Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук
(ИБХ РАН)

СОГЛАСОВАНО:
Ученый совет ИБХ РАН
Протокол №10 от «22» октября 2014 г.

Ученый секретарь
_____ д.ф.-м.н. В.А.Олейников

«22» октября 2014 г.

УТВЕРЖДАЮ:
Директор ИБХ РАН

_____ академик В.Т.Иванов

«22» октября 2014 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

по дисциплине Б1.В.ОД.1.5

ОСНОВЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Направление подготовки: 06.06.01 Биологические науки

Направленность (профиль) программы:

03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Уровень высшего образования:

подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре

Квалификация выпускника: Исследователь. Преподаватель-исследователь.

Форма обучения: очная

Москва - 2014

Составитель курса: д.б.н. Л.И.Патрушев

Составители содержания отдельных разделов лабораторных работ:
к.х.н. С.В.Баландин, П.В. Пантелеев, И.А. Болосов

Рабочая программа составлена на основании федерального государственного образовательного стандарта, разработанного для реализации основных профессиональных образовательных программ высшего образования – программ подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки кадров высшей квалификации 06.06.01«Биологические науки».

Согласно Федеральному государственному образовательному стандарту высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., и учебному плану аспирантов, разработанного на основе этого стандарта, дисциплина «Основы генной инженерии» является обязательной учебной дисциплиной модуля вариативной части Блока 1 образовательной программы по направленности (профилю) 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), на изучение которой отведена 2 зачетные единицы. Соответствующий этому объём курса составляет 72 академических часа, из них 12 академических часов лекций, 12 академических часов практических занятий (семинаров), 36 академических часов лабораторных работ, 8 часов самостоятельной внеаудиторной работы аспирантов, включая подготовку к дифференцированному зачету и 4 часа на контроль знаний.

1. Цели и задачи изучения дисциплины

Генная инженерия или технология рекомбинантных ДНК - изменение с помощью биохимических и генетических методик хромосомного материала - основного наследственного вещества клеток.

Генная инженерия играет важную роль в формировании у будущих исследователей и преподавателей научного мировоззрения и современного биолого-химического мышления, достаточной теоретической базы для успешного усвоения аспирантами общепрофессиональных и специальных дисциплин. В процессе изучения генной инженерии происходит ознакомление аспирантов с современной научной литературой, вырабатываются умение решать конкретные профессионально ориентированные задачи в объёме, установленном ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденном приказом Минобрнауки РФ №871 от 30 июля 2014 г.

1.1. Цель курса: обучение аспирантов основным принципам и методам генной инженерии животных и растений.

1.2. Задачи курса: рассмотрение и усвоение принципов основных методов генной инженерии.

1.3. Связь с другими дисциплинами

Генная инженерия как наука, в той или иной степени имеет непосредственную связь практически со всеми дисциплинами, изучаемыми на протяжении всего времени овладения аспирантами образовательной программы по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки. Курс «Основы генной инженерии» является обязательной дисциплиной при подготовке специалистов в области в области биохимии, молекулярной биологии и биотехнологии.

II. Требования к уровню освоения дисциплины

Курс «Основы генной инженерии» включает теоретическую и практическую часть. При выполнении лабораторных работ ставится цель освоения наиболее современных экспериментальных методов исследования нуклеиновых кислот. Основным критерием качества выполнения этого вида учебной работы аспирантов как в учебных аудиториях, так и

при выполнении домашних заданий является самостоятельность, для обеспечения которой применяются различные методические приёмы. При выполнении лабораторных работ необходимо самостоятельно выполнить все эксперименты и измерения, предусмотренные данной работой, оформить отчёт о проделанной работе. Сдача отчёта о выполненных лабораторных работах производится в форме защиты, которая может проводиться в устной или письменной форме ответов на контрольные вопросы по теории и о порядке выполнения работы или в тестовой форме на компьютерах. Аспиранты, не выполнившие план и не сдавшие отчёты по лабораторному практикуму, к итоговому зачету по предмету не допускаются. В течение семестра аспиранты должны прослушать лекции и посетить семинары по 10 темам, указанным в блок-схеме курса. По теоретической части курса аспиранты должны иметь конспекты прослушанных лекций, материалы проработки вопросов, вынесенных на самостоятельное изучение, а также оценки промежуточных контролей.

В рамках данной дисциплины углубляются и развиваются следующие компетенции:

Универсальные компетенции:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);
- способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5).

Общепрофессиональные компетенции:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);
- готовность к преподавательской деятельности по основным образовательным программам высшего образования (ОПК-2).

Профессиональные компетенции:

- способность к самостоятельному проведению научно-исследовательской работы и получению научных результатов, удовлетворяющих установленным требованиям к содержанию диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по направленности (профилю) «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» (ПК-1);
- обладание представлениями о системе фундаментальных понятий и методологических аспектов биологии, форм и методов научного познания (ПК-2);
- способность приобретать новые знания с использованием современных научных методов и владение ими на уровне, необходимом для решения задач, возникающих при выполнении профессиональных функций (ПК-3);
- обладание опытом профессионального участия в научных дискуссиях, умение представлять полученные в исследованиях результаты в виде отчетов и научных публикаций (стендовые доклады, рефераты и статьи в периодической научной печати) (ПК-4);
- владение методами отбора материала, преподавания и основами управления процессом обучения фундаментальной биологии в школе и вузе (ПК-5).

