

**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 № 9 от «02» ноября 2022г.

Ученый секретарь

д.ф.-м.н. В.А.Олейников
от «02» ноября 2022г.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ИБХ РАН

академик А.Г.Габибов
от «02» ноября 2022г.

**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ
«ОСНОВЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ»**

**Шифр и наименование
группы научных специальностей:**

1.5. Биологические науки

1.4. Химические науки

Уровень высшего образования: подготовка научных
и научно-педагогических кадров в аспирантуре

Форма обучения: очная

Рабочая программа разработана в соответствии с федеральными государственными требованиями к структуре программ в аспирантуре (Приказ Минобрнауки России от 20.10.2021 г. № 951), утвержденным Учебным планом аспирантов на основании решения Учёного совета (Протокол № 9 от 02.11.2022 г.).

1. Краткая аннотация

Генная инженерия или технология рекомбинантных ДНК - изменение с помощью биохимических и генетических методик хромосомного материала - основного наследственного вещества клеток. Биотехнологи изолируют те или иные участки ДНК, соединяют их в новых комбинациях и переносят из одной клетки в другую. В результате удастся осуществить такие изменения генома, которые естественным путем вряд ли могли бы возникнуть. Дисциплина предназначена для рассмотрения и усвоения принципов и основных методов генной инженерии.

2. Объем программы и виды учебной работы

Объем программы составляет 36 академических часов (1 зачётная единица).

Лекционно/семинарские занятия могут проводиться в очной форме или в формате онлайн на платформе Zoom.

3. Распределение аудиторных часов по темам и видам учебной работы:

№	Наименование тем дисциплины	Количество аудиторных часов, в том числе:			Самостоятельная работа (час)	Контроль (час)
		лекции	практические занятия (семинары)	Лабораторные работы		
1	Предмет и задачи генной инженерии. Генная инженерия в современной жизни. Генная инженерия в лаборатории. Генно-инженерное клонирование. ПЦР. Использование ПЦР в генной инженерии.	2				
2	Экспрессия белков в дрожжевой системе.	2			4	
3	Векторы – молекулярно-генетические конструкции. Маркерные последовательности. Селективные маркерные гены.	2			4	
4	Биосинтез белка. Создание конструкций для экспрессии рекомбинантного антитела.	2			4	
5	Ретровирусные векторы. Способы интеграции гена в клетки растений.	2			4	
6	Геномные библиотеки.	2			4	
	Всего часов	12			20	4

4. Итоговый контроль

Зачёт проводится в виде сданного реферата на тему, предложенную в программе. Реферат проверяется на оригинальность в системе «Антиплагиат». Оригинальность содержательной части должна составлять не менее 75%.

Форма контроля	Индикаторы	Итоговый результат
Зачёт	Реферат полно и исчерпывающе раскрывает тему. Аспирант демонстрирует уверенные знания теории. Реферат раскрывает тему, но есть незначительные замечания, несущественные неточности. Реферат не в полной мере раскрывает тему, есть существенные замечания. Имеются существенные неточности.	зачёт
	Реферат частично (в существенной его части) или полностью не раскрывает тему.	незачёт

5. Темы рефератов

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 H, дезаминирование остатков аденина расплетающим ферментом; РНК-интерференция.
5. ДНК-метиلاзы, 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.

12. Наиболее критические параметры реакции. Разновидности ПЦР: метод «горячего старта», ОТ-ПЦР, амплификация длинных фрагментов ДНК, методы повышения точности амплификации.
13. Принципы получения трансгенных животных. Использование эмбриональных стволовых клеток в трансгенезе.
14. Понятие вектора и его емкости. Селектируемые маркеры. Полилинкер. Функциональная классификация векторов: экспрессирующие векторы, челночные (бинарные) векторы. Особенности строения плазмид векторов.
15. Антисмысловые РНК и олигонуклеотиды. Механизмы ингибирующего действия на экспрессию генов. Области применения этой технологии.
16. Векторы на основе хромосомы фага λ . Их использование для получения клонотек нуклеотидных последовательностей.
17. Генный нокаут. Исследование функций генов и моделирование наследственных заболеваний с помощью генного нокаута.
18. Рестриктазные карты и их построение. Гибридизация по Саузерну. Концепция STS маркеров. Континги. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей. Электронная ПЦР.
19. Ретровирусные векторы. Принципы адресной доставки трансгенов. Управление экспрессией трансгенов в клетках-мишенях.
20. Космиды и фазмиды в качестве векторов. Их емкость, области применения в генной инженерии.
21. Стратегии выделения новых генов и оптимизации их экспрессии.
22. Клонотеки к ДНК, генов и нуклеотидных последовательностей. Их репрезентативность. Способы введения ДНК в клетки: трансформация, трансфекция, электропорация.
23. Олигонуклеотидные аптамеры. Их получение и применение.
24. Методы отбора последовательностей из клонотек ДНК. Гибридизация с зондами. Использование ПЦР. Использование антител и функциональные тесты.
25. Исследование экспрессии генов. Нозерн-блоттинг. Защита мРНК от действия РНКаз. Анализ регуляторных последовательностей ДНК. Футпринтинг в исследовании ДНК белковых взаимодействий.
26. Сверхъемкие векторы YAC, BAC и PAC. Их использование для получения клоновой геномной ДНК.
27. 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.
28. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), их использование для получения кДНК. Клонотеки кДНК.
29. Причины низкой эффективности клонирования животных.
30. Предмет и задачи генной инженерии. Основоположники генной инженерии В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, У. Гилберт, Ф. Сэнгер.
31. Два подхода к анализу дифференциальной экспрессии генов на уровне транскрипции при использовании микрочиповых технологий.
32. Денатурация и ренатурация ДНК. Температура плавления. Кинетика плавления и кривые плавления ДНК. Гибридизация. Гибридизация по Саузерну и Северный блоттинг.
33. Основные этапы получения трансгенных растений.
34. Методы выделения ДНК и РНК.

