

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Курганский государственный университет»
(КГУ)

Кафедра биологии



УТВЕРЖДАЮ:
Первый проректор
/ С.Н. Щербич /
« 17 » июля 2020 г.

Рабочая программа учебной дисциплины

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ
образовательной программы высшего образования –
программы бакалавриата

19.03.01 – Биотехнология

Направленность:
Биотехнология

Формы обучения: очная, заочная, очно-заочная

Курган 2020

Рабочая программа дисциплины «Генетическая инженерия» составлена в соответствии с учебными планами по программе бакалавриата Биотехнология (Биотехнология), утвержденными:

- для очной формы обучения «13» 03 2020 года;
- для заочной формы обучения «13» 03 2020 года;
- для очно-заочной формы обучения «13» 03 2020 года.

Рабочая программа дисциплины одобрена на заседании кафедры «Биология» «16» марта 2020 года, протокол № 5.

Рабочую программу составил
Доцент кафедры «Биология»

Л.В. Прояева

Согласовано:

Заведующий кафедрой
«Биология»

О.В. Козлов

Специалист по учебно-методической работе
учебно-методического отдела

Г.В. Казанкова

Начальник Управления
образовательной деятельности

С.Н. Синицын

1. ОБЪЕМ ДИСЦИПЛИНЫ

Всего: 3 зачетных единицы трудоемкости (108 академических часов)

Очная форма обучения

Вид учебной работы	На всю дисциплину	Семестр
		5
Аудиторные занятия (контактная работа с преподавателем), всего часов в том числе:	40	40
Лекции	16	16
Лабораторные работы	16	16
Практические занятия	8	8
Самостоятельная работа, всего часов в том числе:	68	68
Подготовка к экзамену	27	27
Другие виды самостоятельной работы	41	41
Вид промежуточной аттестации	Экзамен	Экзамен
Общая трудоемкость дисциплины и трудоемкость по семестрам, часов	180	180

Заочная форма обучения

Вид учебной работы	На всю дисциплину	Семестр
		5
Аудиторные занятия (контактная работа с преподавателем), всего часов в том числе:	8	8
Лекции	2	2
Лабораторные работы	4	4
Практические занятия	2	2
Самостоятельная работа, всего часов в том числе:	100	100
Подготовка к экзамену	27	27
Другие виды самостоятельной работы	73	73
Вид промежуточной аттестации	экзамен	экзамен
Общая трудоемкость дисциплины и трудоемкость по семестрам, часов	180	180

Очно-заочная форма обучения

Вид учебной работы	На всю дисциплину	Семестр
		5
Аудиторные занятия (контактная работа с преподавателем), всего часов в том числе:	10	10
Лекции	4	4
Лабораторные работы	4	4
Практические занятия	2	2
Самостоятельная работа, всего часов в том числе:	98	98
Подготовка к экзамену	27	27
Другие виды самостоятельной работы	71	71
Вид промежуточной аттестации	экзамен	экзамен
Общая трудоемкость дисциплины и трудоемкость по семестрам, часов	180	180

2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

Дисциплина «Генетическая инженерия» относится к вариативной части дисциплин блока 1. Изучение дисциплины базируется на результатах обучения, сформированных при изучении следующих дисциплин: «Генетика», «Введение в биотехнологию», «Клеточная биотехнология».

Результаты обучения по дисциплине необходимы для освоения последующих дисциплин: «Инженерная энзимология», «Биокаталитические, биосинтетические, биосенсорные технологии», «Большой практикум по биотехнологии», «Биотехнологические процессы в промышленности», «Спец. главы вирусологии».

3. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ

Целью дисциплины «Генетическая инженерия» является получение знаний об основных генно-инженерных технологиях, а также прикладных аспектах их использования.

Задачами дисциплины являются:

- систематизация знаний о принципах клонирования ДНК и переноса чужеродных генов в реципиентные клетки и организмы, анализа геномов и экспрессии генов;
- знакомство с технологиями получения трансгенных животных и растений;
- приобретение навыков компьютерного моделирования генно-инженерных экспериментов;
- изучение возможности практического применения генно-инженерной методологии.

Компетенции, формируемые в результате освоения дисциплины:

- способностью осуществлять технологический процесс в соответствии с регламентом и использовать технические средства для измерения основных параметров биотехнологических процессов, свойств сырья и продукции (ПК-1)

В результате изучения дисциплины, обучающийся должен:

- Знать основы генетической инженерии;
- Уметь демонстрировать базовые представления о генноинженерных технологиях, применять их на практике, критически анализировать полученную информацию и представлять результаты исследований;
- Владеть навыками научно-исследовательской работы, ведению дискуссии.

4. СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

4.1. Учебно-тематический план

Очная форма обучения

Рубеж	Номер раздела, темы	Наименование раздела, темы	Количество часов контактной работы с преподавателем		
			Лекции	Практич. занятия	Лаборатор. работы
Рубеж 1	1	Введение	2	-	-
	2	Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение	4	-	6
	3	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	4	-	6
		Рубежный контроль №1		1	
Рубеж 2	4	Создание и скрининг библиотек генов	2	-	4
	5	Экспрессия белков	2	3	-
	6	Перспективы использования достижений генетической инженерии	2	3	-
		Рубежный контроль №2		1	
Всего:			16	8	16

Заочная форма обучения

Номер раздела, темы	Наименование раздела, темы	Количество часов контактной работы с преподавателем		
		Лекции	Практич. занятия	Лабораторн. работы
1	Введение	2	-	-
2	Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение	2	-	2
3	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	-	2	2
Всего:		2	2	4

Очно-заочная форма обучения

Рубеж	Номер раздела, темы	Наименование раздела, темы	Количество часов контактной работы с преподавателем		
			Лекции	Практич. занятия	Лабораторные работы
Рубеж 1	1	Введение	2	-	-
	2	Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение	1	-	4
		Рубежный контроль №1		1	

Рубеж 2	3	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	-	1	-
		Рубежный контроль №2	1		
		Всего	4	2	4

4.2. Содержание лекционных занятий

Раздел 1. ВВЕДЕНИЕ Основные открытия современной биологии, послужившие фундаментом для возникновения генетической инженерии. Предмет и задачи генной инженерии и ее связь с другими биологическими дисциплинами.

Раздел 2. ФЕРМЕНТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИХ ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ Рестрицирующие эндонуклеазы I, II и III классов. Особенности ферментов рестрикции II класса. Другие ферменты нуклеазного действия (S1-нуклеаза, Bal31- нуклеаза, нуклеаза из микрококка, ДНК-аза I). Экзонуклеазы. Экзонуклеазы, действующие на одноцепочечные ДНК. Экзонуклеазы, действующие на двухцепочечные ДНК (3' -5' и 5' -3'). Рибонуклеазы. Полимеразы. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-зависимые РНК-полимеразы. ДНК-независимые РНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-лигазы. Фосфатазы и киназы.

Раздел 3. ВЕКТОРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИХ ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ Векторы на основе репликонов бактериальных плазмид (pBR322, PUC18). Векторы на основе бактериофагов (M13, λ). Векторы на основе вирусов животных. Векторы на основе Ti- плазмид.

Раздел 4. СОЗДАНИЕ И СКРИНИНГ БИБЛИОТЕК ГЕНОВ Основные подходы к получению библиотек ДНК прокариотических и эукариотических организмов. Получение библиотеки ДНК с помощью вирусных или плазмидных векторов. Два типа библиотек ДНК используется для разных целей. Получение библиотек кДНК из отобранных популяций молекул мРНК. Скрининг рекомбинантных ДНК библиотек. Выявления нужных клонов в генной библиотеке путем гибридизации с радиоактивным ДНК-зондом. Выделение перекрывающихся клонов ДНК («прогулка по хромосоме») с целью идентификации соседних генов. Идентификация клонов ДНК путем трансляции *in vitro*. Выделение и очистка рекомбинантных клонов. Секвенирование ДНК. Методы секвенирования ДНК. Использование нерадиоактивных меток при секвенировании. Конструирование делеций для секвенирования. Приготовление матриц для секвенирования ДНК. Компьютерный анализ ДНК и кодируемых белков. Использование для анализа баз данных ДНК и белковых последовательностей (GenBank, EMBL, FASTA, PIR и т.п.) Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Амплификация ДНК с помощью ПЦР. Амплификация РНК с помощью ПЦР. Молекулярное клонирование ПЦР-продуктов. Мутагенез клонированной ДНК. Сайт-специфический мутагенез. Направленный мутагенез с помощью олигонуклеотидов. Мутагенез с использованием ПЦР.