В результате освоения дисциплины «Основы генной инженерии» обучающиеся должны знать:

- микробиологические методы работ с микроорганизмами;
- аналитические и препаративные методы работ с нуклеиновыми кислотами;
- генно-инженерные методы работ с нуклеиновыми кислотами;
- методы работ с биомассой микроорганизмов или эукариотических клеток;
- методы критического анализа и оценки современных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- современные способы использования информационно-коммуникационных технологий;

уметь:
- проводить стерильную работу с микроорганизмами в ламинарном шкафу;
- выращивать микроорганизмы на жидких и твердых питательных средах;
- проводить рассев микроорганизмов до отдельных колоний на твердых питательных средах;
- проводить подготовку микроорганизмов к длительному хранению в музее;
- анализировать микроорганизмы с помощью обычной световой и флуоресцентной микроскопии;
- проводить аналитическое разделение фрагментов ДНК электрофорезом в агарозном геле;
- выделять нуклеиновые кислоты фенольным методом, а также сорбцией на стекле с использованием коммерческих наборов;
- работать с эндонуклеазами рестрикции, ДНК-лигазой и другими ферментами нуклеинового обмена;
- проводить нализ ДНК и РНК с помощью стандартной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в режиме реального времени;
- проводить трансформацию бактериальных и/или эукариотических клеток векторными плазмидами, проводить отбор клонов, содержащих клонируемые фрагменты ДНК;
- анализировать нуклеиновые кислоты гибридизацией по Саузерну или Northern-методом;
- получать библиотеки фрагментов ДНК разного происхождения и оценивать их репрезентативность;
- проводить разрушение биомассы ультразвуком или с использованием лизоцима;
- проводить очистку и электрофоретический анализ рекомбинантных белков;
- работать с научно-технической информацией;
- выделять и систематизировать основные идеи в научных текстах; критически оценивать любую поступающую информацию, вне зависимости от источника;
- при решении исследовательских и практических задач генерировать новые идеи;
- выбирать и применять в профессиональной деятельности экспериментальные методы исследования;

владеть:
- микробиологическими методами работ с микроорганизмами;
- аналитическими и препаративными методами работ с нуклеиновыми кислотами;
- генно-инженерными методами работ с нуклеиновыми кислотами;
- методами работ с биомассой микроорганизмов или эукариотических клеток;
- методами биоинформатики и статистической обработки данных (компьютерным анализом аминокислотных и нуклеотидных последовательностей, анализом основных характеристик олигонуклеотидов, включая температуру плавления гибридов с матричной ДНК, самокомплементарность и т.п., использованием компьютера для статистической обработки получаемых экспериментальных данных);
- навыками выбора методов и средств решения задач исследования;
- навыками поиска (в том числе с использованием информационных систем и баз банных), обработки, анализа и систематизации информации;
- навыками критического анализа и оценки современных научных достижений.

III. Объем дисциплины и виды учебной работы

Форма обучения – ОЧНАЯ

Общий объем дисциплины: 2 зачетные единицы или 72 академических часа.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)	Контроль (час)
	лекции	**практические занятия (семинары)**	**лабораторные работы**		
72	12	12	36	8	4
	60				

Распределение аудиторных часов по темам и видам учебной работы

№	Наименование тем и разделов (с развернутым содержанием курса по каждой теме и разделу)	Аудиторные занятия (час), в том числе:	
		Лекции	Семинары
1	**Введение в генную инженерию** **1.1. Предмет и задачи генной инженерии** **1.2. Основные приемы очистки и разделения нуклеиновых кислот** **1.3. Ферменты, используемые в генной инженерии**	1	1
2	**Полимеразная цепная реакция**	-	2
3	**Анализ геномов: векторы для клонирования ДНК, построение физических карт**	1	1
4	**Современные методы секвенирования ДНК** **4.1. Системы массового параллельного секвенирования ДНК второго поколения** **4.2. Системы секвенирования ДНК третьего поколения**	-	2
5	**Анализ экспрессии генов на уровне транскрипции**	2	1
6	**Генно-инженерные методы в белковой инженерии** **6.1. Рациональный дизайн и редизайн белковых молекул** **6.2. Направленная эволюция белков** **6.3. Достижения белковой инженерии**	2	1
7	**Антисмысловые олигонуклеотиды, нуклеино-вые кислоты как ферменты: аптамеры, рибозимы, дезоксирибозимы** **7.1. Антисмысловые олигодезоксирибонук-леотиды (ODN)** **7.2. Олигонуклеотидные аптамеры** **7.3. Рибозимы и дезоксирибозимы**	2	1
8	**Трансгенные и клонированные животные** **8.1. Трансгенные животные** **8.2. Клонирование многоклеточных организмов**	2	-
9	**Трансгенные растения**	-	2
10	**Рекомбинантные антитела, флуоресцентные белки** **10.1. Рекомбинантные антитела** **10.2. Рекомбинантные флуоресцирующие белки**	2	1
	Всего:	12	12
	Итого:	24	

IV. Содержание курса
«ОСНОВЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ»

Раздел 1
Введение в генную инженерию

1.1. Предмет и задачи генной инженерии Основоположники генной инженерии В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, У. Гилберт, Ф. Сенгер. Их вклад в развитие данного направления исследований.

1.2. Основные приемы очистки и разделения нуклеиновых кислот

Фенольный метод очистки, сорбция ДНК на поверхности стекла, щелочной метод выделения бактериальных плазмид. Электрофоретическое и хроматографическое разделение нуклеиновых кислот. Метод аффинной хроматографии мРНК на олиго (dT)-целлюлозе. Электрофоретическая подвижность разных форм плазмидной ДНК: суперскрученной, релаксированной и линейной. Влияние бромистого этидия на

электрофоретическую подвижность плазмидной ДНК. Определение размеров фрагментов ДНК с помощью электрофореза. Капиллярный электрофорез. Электрофорез в импульсном электрическом поле. Выделение метафазных хромосом с помощью проточной цитометрии. Препаративный электрофорез.

