УТВЕРЖДЕНА
приказом
генерального директора
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора
от 01.03.2024 № 112-од

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ «ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ»

Группа научных специальностей: 1.5 Биологические науки

Научная специальность: 1.5.3. Молекулярная биология
1.5.6. Биотехнология
1.5.10. Вирусология

Кольцово 2024

Составитель рабочей программы:
младший научный сотрудник
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора, преподаватель Кисаков Д.Н.

Согласовано:

Заведующий отделом аспирантуры Кульпонович Е.С.

Оглавление

1. Общие положения 4
2. Требования к планируемым результатам освоения дисциплины 4
3. Содержание дисциплины 5
3.1. Трудоемкость освоения дисциплины 5
3.2. Тематический план дисциплины 5
3.3. Содержание разделов и тем дисциплины 5
4. Оценка качества освоения дисциплины 6
4.1. Текущий контроль успеваемости 6
4.2. Промежуточная аттестация 6
4.3. Перечень вопросов для подготовки к зачету 6
4.4. Критерии оценивания качества освоения дисциплины 15
5. Учебно-методическое и материально-техническое обеспечение дисциплины 16
5.1 Основная учебная литература 16
5.2. Дополнительная литература 16
5.3. Ресурсы сети «Интернет» 16
5.4. Информационные технологии 17
5.5. Материально-техническое обеспечение дисциплины 17

1. Общие положения

Цель изучения дисциплины - ознакомление аспирантов с фундаментальными основами современной генной инженерии и практическими приложениями в биологии; с методологическими приемами, используемыми при создании рекомбинантных вакцин и препаратов.

Основная задача дисциплины - формирование у аспирантов глубоких теоретических знаний в области методов генной инженерии, как направления биологической науки для использования в практической деятельности.

Дисциплина является факультативной в образовательном компоненте программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» и изучается на 1 курсе.

2. Требования к планируемым результатам освоения дисциплины

В результате освоения дисциплины «Генная инженерия» аспирант должен:

Знать	- историю возникновения генетической инженерии и ее место среди других наук, общие положения и подходы генной инженерии, достижения и перспективы, структурно-функциональные особенности объектов биоинженерии; - основные принципы получения рекомбинантных ДНК, этапы генно-инженерных работ; - задачи, направления и проблемы генной инженерии применительно к современным потребностям, наиболее значимые проекты и область их применения, научные и правовые основы обеспечения биобезопасности в биоинженерии.
Уметь	- использовать полученные знания для подбора биологических объектов и применения их в различных технологических процессах; - понимать необходимость применения методов генной инженерии для конструирования новых форм. Самостоятельно приобретать новые знания и формировать суждения по научным проблемам современной генной инженерии, используя современные образовательные и информационные технологии; - применять полученные представления о диапазоне возможностей современных методов исследований, используемых для решения задач иммунологии и молекулярной биологии, при разработке стратегий решения собственных исследовательских задач.
Владеть	- навыками разработки исследовательских проектов, участия в других проектах, самостоятельной исследовательской работы, методами генетического конструирования, углубления профессиональных знаний с помощью новых информационных и образовательных технологий.

3. Содержание дисциплины

3.1. Трудоемкость освоения дисциплины

Объем дисциплины – 36 академических часов. Контактная часть учебного процесса предполагает проведение лекций и практических (семинарских) занятий.

