

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

УТВЕРЖДЕНО

**Директор института nano-, био-,
информационных, когнитивных
и социогуманитарных наук и
технологий**

П.А. Форш

Рабочая программа дисциплины (модуля)

по дисциплине:	Белковая инженерия
по направлению:	Прикладные математика и физика
профиль подготовки:	Конвергентные nano-, био-, информационные и когнитивные технологии Физтех-школа природоподобных, плазменных и ядерных технологий им. И.В. Курчатова кафедра nano-, био-, информационных и когнитивных технологий
курс:	1
квалификация:	магистр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 2 (весенний) - Экзамен

Аудиторных часов: 60 всего, в том числе:

лекции: 30 час.

семинары: 30 час.

лабораторные занятия: 0 час.

Самостоятельная работа: 45 час.

Подготовка к экзамену: 30 час.

Всего часов: 135, всего зач. ед.: 3

Программу составил: И.В. Демидюк, канд. хим. наук, доцент, доцент

Программа обсуждена на заседании кафедры nano-, био-, информационных и когнитивных технологий
18.03.2020

Аннотация

Белковая инженерия — новая область молекулярной биологии и биотехнологии — возникла как синтетическая наука и вобрала в себя последние достижения генной инженерии, структурной биологии и компьютерных технологий. Как главную задачу белковая инженерия ставит направленное изменение структуры существующих белков для придания им новых уникальных или изменения существующих свойств.

1. Цели и задачи

Цель дисциплины

- приобретение студентами знаний об основных методических подходах, используемых при генетическом манипулировании, о молекулярных механизмах, лежащих в основе этих подходов и о возможности их применения для конструирования модифицированных белковых молекул.

Задачи дисциплины

- получение знаний о генетическом клонировании, функциональной организации различных векторов для генетического клонирования, конструировании векторов для экспрессии чужеродных генов в клетках микроорганизмов;
- получение знаний о конструировании и анализе генетических библиотек;
- получение знаний о биосинтезе и фолдинге белковых молекул, уровнях структурной организации белков, особенностях структурно-функциональной организации белков;
- освоение навыков работы со специальной литературой в предметной области.

2. Перечень формируемых компетенций

Освоение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций:

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ОПК-2 Имеет представление об актуальных проблемах науки и техники в области своей профессиональной деятельности, способен на научном языке формулировать профессиональные задачи	ОПК-2.1 Имеет представление о современном состоянии исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
	ОПК-2.2 Способен оценивать актуальность исследований в области своей профессиональной деятельности и их практическую значимость
	ОПК-2.3 Владеет профессиональной терминологией, используемой в современной научно-технической литературе, обладает навыками устного и письменного изложения результатов научной деятельности в рамках профессиональной коммуникации

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю)

В результате освоения дисциплины обучающиеся должны

знать:

- структурные особенности, основные функции и принципы функционирования белков и нуклеиновых кислот;
- физические явления, лежащие в основе организации этих макромолекул;
- основные методы исследования белков и нуклеиновых кислот;
- методы конструирования рекомбинантных молекул ДНК;
- принципы получения рекомбинантных белков.

уметь:

- проводить поиск и анализ научно-технической информации по заданной тематике в области исследований белков и нуклеиновых кислот;
- использовать фундаментальных знания в области молекулярной биологии для решения практических задач связанных с получением и модификацией белков.

владеть:

- специальной терминологией в области белковой инженерии;
- методами обработки, анализа и систематизации научно-технической информации.

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	Методы очистки и анализа белков.	8	6		9
2	Основы генетического конструирования.	8	8		6
3	Основы молекулярной биологии.	6	8		15
4	Структурно-функциональная организация белковых молекул.	8	8		15
Итого часов		30	30		45
Подготовка к экзамену		30 час.			
Общая трудоёмкость		135 час., 3 зач.ед.			

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

Семестр: 2 (Весенний)

1. Методы очистки и анализа белков.

