

**Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)»**

УТВЕРЖДЕНО

**Директор физтех-школы
биологической и медицинской
физики**

Д.В. Кузьмин

	Рабочая программа дисциплины (модуля)
по дисциплине:	Генная инженерия и методы молекулярной биологии
по направлению:	Прикладные математика и физика
профиль подготовки:	Биоинженерия и биоинформатика
	Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики кафедра молекулярной и клеточной биологии
курс:	1
квалификация:	магистр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 1 (осенний) - Экзамен

Аудиторных часов: 30 всего, в том числе:

лекции: 30 час.

семинары: 0 час.

лабораторные занятия: 0 час.

Самостоятельная работа: 30 час.

Подготовка к экзамену: 30 час.

Всего часов: 90, всего зач. ед.: 2

Программу составил: П.М. Рубцов, д-р биол. наук, профессор

Программа обсуждена на заседании кафедры молекулярной и клеточной биологии 04.06.2020

Аннотация

Целью дисциплины является освоение студентами фундаментальных знаний в области генетической инженерии и методов молекулярной биологии, изучение способов переноса и экспрессии генетической информации в разных типах клеток про- и эукариот, качественного и количественного анализа эффективности экспрессии рекомбинантных продуктов, а также значения и роли методов генетической инженерии в изучении структуры и функционирования геномов, в том числе генома человека, ознакомление с областями практического применения методов и подходов генетической инженерии в биотехнологии и биомедицине. В процессе освоения дисциплины студент получит базовые знания в области генетической инженерии, получит основы молекулярной биологии и биофизики.

1. Цели и задачи

Цель дисциплины

освоение студентами фундаментальных знаний в области генетической инженерии и методов молекулярной биологии, изучение способов переноса и экспрессии генетической информации в разных типах клеток про- и эукариот, качественного и количественного анализа эффективности экспрессии рекомбинантных продуктов, а также значения и роли методов генетической инженерии в изучении структуры и функционирования геномов, в том числе генома человека, ознакомление с областями практического применения методов и подходов генетической инженерии в биотехнологии и биомедицине.

Задачи дисциплины

- формирование базовых знаний в области молекулярной биологии и биофизики;
- обучение студентов принципам создания рекомбинантных молекул ДНК, методам анализа их структуры и функционирования после переноса в клетки про- и эукариот, современного состояния и перспектив практического использования достижений генетической инженерии в биотехнологии и биомедицине;
- формирование подходов к выполнению студентами исследований с использованием методов генетической инженерии в рамках выпускных работ на степень магистра.

2. Перечень формируемых компетенций

Освоение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций:

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ОПК-3 Способен выбирать и (или) разрабатывать подходы к решению типовых и новых задач в области профессиональной деятельности, учитывая особенности и ограничения различных методов решения	ОПК-3.1 Способен анализировать задачу, планировать пути решения, предлагать и комбинировать способы решения
	ОПК-3.2 Способен использовать исследовательские методы при решении новых задач, применяя знания в различных областях науки (техники)
	ОПК-3.3 Владеет аналитическими и вычислительными методами решения, понимает и учитывает на практике границы применимости получаемых решений
ПК-1 Способен ставить, формализовывать и решать задачи, в том числе разрабатывать и исследовать математические модели изучаемых явлений и процессов, системно анализировать научные проблемы, получать новые научные результаты	ПК-1.1 Способен находить, анализировать и обобщать информацию об актуальных результатах исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
ПК-2 Способен самостоятельно или в качестве члена (руководителя) малого коллектива организовывать и проводить научные исследования и их апробацию	ПК-2.1 Способен планировать и проводить научные исследования самостоятельно или в составе научного коллектива
	ПК-2.2 Способен проводить апробацию результатов научно-исследовательской работы посредством публикации научных статей и участия в конференциях

ПК-3 Способен профессионально работать с исследовательским и испытательным оборудованием (приборами и установками, специализированными пакетами прикладных программ) в избранной предметной области	ПК-3.1 Понимает принципы работы используемого оборудования (специализированных пакетов прикладных программ)
---	---

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю)

В результате освоения дисциплины обучающиеся должны

знать:

- лексический минимум в объеме, необходимом для профессиональных устных и письменных коммуникаций и работы с информацией в области генетической инженерии;
- место и роль принципов и методов генетической инженерии в современных исследованиях физико-химических основ живых систем;
- особенности биологической формы организации материи, принципы воспроизводства и развития живых систем;
- современные представления об общности механизмов хранения, воспроизводства и передачи генетической информации у разных групп про- и эукариотических организмов;
- особенности организации генов и геномов в разных таксономических группах (бактерии, дрожжи, высшие растения, животные);
- перспективы использования достижений генетической инженерии в биомедицине;
- проблемы безопасности научных исследований в области генетической инженерии и практического использования генетически модифицированных организмов.