1.3. Ферменты, используемые в генной инженерии

Эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы). Номенклатура и классификация. Рестриктазы II и IIS типов – основные инструменты генной инженерии. Формы разрывов двухцепочечных ДНК, возникающих под действием рестриктаз. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК. Их «затупление»; использование линкеров и адаптеров для создания сайтов рестрикции и регуляторных элементов ДНК. Изошизомеры, гетерошизомеры и изокаудомеры. Изменение субстратной специфичности рестриктаз в неоптимальных условиях. ДНК-метилазы. Использование для получения крупных рестрикционных фрагментов ДНК. Урацил-ДНК-гликозилазы. ДНК- и РНК-лигазы. Механизм лигирования ДНК Т4-ДНК-лигазой. РНК-лигаза бактериофага Т4. ДНК-зависимая ДНК-полимераза I *E.coli* и ее фрагмент Кленова. Использование для введения концевой радиоактивной метки, "затупления" концов ДНК и ник-трансляции. Реакции, осуществляемые этими ферментами: синтез ДНК на ДНК-матрицах, пирофосфоролиз, 3'- и 5'-корректирующие экзонуклеазные активности, flap-активность ДНК-полимераз. Термостабильные ДНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы) вируса миелобластоза птиц и вируса лейкоза мышей Молони (MMLV) использование для получения кДНК. Три стратегии синтеза кДНК: со случайными праймерами, олиго-dT-праймерами и специфическими праймерами. SMART-синтез кДНК. Применение полинуклеотидкиназы для введения концевой радиоактивной метки, а также фосфорилирования олиго- и полинуклеотидов. Терминальная трансфераза, использование для синтеза коннекторов. Щелочные фосфатазы. Применение для повышения эффективности клонирования. Нуклеазы в генной инженерии. Экзонуклеаза III *E.coli*. Экзонуклеаза фага λ. S1-нуклеаза. РНКаза А и ДНКаза I.

Раздел 2
Полимеразная цепная реакция

К. Муллис – изобретатель ПЦР. Общая схема ПЦР. Устройство современного амплификатора. Компоненты реакционной смеси, необходимые для проведения ПЦР. Особенности конструирования праймеров. Факторы, влияющие на точность синтеза ДНК и возможности ее повышения. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Методы ПЦР: стандартная ПЦР, множественная ПЦР, асимметричная ПЦР, гнездовая ПЦР, ПЦР с «горячим стартом», ПЦР, сопряженная с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), амплификация больших участков ДНК с высокой точностью (long PCR), ПЦР in situ, аллель-специфическая ПЦР, метил-чувствительная ПЦР, иммуно-ПЦР, эмульсионная ПЦР, цифровая ПЦР. Случайная амплификация полиморфных последовательностей (метод RAPD). Количественная ПЦР (ПЦР в реального времени). Устройство амплификатора для ПЦР в режиме реального времени. Порог числа циклов. Принцип действия зондов Taq-Man, зондов, основанных на резонансном переносе энергии флуоресценции (FRET), «молекулярных маяков», праймеров типа «Скорпион» и «Амплифлюр». Определение числа молекул матричной ДНК в пробе.

Раздел 3
Анализ геномов: векторы для клонирования ДНК, построение физических карт

Геномика как новое направление исследований в постгеномную эру. Функциональная геномика. Генетические и физические карты генома. Построение генетических карт сцепления. Физические карты низкого и высокого разрешения. Рестрикционные карты и их построение. Гибридизация по Саузерну. "Прогулки и прыжки по хромосомам". Концепция STS-маркеров (sequence-tagged sites). Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей. Электронная ПЦР. Флуоресцентная, в том числе многоцветная, гибридизация *in situ*. Физическое картирование YAC-ДНК с помощью FISH. Сравнительная геномная гибридизация.

Хромосомные карты; EST-маркеры (маркеры экспрессирующихся последовательностей) и их использование для построения карт кДНК. Физические карты генома высокого разрешения. Две стратегии построения карт высокого разрешения: картирование сверху вниз и картирование снизу вверх. Контиги. Концепция STS-маркеров (сайты, привязанные к последовательностям). Стратегия и тактика секвенирования больших геномов. Метод дробовика. SNP- (Single Nucleotide Polymorphisms) и CNV- (Copy Number Variations) маркеры, их ассоциация с наследственными заболеваниями и методы поиска. ДНК-диагностика и генотипирование. Использование минисателлитных последовательностей для идентификации личности человека.

Раздел 4
Современные методы секвенирования ДНК

4.1. Системы массового параллельного секвенирования ДНК второго поколения (секвенирование коротких амплифицированных фрагментов ДНК). Подготовка геномной ДНК к секвенированию. Два подхода к созданию клонов секвенируемых последовательностей: эмульсионная ПЦР и «арочная» ПЦР на стеклянной подложке. Особенности структуры флуоресцентно-меченых нуклеотидов, используемых в секвенировании: обратимые терминаторы синтеза ДНК, лабильная химическая связь между флуорофором и нуклеотидом. Три подхода к проведению реакций секвенирования: пиросеквенирование, секвенирование синтезом, секвенирование лигированием.

4.2. Системы секвенирования ДНК третьего поколения (секвенирование отдельных молекул ДНК). Устройство и принцип действия SMART-чипа в секвенаторах фирмы Pacific Biosciences. Система, основанная на детекции протонов фирмы Ion Torrent. Секвенирование ДНК с использованием нанопор. Области применения методов секвенирования нового поколения.

Раздел 5
Анализ экспрессии генов на уровне транскрипции

Транскриптом и необходимость его изучения. Виды РНК, кодируемых геномами прокариот и эукариот. Нозерн-блоттинг. Защита мРНК от действия РНКаз. Методы быстрой амплификации концов кДНК (5'-RACE и 3'-RACE). Дифференциальный дисплей (DD), серийный анализ экспрессии генов (SAGE), анализ репрезентативных различий в мРНК (RDA), супрессорная вычитающая гибридизация (SSH). Обратная гибридизация по Саузерну (обратный Саузерн) как основа биочиповых технологий с использованием нуклеиновых кислот. Принципы анализа транскриптома с использованием ДНК-биочипов. Секвенирование ДНК на биочипах. Анализ регуляторных последовательностей ДНК. Футпринтинг и иммунопреципитация хроматина (ChIP) в исследовании ДНК-белковых взаимодействий.

Раздел 6
Генно-инженерные методы в белковой инженерии

6.1. Рациональный дизайн и редизайн белковых молекул

Принципы создания искусственных белков с требуемыми свойствами. Способы направленного введения мутаций в гены. Получение точечных мутаций, делеций и вставок с помощью ПЦР. Мутагенез с использованием олигонуклеотидов и мегапраймеров. Кассетный мутагенез. Химико-ферментативный синтез в создании искусственных полипептидов: лигирование синтезированных белков. Включение неприродных аминокислот в белки с помощью тРНК (использование нонсенс-супрессоров).

