

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка
Российской академии наук

ПРИНЯТО Ученым советом ИБ РАН

Протокол № 6 от 08.06.2024 г.

Зам. директора ИБ РАН



Д. х. н. А. Д. Никулин

Направление подготовки 06.06.01 – Биологические науки
Направленность (профиль) – Молекулярная биология

Рабочая программа по дисциплине

**«МЕТОДЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ»**

Составитель курса:

кандидат биологических наук

С. В. Чернышов

Пушино 2024

1. Цель изучения дисциплины

Цель преподавания дисциплины "Методы генной инженерии и биотехнологии" состоит в содействии формированию следующих компетенций:

Общепрофессиональными компетенциями:

- способностью самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1).

Профессиональными компетенциями:

- готовность к организации и проведению на современном уровне научных исследований в профессиональной области (ПК-1);
- способность выбирать наиболее перспективные направления исследования в области молекулярной (ПК-5);

Универсальными компетенциями:

- готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);
- готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языках (УК-4).

2. Основные задачи курса

Курс "Методы генной инженерии и биотехнологии" является составной частью образовательной программы аспирантуры по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки». Курс рассчитан на аспирантов, специализирующихся в области молекулярной биологии, и научных сотрудников, начинающих работать в этой области.

В курсе рассмотрены этапы развития генной инженерии, ее основные достижения. Детально рассматриваются основные генетические ферменты, используемые в генной инженерии. Анализируются свойства векторных молекул ДНК и приемы введения рекомбинантных ДНК в реципрокные клетки. Рассматриваются методы полимеразной цепной реакции, сайт-специфического мутагенеза, фагово-специфической транскрипции. Анализируются системы экспрессии генов в различных организмах и создание трансгенных организмов.

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине

В результате освоения дисциплины "Методы генной инженерии и биотехнологии" аспирант должен:

Знать:

- современные актуальные направления и арсенал методов и подходов в избранной профессиональной области и смежных областях биологических наук;
- исчерпывающую характеристику объектов и методов по теме исследования;
- методы критического анализа и оценки современных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме при работе в российских и международных исследовательских коллективах.

Уметь

- критически анализировать и оценивать основные концепции и синтезировать новые идеи в избранной профессиональной области и междисциплинарных направлениях;
- обсуждать полученные собственные результаты в профессиональной и междисциплинарной аудитории, в том числе международной;
- осуществлять личностный выбор в процессе работы в российских и международных исследовательских коллективах, оценивать последствия принятого решения и нести за него

ответственность перед собой, коллегами и обществом;

- критически анализировать и оценивать основные концепции и синтезировать новые идеи в избранной профессиональной области и междисциплинарных направлениях;
- обсуждать полученные собственные результаты в профессиональной и междисциплинарной аудитории, в том числе международной.

Владеть:

- навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- навыками анализа основных мировоззренческих и методологических проблем, в.т.ч. междисциплинарного характера, возникающих при работе по решению научных и научно-образовательных задач в российских или международных исследовательских коллективах
- технологиями планирования в профессиональной деятельности в сфере научных исследований;
- технологиями планирования деятельности в рамках работы в российских и международных коллективах по решению научных и научно-образовательных задач
- системным пониманием актуальных проблем методологического арсенала биологических наук;
- системным пониманием перспектив развития и социального значения избранной профессиональной области.

4. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Курс "Методы геномной инженерии и биотехнологии" является вариативной частью блока Б1 и является основополагающей для формирования знаний, умений и навыков (профессиональных компетенций) в научно-исследовательской деятельности в области биологических наук. Курс практически ориентирован и связан с рядом других курсов специализаций по молекулярной биологии:

- “Принципы структурной организации белков и нуклеиновых кислот”;
- “Биосинтез белка и его регуляция”;
- “Молекулярная генетика”;
- “Молекулярная генетика эукариот”.

5. Объем дисциплины

Общая трудоемкость курса – 2 ЗЕТ, из них лекции – 36 часов.