уметь:

- эффективно использовать в научных исследованиях теоретические положения и арсенал методов генетической инженерии и молекулярной биологии;
- планировать эксперименты по созданию рекомбинантных молекул ДНК и переносу генов в модельные организмы;
- анализировать, систематизировать и обобщать результаты собственных научных исследований с использованием методов генетической инженерии и молекулярной биологии и литературные данные.

владеть:

- методологией выбора адекватных методов генетической инженерии для исследований в области молекулярной и физико-химической биологии;
- планированием, постановкой и обработкой результатов экспериментов с использованием арсенала методов генетической инженерии;
- навыками научного поиска и использования информационных источников (научная литература, базы данных, компьютерные программы и другие Интернет-ресурсы) для аналитического поиска в области исследований с использованием арсенала методов генетической инженерии.

4. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

4.1. Разделы дисциплины (модуля) и трудоемкости по видам учебных занятий

№	Тема (раздел) дисциплины	Трудоемкость по видам учебных занятий, включая самостоятельную работу, час.			
		Лекции	Семинары	Лаборат. работы	Самост. работа
1	Введение ДНК в соматические и половые клетки млекопитающих	3			2
2	Векторы для клонирования генов в бактериях на основе бактериофагов, космидные векторы, ВАС- и РАС-векторы.	2			2
3	Векторы для клонирования генов в бактериях. Плазмидные векторы.	2			2

4	Векторы на основе вирусов млекопитающих. Перспективы их использования в генотерапии.	2			2
5	Генетическая инженерия дрожжей	2			
6	Геном человека и постгеномные технологии в молекулярной биологии.	2			
7	Методы изучения экспрессии генов у эукариот.	2			
8	Новые стратегии секвенирования ДНК.	2			
9	Основные достижения молекулярной биологии к началу 70-х годов 20-го века и предпосылки возникновения генетической инженерии.	2			
10	Основы генетической инженерии растений	2			
11	Основы генетической инженерии стволовых клеток.	2			2
12	РНК-интерференция	2			5
13	Ферменты обмена нуклеиновых кислот, используемые в генетической инженерии.	2			5
14	Экспрессия чужеродных генов в бактериях. Получение и очистка рекомбинантных белков.	3			10
Итого часов		30			30
Подготовка к экзамену		30 час.			
Общая трудоёмкость		90 час., 2 зач.ед.			

4.2. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам)

Семестр: 1 (Осенний)

1. Введение ДНК в соматические и половые клетки млекопитающих

Перенос ДНК в клетки млекопитающих. Неспецифические методы введения ДНК (Са-фосфатная трансфекция, электропорация, баллистическая трансфекция, использование липосом, микроинъекции). ДНК-иммунизация. Селективные маркеры для клеток млекопитающих. Стабильная и транзистентная (временная) экспрессия генов в клетках млекопитающих. Репортерные гены. Трансгенные животные: использование для решения фундаментальных и прикладных задач.

2. Векторы для клонирования генов в бактериях на основе бактериофагов, космидные векторы, ВАС- и РАС-векторы.

Векторы на основе нитчатых бактериофагов (M13). Особенности биологии фага M13. Биологическое разделение цепей фрагментов ДНК путем клонирования в M13. Комбинированные векторы для получения ДНК в одно- и двухцепочечной форме. Фаговый дисплей на основе фага M13 и комбинаторные библиотеки пептидов.

Векторы на основе фага ламбда. Геном фага ламбда. Два пути фаговой инфекции - литический и лизогенный. Упаковка ДНК в фаговые частицы *in vitro*. Получение клонотек генов в векторах на основе фага ламбда. Представительность клонотек. Скрининг клонотек. Космидные векторы. Векторы на основе фага P1 для клонирования крупных вставок. Бактериальные искусственные хромосомы (ВАС-векторы).

3. Векторы для клонирования генов в бактериях. Плазмидные векторы.

Основные требования к векторам. Способы встраивания ДНК в вектор. Емкость векторов. Селекция рекомбинантных клонов. Селекция по устойчивости к антибиотикам (ампициллин, тетрациклин, хлорамфеникол, канамицин). Селекция по активности бета-галактозидазы на индикаторной среде (явление альфа-комплементации, штаммы сверхпродуценты *lac*-репрессора).