6.2. Направленная эволюция белков

Стратегия направленной эволюции макромолекул. Комбинаторные клонотеки последовательностей нуклеотидов. Методы случайного мутагенеза: химический мутагенез, синтез ДНК с ошибками, случайное объединение гомологичных и негомологичных последовательностей: случайное объединение гомологичных участков генов (DNA shuffling); удлинение ДНК с переменой матриц (Staggered Extension Process);

рекомбинирование фрагментов генов, независимое от гомологии. Скрининг и отбор белков с требуемыми свойствами. Фаговый дисплей. Клеточный дисплей. Рибосомный дисплей и мРНК-дисплей. Понятие о ландшафте функциональности белковых молекул. Дрожжевые N-гибридные системы в исследовании белок-белковых взаимодействий: понятие интерактома.

6.3. Достижения белковой инженерии Химические модификации белков. Использование поперечных сшивок в стабилизации ферментов. Оптимизация ферментов для функционирования в неводных средах. Молекулярный импринтинг. Гибридные ферменты. Зеленый флуоресцирующий белок (GFP) и его аналоги в качестве белков-репортеров. Гибридные токсины. Экстремозимы. Достижения белковой инженерии в повышении стабильности ферментов. Пептидные аптамеры. Изменение субстратной специфичности ферментов и специфичности рецепторов в отношении лигандов. Белковая инженерия антител. ДНК-вакцины.

Раздел 7
Антисмысловые олигонуклеотиды, нуклеино-вые кислоты как ферменты: аптамеры, рибозимы, дезоксирибозимы

7.1. Антисмысловые олигодезоксирибонук-леотиды (ODN)

ODN первого поколения. Их основные биологические свойства и механизм ингибирующего действия на экспрессию генов. ODN второго поколения (гапмеры), построенные из модифицированных нуклеотидов: метилфосфонатные, фосфоротиоатные, 2'-О-метильные, аналоги. Модификации на основе бициклических сахаров: закрытые (замкнутые) нуклеиновые кислоты (LNA). Морфолиновые производные олигонуклеотидов. Пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК), триплекс-формирующие олигонуклеотиды (TFO) и их использование для подавления экспрессии генов. Механизмы действия антисмысловых олигонуклеотидов: система РНКазы Н, дезаминирование остатков аденина в дцРНК с участием аденозиндезаминазы ADAR; РНК-интерференция.

7.2. Олигонуклеотидные аптамеры Использование системы SELEX для их получения. Зеркальные аптамеры – шпигельмеры. Примеры лигандов для олигонуклеотидных аптамеров. Примеры использования аптамеров в современной биотехнологии: биосенсоры, диагностические системы, терапия (адресная доставка лекарственных препаратов).

7.3. Рибозимы и дезоксирибозимы

Томас Чех – первооткрыватель рибозимов. Каталитический цикл рибозимов. Методы отбора рибозимов с требуемыми свойствами. Рибозимы с РНК-лигазной и РНК-полимеразной активностями. Подтипы рибозимов: минизимы, максизимы, аптазимы. Дезоксирибозимы: отбор молекул с РНКазной активностью. Использование самосборки молекул ДНК в наноконструкторе.

Раздел 8
Трансгенные и клонированные животные

8.1. Трансгенные животные

Феномен трансгенеза. Необходимость получения трансгенных животных и растений. Три основных способа получения трансгенных животных: прямая инъекция ДНК в пронуклеусы оплодотворенных яйцеклеток; использование эмбриональных стволовых клеток (ES); применение рекомбинантных вирусов для заражения эмбриональных клеток зародыша. Векторы, используемые для доставки трансгенов в организм млекопитающих: ретровирусные и аденовирусные векторы, а также векторы на основе аденоассоциированных вирусов. Факторы, оказывающие влияние на экспрессию трансгенов в организме трансгенных животных. Направленная активация и инактивация генов in vivo: генные нок-ин'ы и нокауты. Классический подход к получению генных нокаутов: использование гомологичной рекомбинации. Современные методы инактивации генов с применением энхансерных, генных и промоторных ловушек. Системы сайт-

специфической рекомбинации Cre/lox. Регулируемая экспрессия трансгенов в организме животных: Бинарные системы регулируемой экспрессии трансгенов в организме животных на примере тетрациклиновой системы. Условные мутации у животных. Подходы к генотерапии наследственных и приобретенных заболеваний.

8.2. Клонирование многоклеточных организмов Этапы клонирования. Методы введения ядер соматических клеток в яйцеклетки. Необходимость перепрограммирования генома как одна из основных причин низкой эффективности клонирования. Получение индуцированных стволовых клеток из фибробластов. Стадии клонирования млекопитающих вручную. Животные-биореакторы. Два подхода к клонированию человека: репродуктивное и терапевтическое клонирование. Невозможность создания идентичных копий (клонов) многоклеточных организмов. Понятие об искусственных органах и тканях.

Раздел 9
Трансгенные растения

Эмбриональные стволовые клетки растений. Основные этапы получения трансгенных растений. Культура каллуса и суспензионные культуры клеток. Получение протопластов. Фитогормоны, используемые для регенерации растений. Соматический эмбриогенез. Методы используемые для трансформации разных объектов растительного происхождения. Селектируемые маркеры, используемые в генной инженерии растений. Системы контроля экспрессии рекомбинантных генов у растений. Агробактериальная инфекция. Ti-плазмиды и Т-ДНК. Опины и их роль в инфекции. Структура сигнальных молекул поврежденного растения, активирующих перенос Т-ДНК. Векторы на основе Ti-плазмид: «обезоруженные» плазмиды, коинтеграты и бинарные векторы. Этапы получения трансгенных растений с помощью агробактерий. Трансформация целых растений (in planta). Трансгенные хлоропласты. Преимущества использования хлоропластов для экспрессии трансгенов. Получение транспластомных одноклеточных водорослей. Необходимость оптимизации кодонов.

