


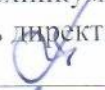
**Министерство образования Республики Мордовия  
ГБПОУ РМ «Краснослободский аграрный техникум»**

Утверждаю:  
Директор ГБПОУ РМ  
«Краснослободский аграрный техникум»  
В.М.Владимиров  
« 31 » 08 2021 г.

**Программа профессионального обучения**

**Геномная инженерия**

Рассмотрена и одобрена  
на заседании предметной (цикловой)  
комиссии агрономических  
дисциплин  
Председатель  С.Н. Пильшиков  
Протокол № 1 от «31» 08 2021 г.

Рекомендована Методическим советом  
ГБПОУ РМ «Краснослободский  
аграрный техникум»  
Заместитель директора по учебной работе  
 Т.В.Шитова  
Протокол № 1 от «31» 08 2021 г.

## Программа профессионального обучения

### Геномная инженерия

Разработчик: Шмырева Н.Н. преподаватель ГБПОУ РМ  
«Краснослободский аграрный техникум»

## 1. ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

### Цель курса

Изучить современную концепцию генной инженерии как междисциплинарного комплекса знаний, связывающего воедино основные положения молекулярной биологии и генетики микроорганизмов.

### Задачи курса

Получение фундаментальных знаний о структурно-функциональной организации геномов различных микроорганизмов, о принципах, методологии и достижениях генетической инженерии в разных областях современной биологической науки и практическом применении результатов генно-инженерных исследований в биотехнологии, сельском хозяйстве, фармакологии.

### Место курса в процессе подготовки специалиста

Курс относится к специальным естественнонаучным дисциплинам. В качестве теоретической дисциплины он дает уникальный вклад не только в изучение структурно-функциональной организации геномов различных организмов, но и в изучение методологии создания уникальных штаммов-продуцентов биологически активных белков человека и животных, трансгенных растений и животных. Методология генетической инженерии постоянно совершенствуется, и все больше исследователей использует ее достижения при решении самых разных задач биологической науки, поэтому очень важно и актуально специалистам-микробиологам овладеть теоретическими знаниями этой бурно развивающейся отрасли знаний.

## 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСОВ ПО ТЕМАМ И ВИДАМ РАБОТ

№	Темы, разделы	Всего часов	Виды подготовки		Самост. работа	
			Лекции	Практические занятия	Самост. работа студентов	КСР
1	Введение. Генная инженерия: предмет, цели и задачи.	4	2	-	2	-
2	Тема 1. Ферменты генной инженерии	4	2	-	2	-
3	Тема 2. Методы генной инженерии	9	4	-	4	1
4	Тема 3. Векторная система грамотрицательной бактерии <i>Escherichia coli</i> .	8	3	-	5	-
5	Тема 4. Генно-инженерная система грамположительных бактерий рода <i>Bacillus</i> .	9	5	-	4	-
6	Тема 5. Клонирование эукариотических генов в клетках прокариот.	6	2	-	3	1
ВСЕГО		40	18	-	20	2

### 3.2 Темы семинарских занятий

Семинарских занятий по данному курсу не предусмотрено

### 3.3 Тематика заданий для самостоятельной работы

Углубление знаний по курсу осуществляется за счет организации самостоятельной работы студентов по разделам, установленным программой дисциплины.

1. Механизмы репликации плазмид. Плазмиды со строгим и ослабленным контролем репликации. Плазмидные гены устойчивости к лекарственным препаратам.
2. Несовместимость плазмид. Плазмиды с узким и широким кругом хозяев.
3. Плазмидные векторы для клонирования в клетках других грам-отрицательных бактерий.
4. Перенос рекомбинантных плазмид из клеток *E.coli* в клетки других бактерий с помощью мобилизации конъюгативными плазмидами.
5. Емкость векторов. Стратегия клонирования в фаговых векторах. Методы селекции против нерекомбинантных родительских фагов.
6. Векторы для отбора промоторов.
7. Прокариотические векторы экспрессии; их структурная организация.
8. Векторы секреции и их структурная организация.
9. Использование различных векторов для секвенирования ДНК, сайт-направленного мутагенеза и картирования геномов.
10. Стратегия создания библиотек генов: выбор вектора клонирования, выбор рестриктазы для фрагментирования геномной ДНК, условия гидролиза геномной ДНК, фракционирование фрагментов ДНК по размерам.
11. Клонирование сверхкрупных фрагментов ДНК в векторах на основе искусственных хромосом дрожжей (YAC).
12. Клонирование с инсерционной инактивацией.
13. Ген *lacZ E.coli* как маркер при клонировании: комплементация дефектных генов  $\beta$ -галактозидазы.
14. Методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот. Принципы гибридизации нуклеиновых кислот. Гибридизация нуклеиновых кислот в смешанных фазах.
15. Способы введения метки в нуклеиновые кислоты. Радиоактивные и нерадиоактивные метки. Методы детекции нуклеиновых кислот.
16. Иммунологические методы анализа рекомбинантных клонов.