Свойства бактериальных плазмид. Способность к автономной репликации в клетке. Копийность плазмид. Способность к интеграции в бактериальную хромосому. Способность к конъюгативному переносу из клетки в клетку (конъюгативность). Способность переноситься в другие клетки с помощью конъюгативной плазмиды (мобилизуемость). Несовместимость – невозможность существования двух разных плазмид с одним типом репликона в одной клетке. Первые удобные плазмидные векторы (pBR322, pUC). Специализированные векторы. Векторы для секвенирования, векторы экспрессии, векторы для клонирования регуляторных элементов (промоторов, терминаторов), векторы для получения РНК-зондов (транскрипция *in vitro*).

4. Векторы на основе вирусов млекопитающих. Перспективы их использования в генотерапии.

Ретровирусы. Организация генома. Жизненный цикл и особенности репликации. Ретровирусные векторы. Упаковывающие клетки. Использование ретровирусных векторов в исследованиях генома. Вылавливание экзонов (*exon-trapping*). Лентивирусные векторы. Организация геномов лентивирусов. Сравнение ретро- и лентивирусных векторов. Векторы на основе вируса осповакцины. Получение генноинженерных живых вакцин. Генная терапия. Векторы для генотерапии. Векторы на основе ретровирусов, лентивирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, вирусов герпеса.

5. Генетическая инженерия дрожжей

Особенности дрожжей как эукариотического организма. Половое и вегетативное размножение дрожжей. Типы спаривания дрожжей и механизмы их переключения. Дрожжевые векторы. Селективные маркеры для дрожжей. Типы дрожжевых векторов. Интеграционные, эписомные, центромерные векторы. ARS-элементы. Центромерные последовательности. Теломерные участки. Стабильность дрожжевых векторов. Искусственные дрожжевые хромосомы (клонирование крупных фрагментов ДНК). Дрожжевая двухгибридная система (использование для изучения белок-белковых взаимодействий). Метилотрофные дрожжи как объект генно-инженерной биотехнологии.

6. Геном человека и постгеномные технологии в молекулярной биологии.

Секвенирование полного генома человека. Особенности организации геномов высших эукариот. Повторяющиеся и уникальные последовательности. Типы повторов. Ретроэлементы генома. Полиморфизмы. Типы маркеров, используемые в генетических исследованиях геномов. Полногеномный поиск ассоциаций. Полногеномное картирование структурных и функциональных элементов геномов. Программа 1000 геномов. Данные геномики (и других «омик») как экспериментальная основа системной биологии.

7. Методы изучения экспрессии генов у эукариот.

Репортерные гены. Трансфекция клеток и анализ экспрессии. Клонотеки кДНК. Получение полноразмерных кДНК (5' - и 3' -RACE).

Вычитающая гибридизация как метод выявления дифференциально экспрессирующихся генов. Другие методы изучения дифференциальной экспрессии генов. “Транскрипционные портреты” клеток. SAGE - серийный анализ экспрессии генов. Полное секвенирование транскриптомов. Количественный анализ экспрессии генов. Обратная транскрипция-ПЦР в режиме реального времени. Структура хроматина и экспрессия генов. Анализ эпигенетической регуляции экспрессии генов. Метилирование ДНК. Модификации гистонов. Иммунопреципитация хроматина.

8. Новые стратегии секвенирования ДНК.

Масштабное параллельное пиросеквенирование (454/Roche). Метод полимеразного копирования с использованием обратимого включения терминаторов (reversible terminator sequencing) (Solexa/Illumina). Метод лигирования олигонуклеотидов на связанной с подложкой матрице (Supported Oligo Ligation Method) (SOLiD/ABI). Полупроводниковое секвенирование (Ion Torrent). Преимущества и недостатки разных секвенирующих платформ.

9. Основные достижения молекулярной биологии к началу 70-х годов 20-го века и предпосылки возникновения генетической инженерии.

Фундаментальные представления о структуре и функциях нуклеиновых кислот. Достижения энзимологии генетических процессов, молекулярной генетики бактерий и бактериофагов, химического синтеза нуклеиновых кислот как основа первых исследований в области создания рекомбинантных молекул ДНК. Первые успехи генетической инженерии. Проблемы безопасности при создании рекомбинантных микроорганизмов и ответственности ученых. Принципы Асилмарской конференции. Коммерциализация результатов генетической инженерии, патентная защита новых векторов, штаммов и способов получения рекомбинантных продуктов.

10. Основы генетической инженерии растений

Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*. T-ДНК – как природные векторы.