ПРОГРАММА

Введение

Структура генетической инженерии: инструментальная и методологическая база. Творческий коллектив как движущая сила в проведении геномно-инженерных и исследовательских работ.

1. История возникновения и развития генетической инженерии и ее основоположники.

Предпосылки возникновения генетической инженерии. Основоположники генетической инженерии: В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, С.Козн, Г. Бойер, Д. Ледерберг, Х-Г. Корана, У. Гилберт, Ф. Сэнгер и др. Их вклад в развитие данного направления исследований.

2. Экспериментальное установление природы носителя генетической информации.

Открытие нуклеиновых кислот Ф. Мишером. Вклад Р. Альтмана и А. Косселя в изучение ДНК. Н.К. Кольцов и Н.В. Тимофеев-Ресовский как предтечи основателей молекулярной биологии. Историческая роль Э. Шрёдингера в рождении молекулярной биологии. Эксперименты Ф. Гриффита и открытие генетической трансформации. Опыты О. Эвери, К. Мак-Леода и М. Мак-Карти. Эксперимент Херши-Чейз. Вклад Л. Полинга, Э. Чаргаффа, Дж. Донохью, М. Уилкинса и Р. Франклин в установление пространственной структуры ДНК. Модель Уотсона-Крика. Эксперимент М. Мезельсона и Ф. Сталя и репликация ДНК.

3. Векторные системы в генетической инженерии. Приемы очистки нуклеиновых кислот.

Понятие вектора и его емкости. Системы классификации векторов по функции и природе генетического материала. Плазмидные векторы. Открытие бактериальных плазмид и их свойства, используемые при конструировании векторных молекул: способность к автономной репликации, контроль числа копий, консервативность размера, группы совместимости. Плазмиды серии pBR как основа для конструирования плазмидных векторов. Плазмиды серии pUC. Клонирование и экспрессионные векторы, векторы для слияний генов, бинарные и интегративные векторы. Векторы на основе хромосомы фага λ . Способы упаковки рекомбинантной ДНК в фаговые частицы. Фагмиды, фазмиды и космиды. Принципы конструирования искусственных хромосом. Сверхемкие векторы YAC, BAC и PAC. Искусственные хромосомы животных и человека. Векторы для переноса ДНК в клетки растений и животных. Факторы, оказывающие влияние на эффективность экспрессии рекомбинантных генов в бактериальных клетках. Выделение и очистка нуклеиновых кислот. Требования, предъявляемые при выборе метода. Жидкофазные и твердофазные методы. Использование детергентов и хаотропных агентов. Щелочной метод лизиса клеток по Бирнбойму и Доли. Фракционирование нуклеиновых кислот при использовании кислого и щелочного фенолов.

4. Ферменты как инструмент генетической инженерии.

Исторические вехи энзимологии в генетической инженерии. Классификация ферментов, используемых в генетической инженерии. ДНК и РНК-модифицирующие ферменты. Ферменты рестрикции и модификации нуклеиновых кислот. Классификация систем рестрикции-модификации. Рестриктазы II типа – основной инструмент генной инженерии. Их номенклатура. Типы сайтов рестрикции. Формы концов ДНК, образующихся

под действием рестриктаз. Изошизомеры. Гетерошизомеры. Изокаудомеры. Субстратная специфичность рестриктаз II типа. Сравнительные характеристики рестриктаз. Изменение специфичности действия рестриктаз в неоптимальных условиях. Эффективность расщепления рестриктазами ПЦР-фрагментов. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК, их «затупление». ДНК-лигазы. Их классификация и характеристики. Механизм реакции, осуществляемой T4-ДНК-лигазой. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Реакции, осуществляемые этими ферментами: синтез ДНК на ДНК-матрицах, пирофосфоролиз, 3'- и 5'-корректирующие экзонуклеазные активности. ДНК-полимераза I *E. coli* и ее фрагмент Кленова. Методы введения меченых нуклеотидов в ДНК. Ник-трансляция. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы). Термостабильные ДНК-полимеразы. Использование термостабильных ДНК-полимераз для синтеза кДНК. Синтез кДНК обратными транскриптазами. Обратные транскриптазы вируса миелобластома птиц и вируса лейкоза мышей Молони (MMLV). Три стратегии синтеза кДНК: со случайными праймерами, олиго-dT-праймерами и специфическими праймерами. Другие ферменты, используемые в генной инженерии: терминальные трансферазы, полинуклеотидкиназы, щелочные фосфатазы, экзо- и эндонуклеазы.