Вид учебной работы	Всего часов/З.Е.
Контактная работа обучающихся с преподавателем (всего)	**20**
в том числе: лекции	14
практические (семинарские) занятия	4
контроль	2
Самостоятельная работа	**16**
Общая трудоемкость	**36/1**

3.2. Тематический план дисциплины

№ п/п	Наименование тем	Всего часов	Лекции	Практические занятия	Самостоятельная работа
1	История генной инженерии	2	1		2
2	Молекулярные основы генной инженерии прокариот	4	2		2
3	Молекулярные основы генной инженерии эукариот	5	2		2
4	Принципы конструирования рекомбинантных организмов	5	2	1	2
5	Методы генной инженерии.	4	1	1	2
6	Методы для переноса генов. Химические.	4	2	1	2
7	Методы для переноса генов. Физические.	4	2		2
8	Методы для переноса генов. Вирусные.	6	2	1	2
9	Зачёт	**2**			
	Итого по дисциплине:	**36**	**14**	**4**	**16**

3.3. Содержание разделов и тем дисциплины

1. История генной инженерии. Основные этапы развития генной инженерии.

2. Молекулярные основы генной инженерии прокариот. Репликация, транскрипция, трансляция. Их регуляция у прокариот.

3. Молекулярные основы генной инженерии эукариот. Репликация, транскрипция, трансляция. Их регуляция у эукариот.

4. Принципы конструирования рекомбинантных организмов. Понятие вектора и его емкости, конструирование рекомбинантной ДНК и др.

5. Методы генной инженерии. ПЦР, клонирование ДНК, конструирование рекомбинантных ДНК, секвенирование и др.

6. Методы для переноса генов. Химические. Полимеры, наносферы, дендримеры, полиглюкин-спермедин, липидные наночастицы, липосомы и др.

7. Методы для переноса генов. Физические. Электропорация, сонопорация, струйная инжекция, фонопорация и др.

8. Методы для переноса генов. Вирусные. Аденовирусы, лентивирусы и др.

4. Оценка качества освоения дисциплины

4.1. Текущий контроль успеваемости

Текущий контроль качества освоения материала по учебной дисциплине предполагает обсуждение материала, опрос учащихся, оценку качества выполнения практических заданий во время занятий. Учитывается посещаемость занятий.

4.2. Промежуточная аттестация

Для контроля качества освоения дисциплины учебным планом предусмотрен зачет.

Форма проведения зачета – тестирование и устный опрос.

4.3. Перечень вопросов для подготовки к зачету

1. Строение нуклеиновых кислот и процесс репликации ДНК.
2. Особенности строения и экспрессии генов прокариот и эукариот.
3. Ферменты матричного синтеза ДНК и РНК: каталитическая активность и применение в генной инженерии.
4. Генетическая инженерия. Молекулярное клонирование.
5. Общая схема получения и клонирования рекомбинантной плазмиды в бактериальных клетках.
6. Источники рисков при создании и использовании ГМО.
7. Клонирование генов.
8. Получение рекомбинантных ДНК.
9. Способы клонирования трансформированных клеток бактерий, грибов, растений, животных.
10. Векторы для переноса генов. Характеристика основных групп.
11. Особенности постановки и области применения разных методов ПЦР.
12. Принципы конструирования праймеров.
13. Физические методы введения рекомбинантных вакцин в клетку.
14. Химические методы введения рекомбинантных вакцин в клетку.
15. Биобезопасность. Контроль за использованием и распространением ГМО.
16. Методы генной инженерии.
17. Генная инженерия и молекулярная диагностика.

Примеры тестовых заданий для проведения текущего контроля и итогового тестирования:

ВАРИАНТ 1

1. Точка старта репликации ДНК называется:

а) промотор

б) оператор

в) терминатор

г) ориджин

2. В ДНК, выделенной из бактерий *S. afermentans*, 37% нуклеотидов содержат цитозин. Каково процентное содержание тимина в этой ДНК?

а) 13%

б) 18,5%

в) 26%

г) 37%

3. Какая из ферментативных активностей ДНК-зависимой ДНК-полимеразы обеспечивает механизм коррекции ошибок в процессе репликации?

а) полимеризующая

б) 5'→3' экзонуклеазная

в) 3'→5' экзонуклеазная

г) терминальная трансферазная

4. Какова средняя частота встречаемости тетрануклеотидного сайта 5'-ATAT-3' в ДНК?