Трансформация растительных клеток. Получение трансгенных растений. Ri-плазмиды. Вирусные векторы для генетической инженерии растений. Примеры практического использования генетической инженерии в сельском хозяйстве. Проблема генетически модифицированных организмов и их безопасности.

11. Основы генетической инженерии стволовых клеток.

Получение эмбриональных стволовых клеток мыши и их использование для получения трансгенных мышей. Направленное встраивание генов в геном (гомологичная рекомбинация). Позитивно-негативная селекция. Рекомбиназы и их использование для генетических манипуляций. Рекомбиназа Cre и loxP-сайты. Рекомбиназа FLP и FRT-сайты. Нокаут (knock out и knock in) генов. Индуцированные стволовые клетки. Прямое репрограммирование дифференцированных клеток. Перспективы использования в регенеративной медицине.

12. РНК-интерференция

РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК (siRNA). Механизм образования siRNA. Подавление экспрессии генов с помощью РНК-интерференции (нокаун генов). Другие малые РНК и их роль в регуляции экспрессии генов. Векторы для РНК-интерференции. Особенности РНК-интерференции у разных организмов (растения, беспозвоночные животные, млекопитающие).

13. Ферменты обмена нуклеиновых кислот, используемые в генетической инженерии.

Рестриктазы и метилазы. Явление ограничения круга хозяев. Номенклатура рестриктаз. Рестриктазы I, II и III типа. Участки узнавания и расщепления рестриктаз. Изоизомеры.

ДНК лигазы. ДНК лигаза фага T4. Сшивание липких и тупых концов фрагментов ДНК. Синтетические олигонуклеотиды (линкеры, адапторы). РНК лигаза.

Терминальная нуклеотидилтрансфераза. Использование для клонирования ДНК (коннекторный метод).

Фосфатазы, полинуклеотидкиназа фага T4. Введение метки в 5'-концы фрагментов ДНК.

ДНК полимеразы. Свойства ДНК полимераз. 3',5'- и 5',3'-экзонуклеазные и полимеразная активности. ДНК полимеразы I *E.coli*. Фрагмент Кленова. ДНК полимеразы фагов T4 и T7. Использование полимераз для введения метки в ДНК (nick-трансляция, мультипраймерное мечение, введение метки в 3'-концы фрагментов ДНК. Термостабильные ДНК полимеразы.

Обратные транскриптазы (ревертазы). Синтез кДНК. Получение клонотек кДНК.

РНК полимеразы. Транскрипция *in vitro*. Получение комплементарных РНК (кРНК).

Секвенирование ДНК. Химический метод Максама-Гильберта. Энзиматический метод Сэнгера. Автоматическое секвенирование ДНК. Пиросеквенирование. Полимеразная цепная реакция. Общие принципы. Некоторые приложения ПЦР для решения фундаментальных и прикладных задач.

14. Экспрессия чужеродных генов в бактериях. Получение и очистка рекомбинантных белков.

Особенности экспрессии генов у про- и эукариот. Синтез гибридных (слитых) белков в бактериях. Белки-носители (бета-галактозидаза, глутатион-S-трансфераза, мальтозосвязывающий белок). Олигогистидиновые блоки. Методы аффинной очистки гибридных белков. Специфическое расщепление гибридных белков. Бифункциональные белки (иммунотоксины и др.). Прямая экспрессия чужеродных генов в бактериях. Кассеты экспрессии и их основные элементы. Методы оптимизации экспрессии. Промоторы фага T7 и РНК полимеразы фага T7 (векторы семейства pET). Специализированные штаммы для сверхпродукции белков. Тельца включения. Белки-шапероны.

Секреция белков. Представление о механизмах секреции. Векторы, обеспечивающие синтез и секрецию.

5. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

Учебная аудитория, оснащенная компьютером и мультимедийным оборудованием (проектор, звуковая система).

6. Перечень рекомендуемой литературы

Основная литература

Базовая кафедра имеет в наличии данную литературу

1. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. 2-е изд. С.-Пб., Изд-во СПбГТУ, 2002.
2. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Новосибирск. Сибирское университетское изд-во. 2004 г.
3. J.D.Watson, A.A.Caudy, R.M.Myers, J.A.Witkowski. Recombinant DNA. Genes and genomes – a short course. W.H.Freeman and Co., Cold Spring Harbor Lab. Press, 2007.
4. Свирдлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома: в 3 т. - М.: Наука. Т.1: Очерки структурной молекулярной генетики. 2009 г.