5. Полимеразная цепная реакция. Разновидности ПЦР.

История метода. Х. Клеппе и К. Муллис. Основные направления применения ПЦР. Общая теория ПЦР: принцип метода, этапы реакции, состав реакционной смеси, используемые полимеразы. Дизайн праймеров. Факторы, влияющие на точность синтеза ДНК и возможности ее повышения. Специфичность и эффективность ПЦР. Устройство современного амплификатора. Разновидности ПЦР: вложенная ПЦР, ПЦР с «горячим» стартом, ступенчатая ПЦР, ПЦР длинных фрагментов, множественная ПЦР, аллель-специфическая ПЦР, ПЦР со случайной амплификацией полиморфной ДНК, асимметричная ПЦР, инвертированная ПЦР, РТ-ПЦР, ПЦР с перекрывающимися праймерами, сборочная ПЦР, твердофазная ПЦР, иммуно-ПЦР, капельная цифровая ПЦР, метилспецифичная ПЦР, «холодная» ПЦР, ПЦР в реальном времени. Устройство амплификатора для ПЦР в реальном времени. Порог числа циклов. Принцип действия зондов: Taq-Man, зондов, основанных на FRET, «молекулярных маяков», праймеров типа «Скорпион». Альтернативные ПЦР методы амплификации ДНК: хеликазозависимая амплификация, рекомбиназная полимеразная амплификация, множественная замещающая изотермальная амплификация.

6. Способы конструирования гибридных молекул ДНК.

Определение понятий клонирование и молекулярное клонирование. Клонирование как естественный природный процесс. Клонирование в генетической инженерии. П. Берг и

коннекторный метод конструирования гибридных молекул ДНК. Рестриктазно-лигазный метод С. Коэна и Г. Бойера. Использование линкеров и адаптеров. Теория лигирования ДНК, основные параметры лигазной реакции. Гетерогенность продуктов лигазной реакции. Влияние различных факторов на спектр продуктов лигирования. Стратегии повышения выхода гетеродимеров.

7. Химико-ферментативный синтез ДНК и сборка генов.

Актуальность возникновения и развития технологий создания искусственных молекул ДНК. Эволюция технологии химического синтеза олигонуклеотидов: Н-фосфонатный, фосфодиэфирный, фосфотриэфирный и амидофосфитный методы. Х.-Г. Корана и его стратегия синтеза двухцепочечных фрагментов ДНК. Метод отдельной сшивки цепей. Метод промежуточных конструкций. Модульный метод конструирования протяженных ДНК по Ю.А. Овчинникову. Использование временно вводимых сайтов рестрикции. Метод К. Итакуры. Метод Мандеки. Твердофазный метод сборки ДНК из олигонуклеотидов. Сборка искусственных генов методом ПЦР. Сборка ДНК методом последовательной элонгации. Сборка ДНК методом Гибсона. Сборка ДНК методом TEDA.

8. Способы введения ДНК в клетки живых организмов.

Определение термина “трансформация” в генетической инженерии. Принципы введения рекомбинантных ДНК в клетки: биологические, химические, физические и механические методы. Природная и искусственная компетентность бактериальных клеток. Стадии трансформации клеток. Трансформация и трансфекция бактериальных клеток. Электропорация. Способы введения ДНК в культивируемые клетки животных. Перенос генов с помощью вирусов. Перенос генов, опосредованный клеточными рецепторами. Создание микроотверстий в клеточных мембранах с помощью лазера. Микроинъекции. Бомбардировка клеток микрочастицами. Трансфекция клеток методом кальций-фосфатной преципитации. Использование водорастворимых катионных полимеров и липосом. Конъюгация. Ca^{2+} -метод трансформации клеток кишечной палочки.