Раздел 10
Рекомбинантные антитела, флуоресцентные белки

10.1. Рекомбинантные антитела

Определение антитела. Количественная оценка качества антител. Источники разнообразия антител. Поликлональные, моноклональные и генно-инженерные антитела. Получение моноклональных антител: гибридомы. Понижение иммуногенности мышиных моноклональных антител замещением последовательностями иммуноглобулина человека. Химерные и «очеловеченные» антитела. Получение трансгенных мышей, экспрессирующих только иммуноглобулины человека. Моновалентные и многовалентные рекомбинантные миниантитела. Рекомбинантные миниантитела двойной специфичности. Терапевтическое использование рекомбинантных антител. Иммуноцитокины. Конъюгаты моноклональных антител с лекарствами. Внутриклеточные антитела (intrabodies). Доменные антитела. Наноантитела (Nanobodies). Биосинтез рекомбинантных антител в клетках разных организмов. Каталитические антитела (абзимы) и способы их получения.

10.2. Рекомбинантные флуоресцирующие белки Феномен биолюминесценции в природе. Люциферины и люциферазы. Фотопротеины. Система экворина и зеленого флуоресцирующего белка (GFP) медузы *Aequorea victoria*. Свойства рекомбинантного GFP и его производных, механизм образования хромофора. Спектральное разнообразие GFP-подобных белков кораллов *Anthozoa*. Фотоактивируемые флуоресцирующие белки. Флуоресцирующие белки с круговой пермутацией (cpFP). FRET-система для исследования белок-белковых взаимодействий и в биологических сенсорах. Флуоресцирующие белки в исследованиях динамики межмолекулярных взаимодействий.

V. Лабораторные работы (лабораторный практикум)

Лабораторный практикум как составная часть учебного процесса по дисциплине «Основы генной инженерии» обеспечивает прочную связь познавательной и профессиональной направленности учебного процесса. В ходе лабораторного практикума достигаются следующие цели:

1) подготовка к работе в научной лаборатории путем освоения правил охраны труда и техники безопасности;

2) ознакомление с принципами действия и устройством приборов и измерительного оборудования и овладение приёмами получения биологических и химических характеристик исследуемых объектов, а также измерений физических величин;

3) приобретение навыков экспериментальной работы и ознакомление с методами статистической обработки полученных данных;

4) наглядное подтверждение теоретических положений, излагаемых в лекционном курсе, способствующее более глубокому пониманию и усвоению основных положений курса.

Выполнение аспирантом программы лабораторного практикума создает базу для подготовки выпускника аспирантуры к решению профессиональных задач и самостоятельным научным исследованиям. Лабораторный практикум проводится на современном оборудовании в лабораторных помещениях, специализированных по разделам программы курса. Лабораторный практикум проводится в соответствии с расписанием занятий и графиками выполнения лабораторных работ. Перечень лабораторных работ приведен ниже:

Лабораторная работа №1
ВЫДЕЛЕНИЕ РНК. СИНТЕЗ КДНК. ПЦР, СОПРЯЖЕННАЯ С ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИЕЙ
Составитель программы: к.х.н. С.В.Баландин

1. Пояснительная записка

1.1. Целью курса является освоение теоретических основ и получение навыков практической генной инженерии, углублённого анализа, представления научных данных и корректного оформления практических результатов экспериментов в виде письменного отчёта.

1.2. Задачи курса: ознакомить аспирантов с основными методами генной инженерии.

1.3. Трудоемкость выполнения: 8 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
12	-	2	4	6
	6			

1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практи-ческие занятия, семинары	лаборатор ные работы
1	Методы выделения, очистки и анализа РНК. Области применения. Способы защиты РНК от разрушения. Роль денатурирующих агентов и консервантов. Очистка суммарной и матричной РНК. Методы контроля качества выделенной РНК.	-	0,5	1
2	Обратная транскрипция. Применение для анализа экспрессии генов и амплификации кодирующих	-	0,5	1

	нуклеотидных последовательностей. Ферменты, используемые для получения кДНК.			
3	Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Биохимические основы метода, области применения. Состав реакционной смеси, схема реакции, условия проведения эксперимента. Оптимизация условий реакции.	-	1	2
	Всего:	-	2	4
	Итого:	6		

2. Перечень тем лабораторных занятий:

1. Методы амплификации ДНК. Механизм полимеразной цепной реакции. Основные характеристики ПЦР: эффективность, точность, специфичность. Зависимость концентрации конечного продукта от числа циклов. Эффект плато. Факторы, влияющие на точность амплификации. Основные виды ошибок и способы повышения точности синтеза. Процессивность ДНК-полимеразы. Факторы, влияющие на специфичность амплификации. Способы повышения специфичности. Правила конструирования праймеров. Выбор оптимальной температуры отжига праймеров.
2. ПЦР как аналитический метод. Способы регистрации сигнала. Анализ результатов. Аллель-специфичная ПЦР. Количественная ПЦР. ПЦР с регистрацией сигнала в реальном времени ("Real-time PCR").
3. Использование РНК в качестве матрицы для амплификации. ОТ-ПЦР в исследовании структуры новых белков. Быстрая амплификация концов кДНК (RACE). ПЦР с вырожденными праймерами. Инвертированная ПЦР.
4. ПЦР как препаративный метод. Использование ПЦР в генной инженерии. Способы выделения, очистки и клонирования продуктов ПЦР. Секвенирование продуктов ПЦР. Проведение случайного и направленного мутагенеза с помощью ПЦР. Использование ПЦР для синтеза нуклеотидных последовательностей *de novo*.

3. Форма промежуточного контроля и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

4. Вопросы для контроля знаний

1. Методы очистки РНК. Способы защиты РНК от разрушения в процессе выделения и хранения.
2. Оценка качества и количества выделенной РНК: электрофорез в агарозном геле, УФ-спектрофотометрия.
3. Механизм ПЦР. Характеристика компонентов реакционной смеси и основных стадий реакции.
4. Способы повышения эффективности и точности копирования ДНК-матрицы. Характеристика ферментов, используемых в ПЦР.
5. Способы повышения специфичности ПЦР. Влияние температуры, ионной силы, хаотропных агентов на специфичность реакции.
6. Принципы и критерии выбора олигонуклеотидных праймеров для ПЦР.
7. Использование ПЦР для анализа качества и количества ДНК в образце. Аллель-специфичная ПЦР.
8. Использование ПЦР в генной инженерии. Направленный мутагенез и синтез нуклеотидных последовательностей *de novo*.