Методы гомогенизации биологических материалов. Центрифугирование. Основы теории седиментации. Дифференциальное центрифугирование. Зонально-скоростное центрифугирование. Равновесное (изопикническое) центрифугирование. Разделение осаждением. Изoeлектрическое осаждение, высаливание, осаждение органическими растворителями. Диализ и ультрафильтрация. Хроматографические методы разделения веществ. Общее представление о хроматографии. Основные понятия и основы теории хроматографии. Удерживание. Разрешение. Понятие о теоретической тарелке. Классификация хроматографических методов. Особенности разделения белков. Материалы матриц сорбентов и обменников. Методы хроматографии. Адсорбционная хроматография. Распределительная хроматография. Обратная-фазовая хроматография. Ионообменная хроматография. Гель-проникающая хроматография. Аффинная хроматография. Оборудование для хроматографии. Особенности препаративной и аналитической хроматографии. Электромиграционные методы разделения веществ. Классификация электромиграционных методов разделения. Электрофорез в агарозном геле. Электрофорез в полиакриламидном геле. Стационарный электрофорез. Изoeлектрическое фокусирование. Изоэлектрофорез. Капиллярный электрофорез. Электрофорез белков. Электрофоретические свойства белков. Диск-электрофорез. Разделение белков с использованием Na-DС. Определение молекулярной массы белков с использованием электрофореза. Обнаружение белков на электрофореграммах. Окрашивание. Обнаружение по ферментативной активности. Вестерн-блоттинг. Электрофорез нуклеиновых кислот. Электрофоретические свойства нуклеиновых кислот. Электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном и полиакриламидном гелях. Пульсфорез. Электрофорез в денатурирующих условиях. Обнаружение нуклеиновых кислот после электрофореза. Источники питания для электрофореза. Саузерн- и нозерн-блоттинг.

2. Основы генетического конструирования.

Конструирование библиотек генов. Векторы для клонирования генов. Амплификация фрагментов ДНК с использованием цепной полимеразной реакции (ПЦР). Определение нуклеотидной последовательности ДНК. Направленный мутагенез последовательности ДНК. Принципы скрининга библиотек генов. Регуляция активности генов. Регуляция активности генов на уровне транскрипции. Функционирование лактозного оперона. Регуляция транскрипции генов на уровне трансляции. Функционирование триптофанового оперона. Векторы для экспрессии чужеродных генов. Их структура и использование. Выбор промоторов для экспрессионных векторов. Инициация трансляции у прокариот. Конструирование RBS при создании векторов экспрессионных векторов. Сопряжение процессов транскрипции и трансляции у прокариот. Структура генов эукариот. Их модификация для экспрессии в клетках прокариот. Механизмы секреции белков. Строение и функции сигнальных пептидов. Основные этапы конструирования генно-инженерных продуцентов. Микроорганизмы, используемые для создания генно-инженерных продуцентов. Посттрансляционные модификации белков. Причины неидентичности природных белков и их генно-инженерных аналогов. Деградация чужеродных и аномальных белков микробными клетками. Стабильность чужеродных белков в микробных клетках.

3. Основы молекулярной биологии.

Структура нуклеиновых кислот. Первичная структура НК. Структура рибо- и дезоксирибонуклеотидов. Спиральная структура ДНК. Уотсон-Криковские пары. В-форма ДНК. Альтернативные формы двойной спирали ДНК. А-форма, Z-форма, другие альтернативные формы НК. Пары Хугстина и другие возможности взаимодействия нуклеиновых оснований. Кольцевая и линейная ДНК. Суперспирализация ДНК. Упаковка ДНК в хромосомах. РНК. Типы РНК и их распространённость. Структура РНК.

Репликация ДНК. Общая схема репликации ДНК. ДНК-полимеразы. Типы ДНК-полимераз, активности ДНК-полимераз, инициация синтеза ДНК, ДНК-полимеразы про- и эукариот. ДНК-лигазы. Раскручивание двойной спирали ДНК при репликации. ДНК-геликазы, Белки, дестабилизирующие спираль. Топологические проблемы раскручивания и репликации ДНК. ДНК-топоизомеразы: топоизомеразы типа I, топоизомеразы типа II, гираза. Точки начала репликации. Инициация образования новых цепей ДНК. Репликация ДНК – усовершенствованная модель. Репликация по типу катящегося кольца. Поочередная репликация цепей. Терминация репликации. Терминация и расхождение ДНК в кольцевых геномах. Терминация и завершение репликации линейных ДНК. Теломерная ДНК и теломераза.

Репликация РНК. Репликация РНК с образованием ДНК. Репликация геномов ретровирусов. Обратная транскриптаза. Репликация некоторых ДНК-содержащих вирусов с использованием обратной транскрипции. Репликация РНК с образованием РНК.

Транскрипция. Синтез РНК на ДНК-матрице. ДНК-зависимые РНК-полимеразы. Инициация транскрипции. Терминация транскрипции и отделение цепей РНК. Процессинг РНК у прокариот. Группы генов, кодирующих рРНК и тРНК. Разрезание рРНК–тРНК-котранскриптов. Образование зрелых тРНК из более крупных транскриптов.