### 3.4 Примерный список вопросов к зачету

1. Сформулируйте основные этапы типичного эксперимента по получению и клонированию рекомбинантных молекул ДНК.
2. Опишите методы селекции клонов, содержащих вставку нужной длины. Виды селективных маркеров для селекции, принципы их использования.
3. Укажите две ферментативные активности, которыми обладают RM-системы, и две основные функции, которые они выполняют в клетках бактерий.
4. Укажите, какой из методов конструирования гибридных ДНК *in vitro* был использован для:
  - а) конструирования клонирующих векторов на основе фага лямбда
  - б) конструирования космид
  - в) конструирования искусственных бактериальных хромосом
5. Укажите причины проявления природной амплификации генов в клетках грамположительных бактерий.
6. Укажите принципиальные отличия при создании и клонировании молекулярных векторов для грамотрицательных и грамположительных бактерий.

7. Какие процессы функционирования бактериальных клеток изучают с помощью генно-инженерных систем грамположительных бактерий?
8. Укажите все методы плазмидной трансформации клеток прокариот.
9. Укажите условия, при которых возможна экспрессия чужеродных генов в клетках *E.coli*.
10. Какие факторы обеспечивают правильную экспрессию клонированных эукариотических генов в клетках бактерий.
11. Нарисуйте схему случайного введения линкерной молекулы в молекулу кольцевой плазмидной ДНК.
12. Определите факторы, позволившие успешно конструировать штаммы-продуценты первичных метаболитов, таких как аминокислоты и витамины, на основе *E.coli*.
13. Сформулируйте основу методического подхода клонирования эукариотических генов, имеющих экзон-интронную структуру.

#### 4. ФОРМЫ ПРОМЕЖУТОЧНОГО И ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ:

Цель контроля: определение уровня подготовки студентов по дисциплине.

Виды контроля: промежуточный и итоговый.

В ходе *текущего контроля* оценивается качество освоения студентами содержания конкретных разделов дисциплины. Для этого используется форма текущей аттестации: устный опрос.

*Итоговый контроль* - зачет. К зачету допускаются студенты, выполнившие в полном объеме аудиторную нагрузку, самостоятельную работу и успешно ответившие на вопросы текущей аттестации.

Студенты, имеющие задолженность, должны выполнить все обязательные виды деятельности, и только затем допускаются к сдаче зачета.

Критерии оценки: ответ полный, раскрывающий историю рассматриваемой проблемы, основных авторов проблемы, теоретические положения проблемы, пути их решения.

*Формально:* оценивается достижение целей образовательного стандарта высшего профессионального образования и соответствия фактического уровня развития личности профессионала проектируемому.

#### 5. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КУРСА

Интернет-источники

1. <http://molbiol.ru/> - Интернет-территория для тех, кто профессионально связан с биологией или молекулярной биологией. Профсоюзное место встречи, которое наполняется и поддерживается русскоязычным биологическим сообществом.
2. <http://www.biotechnolog.ru/> - Сайт в формате учебника по биотехнологии, включающий раздел по генной инженерии.
3. <http://window.edu.ru/> - Единое окно доступа к образовательным ресурсам, включает каталог ресурсов для высшей и средней школ.
4. <http://elibrary.ru/defaultx.asp> - Научная электронная библиотека, крупнейший российский информационный портал в области науки, технологии, медицины и образования, содержащий рефераты и полные тексты более 12 млн научных статей и публикаций.
5. <http://tusearch.blogspot.com> - Поиск электронных книг, публикаций, законов, ГОСТов на сайтах научных электронных библиотек. В поисковике отобраны

лучшие библиотеки, в большинстве которых можно скачать материалы в полном объеме без регистрации.