Лабораторная работа №2
ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ. ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕКИЙ АНАЛИЗ ДНК

Составитель программы: П.В. Пантелеев

1. Пояснительная записка

1.1. Целью курса является освоение теоретических основ и получение навыков практической генной инженерии, углублённого анализа, представления научных данных и корректного оформления практических результатов экспериментов в виде письменного отчёта.

1.2. Задачи курса: ознакомить аспирантов с основными методами генной инженерии.

1.3. Трудоемкость выполнения: 8 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
12	-	2	4	6
	6			

1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практи-ческие занятия, семинары	лабора-торные работы
1	Горизонтальный электрофорез продуктов ПЦР в агарозном геле. Методы выделения и очистки фрагментов ДНК из агарозного геля.		1	2
2	Использование плазмидных векторов для прямого клонирования продуктов ПЦР (T/A-клонирование). Лигирование фрагментов ДНК. Принципы метода и факторы, влияющие на эффективность реакции.		0,5	1
3	Методы введения рекомбинантных ДНК в клетки. Использование метода электропорации для трансформации клеток *E.coli.*		0,5	1
	Всего:		2	4
	Итого:	6		

2. Перечень тем лабораторных занятий:

1. Теоретические основы и выбор оптимальных условий электрофоретического разделения молекул ДНК в агарозном геле. Особенности электрофореза нуклеиновых кислот. Гели на основе агарозы. Особенности формирования и выбор концентрации агарозы. Электрофоретические буферы. Маркеры длин ДНК. Обнаружение и оценка количества нуклеиновых кислот после электрофореза.
2. Методы выделения и очистки фрагментов ДНК из агарозного геля. Выделение ДНК с помощью колонок с силиконовой набивкой. Использование полиэтиленгликоля или легкоплавкой агарозы для выделения фрагментов ДНК из геля. Основные принципы методов.
3. Плазмидные векторы. Структурные компоненты плазмидных векторов и их функции. Использование векторов для клонирования фрагментов ДНК и ПЦР-продуктов. Использование селектируемых маркеров в генной инженерии. Системы позитивной селекции. Сине-белая селекция и принцип функционирования лактозного оперона.
4. Ферменты рестрикции и модификации нуклеиновых кислот. Применение рестриктаз типа II в генной инженерии. Лигазная реакция: принцип и оптимизация. Клонирование ДНК с

проведением лигазной реакции: лигирование по «тупым» и «липким» концам. Т/А-клонирование продуктов ПЦР. Клонирование без проведения лигазной реакции.

5. Классификация методов введения рекомбинантных ДНК в клетки. Природная и искусственная компетентность бактериальных клеток. Достоинства и недостатки метода электропорации.

3. Форма промежуточного контроля и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

4. Вопросы для контроля знаний

1. Отличия электрофоретического разделения нуклеиновых кислот от разделения других биополимеров.
2. Особенности формирования агарозного геля.
3. Выбор оптимальных условий электрофоретического разделения ДНК.
4. Техника безопасности при работе с бромистым этидием.
5. Способы выделения фрагментов ДНК из агарозного геля. Принцип очистки нуклеиновых кислот на колонках с силикагелем.
6. Основные структурные компоненты вектора для прямого клонирования продуктов ПЦР.
7. Принцип работы лактозного оперона. Позитивный и негативный контроль.
8. Система рестрикции-модификации в природе. Основные ферменты, используемые в генной инженерии.
9. Факторы, влияющие на эффективность лигазной реакции.
10. Достоинства и недостатки различных способов клонирования фрагментов ДНК.
11. Сравнение методов введения генетического метериала в бактериальные клетки.

Лабораторная работа №3

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА ПЛАЗМИДНОЙ ДНК. ПРИГОТОВЛЕНИЕ КОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК E. COLI. ХИМИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ, СЕЛЕКЦИЯ КЛОНОВ. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В E. COLI

Составитель программы: И.А. Болосов

1. Пояснительная записка

1.1. Целью курса является освоение теоретических основ и получение навыков практической генной инженерии, углублённого анализа, представления научных данных и корректного оформления практических результатов экспериментов в виде письменного отчёта.

1.2. Задачи курса: ознакомить аспирантов с основными методами генной инженерии.

1.3. Трудоемкость выполнения: 8 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
12	-	2	4	6
	6			

1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практические занятия, семинары	лабораторные работы
1	Классификация ДНК-векторов и способов их введения в клетки. Представление о компетентности клеток. Химическая		1	2

	трансформация компетентных клеток плазмидным вектором. Высев бактериальной культуры на твердую среду (в чашках Петри).			
2	Селекция и скрининг рекомбинантных клонов. Высев клонов в жидкую среду для приготовления ночной культуры.		0,5	1
3	Методы разрушения клеток и способы экстракции плазмидного вектора. Химико-ферментативный лизис ночной культуры. Роль используемых химических реагентов. Отделение плазмидной ДНК от РНК и белков методом экстракции органическими растворителями и на колонках с сорбентом.		0,5	1
	Всего:		2	4
	Итого:	6		

2. Перечень тем лабораторных занятий:

1. Знакомство с требованиями, предъявляемыми к помещениям и персоналу, занятому в работе с микроорганизмами.
2. Характеристика компонентов селективных питательных сред, используемых в генной инженерии.
3. Построение графика роста бактериальной культуры и специфика состояния клеток на разных этапах. Особенности клеток, находящихся в средне-логарифмической фазе роста. Представление о компетентности клеток. Способы получения компетентных клеток.
4. Типы ДНК-векторов и их строение. Особенности строения челночных векторов. Способы трансформации клеток. Анализ результатов экспериментов по трансформации клеточных систем (прокариотических). Поведение векторов в разных клеточных системах.
5. Способы разрушения клеток и их влияние на качество целевых продуктов – ДНК и белков. Оценка степени чистоты экстрагированных из клеток образцов. Использование ферментов в процессе лизиса клеток и оценке качества выделенной ДНК. Характеристики химических реагентов, используемых при разрушении клеток. Сорбенты, используемые для отделения ДНК от РНК и белков.