Раздел 5. ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ Экспрессия белков в *E.coli*. Экспрессия белков с использованием T7 РНК-полимеразы и промоторов фагов. Экспрессия белков с использованием векторов с регулируемыми элементами фага лямбда. Продукция слитых белков с использованием специальных экспрессирующих векторов. Повышение эффективности систем экспрессии эукариотических белков в клетках *E.coli*. Генно-инженерные системы для получения биологически активных веществ. Генно-инженерная система бактерий рода *Bacillus*. Генно-инженерные системы грам-положительных микроорганизмов родов *Streptomyces*, коринеформных бактерий. Генно-инженерная система дрожжей *Saccharomyces*. Системы экспрессии на основе бакуловирусов.

Продукция больших количеств белков в клетках насекомых. Системы для экспрессии белков в животных клетках. Векторы экспрессии на основе вирусов животных.

Раздел 6. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДОСТИЖЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ
 Получение фрагментов ДНК из природного материала путем разрезания исходной ДНК с помощью специфических нуклеаз (рестриктаз). Прямой химический синтез ДНК, например, для создания зондов. Синтез комплементарной ДНК (кДНК) на матрице мРНК с использованием фермента обратной транскриптазы (ревертазы).

4.3. Лабораторные занятия

Номер раздела, темы	Наименование раздела, темы	Наименование лабораторной работы	Норматив времени, час.		
			Очная форма обучения	Заочная форма обучения	Очно-заочная форма обучения
2	Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение	1. Снижение специфичности рестриктаз (star-activity) и обуславливающие ее факторы.	2	2	2
		2. Использование рестриктаз для конструирования рекомбинантных молекул <i>in vitro</i> .	2		2
		3. Механизм реакции, осуществляемой Т4-ДНК-лигазой. ДНКзависимые ДНК-полимеразы. Механизм синтеза ДНК.	2		
3	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	1. Увеличение эффективности клонирования путем подбора оптимального молярного соотношения концов вектора и клонируемого фрагмента.	2	2	-
		2. Способы введения ДНК в культивируемые клетки животных.	2		
		3. Прокариотические и эукариотические векторы экспрессии; их структурная организация. Интегративные и челночные (бинарные) векторы.	2		
4	Создание и скрининг библиотек генов	1. Генетические и физические карты генома. Построение генетических карт сцепления.	2	-	-
		2. EST-маркеры (маркеры экспрессирующихся последовательностей) и их использование для построения карт кДНК.	2		
Всего:			16	4	4

4.4. Практические занятия

Номер раздела, темы	Наименование раздела, темы	Наименование практической работы	Норматив времени, час.		
			Очная форма обучения	Заочная форма обучения	Очно-заочная форма обучения
3	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	Векторы, используемые для доставки трансгенов в организм млекопитающих: ретровирусные и аденовирусные векторы.	-	2	2
5	Экспрессия белков	1. Влияние пептидных комплексов на результаты биохимического исследования крови. 2. Экспрессия гетерологичных белков в клетках <i>Vacillus</i> .	2 2	-	-
6	Перспективы использования достижений генетической инженерии	1. Способы получения трансгенных животных. 2. Особенности получения трансгенных растений.	2 2	-	-
Всего			8	2	2

5. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

При прослушивании лекций рекомендуется в конспекте отмечать все важные моменты, на которых заостряет внимание преподаватель, в частности те, которые направлены на качественное выполнение соответствующей практической и лабораторной работы.

Преподавателем запланировано использование при чтении лекций технологии учебной дискуссии. Поэтому рекомендуется фиксировать для себя интересные моменты с целью их активного обсуждения на дискуссии в конце лекции.

Преподавателем запланировано использование при чтении лекций технологии учебной дискуссии. Поэтому рекомендуется фиксировать для себя интересные моменты с целью их активного обсуждения на дискуссии в конце лекции.

Залогом качественного выполнения лабораторных и практических работ является самостоятельная подготовка к ним накануне путем повторения материалов лекций. Рекомендуется подготовить вопросы по неясным моментам и обсудить их с преподавателем в начале лабораторной или практической работы.

Преподавателем запланировано применение на лабораторных и практических занятиях технологий развивающего обучения, коллективного взаимодействия, разбора конкретных ситуаций. Поэтому приветствуется групповой метод выполнения лабораторных и практических работ, защиты отчетов, а также взаимооценка и обсуждение результатов выполнения лабораторных и практических работ.

Для текущего контроля успеваемости по очной форме обучения преподавателем используется балльно-рейтинговая система контроля и оценки академической активности. Поэтому настоятельно рекомендуется тщательно прорабатывать материал дисциплины при самостоятельной работе, участвовать во всех формах обсуждения и взаимодействия, как на лекциях, так и на лабораторных и практических занятиях в целях лучшего освоения материала и получения высокой оценки по результатам освоения дисциплины.