Дополнительная литература

Базовая кафедра имеет в наличии данную литературу

1. Анализ генома. Методы. Под ред. К.Дейвиса. М.: Мир, 1990.
2. Клонирование ДНК. Методы. Под ред. Д.Гловера. М.: Мир, 1988.
3. Новое в клонировании ДНК. Методы. Под ред. Д.Гловера. М.: Мир, 1989.
4. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984.
5. Альбертс Д. и др. «Молекулярная биология клетки», М: Мир, 1994.
6. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. (в двух томах). М., «Мир», 1998 г.

7. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети "Интернет", необходимых для освоения дисциплины (модуля)

Информационные ресурсы: Научные журналы (Молекулярная биология, Биохимия, Acta Naturae, и др.), доступные через Internet научные журналы: <http://scitation.aip.org/>, <http://www.sciencemag.org/>, электронные конспекты лекций и презентации, разработанные для данного курса.

Доступные через Internet базы данных и биоинформатические программы: Pubmed – NCBI, OMIM – NCBI, UCSC Genome Browser и др.

8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине (модулю), включая перечень необходимого программного обеспечения и информационных справочных систем (при необходимости)

Для части занятий потребуется Zoom. Google Drive для доступа к материалам курса.

Приветствуется наличие во время занятий смартфонов/ноутбуков для участия в интерактивных упражнениях.

9. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины (модуля)

Студент, прослушавший курс, должен с одной стороны, овладеть теоретическим аппаратом квантовой химии, а с другой стороны, должен научиться применять полученные знания на практике. Успешное освоение курса требует самостоятельной работы студента. В программе курса для самостоятельной работы студента над темой отводится минимальное время.

Самостоятельная работа включает в себя:

- проработку учебного материала (по конспектам лекций, учебной и научной литературе),
- чтение и конспектирование дополнительной литературы,
- подготовку ответов на вопросы, предназначенных для самостоятельного изучения,
- решение задач, предлагаемых студентам на лекциях,
- подготовку к экзамену.

Руководство и контроль самостоятельной работы студента осуществляется в форме индивидуальных консультаций. Показателем владения материалом служит умение решать задачи. Для формирования умения применять теоретические знания на практике студенту необходимо решать как можно больше задач. При решении задач каждое действие необходимо аргументировать, ссылаясь на рассмотренный ранее теоретический аппарат.

Обычно придерживаются следующей схемы: изучение материала лекции по конспекту в тот же день, когда была прослушана лекция (10-15 минут); повторение материала накануне следующей лекции (10-15 минут), проработка учебного материала по конспектам лекций, учебной и научной литературе, подготовка ответов на вопросы, решение задач (1 час).

Важно добиться понимания изучаемого материала, а не механического его запоминания. При затруднении изучения отдельных тем, вопросов, следует обращаться за консультациями к лектору. Обязательным требованием является выполнение домашних работ, которые систематически сдаются на проверку.

ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (МОДУЛЮ)

по направлению:	Прикладные математика и физика
профиль подготовки:	Биоинженерия и биоинформатика Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики кафедра молекулярной и клеточной биологии
курс:	1
квалификация:	магистр
Семестр, формы промежуточной аттестации: 1 (осенний) - Экзамен	
Разработчик:	П.М. Рубцов, д-р биол. наук, профессор

1. Компетенции, формируемые в процессе изучения дисциплины

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ОПК-3 Способен выбирать и (или) разрабатывать подходы к решению типовых и новых задач в области профессиональной деятельности, учитывая особенности и ограничения различных методов решения	ОПК-3.1 Способен анализировать задачу, планировать пути решения, предлагать и комбинировать способы решения
	ОПК-3.2 Способен использовать исследовательские методы при решении новых задач, применяя знания в различных областях науки (техники)
	ОПК-3.3 Владеет аналитическими и вычислительными методами решения, понимает и учитывает на практике границы применимости получаемых решений
ПК-1 Способен ставить, формализовывать и решать задачи, в том числе разрабатывать и исследовать математические модели изучаемых явлений и процессов, системно анализировать научные проблемы, получать новые научные результаты	ПК-1.1 Способен находить, анализировать и обобщать информацию об актуальных результатах исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
ПК-2 Способен самостоятельно или в качестве члена (руководителя) малого коллектива организовывать и проводить научные исследования и их апробацию	ПК-2.1 Способен планировать и проводить научные исследования самостоятельно или в составе научного коллектива
	ПК-2.2 Способен проводить апробацию результатов научно-исследовательской работы посредством публикации научных статей и участия в конференциях
ПК-3 Способен профессионально работать с исследовательским и испытательным оборудованием (приборами и установками, специализированными пакетами прикладных программ) в избранной предметной области	ПК-3.1 Понимает принципы работы используемого оборудования (специализированных пакетов прикладных программ)