9. Фаговый дисплей, м-РНК-, рибосомный и клеточный дисплеи.

Понятие молекулярного дисплея: фаговый дисплей; клеточный дисплей; рибосомный дисплей и мРНК-дисплей. Определение термина “фаговый дисплей” и суть метода. Дж. Смит и история развития метода. Основные сферы применения фагового дисплея. Структура и цикл развития нитевидного фага как основного инструмента метода фагового дисплея. Схемы экспрессии эпитопов на поверхности колифагов. Пептидные фаговые библиотеки. Типы векторных систем на основе фаговой ДНК. Фаговый дисплей антител. Аффинная селекция фагов. Клеточный дисплей: принцип метода и область применения. м-РНК и

рибосомный дисплей: принцип метода, области применения. Создание м-РНК для рибосомного дисплея. Сравнительная характеристика методов дисплея, их преимущества и недостатки.

10. Мутагенез в генетической инженерии. Способы введения мутаций.

Естественный и индуцированный мутагенез. Мутационная теория Хуго де Фриза и С.И. Коржинского. Таутомерная, полимеразная и другие модели возникновения мутаций. Типы естественных мутаций. Искусственный мутагенез. Ненаправленный и направленный типы искусственного мутагенеза. Физические, химические и биологические факторы мутагенеза. “Случайный” мутагенез. Сайт-направленный мутагенез. Делеции, вставки и инверсии. Получение делеционных производных с использованием нуклеаз Bal31, S1 и ExoIII. Введение мутаций при помощи ПЦР с перекрывающимися праймерами. Использование мегапраймеров. Одновременное введение множества мутаций методом сборочной ПЦР. Введение точечных мутаций в готовые векторные плазмиды. “Случайный” мутагенез с использованием рандомизированных праймеров.

11. Генетическая инженерия растений.

Аргументы в пользу создания трансгенных растений. История развития генетической инженерии растений. Основоположники: Мэри-Дел Чилтон, Д. Шелл, М. Ван Монтегю, Р. Фрейли и Р. Хорш. Эмбриональные ствольные клетки растений. Основные этапы получения трансгенных растений. Культура каллуса и суспензионные культуры клеток. Получение протопластов. Фитогормоны, используемые для регенерации растений. Соматический эмбриогенез. Методы введения ДНК в клетки разных объектов растительного происхождения. Агробактериальная трансформация. Структура и функции Ti-плазмиды и T-ДНК агробактерий. Опины и фитогормоны и их роль в инфекции. Структура сигнальных молекул поврежденного растения, активирующих перенос T-ДНК. Векторы на основе Ti-плазмид: коинтегративные и бинарные векторы, “обезоруженные” плазмиды. Репортерные и селективные гены. Растительные промоторы и другие функциональные элементы растительных вектров. Векторы на основе растительных вирусов. Этапы создания трансгенных растений. Трансформация целых растений (in planta). Трансформация митохондрий и хлоропластов. Трансформация семян и изолированных эмбрионов. Модельные растения. Основные направления стратегии создания трансгенных растений.

12. Генетическая инженерия животных.

Три основных способа получения трансгенных животных: прямая инъекция ДНК в пронуклеусы оплодотворенных яйцеклеток; использование эмбриональных стволовых клеток (ES); применение рекомбинантных вирусов для заражения эмбриональных клеток

зародыша. Векторы, используемые для доставки трансгенов в организм млекопитающих: ретровирусные и аденовирусные векторы, а также векторы на основе аденоассоциированных вирусов. Факторы, оказывающие влияние на экспрессию трансгенов в организме трансгенных животных. Направленная активация и инактивация генов *in vivo*: генные нокадауны и нокауты. Классический подход к получению генных нокауты: использование гомологичной рекомбинации. Современные методы инактивации генов с применением энхансерных, генных и промоторных ловушек. Системы сайт-специфической рекомбинации. Регулируемая экспрессия трансгенов в организме животных: Бинарные системы регулируемой экспрессии трансгенов в организме животных на примере тетрациклиновой системы.

