

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН  
(ИБР РАН)

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ИБР РАН  
доктор биологических наук,  
член-корреспондент РАН



А.В. Васильев

«31» мая 2017 г.

Дополнительная программа комплексного государственного экзамена  
государственной итоговой аттестации научно-педагогических кадров в  
аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки  
профиль подготовки **03.03.04 Клеточная биология, цитология, гистология;**  
**03.03.05 Биология развития, эмбриология**

Москва  
2017 год

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

1. Общие принципы и закономерности молекулярно-генетической регуляции эмбрионального развития.

Эмбриогенез, как процесс взаимодействия молекулярных, молекулярно-генетических и клеточных механизмов регуляции развития многоклеточных организмов. Формирование многообразия типов клеток и тканей при единообразии генотипа.

2. Этапы формулирования представлений о молекулярно-генетических механизмах приобретения клетками дифференциальных функций

Краткий исторический очерк. Парадигмы Т.Моргана и Р. Гольдшмидта. Теория эвокаторов К.Уоддингтона. Методы и подходы экспериментальной эмбриологии, генетики развития и молекулярной биологии в решении современных проблем эмбрионального развития.

3. Генетический контроль плана развития организма.

Оогенез как первый этап индивидуального развития организма. Гены и оогенез. Градиенты, роль материнских генов в их формировании, три генетические системы, контролирующие развитие градиентов.

4. Гены сегментации.

Сегрегационные гены, работы К. Нюсслейн-Вольхардт. Гены правила парности, гены сегментационной полярности. Роль этих генов в гетерогенезации зародышей.

5. Гомеозисные гены.

Классификация гомеозисных генов, их регуляторная роль в развитии, работы Э. Льюиса. Гомеобоксы и гомеодомены. Консерватизм гомеобокс-содержащих генов, их роль в эволюции.

6. Молекулярные механизмы поддержания тканеспецифической активности генов.

Ядерная организация генома. Хроматин. Ремоделирование локального хроматина. Посттрансляционные модификации гистоновых и негистоновых белков. Гипотеза «гистонового кода». Использование особых вариантов гистонов. Участие некодирующих РНК в регуляции активности генов. Метилирование ДНК. Метилирование различных остатков лизина в N-конце гистона H3, ассоциированное с активацией или репрессией транскрипции гена. Белки групп Триторакса и Поликомба как ключевые эпигенетические факторы поддержания клеточной дифференцировки. Особые регуляторные элементы (PRE/TRE) тканеспецифических генов, необходимые для функционирования белков групп Триторакса и Поликомба.

7. Молекулярно-генетические основы клеточной детерминации и дифференцировки.

Общие принципы и закономерности генетической регуляции индивидуального развития; Регуляция клеточного цикла в процессе морфогенеза; Поляризация клеток в процессе морфогенеза; Программируемая клеточная смерть, как фактор органогенеза. Принцип дифференциальной активности генов в процессе индивидуального развития многоклеточных организмов и гипотезы объясняющие механизмы его реализации. Ядерно-цитоплазматические отношения в процессе эмбрионального развития. Взаимодействие генов в развитии. Регуляция клеточного цикла, один из факторов управления процессами морфогенеза. Примеры ферментативных механизмов регуляции клеточного цикла. Точки проверки системы контроля клеточного цикла. Их значение в регуляции деления и дифференцировки клеток. Планарная полярность клеток. Её значение в регуляции морфогенеза многоклеточных организмов. Сигнальные пути

регуляции планарной полярности клеток. Программируемая клеточная смерть. Её значение в эмбриогенезе и морфогенезе многоклеточных организмов. Сигнальные пути регуляции апоптоза клеток.

#### 8. Основы нейрогенетики развития (Гены и нейрогенез).

Возникновения нервных клеток в ходе эволюции. Понятие о нейроне. Теории Р. Кахаля и К. Гольджи. Формирование клеток нейрального ряда, начиная с момента индукции нервной пластинки в эмбриогенезе, участие определенных генов и сигнальных путей в этих процессах. Молекулярно-генетические сигналы, поддерживающие процессы развития нервной системы позвоночных. Деления нейроэпителиальных клеток, миграция – гены регулирующие поведение нейробластов. Генетический контроль дифференцировки клеток, выбор пути их развития. Рост аксонов – молекулы навигаторы. Пионерские нейроны их роль в морфогенезе. Формирование межнейрональных связей, развитие синапсов, молекулярные основы синаптического проведения сигнала Биология нейральных стволовых клеток и клеточные технологии на их основе.

