков	Утвердить согласование протокол № 22 от 15 мая 2017 г.
2. Генетика микроорганизмов	Кафедра микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой В.А. Прокулевич	Утвердить согласование протокол № 22 от 15 мая 2017 г.

¹ При наличии предложений об изменениях в содержании учебной программы УВО.

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО
на ____/____ учебный год

№№ ПП	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
_____ (протокол № ____ от _____ 201_ г.)
(название кафедры)

Заведующий кафедрой

_____ (ученая степень, ученое звание)

_____ (подпись)

_____ (И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ (ученая степень, ученое звание)

_____ (подпись)

_____ (И.О.Фамилия)