3. Форма промежуточного контроля и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

4. Вопросы для контроля знаний

1. Методы лизирования клеток.
2. Способы приготовления компетентных клеток.
3. Трансформация компетентных клеток.
4. Роль детергента при лизисе.
5. Способы определения концентрации нуклеиновых кислот.
6. Проблемы отделения плазмидной ДНК от РНК и белков.

Из представленного выше списка лабораторных работ составляются графики выполнения пратикума, соответствующего разделам теоретического курса, который изучается параллельно в том же семестре. Группа аспирантов разделяется на подгруппы по 4-5 учащихся в каждой. Каждая подгруппа за семестр должна выполнить все три лабораторные работы. В начале семестра на первом лабораторном занятии проводится вступительное занятие, на котором решаются организационные вопросы и проводится инструктаж аспирантов по технике безопасности, что фиксируется в журнале лабораторных работ. Лабораторные работы каждым аспирантом выполняются в составе подгруппы, при этом каждый аспирант самостоятельно ведёт протокол работы. Разработанные в Учебно-научном центре методические указания к

каждой лабораторной работе предоставляются аспирантам в печатном виде. После выполнения экспериментальных работ и измерений аспирант обязан представить их результаты преподавателю, ведущему лабораторные занятия, и получить его подпись. Порядок последующей обработки этих результатов и получения окончательного итога, выносимого на защиту каждой работы, описаны в методических указаниях к этой работе. Для получения зачета по каждой лабораторной работе аспирант обязан иметь протокол выполнения этой работы, надлежащим образом оформленный в рабочем журнале аспиранта, и предъявить его преподавателю для получения отметки в дневнике выполнения лабораторных работ. Для защиты выполненных лабораторных работ в расписании занятий предусматриваются отдельные часы. Защита работ может проводиться устно или путем тестирования по специально разработанному педагогическому обеспечению. Пропущенные по любой причине лабораторные работы должны быть отработаны. Для этого предусмотрены дополнительные занятия, которые назначаются преподавателем, работающим с подгруппой. Аспирант, не выполнивший и не защитивший предусмотренные графиком лабораторные работы, к экзамену по дисциплине не допускается.

VI. Контрольные работы и методическое обеспечение их проведения

Учебный план, разработанный в соответствии с ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., предусматривает промежуточный контроль знаний в форме проведения контрольных работ по дисциплине «Основы генной инженерии» с выставлением оценок в пятибалльной системе. Оценки по контрольным работам напрямую влияют на оценку итоговых аттестаций. Контрольные работы будут проводиться на практических занятиях (семинарах).

VII. Самостоятельная работа

В процессе освоения предмета предусмотрено самостоятельное изучение отдельных вопросов лекционного курса с представлением конспекта проработанного материала. Виды самостоятельной работы аспирантов:

1) проработка лекционного материала, соответствующих разделов курса по учебникам;
2) подготовка к контрольной работе;
3) проработка методических указаний к лабораторным работам в процессе подготовки к их выполнению и защите.

VIII. Требования к знаниям и умениям аспирантов

Аспиранты на качественно новом уровне, по сравнению со студенческим курсом, должны усвоить основные методам генной инженерии животных и растений.

Аспиранты учатся применять усвоенные знания непосредственно в исследовательской лаборатории.

IX. Итоговая проверка знаний

9.1. Форма итоговой проверки и оценки знаний

Учебный план по дисциплине «Основы генной инженерии», разработанный в соответствии с ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., по направленности (профилю) программы 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) предусматривает контроль знаний в форме дифференцированного зачета с выставлением оценок в пятибалльной системе.

9.2. Вопросы для дифференцированного зачета

1. Рестриктазное картирование ДНК с использованием концевой метки. Картирование с помощью двух рестриктаз.
2. Антитела обладающие каталитической активностью. Принципы получения абзимов.
3. Мутагенез с использованием олигонуклеотидов: метод Т.А. Кункеля; метод ПЦР с перекрывающимися праймерами; мегапраймеры в направленном мутагенезе.
4. Механизм ингибирующего действия антисмысловых нуклеиновых кислот: участие РНКазы Н, дезаминирование остатков аденина расплетающим ферментом; РНК-интерференция.
5. ДНК-метилазы, их использование для получения крупных рестрикционных фрагментов ДНК. ДНК-лигазы. Механизм лигирования ДНК Т4-ДНК-лигазой.
6. Количественная ПЦР (ПЦР в реальном времени). Области применения метода.
7. ДНК-зависимая ДНК-полимераза 1 *E.coli* и ее фрагмент Кленова. Их использование для введения концевой *радиоактивной* метки, «затупления» концов ДНК и ник-трансляции. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК- полимеразы.
8. Триплекс-образующие олигонуклеотиды и их использование для регуляции экспрессии генов и направленного мутагенеза.
9. Этапы клонирования ДНК. Клонирование фрагментов ДНК по сайтам рестрикции, а также с использованием адаптеров и коннекторов.
10. Два подхода к клонированию человека – репродуктивное и терапевтическое клонирование.
11. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Стандартные условия проведения ПЦР. Наиболее критические параметры реакции. Разновидности ПЦР: метод «горячего старта», ОТ-ПЦР, амплификация длинных фрагментов ДНК, методы повышения точности амплификации.
12. Принципы получения трансгенных животных. Использование эмбриональных стволовых клеток в трансгенезе.
13. Понятие вектора и его емкости. Селектируемые маркеры. Полилинкер. Функциональная классификация векторов: экспрессирующие векторы, челночные (бинарные) векторы. Особенности строения плазмидах векторов.
14. Антисмысловые РНК и олигонуклеотиды. Механизмы ингибирующего действия на экспрессию генов. Области применения этой технологии.
15. Векторы на основе хромосомы фага λ. Их использование для получения клонотек нуклеотидных последовательностей.
16. Генный нокаут. Исследование функций генов и моделирование наследственных заболеваний с помощью генного нокаута.
17. Рестриктазные карты и их построение. Гибридизация по Саузерну. Концепция STS-маркеров. Контиги. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей. Электронная ПЦР.
18. Ретровирусные векторы. Принципы адресной доставки трансгенов. Управление экспрессией трансгенов в клетках-мишенях.
19. Космиды и фазмиды в качестве векторов. Их емкость. Области применения в генной инженерии.
20. Стратегии выделения новых генов и оптимизации их экспрессии.
21. Клонотеки кДНК, генов и нуклеотидных последовательностей. Их репрезентативность Способы введения ДНК в клетки: трансформация, трансфекция, электропорация.
22. Олигонуклеотидные аптамеры. Их получение и применение.
23. Методы отбора последовательностей из клонотек ДНК. Гибридизация с зондами. Использование ПЦР. Использование антител и функциональные тесты.
24. Исследование экспрессии генов. Нозерн-блоттинг. Защита мРНК от действия РНКаз Анализ регуляторных последовательностей ДНК. Футпринтинг в исследовании ДНК-белковых взаимодействий.
25. Сверхъемкие векторы YAC, BAC и PAC. Их использование для получения клонотек геномной ДНК.