13. Физико-химические методы анализа нуклеиновых кислот.

Классификация методов анализа. Центрифугирование: принцип метода, дифференциальное, зонально-скоростное, изопикническое центрифугирование, равновесное центрифугирование в градиенте плотности. Концентрирование и осаждение нуклеиновых кислот, выделение фрагментов ДНК из гелей. Гибридизация нуклеиновых кислот: “северный” и “южный” блоты. Этапы гибридизации. Спектрофотометрический анализ нуклеиновых кислот. Электрофоретические методы анализа: физический принцип электрофореза, факторы, влияющие на подвижность макромолекул. Классификация электрофоретических методов: нативный и денатурирующий электрофорезы, изоэлектрическое фокусирование, двумерный электрофорез, электрофорез в импульсном электрическом поле. Рестрикционный анализ ДНК. ПЦР-анализ клонов. Определение нуклеотидной последовательности ДНК (секвенирование). Химический метод секвенирования по Максому-Гилберту: химическая модификация азотистых оснований, деградация гуанозинов, деградация пиримидиновых звеньев. Ферментативное секвенирование по Сенгеру: “плюс-минус” метод, метод терминаторов. Системы секвенирования нового поколения.

6. Фонд оценочных средств для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине

Контроль успеваемости и качества подготовки обучающихся подразделяется на текущий контроль и промежуточную аттестацию.

Текущий контроль предназначен для проверки хода и качества усвоения учебного материала, стимулирования учебной работы обучающихся и совершенствования методики проведения занятий. Он проводится в ходе всех видов учебных занятий в форме, избранной преподавателем и/или предусмотренной рабочей программой дисциплины

Показатели и критерии оценивания компетенций на этапе изучения дисциплины, описание шкал оценивания

Этапы формирования компетенций:	Контролируемые разделы	Код контролируемой компетенции	Наименование оценочного средства	Уровни сформированности компетенции в баллах	
1 этап	Модуль I. Предмет генной инженерии. Основоположники генной инженерии. Основные приемы очистки нуклеиновых кислот. Ферменты рестрикции и модификации нуклеиновых кислот. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Этапы клонирования ДНК. Конструирование экспрессирующих векторов и их функционирование. Способы введения рекомбинантных ДНК в клетки. Системы экспрессии рекомбинантных генов.	ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Задания для самостоятельных работ	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
		ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Зачет	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
макс:					5
2 этап	Модуль II. Белковая инженерия. Направленная эволюция белков. Исследование экспрессии генов на уровне транскрипции. Изменение уровней экспрессии генов. Феномен транскрипции. Трансгенные растения. Клонирование многоклеточных организмов.	ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Задания для практических работ	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
		ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Зачет	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
макс:					5

Формы, уровни и критерии оценивания

Форма оценивания	Уровни оценивания	Критерии оценивания
Практические работы	Не аттестован (Не удовлетворительно)	Аспирант имеет отдельные представления об изученном материале; не может полно и правильно ответить на поставленные вопросы, при ответах допускает грубые ошибки; практические работы не выполнены или выполнены с ошибками, влияющими на качество выполненной работы. Практически не посещает занятия.
	Низкий (Удовлетворительно)	Аспирант знает лишь основной материал; на заданные вопросы отвечает недостаточно четко и полно, что требует дополнительных и уточняющих вопросов преподавателя; практические, лабораторные