2. Показатели оценивания компетенций

В результате изучения дисциплины «Генная инженерия и методы молекулярной биологии» обучающийся должен:

знать:

- лексический минимум в объеме, необходимом для профессиональных устных и письменных коммуникаций и работы с информацией в области генетической инженерии;
- место и роль принципов и методов генетической инженерии в современных исследованиях физико-химических основ живых систем;
- особенности биологической формы организации материи, принципы воспроизводства и развития живых систем;
- современные представления об общности механизмов хранения, воспроизводства и передачи генетической информации у разных групп про- и эукариотических организмов;
- особенности организации генов и геномов в разных таксономических группах (бактерии, дрожжи, высшие растения, животные);
- перспективы использования достижений генетической инженерии в биомедицине;
- проблемы безопасности научных исследований в области генетической инженерии и практического использования генетически модифицированных организмов.

уметь:

- эффективно использовать в научных исследованиях теоретические положения и арсенал методов генетической инженерии и молекулярной биологии;
- планировать эксперименты по созданию рекомбинантных молекул ДНК и переносу генов в модельные организмы;
- анализировать, систематизировать и обобщать результаты собственных научных исследований с использованием методов генетической инженерии и молекулярной биологии и литературные данные.

владеть:

- методологией выбора адекватных методов генетической инженерии для исследований в области молекулярной и физико-химической биологии;
- планированием, постановкой и обработкой результатов экспериментов с использованием арсенала методов генетической инженерии;
- навыками научного поиска и использования информационных источников (научная литература, базы данных, компьютерные программы и другие Интернет-ресурсы) для аналитического поиска в области исследований с использованием арсенала методов генетической инженерии.

3. Перечень типовых (примерных) вопросов, заданий, тем для подготовки к текущему контролю

Во время текущего контроля студент должен уметь ответить на следующие вопросы:

- 1) Рестриктазы и метилазы, явление ограничения круга хозяев, номенклатура рестриктаз, Рестриктазы I, II и III типа. Участки узнавания и расщепления рестриктаз, изошизомеры.
- 2) ДНК лигазы. ДНК лигаза фага T4. ДНК лигаза E coli. Функции ДНК лигаз in vivo. Использование в генетической инженерии.
- 3) ДНК полимеразы. Свойства ДНК полимераз. Применение в генетической инженерии и исследованиях генов и геномов.
- 4) Термостабильные ДНК полимеразы. Полимеразная цепная реакция. Общие принципы и области применения.
- 5) Обратные транскриптазы (ревертазы). Синтез кДНК. Определение содержания мРНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.
- 6) Секвенирование ДНК. Химический метод Максама-Гильберта. Энзиматический метод Сэнгера.
- 7) Пиросеквенирование ДНК. Масштабное параллельное пиросеквенирование ДНК (454/Roche).
- 8) Секвенирование ДНК методом полимеразного копирования с использованием обратимого встраивания терминаторов (reversible terminator sequencing, Solexa/Illumina).
- 9) Секвенирование ДНК методом лигирования олигонуклеотидов на связанной с подложкой матрице (Supported Oligo Ligation Method, SOLiD/ABI).
- 10) Сравнение разных современных технологий высокопродуктивного секвенирования ДНК.
- 11) Плазмидные векторы для бактерий, принципы организации, основные функциональные элементы, сферы применения.
- 12) Бактериальные плазмиды, особенности организации, основные свойства.
- 13) Векторы на основе бактериофагов (фаг M13, фаг лямбда). Космидные векторы. PAC- и BAC-векторы. Принципы организации. Области применения. Преимущества и недостатки разных типов клонирующих векторов.
- 14) Экспрессия чужеродных генов в бактериях. Продукция рекомбинантных белков. Секреция белков. Принципы выделения и очистки рекомбинантных белков.
- 15) Основы генетической инженерии дрожжей. Основные типы дрожжевых векторов. Области их применения.
- 16) Основы генетической инженерии растений. Ti-плазмиды Agrobacterium tumefaciens. T-ДНК как природные векторы для переноса ДНК в геном растений. Векторы на основе фитовирусов. Получение трансгенных растений.
- 17) Ретровирусы. Организация генома, жизненный цикл и особенности репликации. Ретровирусные векторы. Лентивирусные векторы. Сравнение ретро- и лентивирусных векторов.
- 18) Выделение эмбриональных стволовых клеток мыши и их использование для получения трансгенных мышей. Направленное встраивание генов в геном. Позитивно-негативная селекция. Рекомбиназы и их использование для генетических манипуляций. Рекомбиназа Cre и loxP-сайты. Рекомбиназа FLP и FRT-сайты. Нокаут и нокин (knock-out и knock-in) генов.
- 19) Индуцированные стволовые клетки. Прямое репрограммирование дифференцированных клеток. Перспективы использования в регенеративной медицине.
- 20) Генная терапия. Векторы для генотерапии. Векторы на основе ретровирусов, лентивирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, вирусов герпеса.
- 21) РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК (siRNA). Механизм образования siRNA. Подавление экспрессии генов с помощью РНК-интерференции (нокдаун генов).