35. Способы введения трансгенов клетки растений. Особенности трансформации протопластов.
36. Сравнение популяций мРНК методом серийного анализа экспрессии генов (SAGE).
37. Использование агробактерий и Ti-плазмид для получения трансгенных растений.
38. Секвенирование ДНК по методу Сэнгера.
39. Принципы высокопроизводительного параллельного секвенирования ДНК.
40. Системы секвенирования ДНК второго поколения. Создание молекулярных клонов секвенируемой ДНК: полимеразные колонии и кластеры на твердой подложке.
41. Системы секвенирования ДНК третьего поколения: секвенирование отдельных молекул ДНК.
42. Пиросеквенирование. Секвенирование лигированием. Обратимые терминаторы синтеза ДНК и особенности их структуры.
43. Три типа векторов, используемых при агробактериальной трансформации клеток растений: «обезоруженная» Т-ДНК, коинтеграаты Ti-плазмид и бинарные векторы.
44. Трансформация хлоропластов для получения трансгенных (трансплантомных) растений. Мультигенная инженерия.
45. Дифференциальный дисплей и его использование для сравнения популяций мРНК.
46. Анализ репрезентативных различий в мРНК (метод RDA).
47. Гибридомы и получение с их помощью моноклональных антител. «Очеловеченные» животные.
48. Методы введения в ДНК случайных мутаций. ДНК-шаффлинг.
49. Биолюминесценция в природе. Зеленый флуоресцирующий белок и его аналоги.

6. Литература

1. Кребс Д., К. Стивен, Г.Эллиот. Гены по Льюису. Издательство Лаборатория знаний. М. 2022.
2. Албертс Б., Брей Д. et.al. Основы молекулярная биология клетки. М., Лаборатория знаний. 2018.
3. Jones M. The invention of recombinant DNA technology. Berg, Boyer, Cohen. Life sciences at Chemical Heritage Foundation 2015.
4. Doogab Yi. The Recombinant university: genetic engineering and the emergence of Stanford biotechnology. University of Chicago Press, 2015. 304 p.
5. Regalado A. The World's most expensive medicine is a bust. MIT Technology Review. 2016.
6. Heidi Ledford. Broad Institute wins bitter battle over CRISPR patents. Nature. 542, 401-401. 2017.
7. McDivitt P. Green technology: Disease-resistant GMO tomato that could eliminate need for copper pesticides, double yields—blocked by public fears. Genetic Literacy Project. 2017.
8. Genetic Engineering: Principles and Methods (J.K. Setlow ed.) Vol. 1 – Vol. 28. Springer. Functional Nucleic Acids for Analytical Applications (Y. Li, Y. Lu Eds.) Springer, 2009.
9. From Nucleic Acids Sequences to Molecular Medicine (V.A. Erdmann, J. Barciszewski Eds) Springer, 2012.

10. Giacca M. Gene Therapy. Springer, 2011.

7. Программное обеспечение

- Microsoft Office Professional Plus 2010 / Из внутренней сети ИБХ РАН
- Microsoft Windows 7 Professional RUS / Из внутренней сети ИБХ РАН
- Mozilla Firefox / Свободное лицензионное соглашение

8. Профессиональные базы данных, информационные справочные системы, интернет-ресурсы (электронные образовательные ресурсы)

- Consultant Plus
- Garant system
- Библиотека ИБХ РАН

9. Материально-техническое обеспечение дисциплины - типы аудиторий, оснащение аудиторий

- Персональный компьютер
- Набор демонстрационного оборудования

Может включать в себя: мультимедийный проектор, проекционный экран, доску, презентационный ноутбук и другие средства демонстрации учебного контента. Допускается использование для проведения занятий переносного набора демонстрационного оборудования.

- Доска
- Экран
- Специализированная мебель
- Наличие беспроводного доступа в Интернет по сети Wi-Fi