		и курсовые работы выполняет с ошибками, не отражающимися на качестве выполненной работы. Посещает занятия, но не системно.
	Средний (Хорошо)	Аспирант твердо знает учебный материал; отвечает без наводящих вопросов и не допускает при ответе серьезных ошибок; умеет применять полученные знания на практике; практические работы выполняет правильно, без ошибок. Посещает занятия, но не в полном объеме.
	Высокий (Отлично)	Аспирант глубоко изучил учебный материал; последовательно и исчерпывающе отвечает на поставленные вопросы; свободно применяет полученные знания на практике; практические работы (задания) выполняет правильно, без ошибок, в установленное нормативом время. Посещает занятия практически полностью.
Самостоятельная работа	Не аттестован (Не удовлетворительно)	Аспирант неполно изложил задание; при изложении были допущены существенные ошибки; результаты выполнения работы не удовлетворяют требованиям, установленным преподавателем к данному виду работы.
	Низкий (Удовлетворительно)	Аспирант неполно, но правильно изложил задание; при изложении была допущена 1 существенная ошибка; знает и понимает основные положения данной темы, но допускает неточности в формулировке понятий; излагает выполнение задания недостаточно логично и последовательно; затрудняется при ответах на вопросы преподавателя; материал оформлен неаккуратно или не в соответствии с требованиями.
	Средний (Хорошо)	Аспирант неполно, но правильно изложил задание; при изложении были допущены 1-2 несущественные ошибки, которые он исправляет после замечания преподавателя; дает правильные формулировки, точные определения, понятия терминов; может обосновать свой ответ, привести необходимые примеры; правильно отвечает на дополнительные вопросы преподавателя, имеющие целью выяснить степень понимания Аспирантом данного материала; материал оформлен недостаточно аккуратно и в соответствии с требованиями.
	Высокий (Отлично)	Аспирант обстоятельно, с достаточной полнотой излагает соответствующую тему; дает правильные формулировки, точные определения, понятия терминов; может обосновать свой ответ, привести необходимые примеры; правильно отвечает на дополнительные вопросы преподавателя, имеющие целью выяснить степень понимания аспирантом данного материала. Материал оформлен аккуратно в соответствии с требованиями.
Тестирование	Не аттестован (Не удовлетворительно)	Аспирант выполнил работу не полностью или объем выполненной части работы не позволяет сделать правильные выводы.
	Низкий (Удовлетворительно)	Аспирант выполнил работу не полностью, но объем выполненной части таков, что позволяет получить правильные результаты и выводы; в ходе проведения работы были допущены ошибки.

	Средний (Хорошо)	Аспирант выполнил работу в полном объеме с соблюдением необходимой последовательности действий, но допустил 2-3 ошибки.
	Высокий (Отлично)	Аспирант выполнил работу в полном объеме с соблюдением необходимой последовательности действий; в ответе правильно и аккуратно выполняет все записи, таблицы, рисунки, чертежи, графики, вычисления;/или правильно и аккуратно выполнил все задания; правильно выполняет анализ ошибок.

Показатели и критерии оценивания компетенций на этапе сдачи зачета с оценкой по дисциплине, описание шкалы оценивания

По результатам текущего контроля успеваемости за 2 модуля Аспирант до экзамена может набрать от 0 до 10 баллов.

Выполнение учебных заданий по дисциплине оценивается от 0 до 10 баллов (до 20 в каждом из 2-х текущего контроля успеваемости).

Код контролируемой компетенции	Наименование оценочного средства	Критерии оценивания (Уровни сформированности компетенции)	
ОПК-1; УК-1; УК-3; ПК-1	Выполнение промежуточных заданий	– не аттестован	0 – 5
		– низкий	6 – 10
		– средний	11 – 15
		– высокий	16 – 20
макс: 20 баллов			

Критерии итогового оценивания сформированности компетенций

Формы оценивания	Уровни оценивания	Критерии оценивания
Ответы (устные или письменные) на вопросы билетов	– не аттестован	50% и менее
	– низкий	51% – 65 %
	– средний	66 % – 84%
	– высокий	85% – 100%

До итогового зачета с оценкой допускается Аспирант, набравший сумму в пределах от 5 до 20 баллов (включая оценку по успеваемости и посещаемости). Аспирант, набравший 5 баллов и менее до зачета допускается, но должен добрать недостающие баллы, либо до или во время зачета.