26. Рестриктазы. Их номенклатура и классификация. Рестриктазы II типа – основной инструмент генной инженерии. Формы разрывов двухцепочечных ДНК возникающих под действием рестриктаз. Изошизомеры. Изменение субстратной специфичности рестриктаз в неоптимальных условиях.
27. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), их использование для получения кДНК. Клонотеки кДНК.
28. Причины низкой эффективности клонирования животных.
29. Предмет и задачи генной инженерии. Основоположники генной инженерии В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, У. Гилберт, Ф. Сэнгер.
30. Два подхода к анализу дифференциальной экспрессии генов на уровне транскрипции при использованием микрочиповых технологий.
31. Денатурация и ренатурация ДНК. Температура плавления. Кинетика плавления и кривые плавления ДНК. Гибридизация. Гибридизация по Саузерну и Северный блоттинг.
32. Основные этапы получения трансгенных растений.
33. Методы выделения ДНК и РНК.
34. Способы введения трансгенов клетки растений. Особенности трансформации протопластов.
35. Сравнение популяций мРНК методом серийного анализа экспрессии генов (SAGE).
36. Использование агробактерий и Ti-плазмид для получения трансгенных растений.
37. Секвенирование ДНК по методу Сэнгера.
38. Принципы высокопроизводительного параллельного секвенирования ДНК.
39. Системы секвенирования ДНК второго поколения. Создание молекулярных клонов секвенируемой ДНК: полимеразные колонии и кластеры на твердой подложке.
40. Системы секвенирования ДНК третьего поколения: секвенирование отдельных молекул ДНК.
41. Пиросеквенирование. Секвенирование лигированием. Обратимые терминаторы синтеза ДНК и особенности их структуры.
42. Три типа векторов, используемых при агробактериальной трансформации клеток растений: «обезоруженная» Т-ДНК, коинтеграты Ti-плазмид и бинарные векторы.
43. Трансформация хлоропластов для получения трансгенных (трансплантомных) растений. Мультигенная инженерия.
44. Дифференциальный дисплей и его использование для сравнения популяций мРНК.
45. Анализ репрезентативных различий в мРНК (метод RDA).
46. Гибридомы и получение с их помощью моноклональных антител. «Очеловеченные» животные.
47. Методы введения в ДНК случайных мутаций. ДНК-шаффлинг.
48. Биолюминесценция в природе. Зеленый флуоресцирующий белок и его аналоги.

X. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

10.1. Рекомендуемая литература для освоения теоретического курса

Основная литература

1. Л.И. Патрушев. Экспрессия генов. М. Наука, 2000.
2. Л.И. Патрушев. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. М. Наука. 2004.
3. С.Н. Щелкунов. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2010.
4. Свердлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома: В 3т.Очерки структурной молекулярной генетики. Т. 1. М. Наука. 2009.
5. И.Ф. Жимулев. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2003.
6. Dale J.W., von Schantz M. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology. 2002 John Wiley & Sons, Ltd.

7. Primrose S.B, Twyman R.M., Old R.W. Principles of Gene Manipulation: Sixth Edition.

Дополнительная литература

1. Genetic Engineering: Principles and Methods (J.K. Setlow ed.) Vol. 1 – Vol. 28. Springer.
2. Functional Nucleic Acids for Analytical Applications (Y. Li, Y. Lu Eds.) Springer, 2009.
3. From Nucleic Acids Sequences to Molecular Medicine (V.A. Erdmann, J. Barciszewski Eds) Springer, 2012.
4. Giacca M. Gene Therapy. Springer, 2011

10.2. Рекомендуемая литература для подготовки к лабораторным работам

Основная литература

1. Л.И. Патрушев. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. – М., Наука, 2004.
2. С.Н. Щелкунов. Генетическая инженерия. – Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2004.
3. Современная микробиология под ред. И.Ленгнлера, Г.Древса и Г.Шлегеля, Т.1, Т.2, М., Мир, 2005.
4. С.Примроуз, Р.Тваймен. Геномика. М., Бином лаборатория знаний, 2008.
5. У.Хартман. Очарования нанотехнологии (Faszination Nanotechnoloqy), М., Бином лаборатория знаний, 2008.

Дополнительная литература

1. Ю.А. Овчинников. Биоорганическая химия. М., Просвещение, 1987.
2. Molecular cloning: a laboratory manual / J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis –New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989
3. PCR Primer: A Laboratory Manual, 2nd Edition / C. Dieffenbach and G. Dveksler, ed. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2003.
4. PCR Cloning Protocols, 2nd edition / Bing-Yuan Chen and Harry W. James, ed. // Methods in Molecular Biology, Vol. 192. - Totowa, NJ: Humana Press, 2002.