- 22) Перенос ДНК в клетки млекопитающих. Неспецифические методы введения ДНК (Са-фосфатная трансфекция, электропорация, баллистическая трансфекция, использование липосом, микроинъекции). ДНК-иммунизация. Селективные маркеры для клеток млекопитающих. Стабильная и транзистентная (временная) экспрессия генов в клетках млекопитающих. Репортерные гены.
- 23) Трансфекция клеток и анализ экспрессии генов. Клонотекы кДНК. Получение полноразмерных кДНК (5'- и 3'-RACE).
- 24) Методы изучения дифференциальной экспрессии генов. "Транскрипционные портреты" клеток SAGE - серийный анализ экспрессии генов. Полное секвенирование транскриптомов.
- 25) Вычитающая гибридизация как метод выявления дифференциально экспрессирующихся генов.
- 26) Количественный анализ экспрессии генов. Обратная транскрипция-ПЦР в режиме реального времени.
- 27) Структура хроматина и экспрессия генов. Анализ эпигенетической регуляции экспрессии генов. Метилирование ДНК. Модификации гистонов. Иммунопреципитация хроматина.
- 28) Секвенирование полного генома человека. Особенности организации геномов высших эукариот. Повторяющиеся и уникальные последовательности. Типы повторов. Ретроэлементы генома.
- 29) Полиморфизмы генома. Типы маркеров, используемые в генетических исследованиях геномов. Полногеномный поиск ассоциаций.
- 30) Полногеномное картирование структурных и функциональных элементов геномов. Программа 1000 геномов.

Во время занятий могут проходить интерактивные обсуждения в чатах курса, что будет являться домашним заданием. Возможно выполнение патентного поиска в качестве самостоятельной задачи. Успешное выполнение всех заданий по курсу и выполнение контрольных срезов знаний дает преимущество на экзамене.

4. Перечень типовых (примерных) вопросов и тем для проведения промежуточной аттестации обучающихся

- 1) Рестриктазы и метилазы, явление ограничения круга хозяев, номенклатура рестриктаз, Рестриктазы I, II и III типа. Участки узнавания и расщепления рестриктаз, изоизомеры.
- 2) ДНК лигазы. ДНК лигаза фага T4. ДНК лигаза E coli. Функции ДНК лигаз in vivo. Использование в генетической инженерии.
- 3) ДНК полимеразы. Свойства ДНК полимераз. Применение в генетической инженерии и исследованиях генов и геномов.
- 4) Термостабильные ДНК полимеразы. Полимеразная цепная реакция. Общие принципы и области применения.
- 5) Обратные транскриптазы (ревертазы). Синтез кДНК. Определение содержания мРНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.
- 6) Секвенирование ДНК. Химический метод Максама-Гильберта. Энзиматический метод Сэнгера.
- 7) Пиросеквенирование ДНК. Масштабное параллельное пиросеквенирование ДНК (454/Roche).
- 8) Секвенирование ДНК методом полимеразного копирования с использованием обратимого встраивания терминаторов (reversible terminator sequencing, Solexa/Illumina).
- 9) Секвенирование ДНК методом лигирования олигонуклеотидов на связанной с подложкой матрице (Supported Oligo Ligation Method, SOLiD/ABI).
- 10) Сравнение разных современных технологий высокопродуктивного секвенирования ДНК.
- 11) Плазмидные векторы для бактерий, принципы организации, основные функциональные элементы, сферы применения.
- 12) Бактериальные плазмиды, особенности организации, основные свойства.
- 13) Векторы на основе бактериофагов (фаг M13, фаг лямбда). Космидные векторы. PAC- и BAC-векторы. Принципы организации. Области применения. Преимущества и недостатки разных типов клонирующих векторов.
- 14) Экспрессия чужеродных генов в бактериях. Продукция рекомбинантных белков. Секреция белков. Принципы выделения и очистки рекомбинантных белков.