Положительную оценку на зачете успешно выполнившие все тестовые задачи и правильно ответившие на контрольные вопросы.

Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующие этапы формирования компетенций

№ п/п	Наименование оценочного средства	Краткая характеристика оценочного средства	Представление оценочного средства в фонде
1.	Задания для самостоятельных	Самостоятельная работа – это вид учебной деятельности, выполняемый аспирантами без непосредственного контакта с	Вопросы, задания, темы рефератов для

	работ	преподавателем или управляемый преподавателем опосредованно через специальные учебные материалы.	самостоятельных работ
2.	Вопросы к зачету / экзамену	Перечень вопросов для зачета / экзамена	Перечень вопросов к зачету / экзамену

Материально-техническая база для осуществления образовательного процесса по дисциплине

Для групповых лекционных и семинарских занятий, самостоятельной работы студентов, консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации используется аудитория № 305 (биотехнологический корпус ИБ РАН). Она оборудована стационарным компьютером с выходом в Интернет и принтером, проектором и стационарным экраном, доской для маркеров, имеет 15 посадочных мест (с возможностью организации дополнительных), 5 столов, и отдельный стол со стулом для преподавателя. В аудитории имеется беспроводной доступ к локальной сети и к сети Интернет.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

1. Л.И. Патрушев. Экспрессия генов. М. Наука, 2000.
2. Л.И. Патрушев. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. М. Наука. 2004.
3. С.Н. Щелкунов. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2004.
4. И.Ф. Жимулев. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2003.

Клонирование ДНК, экспрессия рекомбинантных генов

1. Клонирование ДНК. Методы. Под редакцией Д. Гловера. М. Мир, 1988.
2. Новое в клонировании ДНК. Методы. Под редакцией Д. Гловера. М. Мир, 1989.
3. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed., N. Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989.
4. Enzymes of Molecular Biology. Methods Mol. Biol., Vol 16. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 1993.
5. Wong D.W.S. The ABCs of Gene Cloning. 2006. Springer.
6. E. coli Plasmid Vectors (Casali N. and Preston A. Eds.) Methods Mol. Biol., Vol. 235, Humana Press Inc., Totowa, NJ
7. E. coli Gene Expression Protocols. Methods Mol. Biol., vol. 205, (Vaillancourt P.E. Ed.) Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2002.
8. Baneyx F. (1999) Recombinant protein expression in *Escherichia coli*. Curr. Opin. Biotechnol. 10, 411–421.

9. Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols, Second Edition (P. Balbás and A. Lorence, Eds) Methods in Molecular Biology, vol. 267: Humana Press Inc., 2004.

Полимеразная цепная реакция

1. van Pelt-Verkuil E., van Belkum A., Hays J.P. Principles and Technical Aspects of PCR Amplification. Springer. 2008.
2. PCR Primer Design. Methods Mol. Biol., vol. 402, (Yuryev A. Ed.), Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007.

Трансгенные растения

1. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство. Под редакцией Дж. Драйпера, Р. Скотта, Ф. Армитиджа, Р. Уолдена. М. Мир, 1991.
2. Handbook of Maize. Genetics and Genomics. (Bennetzen J.L., Hake S. Eds.) Springer, 2009.
3. Plant Gene Transfer and Expression Protocols. Methods Mol. Biol., 49, (H. Jones Ed.) Humana Press Inc.
4. Neumann K.-H., Kumar A., Imani J. Plant Cell and Tissue Culture - A Tool in Biotechnology. Basics and Application. Springer, 2009.
5. Functional Organization of the Plant Nucleus. (I. Meier, Ed.), Springer, 2009.
6. Cell and Molecular Biology of Plastids. (R. Bock, Ed.), Topics Curr. Genet., 19, 2007.
7. The Chloroplast. Interactions with the Environment. (Sandelius A.S., Aronsson H., Eds.) Springer, 2009.
8. Tzfira T., Citovsky V. (2006) Agrobacterium-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. Curr. Opin. Biotechnol., 17, 147–154.
9. Daniell H., Khan M.S., Allison L. (2002) Milestones in chloroplast genetic engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. Trends Plant Sci., 7, 84-91.
10. Bock R.. (2007) Plastid biotechnology: prospects for herbicide and insect resistance, metabolic engineering and molecular farming. Curr. Opin. Biotechnol., 18, 100–106.
11. Dafny-Yelin M., Levy A., Tzfira T. (2008) The ongoing saga of Agrobacterium–host interactions. Trends Plant Sci., 13, 102-105.