Выполнение самостоятельной работы подразумевает самостоятельное изучение разделов дисциплины, подготовку к лабораторным и практическим работам, подготовку к рубежным контролям (для очной и очно-заочной форм обучения), подготовку к экзамену.

Рекомендуемый режим самостоятельной работы

Наименование вида самостоятельной работы	Рекомендуемая трудоемкость, акад. час.		
	Очная форма обучения	Очно-заочная форма обучения	Заочная форма обучения
Самостоятельное изучение тем дисциплины:	25	64	70
Методы конструирования гибридных молекул ДНК.	6	16	15
Космиды и векторы специального назначения.	8	16	20
Методы введения рекомбинантных ДНК в реципиентные клетки.	6	16	15
Системы экспрессии генов.	5	16	20
Подготовка к лабораторным занятиям (по 1 часу на каждое занятие)	8	2	2
Подготовка к практическим занятиям (по 1 часу на каждое занятие)	4	1	1
Подготовка к рубежным контролям (по 2 часа на каждый рубеж)	4	4	-
Подготовка к экзамену	27	27	27
Всего:	68	98	100

6. ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ АТТЕСТАЦИИ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

6.1. Перечень оценочных средств

1. Балльно-рейтинговая система контроля и оценки академической активности студентов в КГУ (для очной и очно-заочной форм обучения).
2. Отчеты студентов по лабораторным и практическим работам.
3. Банк тестовых заданий к рубежным контролям № 1, № 2 (для очной формы обучения и очно-заочной форм обучения).
4. Вопросы к экзамену.

6.2. Система балльно-рейтинговой оценки работы студентов по дисциплине

№	Наименование	Содержание						
Очная форма обучения								
1	Распределение баллов за семестры по видам учебной работы, сроки сдачи учебной работы (доводятся до сведения студентов на первом учебном занятии)	Распределение баллов						
		Вид учебной работы:	Посещение лекций	Выполнение и защита отчетов по лабораторным работам	Выполнение и защита отчетов по практическим работам	Рубежный контроль №1	Рубежный контроль №2	Экзамен
		Балльная оценка:	1 балл	2 балла	2 балла	19	19	
	Примечания:	1×8=8	2×8=16	2×4=8	Аттестация в форме тестирования	Аттестация в форме тестирования	30	
Очно-заочная форма обучения								
1	Распределение баллов за семестры по видам учебной работы, сроки сдачи учебной работы (доводятся до сведения студентов на первом учебном занятии)	Распределение баллов						
		Вид учебной работы:	Посещение лекций	Выполнение и защита отчетов по лабораторным работам	Выполнение и защита отчетов по практическим работам	Рубежный контроль №1	Рубежный контроль №2	Экзамен
		Балльная оценка:	2 балла	6 балла	10 баллов	22	22	

	Примечания:	2×2=4	6×2=12	10×1=10	Аттестация в форме тестирования	Аттестация в форме тестирования	30
2	Критерий пересчета баллов в традиционную оценку по итогам работы в семестре и экзамена	60 и менее баллов – неудовлетворительно; 61...73 – удовлетворительно; 74... 90 – хорошо; 91...100 – отлично					
3	Критерии допуска к промежуточной аттестации, возможности получения автоматического зачета (экзаменационной оценки) по дисциплине, возможность получения бонусных баллов	<p>Для допуска к промежуточной аттестации (экзамену) студент должен набрать по итогам текущего и рубежного контроля не менее 50 баллов и должен выполнить все лабораторные, практические работы.</p> <p>Для получения экзаменационной оценки «автоматически» студенту необходимо набрать следующее минимальное количество баллов: - 68 для получения «автоматически» оценки «удовлетворительно».</p> <p>По согласованию с преподавателем студенту, набравшему минимум 68 баллов, могут быть добавлены дополнительные (бонусные) баллы за активность на консультациях, активное участие в научной и методической работе, оригинальность принятых решений в ходе выполнения практических и лабораторных работ, за участие в значимых учебных и внеучебных мероприятиях кафедры и выставлена за экзамен «автоматически» оценка «хорошо» или «отлично».</p>					
4	Формы и виды учебной работы для неуспевающих (восстановившихся на курсе обучения) студентов для получения недостающих баллов в конце семестра	<p>В случае если к промежуточной аттестации (экзамену) набрана сумма менее 50 баллов, студенту необходимо набрать недостающее количество баллов за счет выполнения дополнительных заданий, до конца последней (зачетной) недели семестра. При этом необходимо проработать материал всех пропущенных лабораторных и практических работ.</p> <p>Формы дополнительных заданий (назначаются преподавателем): - выполнение и защита пропущенной лабораторной или практической работы (при невозможности дополнительного проведения лабораторной работы преподаватель устанавливает форму дополнительного задания по тематике пропущенной лабораторной или практической работы самостоятельно) – до 10 баллов.</p> <p>Ликвидация академических задолженностей, возникших из-за разности в учебных планах при переводе или восстановлении, проводится путем выполнения дополнительных заданий, форма и объем которых определяется преподавателем.</p>					