- 15) Основы генетической инженерии дрожжей. Основные типы дрожжевых векторов. Области их применения.
- 16) Основы генетической инженерии растений. Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*. T-ДНК как природные векторы для переноса ДНК в геном растений. Векторы на основе фитовирусов. Получение трансгенных растений.
- 17) Ретровирусы. Организация генома, жизненный цикл и особенности репликации. Ретровирусные векторы. Лентивирусные векторы. Сравнение ретро- и лентивирусных векторов.
- 18) Выделение эмбриональных стволовых клеток мыши и их использование для получения трансгенных мышей. Направленное встраивание генов в геном. Позитивно-негативная селекция. Рекомбиназы и их использование для генетических манипуляций. Рекомбиназа Cre и loxP-сайты. Рекомбиназа FLP и FRT-сайты. Нокаут и нокин (knock-out и knock-in) генов.
- 19) Индуцированные стволовые клетки. Прямое репрограммирование дифференцированных клеток. Перспективы использования в регенеративной медицине.
- 20) Генная терапия. Векторы для генотерапии. Векторы на основе ретровирусов, лентивирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, вирусов герпеса.
- 21) РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК (siRNA). Механизм образования siRNA. Подавление экспрессии генов с помощью РНК-интерференции (нокаун генов).
- 22) Перенос ДНК в клетки млекопитающих. Неспецифические методы введения ДНК (Са-фосфатная трансфекция, электропорация, баллистическая трансфекция, использование липосом, микроинъекции). ДНК-иммунизация. Селективные маркеры для клеток млекопитающих. Стабильная и транзистентная (временная) экспрессия генов в клетках млекопитающих. Репортерные гены.
- 23) Трансфекция клеток и анализ экспрессии генов. Клонотеки кДНК. Получение полноразмерных кДНК (5'- и 3'-RACE).
- 24) Методы изучения дифференциальной экспрессии генов. "Транскрипционные портреты" клеток SAGE - серийный анализ экспрессии генов. Полное секвенирование транскриптомов.
- 25) Вычитаящая гибридизация как метод выявления дифференциально экспрессирующихся генов.
- 26) Количественный анализ экспрессии генов. Обратная транскрипция-ПЦР в режиме реального времени.
- 27) Структура хроматина и экспрессия генов. Анализ эпигенетической регуляции экспрессии генов. Метилирование ДНК. Модификации гистонов. Иммунопреципитация хроматина.
- 28) Секвенирование полного генома человека. Особенности организации геномов высших эукариот. Повторяющиеся и уникальные последовательности. Типы повторов. Ретроэлементы генома.
- 29) Полиморфизмы генома. Типы маркеров, используемые в генетических исследованиях геномов. Полногеномный поиск ассоциаций.
- 30) Полногеномное картирование структурных и функциональных элементов геномов. Программа 1000 геномов.

Примеры билетов на экзамене:

Билет №1

Введение ДНК в соматические и половые клетки млекопитающих

Билет №2

Векторы для клонирования генов в бактериях на основе бактериофагов, космидные векторы, ВАС- и РАС-векторы.

Билет №3

Методы изучения экспрессии генов у эукариот

Критерии оценивания

Оценка отлично (10 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины, проявляющему интерес к данной предметной области, продемонстрировавшему умение уверенно и творчески применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (9 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (8 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, правильное обоснование принятых решений, с некоторыми недочетами.

Оценка хорошо (7 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но недостаточно грамотно обосновывает полученные результаты.

Оценка хорошо (6 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач некоторые неточности.

Оценка хорошо (5 баллов) - выставляется студенту, если он в основном знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач достаточно большое количество неточностей.

Оценка удовлетворительно (4 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, недостаточно правильные формулировки базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, но при этом он освоил основные разделы учебной программы, необходимые для дальнейшего обучения, и может применять полученные знания по образцу в стандартной ситуации.

Оценка удовлетворительно (3 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, допускающему ошибки в формулировках базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, слабо владеет основными разделами учебной программы, необходимыми для дальнейшего обучения и с трудом применяет полученные знания даже в стандартной ситуации.

Оценка неудовлетворительно (2 балла) - выставляется студенту, который не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубые ошибки в формулировках основных принципов и не умеет использовать полученные знания при решении типовых задач.

Оценка неудовлетворительно (1 балл) - выставляется студенту, который не знает основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубейшие ошибки в формулировках базовых понятий дисциплины и вообще не имеет навыков решения типовых практических задач.

5. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности

При проведении устного экзамена обучающемуся предоставляется 30 минут на подготовку. Опрос обучающегося по билету на устном экзамене не должен превышать одного астрономического часа.