а) один раз на 256 нуклеотидов

б) один раз на 512 нуклеотидов

в) один раз на 1024 нуклеотида

г) один раз на 2048 нуклеотидов

5. Вторичная структура ДНК образована:

а) водородными связями

б) стэкинг-взаимодействиями

в) фосфодиэфирными связями

г) N-гликозидными связями

6. Пользуясь таблицей генетического кода, транслируйте мРНК:

5'-GAUCAUGUCCGAGCGGAAUUGAUC-3'

а) асп-гис-вал-арг-ала-глу-лей-иле

б) иле-лей-глу-ала-арг-вал-гис-асп

в) мет-сер-глу-арг-асн

г) асн-арг-глу-сер-мет

ВАРИАНТ 2

1. В составе молекул РНК рибоза находится в форме:

а) α-D-рибофуранозы

б) α-L-рибофуранозы

в) β-D-рибофуранозы

г) β-L-рибофуранозы

2. К пиримидиновым основаниям в РНК относятся:

а) аденин и урацил

б) гуанин и цитозин

в) гуанин и аденин
г) урацил и цитозин
3. Амино-иминная таутомерия характерна для:
а) аденина, тимина, урацила
б) аденина, цитозина
в) гуанина, тимина, урацила
г) гуанина, цитозина
4. В молекулах РНК отрицательно заряжены:
а) пуриновые основания
б) пиримидиновые основания
в) фосфаты
г) рибоза
5. Нуклеиновая кислота фага М13 имеет следующий нуклеотидный состав: А – 24%, Т – 36%, Г – 20%, Ц – 20%. К какому типу молекул она принадлежит?
а) двухцепочечная ДНК
б) одноцепочечная РНК
в) одноцепочечная ДНК
г) двухцепочечная РНК
6. Для ДНК-РНК гибридов (гетеродуплексов) характерна:
а) А-форма
б) В-форма
в) С-форма
г) Z-форма
7. Левозакрученной спиралью является молекула ДНК, находящаяся в:
а) А-форме
б) В-форме
в) С-форме
г) Z-форме

ВАРИАНТ 3

1. SINE- и LINE-элементы генома эукариот являются:

а) микросталлитами

б) минисателлитами

в) ДНК-транспозонами

г) ретротранспозонами

2. Ген транспозазы содержат:

а) автономные ретротранспозоны

б) неавтономные ретротранспозоны

в) автономные ДНК-транспозоны

г) неавтономные ДНК-транспозоны

3. Удвоение не свойственно:

а) ДНК-транспозонам

б) LTR-ретротранспозонам

в) LINE-элементам

г) SINE-элементам

4. Инвертированные концевые повторы характерны для:

а) ДНК-транспозонов

б) LTR-ретротранспозонов

в) LINE-элементов

г) SINE-элементов

5. Ядро нуклеосомы состоит из:

а) 2 субъединиц

б) 4 субъединиц

в) 8 субъединиц

г) 12 субъединиц

6. Скрепляющим (линкерным) гистоном является:

а) H1

б) H2A

в) H2B

г) H3

7. В транскрипционно активных (эухроматиновых) участках, как правило:

а) ДНК метилирована, гистоны ацетилированы

б) ДНК деметилирована, гистоны ацетилированы

в) ДНК метилирована, гистоны деацетилированы

г) ДНК деметилирована, гистоны деацетилированы

8. Наиболее редко встречается N-концевая модификация гистонов:

а) метилирование

б) ацетилирование

в) фосфорилирование

г) убиквитинизация

9. Для репликации хромосомной ДНК эукариот характерно:

а) однонаправленный синтез, единственный ориджин

б) двунаправленный синтез, единственный ориджин

в) однонаправленный синтез, множественные ориджины

г) двунаправленный синтез, множественные ориджины

10. Теломераза является:

а) ДНК-зависимой ДНК-полимеразой

б) ДНК-зависимой РНК-полимеразой

в) РНК-зависимой ДНК-полимеразой

г) РНК-зависимой РНК-полимеразой

11. ТАТА-бокс находится в положении:

а) -25

б) -35

в) -80

г) -100

12. GC-бокс находится в положении:

а) -25

б) -35

в) -80

г) -100

13. Синтез тРНК осуществляет:

а) РНК-полимераза I

б) РНК-полимераза II

в) РНК-полимераза III

г) митохондриальная РНК-полимераза

14. ТАТА-связывающий белок (TBP) входит в состав фактора инициации транскрипции:

а) TFIIA

б) TFIIB

в) TFIIC

г) TFIID

15. Хеликазную активность проявляет фактор:

а) TFIIC

б) TFIID

в) TFIIE

г) TFIIF

16. Инициация транскрипции сопровождается:

а) фосфорилированием карбокситерминального домена РНК-полимеразы

б) дефосфорилированием карбокситерминального домена РНК-полимеразы

в) ацетилированием карбокситерминального домена РНК-полимеразы

г) деацетилированием карбокситерминального домена РНК-полимеразы

17. Кэп связан с 5’-концевым нуклеотидом транскрипта посредством:

а) 5’-3’-трифосфатной группы

б) 5’-3’-дифосфатной группы

в) 5’-5’-трифосфатной группы

г) 5’-5’-дифосфатной группы

18. Для интронов I группы характерно:

а) взаимодействие со сплайсосомой

б) формирование лариата

в) трансэтерификационный механизм сплайсинга

г) все перечисленное

19. Малые ядерные рибонуклеопротеины участвуют в:

а) кэпировании

б) сплайсинге

в) полиаденилировании

г) РНК-редактировании

20. Первым этапом процессинга РНК является:

а) кэпирование

б) сплайсинге

в) полиаденилирование

г) РНК-редактирование

21. Альтернативные формы белка могут быть следствием:

а) альтернативного сплайсинга

б) модификационного редактирования

в) инсерционно-делеционного редактирования

г) всего перечисленного

ВАРИАНТ 4

1. К гистоноподобным белкам E. coli не относится:

а) HMT

б) H-NS

в) HU

г) INF

2. Репликация ДНК происходит по механизму:

а) консервативному

б) неконсерватиному

в) полуконсерватиному

г) диффузному

3. Сайт инициации репликации ДНК называется:

а) промотор

б) оператор

в) терминатор

г) ориджин

4. Механизм коррекции ошибок в процессе репликации обеспечивается ферментативной активностью ДНК-зависимой ДНК-полимеразы:
а) полимеризующей
б) 5'→3' экзонуклеазной
в) 3'→5' экзонуклеазной
г) терминальная трансферазной
5. Репрессором ДНК-хеликазы E. coli является белок:
а) DnaA
б) DnaB
в) DnaC
г) DnaG
6. В ходе репликации ДНК синтез РНК-затравок праймазой осуществляется в направлении:
а) 5'→3'
б) 3'→5'
в) в любом из перечисленных
г) в обоих одновременно
7. Функционально активная форма белка DnaB у E. coli состоит из:
а) 2 субъединиц
б) 4 субъединиц
в) 6 субъединиц
г) 8 субъединиц
8. Гетеротример αθε представляет собой:
а) кор-фермент ДНК-полимеразы III
б) холофермент ДНК-полимеразы III
в) γ-комплекс
г) «скользящий зажим»
9. Синтез дочерней цепи ДНК после расщепления РНК-затравки осуществляет:
а) ДНК-полимераза I
б) ДНК-полимераза III
в) ДНК-полимераза IV
г) ДНК-полимераза V
10. ДНК-фотолиазы и ДНК-алкилтрансферазы участвуют в:
а) эксцизионной репарации (BER)
б) эксцизионной репарации (NER)
в) SOS-репарации
г) прямой репарации
11. ДНК-гликозилазы участвуют в:
а) эксцизионной репарации (BER)
б) эксцизионной репарации (NER)
в) SOS-репарации
г) прямой репарации
12. Наиболее негативные последствия вызывает дезаминирование:
а) аденина
б) гуанина
в) цитозина
г) тимина