6.3. Процедура оценивания результатов освоения дисциплины

Рубежные контроли 1 и 2 проводятся в форме письменного тестирования.

Перед проведением каждого рубежного контроля преподаватель прорабатывает со студентами основной материал соответствующих разделов дисциплины в форме краткой лекции-дискуссии.

Варианты тестовых заданий для рубежных контролей № 1 и № 2 состоят из и вопросов соответственно. На каждое тестирование при рубежном контроле студенту отводится время не менее 45 минут. Каждый вопрос оценивается в 1 балл.

Преподаватель оценивает в баллах результаты тестирования каждого студента по количеству правильных ответов и заносит в ведомость учета текущей успеваемости. Экзамен проводится в форме устного собеседования. Вопросы содержатся в экзаменационном билете. Экзаменационный билет включает 2 теоретических вопроса. Каждый вопрос оценивается в 15 баллов. На подготовку к ответу студенту дается минимум 45 минут.

Результаты текущего контроля успеваемости и экзамена заносятся преподавателем в экзаменационную ведомость, которая сдается в организационный отдел института в день экзамена, а также выставляются в зачетную книжку студента.

6.4. Примеры оценочных средств для рубежных контролей и экзамена

Примерные вопросы к экзамену

1. Сущность и назначение генной инженерии. Основные принципы генно-инженерной технологии.
2. Применение генетической инженерии в различных областях биологии, в сельском хозяйстве и медицине.
3. Основные принципы организации систем рестрикции-модификации у бактерий.
4. Классификация и номенклатура рестриктаз. Ферменты класса IIS. Изошизомеры. Гетерошизомеры. Типы сайтов рестрикции.
5. Классификация и номенклатура рестриктаз. Крупно- и мелкощепящие рестриктазы. Встречаемость тетра- и гексануклеотидов в ДНК. 3'-, 5'-выступающие и «тупые» концы рестрикционных фрагментов.
6. Единицы активности рестриктазы. Специфичность рестриктаз. Факторы снижения специфичности рестриктаз (star-activity).
7. Использование рестриктаз для конструирования гибридных молекул *in vitro*. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК. Линкеры и адаптеры.
8. Сайты рестрикции как генетические маркеры. Использование рестриктаз для физического картирования, анализа полиморфизма ДНК, штаммоспецифической характеристики вирусов и бактерий.
9. Использование ДНК-метиляз в генной инженерии.
10. ДНК- и РНК-лигазы фага Т4. Механизм реакции, осуществляемой Т4-ДНК-лигазой.
11. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Механизм синтеза ДНК. Экзонуклеазные активности ДНК-полимераз. Терминальная трансферазная активность.
12. Разнообразие ДНК-зависимых ДНК-полимераз. ДНК-полимераза I из *E. coli*. Фрагмент Кленова ДНК-полимеразы I. ДНК-полимераза фага Т4. Термостабильные ДНК-полимеразы.
13. Применение ДНК-зависимых ДНК-полимераз. Модификация концов ДНК. Никтрансляция.
14. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы). Механизм синтеза кДНК. Обратные транскриптазы AMV и M-MLV.
15. Стратегии синтеза кДНК: со специфическими, случайными и олиго(dT)-праймерами.
16. Применение РНК-полимераз, ДНКаз. РНКаз, полинуклеотидкиназ, фосфатаз, терминальных трансфераз.
17. Сущность метода полимеразной цепной реакции. Условия проведения реакции и компоненты реакционной смеси.
18. Накопление специфического продукта в процессе ПЦР. Факторы, влияющие на точность синтеза ДНК. Специфичность и эффективность ПЦР.
19. Модификации ПЦР: ПЦР с горячим стартом, ПЦР в реальном времени, асимметричная ПЦР, иммобилизованная ПЦР, «Гнездовая» ПЦР и др.
20. Флуоресцентные зонды для ПЦР в реальном времени. Требования к праймерам и зондам.
21. Применение ПЦР в молекулярной диагностике и генной инженерии. ПЦР в выявлении мутаций. Синтез генов с помощью ПЦР. Способы получения фрагментов ДНК с делециями, вставками или точечными заменами.
22. Метод секвенирования ДНК по Сенгеру. Секвенирование ДНК с использованием флуоресцентных дидезоксинуклеотидов.
23. Сущность метода электрофореза. Электрофоретическая подвижность нуклеиновых кислот. Разновидности метода и виды используемых гелей. Реакция полимеризации акриламида.