Трансляция. Генетический код. Основные особенности структуры тРНК. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Строение рибосом. Трансляция мРНК у прокариот. Условия инициации трансляции. Элонгация полипептидной цепи. Терминация элонгации полипептидной цепи. Трансляция мРНК у эукариот. Особые модификации мРНК эукариот. Инициация трансляции на 5'-кэпированных концах малыми рибосомными субчастицами. Элонгация и терминация полипептидной цепи.

4. Структурно-функциональная организация белковых молекул.

Структурная организация белков. Уровни структурной организации белков. Аминокислоты как блоки белковой структуры. Структура пептидной связи. Карта Рамачандрана. Вторичные структуры в белках. Мотивы в белках. Третичные структуры в белках. Домены в белках. Структурно-функциональная организация белковых молекул. Механизмы фолдинга белковых молекул. Шаперон-зависимый и про-зависимый фолдинг. Способы стабилизации белковых молекул. Деградация белков.

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

1. Основы биохимии Ленинджера [Текст] : в 3 т. = *Leninger Principles of Biochemistry* : [учеб. пособие для вузов] / Д. Нельсон, М. Кокс ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой [и др.] ; под ред. А. А. Богданова, С. Н. Кочеткова. — М. : БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. — (Лучший зарубежный учебник). — Т.2 : Биоэнергетика и метаболизм. - 2012. - 636 с.
2. Гены [Текст] = *Genes IX* : [учебник для вузов] / Б. Льюин ; пер. с 9-го англ. изд. И. А. Кофиади [и др.] ; под ред. Д. В. Ребрикова. — М. : БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. — 896 с.
3. Молекулярная биология. Структура и функции белков [Текст] : учебник для вузов / В. М. Степанов ; под ред. А. С. Спирина. — М. : Высшая школа, 1996. — 335 с.
4. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии [Текст] = *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology* : [учебное пособие для студ. вузов] / ред. К. Уилсон. Дж. Уолкер ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой, Е. Ю. Бозелек-Решетняк под ред. А. В. Левашова, В. И. Тишкова. — М. : Бином. Лаборатория знаний, 2013. — 848 с.

Фонд литературы кафедры

5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. — М.: Мир, 1998.
6. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. — Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2006.
7. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. — М.: КД Университет, 2002.
8. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. — М.: МЦНМО, 2002.
9. Скоупс Р. Методы очистки белков. — М.: Мир, 1985.

Дополнительная литература

1. Молекулярная биология клетки [Текст] : в 3 т. = *Molecular Biology of the Cell* : [учеб. пособие для вузов] / Б. Албертс [и др.] .— 2-е изд., перераб. и доп. — М. : Мир, 1994. — Т. 1 / пер. с англ. Т. Н. Власик [и др.] ; под ред. Г. П. Георгиева, Ю. С. Ченцова. - 1994. - 517 с.

Фонд литературы кафедры

2. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. — М.: Наука, 1985.
3. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. — М.: Мир, 2002.
4. Гааль Э. и др. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. — М.: Мир, 1982.
5. Кларк Д., Рассел Л. Молекулярная биология: простой и занимательный подход. — М.: ЗАО «Компания КОНД», 2004.
6. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. — М.: Наука, 2000.
7. Льюин Б., Кассимерис Л., Лингаппа В.Р., Плоппер Д. Клетки. — М: Бином, 2011.
8. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / под ред. А.С. Спирина. — М.: Высшая Школа, 1990.
9. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. — М.: Наука, 1981.

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

1. www.molbiol.ru — учебники, научные монографии, обзоры, лабораторные практикумы в свободном доступе на сайте практической молекулярной биологии.
2. <http://humbio.ru> — база знаний по биологии человека.
3. <http://www.edu.ru> — федеральный портал «Российское образование».
4. <http://benran.ru> —библиотека по естественным наукам Российской академии наук.
5. www.ncbi.nlm.nih.gov — свободный доступ к биоинформатическим ресурсам Национального центра биотехнологической информации США, включая крупнейшую базу научных данных в области биомедицинских наук MedLine.

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

Microsoft Office (PowerPoint), SnapGene Viewer, BioEdit, PyMOL.

