

Белорусский государственный университет



« 30 » декабря 2015 г.

Регистрационный № УД - 1448 /уч.

Генная инженерия

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине для специальностей:

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология);

1-31 01 03 Микробиология

2015 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013, ОСВО 1-31 01 03-2013, типовой учебной программы ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ. № ТД-Г. 531/тип. 2015 г. и учебных планов УВО №G31-129/уч. 2013 г., №G31-131/уч. 2013 г., №G31з-156/уч.

СОСТАВИТЕЛИ:

Анатолий Николаевич Евтушенко, заведующий кафедрой молекулярной биологии Белорусского государственного университета, доктор биологических наук, профессор;

Александр Вячеславович Качан, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой молекулярной биологии Белорусского государственного университета (протокол № 7 от 15 октября 2015 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 2 от 11 ноября 2015 г.)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Генная инженерия» относится к дисциплинам государственного компонента цикла специальных дисциплин учебных планов по специальностям 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология), 1-31 01 03 Микробиология.

Генная инженерия – технология получения новых комбинаций генетического материала, с помощью проводимых *in vitro* манипуляций с молекулами нуклеиновых кислот и переноса созданных конструкций генов в реципиентный организм.

Методы генной инженерии успешно применяются для решения фундаментальных проблем биологии. С возникновением данной области биологической науки у исследователей появилась возможность изучать структуру, функционирование и регуляцию индивидуальных генов прокариотических и эукариотических организмов, а также целенаправленно проводить изменение их геномов.

Генная инженерия дала толчок зарождению нового направления биотехнологии – молекулярной биотехнологии. Технологии рекомбинантных ДНК позволили осуществлять конструирование штаммов-суперпродуцентов ферментов, антибиотиков, витаминов и других биомолекул, использующихся в пищевой и фармацевтической промышленности, для нужд сельского хозяйства, при проведении мероприятий по охране окружающей среды. В медицине методы генной инженерии получили применение для создания новых способов диагностики и лечения различных заболеваний, в том числе наследственных. Таким образом, генная инженерия является важным звеном в подготовке современных специалистов-биотехнологов и микробиологов.

Цель учебной дисциплины – сформировать у студентов теоретическое представление об основных методах генной инженерии и дать элементарные навыки постановки генно-инженерного эксперимента в ходе лабораторных занятий.

Задачи учебной дисциплины:

- 1) познакомить студентов с основными ферментами, векторами, используемыми в качестве инструментов генной инженерии;
- 2) дать представление об основных методах и аппаратуре, применяемых для постановки генно-инженерных экспериментов;
- 3) научить студентов анализировать современные данные об использовании методов генной инженерии для создания трансгенных растений и животных с полезными свойствами.

Для успешного овладения учебной дисциплиной необходимы начальные знания по курсам «Цитология и гистология», «Генетика», «Биохимия» либо «Структурная биохимия», «Микробиология» и др.

В результате изучения учебной дисциплины студент должен:

знать:

- основные методы создания банков генов и их использование для клонирования отдельных генов и анализа геномных последовательностей;
- методы анализа, идентификации генов и их продуктов;

- принципы создания эффективных конструкций для экспрессии генов;
- цели и методы получения трансгенных животных и растений;

уметь:

- выделять плазмидную и геномную ДНК;
- ставить реакции рестрикции и лигирования;
- проводить электрофоретический анализ ДНК;
- трансформировать клетки бактерий;
- отбирать рекомбинантные клоны;
- определять экспрессию генов;

владеть:

- методами анализа геномной и плазмидной ДНК создания гибридных молекул;
- специальной терминологией по генетической инженерии.

Изучение учебной дисциплины «Генная инженерия» должно обеспечить формирование у специалиста следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

ПК-1. Квалифицированно проводить научные исследования в области биохимии и молекулярной биологии, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, формулировать из полученных результатов корректные выводы.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, разрабатывать новые методические подходы.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, рефераты, доклады и материалы к презентациям.

ПК-5. Составлять и вести документацию по научным проектам исследований.

ПК-6. Квалифицированно проводить научно-производственные исследования, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, давать рекомендации по практическому применению полученных результатов.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

ПК-8. Организовывать работу по подготовке научных статей, заявок на изобретения и лично участвовать в ней.

ПК-9. Проводить патентную работу, составлять патентные заявки.

ПК-10. Организовывать работу по обоснованию целесообразности научных проектов и исследований.