24. Электрофорез нуклеиновых кислот в денатурирующих условиях. Маркеры размеров ДНК. Электрофорез в импульсном электрическом поле. Способы детекции макромолекул в геле после проведения электрофореза.
25. Этапы клонирования ДНК. Методы конструирования гибридных молекул ДНК *in vitro*.
26. Понятие вектора и реципиента. Требования, предъявляемые к векторным молекулам.
27. Плазмидные векторы. Основные сведения о плазмидах. Механизмы репликации плазмид. Несовместимость плазмид. Плазмиды с узким и широким кругом хозяев.
28. Плазмидные векторы клонирования в клетках *E. coli*. Плазмида pSC101. Свойства плазмиды ColE1 и векторов на ее основе (серия векторов pBR, серия векторов pUC).
29. Фагмиды. Векторы на основе бактериофага. Организация фаговой хромосомы. Общие принципы конструирования векторов на основе фага. Стратегия клонирования в фаговых векторах.
30. Векторы на основе фага M13. Преимущества и недостатки векторов на основе фага M13. Области использования векторов на основе однонитевых фагов.
31. Космиды. Принципы клонирования в космидах с одним и двумя *cos*-сайтами. Упаковка рекомбинантных молекул в фаговые частицы *in vitro*. Преимущества и недостатки космидной системы.
32. Векторы специального назначения. Прокариотические и эукариотические векторы экспрессии. Интегративные и челночные (бинарные) векторы.
33. Принципы клонирования фрагментов ДНК. Увеличение эффективности клонирования путем подбора оптимального молярного соотношения концов вектора и клонируемого фрагмента.
34. Клонирование фрагментов в определенной ориентации. Лигирование фрагментов ДНК с «тупыми» концами. Лигирование фрагментов ДНК с «липкими» концами, образуемыми разными рестриктазами. Гибридные сайты. Клонирование без лигирования вектора и вставки.
35. Введение рекомбинантных ДНК в клетки бактерий. Особенности трансформации у разных видов бактерий. Трансформация клеток *E. coli*.
36. Трансформация плазмидными ДНК клеток бацилл. Электропорация. Способы введения ДНК в культивируемые клетки животных.
37. Методы отбора и анализа рекомбинантных молекул ДНК. Методы отбора, основанные на фенотипическом различии рекомбинантных и нерекомбинантных клонов.
38. Методы отбора и анализа рекомбинантных молекул ДНК. Методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот. ПЦР в селекции рекомбинантных клонов. Методы на основе рестрикционного анализа.
39. Системы экспрессии генов в бактериальных клетках. Проблемы экспрессии чужеродных генов в клетках бактерий.
40. Клетки дрожжей как экспрессирующие системы. Системы экспрессии, основанные на культуре клеток животных. Бесклеточные системы синтеза белка.
41. Цели и задачи геномики. Функциональная геномика. Генетические и физические карты генома.
42. Построение генетических карт сцепления. Использование хромосомных aberrаций для построения карт сцепления. Цитогенетический и псевдогенетический анализ структуры генома.
43. Флуоресцентная гибридизация *in situ*. Сравнительная геномная гибридизация.
44. Физические карты низкого разрешения: хромосомные карты; EST-маркеры (маркеры экспрессирующихся последовательностей) и их использование для построения карт кДНК.