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

Для успешного освоения курса, помимо посещения лекций и семинаров, от студентов требуется самостоятельная работа в объеме не менее чем те часы, которые указаны для каждого раздела программы. В основном, это время отводится на проработку материала лекций и подготовку к семинарским занятиям.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (МОДУЛЮ)

по направлению:	Прикладные математика и физика
профиль подготовки:	Конвергентные нано-, био-, информационные и когнитивные технологии Физтех-школа природоподобных, плазменных и ядерных технологий им. И.В. Курчатова кафедра нано, био, информационных и когнитивных технологий
курс:	1
квалификация:	магистр
Семестр, формы промежуточной аттестации: 2 (весенний) - Экзамен	
Разработчик:	И.В. Демидюк, канд. хим. наук, доцент, доцент

1. Компетенции, формируемые в процессе изучения дисциплины

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
ОПК-2 Имеет представление об актуальных проблемах науки и техники в области своей профессиональной деятельности, способен на научном языке формулировать профессиональные задачи	ОПК-2.1 Имеет представление о современном состоянии исследований в рамках тематической области своей профессиональной деятельности
	ОПК-2.2 Способен оценивать актуальность исследований в области своей профессиональной деятельности и их практическую значимость
	ОПК-2.3 Владеет профессиональной терминологией, используемой в современной научно-технической литературе, обладает навыками устного и письменного изложения результатов научной деятельности в рамках профессиональной коммуникации

2. Показатели оценивания компетенций

В результате изучения дисциплины «Белковая инженерия» обучающийся должен:

знать:

- структурные особенности, основные функции и принципы функционирования белков и нуклеиновых кислот;
- физические явления, лежащие в основе организации этих макромолекул;
- основные методы исследования белков и нуклеиновых кислот;
- методы конструирования рекомбинантных молекул ДНК;
- принципы получения рекомбинантных белков.

уметь:

- проводить поиск и анализ научно-технической информации по заданной тематике в области исследований белков и нуклеиновых кислот;
- использовать фундаментальных знания в области молекулярной биологии для решения практических задач связанных с получением и модификацией белков.

владеть:

- специальной терминологией в области белковой инженерии;
- методами обработки, анализа и систематизации научно-технической информации.

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

В целях текущего контроля успеваемости предусмотрен краткий опрос по темам предыдущих занятий по теме прошлой лекции или в конце занятия по пройденной теме.

3. Перечень типовых контрольных заданий, используемых для оценки знаний, умений, навыков

Промежуточная аттестация по дисциплине «Белковая инженерия» осуществляется в форме экзамена. Экзамен проводится в устной форме.

Перечень контрольных вопросов

1. Конструирование библиотек генов.
2. Вектора для клонирования генов.
3. Амплификация фрагментов ДНК с использованием полимеразной цепной реакции.
4. Направленный мутагенез последовательности ДНК.
5. Принципы скрининга библиотек генов.
6. Регуляция активности генов на уровне транскрипции.
7. Функционирование лактозного оперона.
8. Регуляция транскрипции генов на уровне трансляции.
9. Функционирование триптофанового оперона
10. Вектора для экспрессии чужеродных генов. Их структура и использование.
11. Выбор промоторов для экспрессионных векторов.
12. Инициация трансляции у прокариот.
13. Конструирование RBS при создании векторов экспрессии.
14. Причины неидентичности природных белков и их генно-инженерных аналогов.
15. Уровни структурной организации белков.
16. Аминокислоты как блоки белковой структуры.
17. Структура пептидной связи.
18. Карта Рамачандрана.
19. Вторичные структуры в белках.
20. Мотивы в белках.
21. Третичные структуры в белках.
22. Домены в белках.
23. Принципы очистки белков.
24. Центрифугирование.
25. Диализ и ультрафильтрация.
26. Хроматографические методы разделения веществ.
27. Ионообменная хроматография.
28. Гельпроникающая хроматография.
29. Аффинная хроматография.
30. Электромигационные методы разделения веществ.
31. Изоэлектрическое фокусирование.
32. Изотахофорез.
33. Диск-электрофорез.
34. Разделение белков с использованием Na-ДС.
35. Электрофорез нуклеиновых кислот.

Примеры экзаменационных билетов

Билет 1.

1. Конструирование библиотек генов.
2. Аминокислоты как блоки белковой структуры.
3. Ионообменная хроматография.

Билет 2.

1. Вектора для клонирования генов.
2. Структура пептидной связи.
3. Принципы очистки белков.

Билет 3.

1. Диск-электрофорез.
2. Карта Рамачандрана.
3. Гельпроникающая хроматография.

4. Критерии оценивания

Оценка	Баллы	Критерии
отлично	10	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.
	9	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.
	8	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.
хорошо	7	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.
	6	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.
	5	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.

удовлетворительно	4	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.
	3	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.
неудовлетворительно	2	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.
	1	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 45 минут на подготовку. Опрос обучающегося по билету на устном экзамене не должен превышать двух астрономических часов.

Во время проведения экзамена обучающиеся могут пользоваться программой дисциплины, а также любой справочной литературой.