ПК-11. Составлять и вести документацию по научно-производственной деятельности.

ПК-12. Использовать специальную аппаратуру, оборудование, приборы и технические средства для осуществления производственной деятельности.

ПК-13. Обеспечивать технологическую эксплуатацию микробиологического производства.

ПК-14. Разрабатывать планы мероприятий повышения эффективности и экологической безопасности микробиологического производства.

ПК-18. Владеть информацией о производствах, основанных на использовании микробиологических объектов в Республике Беларусь, странах ближнего и дальнего зарубежья, и использовать ее в производственной деятельности.

В соответствии с учебным планом для направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) изучение учебной дисциплины осуществляется в 6 семестре. В соответствии с учебным планом специальности 1-31 01 03 Микробиология изучение учебной дисциплины осуществляется в 7 семестре. Программа учебной дисциплины рассчитана на 120 часов, в том числе 40 часов аудиторных: 20 - лекционных, 16 - лабораторных занятий, 4 - аудиторного контроля управляемой самостоятельной работы. Форма аттестации – экзамен.

В соответствии с учебным планом заочной формы получения образования изучение учебной дисциплины осуществляется в 8-9 семестрах. Программа учебной дисциплины рассчитана на 120 часов, в том числе 12 часов аудиторных: 10 - лекционных, 2 – практических занятий. Форма аттестации – экзамен.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. ВВЕДЕНИЕ

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

II. ФЕРМЕНТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИХ ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ

Рестрицирующие эндонуклеазы I, II и III классов. Особенности ферментов рестрикции II класса. Другие ферменты нуклеазного действия (S1-нуклеаза, *Bal31*- нуклеаза, нуклеаза из микрококка, ДНК-аза 1). Экзонуклеазы. Экзонуклеазы, действующие на одноцепочечные ДНК. Экзонуклеазы, действующие на двухцепочечные ДНК (3'-5' и 5'-3'). Рибонуклеазы.

Полимеразы. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-зависимые РНК-полимеразы. ДНК-независимые РНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-лигазы.

Фосфатазы и киназы.

III. ВЕКТОРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИХ ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Векторы на основе репликонов бактериальных плазмид (pBR322, PUC18). Векторы на основе бактериофагов (M13, λ). Векторы на основе вирусов животных. Векторы на основе Ti- плазмид.

IV. СОЗДАНИЕ И СКРИНИНГ БИБЛИОТЕК ГЕНОВ

Основные подходы к получению библиотек ДНК прокариотических и эукариотических организмов. Получение библиотеки ДНК с помощью вирусных или плазмидных векторов. Два типа библиотек ДНК используется для разных целей. Получение библиотек кДНК из отобранных популяций молекул мРНК.

Скрининг рекомбинантных ДНК библиотек. Выявления нужных клонов в геномной библиотеке путем гибридизации с радиоактивным ДНК-зондом. Выделение перекрывающихся клонов ДНК («прогулка по хромосоме») с целью идентификации соседних генов. Идентификация клонов ДНК путем трансляции *in vitro*. Выделение и очистка рекомбинантных клонов.

Секвенирование ДНК. Методы секвенирования ДНК. Использование нерадиоактивных меток при секвенировании. Конструирование делеций для секвенирования. Приготовление матриц для секвенирования ДНК. Компьютерный анализ ДНК и кодируемых белков. Использование для анализа баз данных ДНК и белковых последовательностей (GenBank, EMBL, FASTA, PIR и т.п.)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Амплификация ДНК с помощью ПЦР. Амплификация РНК с помощью ПЦР. Молекулярное клонирование ПЦР-продуктов.

Мутагенез клонированной ДНК. Сайт-специфический мутагенез. Направленный мутагенез с помощью олигонуклеотидов. Мутагенез с использованием ПЦР.

V. ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ

Экспрессия белков в *E.coli*. Экспрессия белков с использованием T7 РНК-полимеразы и промоторов фагов. Экспрессия белков с использованием векторов с регулируемыми элементами фага лямбда. Продукция слитых белков с использованием специальных экспрессирующих векторов. Повышение эффективности систем экспрессии эукариотических белков в клетках *E.coli*.

Генно-инженерные системы для получения биологически активных веществ. Генно-инженерная система бактерий рода *Bacillus*. Генно-инженерные системы грам-положительных микроорганизмов родов *Streptomyces*, коринеформных бактерий.

Генно-инженерная система дрожжей *Saccharomyces*.