45. Физические карты генома высокого разрешения. Построение карт высокого разрешения. Концепция STS-маркеров (сайты, привязанные к последовательностям). Рестрикционный анализ. «Прогулки и прыжки» по хромосомам.
46. Стратегия секвенирования больших геномов. ДНК-диагностика и генотипирование. Использование микросателлитных последовательностей для идентификации личности человека.
47. Исследование экспрессии генов на уровне транскрипции. Транскриптом. Дифференциальный дисплей (DD). Анализ репрезентативных различий РНК (RDA). Серийный анализ экспрессии генов (SAGE).
48. Исследование экспрессии генов на уровне транскрипции. Супрессорная вычитающая гибридизация. Использование микроматриц и микрочипов.
49. Изменение уровней экспрессии генов с использованием нуклеиновых кислот. Антисмысловые РНК и олигонуклеотиды. Природные антисмысловые РНК.
50. Механизм ингибирующего действия антисмысловых нуклеиновых кислот: участие РНКазы Н, дезаминирование остатков аденина; РНК-интерференция.
51. Рецепторная и ферментативная активность нуклеиновых кислот. Олигонуклеотидные аптамеры и методы их получения. Нуклеозимы: рибозимы и дезоксирибозимы.
52. Природные РНК, обладающие нуклеазной активностью. Искусственные рибозимы эндонуклеазы. Нуклеозимы, обладающие РНК-лигазной активностью. Минизимы и максизимы. Аптазимы.
53. Трансгенез. Способы получения трансгенных животных. Прямая инъекция ДНК в пронуклеусы оплодотворенных яйцеклеток. Использование эмбриональных стволовых клеток. Применение рекомбинантных вирусов для заражения эмбриональных клеток.
54. Векторы, используемые для доставки трансгенов в организм млекопитающих: ретровирусные и аденовирусные векторы.
55. Факторы, оказывающие влияние на экспрессию трансгенов в организме трансгенных животных.
56. Направленная активация и инактивация генов *in vivo*: генные нок-ин'ы и нокауты. Методы инактивации генов с применением энхансерных, генных и промоторных ловушек. Регулируемая экспрессия трансгенов в организме животных.
57. Трансгенные растения. Эмбриональные стволовые клетки растений. Основные этапы получения трансгенных растений.
58. Культура каллуса и суспензионные культуры клеток. Получение протопластов. Фитогормоны, используемые для регенерации растений.
59. Соматический эмбриогенез. Методы, используемые для трансформации объектов растительного происхождения. Системы контроля экспрессии рекомбинантных генов у растений.
60. Агробактериальная инфекция. Ti-плазмиды и T-ДНК. Трансгенные хлоропласты. Преимущества использования хлоропластов для экспрессии трансгенов.
61. Клонирование многоклеточных организмов. Этапы клонирования. Методы введения ядер соматических клеток в яйцеклетки. Стадии клонирования млекопитающих.

Рубежный контроль 1. Образец тестовых заданий:

1. Таq-ДНК-полимераза не обладает активностью:
- а) терминальной полинуклеотиднуклеотидилтрансферазой
 - б) полимеризующей в) 3'-5'-экзонуклеазной г) 5'-3'-экзонуклеазной

2. Электрофоретическая подвижность нуклеиновых кислот обусловлена наличием:

- а) отрицательно заряженных фосфатных групп
- б) положительно заряженных фосфатных групп
- в) отрицательно заряженных аминогрупп азотистых оснований
- г) положительно заряженных аминогрупп азотистых оснований

3. Ферменты, вносящие двухцепочечные разрывы в молекулу ДНК, называются:

- а) нисказы
- б) рестриктазы
- в) хеликазы
- г) лигазы
- д) топоизомеразы

Рубежный контроль 2. Образец тестовых заданий:

1. Для получения 5'-выступающего конца из 3'-выступающего можно использовать:

- а) ДНК-полимеразу с корректирующей активностью в присутствии всех 4-х нуклеотидов
- б) ДНК-полимеразу с корректирующей активностью в присутствии 1-го из нуклеотидов
- в) Экзонуклеазу
- г) Терминальную трансферазу

2. В ходе изоэлектрофокусирования кислые белки:

- а) движутся к аноду, протонируются
- б) движутся к аноду, депротонируются
- в) движутся к катоду, протонируются
- г) движутся к катоду, депротонируются

3. В качестве денатурирующего агента при электрофорезе РНК обычно используют:

- а) дитиотреитол (ДТТ)
- б) β -меркаптоэтанол
- в) мочевину
- г) додецилсульфат натрия (ДСН)

4. Не существует:

- а) Вестерн (western) блоттинга
- б) Истерн (eastern) блоттинга
- в) Саузерн (southern) блоттинга
- г) Нозерн (northern) блоттинга

Темы рефератов:

1. Эндонуклеазы рестрикции.
2. Метилазы.
3. ДНК-лигазы.
4. РНК-лигазы.
5. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы.
6. ДНК-зависимые РНК-полимеразы.
7. Обратные транскриптазы.
8. Рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы.
9. Полинуклеотидкиназы.
10. Фосфатазы.