13. Не подвергается дезаминированию:
а) аденин
б) гуанин
в) цитозин
г) тимин
14. В узнавании дочерней цепи в ходе мисмэтч-репарации ДНК у E. coli принимает участие белок:
а) MutH
б) MutL
в) MutS
г) MutU
15. Гидролиз цепи ДНК в любом из направлений способна осуществлять экзонуклеаза:
а) ExoI
б) ExoVIII
в) RecJ
г) ни одна из перечисленных
16. Ферменты, вносящие одноцепочечные разрывы в ДНК, называются:
а) никазы
б) рестриктазы
в) хеликазы
г) лигазы
17. Не проявляет хеликазной активности белок:
а) DnaB
б) UvrD
в) MutU
г) RuvC
18. Не проявляет хеликазной активности белок:
а) RecA
б) RecB
в) RecD
г) RecL
19. Эксцизионной эндонуклеазой у E. coli является:
а) Гомодимер UvrAA
б) Гетеротример UvrAAB
в) Белок UvrB
г) Гетеротример UvrBCD
20. Репрессором генов SOS-регулона E. coli является:
а) RecA
б) LexA
в) UmuC
г) GroES
21. Функции ДНК-полимеразы V, участвующей в SOS-ответе у E. coli, выполняет гетеротример:
а) UmuDDC
б) UmuDD'C
в) UmuD'D'C

г) любой из перечисленных

22. В узнавании Chi-сайта принимает участие белок:

а) RecA

б) RecB

в) RecC

г) RecD

23. Участки трехцепочечной ДНК в ходе гомологичной рекомбинации у E. coli образуются при участии белка:

а) RecA

б) RecB

в) RecC

г) RecD

24. Разрешение структуры Холлидея у E. coli происходит под действием ДНК-топоизомеразы:

а) RuvA

б) RuvB

в) RuvC

г) RuvD

25. Субстратами для ДНК-зависимой РНК-полимеразы являются:

а) 2'-дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфаты (дНТФ)

б) рибонуклеозид-5'-трифосфаты (НТФ)

в) 2'-дезоксирибонуклеозид-5'-монофосфаты (дНМФ)

г) рибонуклеозид-5'-монофосфаты (НМФ)

26. Нуклеотиды связывает субъединица РНК-полимеразы E. coli:

а) α

б) β

в) β'

г) σ

27. Кор-фермент РНК-полимеразы E. coli удерживается на молекуле ДНК с помощью субъединицы:

а) α

б) β

в) β'

г) σ

28. Участок инициации транскрипции называется:

а) промотор

б) оператор

в) терминатор

г) ориджин

29. ТАТА-бокс относительно начала последовательности, кодирующей мРНК, находится в положении:

а) +35

б) –35

в) +10

г) –10

30. Основным фактором инициации транскрипции у E. coli, узнающим большинство промоторов, является:

а) σ20

б) σ32

в) σ54

г) σ70

31. Паузам РНК-полимеразы способствует фактор элонгации:

а) NusA

б) NusG

в) GreA

г) Mfd

32. Факторы элонгации GreA и GreB:

а) вызывают паузы РНК-полимеразы

б) подавляют паузы РНК-полимеразы

в) узнают «арестованные» комплексы

г) вызывают терминацию транскрипции в области пиримидинового димера

33. Регуляторным геном лактозного оперона (кодирующим белок-репрессор) является:

а) LacA

б) LacI

в) LacY

г) LacZ

34. Регуляция транскрипции генов триптофанового оперона является примером:

а) лиганд-зависимой позитивной регуляции

б) лиганд-независимой позитивной регуляции

в) лиганд-зависимой негативной регуляции

г) лиганд-независимой негативной регуляции

35. Расположите процессы, происходящие в ходе мисмэтч-репарации ДНК у E. coli, в правильном порядке:

1. Образование комплекса MutS-MutL
2. Узнавание ошибочно спаренного основания белком MutS и образование комплекса MutS-ДНК
3. Внесение одноцепочечного разрыва в ближайшем полуметилированном сайте (5'-GATC-3') белком MutH
4. Эксцизия сегмента одноцепочечной ДНК с участием ДНК-хеликазы II и одной из ДНК-экзонуклеаз: ExoI, ExoVIII или RecJ
5. Ресинтез удаленного участка ДНК холоферментом ДНК-полимеразы III

Данный перечень может быть скорректирован в зависимости от контингента обучающихся.

4.4. Критерии оценивания качества освоения дисциплины

Суммарно по дисциплине можно получить 100 баллов, из них текущая работа оценивается в 50 баллов, итоговая форма контроля - в 50 баллов.

55 баллов и более – зачтено;

54 балла и менее – не зачтено.

Зачтено	Выставляется обучающемуся, показавшему систематизированные знания учебной программы дисциплины и умение применять их на практике.
Не зачтено	Выставляется обучающемуся, который не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубые ошибки в формулировках основных понятий дисциплины и не умеет использовать полученные знания при решении практических задач.

5. Учебно-методическое и материально-техническое обеспечение дисциплины

5.1 Основная учебная литература

1. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство / Под ред. Джейпера Дж. Москва: Мир, 1991. - 408 с.
2. Георгиев, Г. П. Гены высших организмов и их экспрессия/ Г.П. Георгиев. - Москва: Наука, 1989. - 254 с.
3. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. - Москва: Академия, 2005.
4. Патрушев, Л. И. Экспрессия генов / Л.И. Патрушев - Москва: Наука, 2000.
5. Патрушев, Л. И. Искусственные генетические системы. В 2-х томах. Том 1. Генная и белковая инженерия / Л.И. Патрушев. – Москва: Наука, 2004. - 530 с.
6. Рыбчин, В. Н. Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. - Санкт-Петербург: СПбГТУ, 1999. - 521 с.
7. Щелкунов, С. Н. Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2008. - 514 с.

5.2. Дополнительная литература

1. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. - Москва: Мир, 2002.
2. Клаг, У. Мир биологии и медицины. Основы генетики / У. Клаг, М. Каумине. - Москва: Техносфера, 2009.
3. Патрушев, Л. И. Биосинтез белка в искусственных генетических системах // Проблема белка. Москва: Наука, 1995. Том 1. Химическое строение белка. С. 354–478.
4. Мир биологии и медицины. Эпигенетика. Москва: Техносфера, 2010.

5.3. Ресурсы сети «Интернет»

1. Практическая молекулярная биология [Электронный ресурс]. - Режим доступа: http://molbiol.edu.ru/
2. Список форумов «Генетика и молекулярная биология». - Режим доступа: http://www.geneforum.ru/
3. http://www.molecbio.com/
4. http://molbiol.edu.ru/review/01_01.html
5. http://www.twirpx.com/files/biology/molecular/
6. http://molbiol.ru/

Профессиональные базы данных:

7. Springer Nature Protocols and Methods https://experiments.springernature.com/sources/springer-protocols
8. Springer Materials http://materials.springer.com/

5.4. Информационные технологии

Для обеспечения реализации дисциплины используется стандартный комплект программного обеспечения (ПО), включающий регулярно обновляемое лицензионное ПО Windows и MS Office. Программное обеспечение We.Study (платформа МТСЛинк).

5.5. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Конференц-зал корпуса №12а ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, оснащенный презентационной техникой; средства мультимедиа: проектор, экран, компьютер/ноутбук; доска учебная маркерная; рабочее место аспиранта с выходом в Интернет.