Системы экспрессии на основе бакуловирусов. Продукция больших количеств белков в клетках насекомых.

Системы для экспрессии белков в животных клетках. Векторы экспрессии на основе вирусов животных.

Анализ белков. Биосинтетическое мечение белков. Электрофоретический анализ белков. Иммуноблоттинг и иммунодетекция.

VI. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДОСТИЖЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Введение ДНК в клетки животных, растений, бактерий, дрожжей. Коструктирование линий клеток, суперпродуцирующей биологически активные вещества. Получение трансгенных растений и животных с полезными свойствами. Генная терапия болезней человека и животных, являющихся следствиями дефектов генетического аппарата и его функций.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ
(дневная форма получения образования)

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	Введение	2						
2	Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение	2			6			
3	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	4			6		2	Контрольная работа
4	Создание и скрининг библиотек генов	6			4			
5	Экспрессия белков	4					2	Контрольная работа
6	Перспективы использования достижений генетической инженерии	2						

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ
(заочная форма получения образования)

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	Введение. Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение	2						
2	Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики	2	2					Устный опрос
3	Создание и скрининг библиотек генов	2						
4	Экспрессия белков	2						
5	Перспективы использования достижений генетической инженерии	2						

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

О с н о в н а я:

1. *Глик Б.* Молекулярная биотехнология / Б. Глик, Дж. Пастернак. Принципы и применение. М.: Мир, 2002.
2. *Рыбчин В.Н.* Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. Санкт-Петербург: Издательство СПбГТУ, 2002.
3. *Щелкунов С.Н.* Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов. Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2004.

Д о п о л н и т е л ь н а я.

1. *Картель Н.А.* Биотехнология в растениеводстве / Н.А. Картель, А.В. Кильчевский. Минск: «Тэхналогія», 2005.
2. Сельскохозяйственная биотехнология: векторные системы молекулярного клонирования / М.: Агропромиздат, 1991.
3. Клонирование ДНК. Методы / Под ред. Д. Гловера. М.: Мир, 1988.
4. Новое в клонировании ДНК. Методы / Под ред. Д. Гловера. М.: Мир, 1989.
5. Short Protocols in Molecular biology (Third Edition) / Ed. F.M. Ausubel et al., Wiley @Sons/Inc, 1995

ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

1. Контрольная работа по разделам «Ферменты, используемые в генной инженерии, их основные свойства и применение» и «Векторы, используемые в генетической инженерии, их основные характеристики».
2. Контрольная работа по разделам «Создание и скрининг библиотек генов» и «Экспрессия белков».

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (учебно-программные материалы, учебное издание для теоретического изучения дисциплины, методические указания к лабораторным занятиям, материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика

рефератов и др., список рекомендуемой литературы, информационных ресурсов и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов проверяется в ходе текущего и итогового контроля знаний. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

В качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован экзамен.

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- проведение коллоквиума;
- устные опросы;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса;
- компьютерное тестирование.

ПЕРЕЧНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

Дневная форма получения высшего образования

1. Выделение и очистка плазмидной ДНК (4 ч).
2. Выделение и очистка хромосомной ДНК (4 ч).
3. Электрофорез ДНК в агарозном геле (4 ч).
4. Кальциевая трансформация клеток *Escherichia coli* плазмидной ДНК (4 ч).

ПЕРЕЧНИ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

Заочная форма получения высшего образования

1. Электрофорез ДНК в агарозном геле (2 ч).

МЕТОДИКА ФОРМИРОВАНИЯ ИТОГОВОЙ ОЦЕНКИ

Итоговая оценка (минимум 4, максимум 10 баллов) определяется по формуле:

$$\text{Итоговая оценка} = A \times 0,3 + B \times 0,7,$$

где A – средний балл по лабораторным занятиям и УСР,
 B – экзаменационный балл

Итоговая оценка выставляется только в случае успешной сдачи экзамена (4 балла и выше).

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола) ¹
Цитология и гистология	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой Н.П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 7 от 15 октября 2015 г.
Микробиология	Микробиологии	Отсутствуют Зав. кафедрой В.А. Прокулевич	Утвердить согласование протокол № 7 от 15 октября 2015 г.
Генетика	Генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой Н.П. Максимова	Утвердить согласование протокол № 7 от 15 октября 2015 г.
Биохимия	Биохимии	Отсутствуют Зав. кафедрой И.В. Семак	Утвердить согласование протокол № 7 от 15 октября 2015 г.