6.5. Фонд оценочных средств

Полный банк заданий для текущего, рубежных контролей и промежуточной аттестации по дисциплине, показатели, критерии, шкалы оценивания компетенций, методические материалы, определяющие процедуры оценивания образовательных результатов, приведены в учебно-методическом комплексе дисциплины.

7. ОСНОВНАЯ И ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА

7.1. Основная учебная литература

1. Нефедова, Л.Н. Применение молекулярных методов исследования в генетике: учебное пособие / Л.Н. Нефедова. – Москва: НИЦ Инфра-М, 2012. – 104 с. [Электронный ресурс] <http://znanium.com/bookread.php?book=302262> (Дата обращения: 01.01.2015).
2. Уилсон, К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / К. Уилсон, Д. Уолкер. – Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2013. – 848 с. [Электронный ресурс] <http://e.lanbook.com/view/book/8811/> (Дата обращения: 01.01.2015).

7.2. Дополнительная учебная литература

1. Браун, Т.А. Геномы / Т.А. Браун. – Москва: Институт компьютерных исследований, 2011. – 944 с.
2. Инге-Вечтомов, С.Г. Генетика с основами селекции: учебник для студентов вузов / С.Г. Инге-Вечтомов. – Санкт-Петербург: Н-Л, 2010. – 720 с.
3. Льюин, Б. Гены / Б. Льюин. – Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2012. – 896 с.
5. Примроуз, С. Геномика. Роль в медицине / С. Примроуз, Р. Тваймен. – Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 276 с. [Электронный ресурс] <http://e.lanbook.com/view/book/50563/> (Дата обращения: 01.01.2015).

8. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ

1. Гвоздева Е.С., Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Сидорчук Ю.В., Уварова Е.А., Пермякова Н.В. Практикум по генетической инженерии и молекулярной биологии растений. – Томск : Томский государственный университет, 2012 – 96 с.
2. Гончаренко Г. Г. Основы генетической инженерии. Методическое пособие / Отв.ред. Л.В. Хотылева. – Гомель: УО «ГГУ им. Ф.Скорины», 2003 – 118 с.

9. РЕСУРСЫ СЕТИ «ИНТЕРНЕТ», НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
2. <http://highwire.stanford.edu/>
3. <http://molbiol.ru/>

10. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ И ИНФОРМАЦИОННЫЕ СПРАВОЧНЫЕ СИСТЕМЫ

При чтении лекций используются слайдовые презентации.

1. ЭБС «Лань»
2. ЭБС «Консультант студента»
3. ЭБС «Znanium.com»
4. «Гарант» - справочно-правовая система

11. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Материально-техническое обеспечение по реализации дисциплины осуществляется в соответствии с требованиями ФГОС ВО по данной образовательной программе.

Аннотация к рабочей программе дисциплины
«Генетическая инженерия»

образовательной программы высшего образования –
программы бакалавриата
19.03.01 – Биотехнология
Направленность:
Биотехнология

Трудоемкость дисциплины: 3 ЗЕ (108 академических часов)

Семестр: 5 (очная форма обучения),
5 (очно-заочная форма обучения),
5 (заочная форма обучения)

Форма промежуточной аттестации: экзамен

Содержание дисциплины

Генная инженерия служит для получения желаемых качеств изменяемого или генетически модифицированного организма. В отличие от традиционной селекции, в ходе которой генотип подвергается изменениям лишь косвенно, генная инженерия позволяет непосредственно вмешиваться в генетический аппарат, применяя технику молекулярного клонирования.

Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение. Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики. Создание и скрининг библиотек генов. Основные подходы к получению библиотек ДНК прокариотических и эукариотических организмов. Получение библиотеки ДНК с помощью вирусных или плазмидных векторов.

Секвенирование ДНК. Методы секвенирования ДНК. Использование нерадиоактивных меток при секвенировании. Экспрессия белков. Системы экспрессии на основе бакуловирусов. Продукция больших количеств белков в клетках насекомых. Системы для экспрессии белков в животных клетках. Векторы экспрессии на основе вирусов животных.

Перспективы использования достижений генетической инженерии. Получение фрагментов ДНК из природного материала путем разрезания исходной ДНК с помощью специфических нуклеаз (рестриктаз). Прямой химический синтез ДНК, например, для создания зондов. Синтез комплементарной ДНК (кДНК) на матрице мРНК с использованием фермента обратной транскриптазы (ревертазы).