### **ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ**

#### 1. Предмет и основные понятия экологической биологии развития.

*Экология* – наука о взаимоотношениях живых организмов с окружающей средой; *биология развития* – наука о закономерностях и механизмах индивидуального развития. Единство организма и окружающей среды. Биоценозы, биогеоценозы. Экологические факторы, классификация абиотических факторов. Температура как важнейший регулятор интенсивности обмена веществ организмов. Зависимость проявления гена от условий внешней среды. Эпигеномная регуляция развития

#### 2. Роль факторов окружающей среды в эмбриональном и постэмбриональном развитии.

Особенности зависимости организма от среды на разных этапах жизненного цикла. Критические периоды развития целого организма и отдельных его модулей. Эпигеномная регуляция развития. Тератогенез и его основные механизмы. Связь экологической и эволюционной биологии развития

#### 3. Адаптация

Адаптация как фундаментальная особенность организмов и популяций, позволяющая существовать в данных условиях среды и оставлять потомство. Критерии и типы адаптаций. Уровни адаптаций – адаптивная радиация, аккомодация. Онтогенетические (фенотипические) и эволюционные (генотипические) адаптации. Основные законы адаптации. Представление об экологической нише организмов

#### 4. Биотестирование и биоиндикация

Методы контроля качества среды и фармакологических производств. Требования к методам и объектам биотестирования. Принципы биомониторинга природных популяций

### **СОВРЕМЕННЫЕ ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК НА СУБКЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАЗЕРНОЙ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ**

#### 1. Иммуноцитохимия – экспериментальный метод исследования биологических структур

Физико-химическая и молекулярно-биологическая основа метода иммунохимического выявления биологически активных молекул. Теоретические и прикладные аспекты.

Аналитические возможности метода флуоресцентного маркирования в оценке результата экспериментального воздействия.

2. Исторические аспекты становления и развития световой микроскопии, методология современной системы микроскопирования.

Методологические основы лазерной конфокальной микроскопии и перспективы ее дальнейшего научно-практического развития

## **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КЛЕТОК**

### 1. Основы метода культур клеток и тканей.

История метода тканевых культур. Типы клеточных культур: первичные, пассируемые, иммортализованные, трансформированные (опухолевые). Суспензионные и субстрат-зависимые культуры. Пролиферативный потенциал клеток в культуре. Старение клеточных линий. Подсчет количества клеток и расчет индекса разведения. Определение времени удвоения популяции. Биология клеток в культуре. Определение жизнеспособности клеток. Цитотоксичность. Проблемы и ограничения метода.

### 2. Культивирования клеток *in vitro*

Структура лабораторных помещений. Ламинарное оборудование. Правила техники безопасности при работе в культуральном блоке. Биобезопасность. Оборудование. Понятие о GMP. Культуральная посуда и субстраты. Стерилизация посуды. Среды для культивирования клеток. Подготовка воды. Содержание кальция в среде. Сыворотки и их заменители. Бессывороточные среды. Факторы роста. Агенты для пассирования культур. Методы предотвращения и борьбы с контаминацией. Системы фильтрации и стерилизации. Длительное хранение культур. Техника заморозки. Среды для замораживания клеток. Режимы хранения. Разморозка клеток и оценка их жизнеспособности после разморозки.

### 3. Особенности культивирования клеток разных типов.

Особенности эмбриональных клеточных культур и культур, полученных из тканей взрослых организмов. Стволовые клетки. Методы индукции дифференцировки культивируемых клеток. Маркеры дифференцировки. Пластичность клеточного фенотипа. Органотипическая культура.

### 4. Методы молекулярно-генетического анализа клеток.

Методы качественного и количественного анализа экспрессии генов в культивируемых клетках. Определение экспрессии генов методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР в реальном времени). Трудности метода. Перенос ДНК. Вектора. Методы трансфекции. Принципы метода гибридизации *in situ*. Флуоресцентная гибридизация *in situ* при анализе генов и хромосом. Принципы и возможности метода «микроэррей». Методы анализа эпигенетических изменений в клетках. Проточная цитофлуориметрия. Молекулярно-генетический анализ клеток.

### 5. Ведение культур клеток.

Приготовление и фильтрация сред. Определение наличия контаминации. Тестирование сыворотки. Обработка поверхности. Покрытие культуральной посуды внеклеточным матриксом, фидерные слои. Пассирование иммортализованных культур. Построение и анализ кривой роста. Цитогенетический анализ.

### 6. Получение и культивирование различных типов клеток.

Получение первичных культур из эпителия и соединительной ткани животных методом ферментативной обработки. Тканеспецифические маркеры. Эпителио-мезенхимные взаимодействия в простых тканевых эквивалентах *in vitro*.

#### 7. Молекулярно-генетический анализ клеток.

ПЦР в реальном времени. Выделение РНК, синтез кДНК. Подбор условий реакции. Типы зондов. Подготовка клеток для проточной цитофлуориметрии. Одновременный анализ нескольких антигенов. Определение фаз клеточного цикла. Анализ апоптоза в клеточных популяциях методом проточной цитофлуориметрии. Трансфекция клеток геном флуоресцентного белка