Трансгенные животные.

1. Mammalian and Avian Transgenesis – New Approaches (S. Pease and C. Lois Eds.) Springer, 2006.
2. Genetic Engineering in Livestock. New Applications and Interdisciplinary Perspectives. (M. Engelhard, K. Hagen, M. Boysen Eds.), Springer, 2009.

3. Rabbit Biotechnology: Rabbit Genomics, Transgenesis, Cloning and Models (L.-M. Houdebine and J. Fan, eds.) Springer, 2009.
4. Gene Targeting Protocols (E. Kmiec, Ed.) Methods Mol. Biol., vol. 133: Humana Press.
5. Houdebine L.-M. Animal Transgenesis and Cloning. John Wiley & Sons, Ltd., 2003.
6. Prosser H., Rastan S. (2003) Manipulation of the mouse genome: a multiple impact resource for drug discovery and development. Trends Biotechnol., 21, 224-232.

Типовые вопросы для проведения промежуточной аттестации:

1. Плазмиды – история открытия, классификация и свойства, определяющие их применимость в генетической инженерии.
2. Селективные маркеры бактериальных векторов, “цветные” маркерные системы.
3. Работа лактозного оперона и использование в генетической инженерии его функциональных элементов
4. Жизненный цикл бактериофага λ .
5. Ферменты как одни из основных инструментов генетической инженерии. Их классификация.
6. Термофильные и мезофильные ДНК-полимеразы: область их применения.
7. Использование ДНК-лигаз для соединения фрагментов ДНК. Механизм действия ДНК-лигазы.
8. Энзиматическое фосфорелирование и дефосфорелирование ДНК как стратегия клонирования.
9. Классификация систем рестрикции-модификации. Функциональные компоненты системы.
10. Эндонуклеазы рестрикции II типа. Их использование в генетической инженерии.
11. Субстратная специфичность рестриктаз, факторы, влияющие на субстратную специфичность.
12. Теория лигирования. Факторы, способствующие повышению выхода гетеродимеров при проведении лигазной реакции.
13. Синтез двухцепочечных фрагментов ДНК методом Кораны. Возможные проблемы синтеза.
14. Принцип метода сборки ДНК по Гибсону и его возможности.
15. Методы химического синтеза олигонуклеотидов.
16. Амидофосфитный метод, как современный производительный метод синтеза олигонуклеотидов.
17. Способы введения чужеродной ДНК в клетки живых организмов. Понятие трансформации.
18. Особенности трансформации растений. Агробактерии как природный генный инженер.
19. Основные принципы и стадии фагового дисплея.
20. Этапы ПЦР и их функциональный смысл. Температурно-временные характеристики каждого этапа.
21. Аллель-специфичная и твердофазная ПЦР

22. Полимеразная цепная реакция “в реальном времени”.
 23. Методы амплификации ДНК, альтернативные ПЦР.
 24. Сущность и физические основы электрофореза.
 25. Факторы, влияющие на характер движения заряженных макромолекул при электрофорезе.
 26. Мутагенез. Основные положения теории мутаций.
 27. Использование ПЦР для введения точечных мутаций.
 28. Анализ ДНК. Классификация методов анализа. Выбор методов анализа в зависимости от поставленной задачи.
 29. Секвенирование по Максому-Гилберту. Принцип метода. Химические агенты для модификации азотистых оснований.
- Автоматическое секвенирование ДНК. Визуализация продуктов реакции