### Оборудование

- а) Для лекционных занятий используется мультимедийный проектор;
- б) При выполнении заданий самостоятельной работы студенты могут пользоваться компьютерным классом

### Материалы

- а) презентации к лекциям;
- б) рабочая программа дисциплины;
- в) контрольные задания и темы рефератов для текущей аттестации и СРС

### ЛИТЕРАТУРА

- 1.Егорова, Т. А. Основы биотехнологии :учебное пособие для студентов вузов по специальности "Биология" / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. - Москва: АCADEMIA, 2013. - 208 с.
- 2.Емцев, В. Т. Микробиология: учебник для вузов / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. - 6-е изд., испр. - Москва: Дрофа, 2016. – 444 с.
- 3.Миронова Л.Н., Падкина М.В., Самбук Е.В. РНК: синтез и функции. Учебное пособие. СПб.: Эко-вектор, 2017. – 287 с.
- 4.Мустафин А.Г., Захаров В.Б. Биология. – М.: 2016. – 424 с.
- 5.Наквасина, М. А. Бионанотехнологии: достижения, проблемы, перспективы развития: учебное пособие / В. Г. Артюхов, Министерство образования и науки РФ, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет», М.А. Наквасина. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2015. – 152 с.
- 6.Нетрусов, А.И.Микробиология: учебник для вузов по направлению подготовки бакалавра "Биология" и биологическим специальностям / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. - 2-е изд., стер. - Москва: Академия, 2007. - 350 с.
- 7.Основы клеточной и генетической инженерии: методические указания по изучению дисциплины «Биотехнология в животноводстве» / С.П. Басс. – Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2011. – 44 с.

Кроме этого, студентам рекомендуется изучение периодических научных изданий: «Биотехнология», «Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии», «Известия РАН.Серия биологическая», «Микробиология», «Молекулярная биология», «Прикладная биохимия и микробиология».

### 3. СОДЕРЖАНИЕ ПРОГРАММЫ

#### 3.1 Общее (по всем темам)

##### **Введение. Генная инженерия: предмет, цели и задачи.**

Генная инженерия – раздел молекулярной генетики, связанный с целенаправленным созданием новых комбинаций генетического материала. Исторические предпосылки и основные достижения, предопределившие возникновение и быстрое развитие генной инженерии. Основные принципы, на которых базируется генно-инженерная технология. Основные этапы развития генной инженерии. Современная стратегия генной инженерии. Схема типичного эксперимента по получению и клонированию рекомбинантных молекул ДНК. Использование методологии генной инженерии при решении задач различных областей биологии. Генно-инженерная биотехнология. Использование достижений генной инженерии в сельском хозяйстве и медицине. Проблемы безопасности при работе с рекомбинантными ДНК и при создании трансгенных организмов. Этические проблемы клонирования животных и человека.

##### **Тема 1. Ферменты генной инженерии**

ДНК – основная целевая молекула в генно-инженерных исследованиях. Закономерности строения и свойства ДНК. Ферменты, используемые в генетической инженерии, модифицирующие ДНК.

Рестрикционные эндонуклеазы. Классификация и номенклатура рестриктаз. Специфичность рестриктаз. Использование рестриктаз для конструирования рекомбинантных молекул *in vitro*. Сайты рестрикции как генетические маркеры. Использование рестриктаз для физического картирования, анализа полиморфизма ДНК, штаммоспецифической характеристики вирусов и бактерий, идентификации плазмид. Использование сайтов рестрикции в качестве точек отсчета при секвенировании. ДНК- и РНК-лигазы фага Т4. ДНК-полимеразы из различных источников; их свойства и применение. ДНК-полимераза I из *E. coli*. Фрагмент Кленова ДНК-полимеразы I. ДНК-полимераза фага Т4. Термостабильные ДНК-полимеразы. Обратные транскриптазы (РНК-зависимые ДНК-полимеразы). Поли (А)-полимеразы. Дезоксирибонуклеазы. Нуклеаза Bal31. Рибонуклеазы. Рибонуклеаза H. Терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза. Полинуклеотидкиназа фага Т4. Терминаза фага λ. Щелочные фосфатазы. Топоизомеразы.

##### **Тема 2. Методы генной инженерии**

Методы конструирования гибридных ДНК *in vitro*. Векторные молекулы ДНК. Методы введения гибридных ДНК в клетки. Особенности трансформации у разных видов бактерий. Методы отбора гибридных клонов. Методы расшифровки нуклеотидной последовательности ДНК. Амплификация последовательностей ДНК *in vitro*.

##### **Тема 3. Векторная система грамотрицательной бактерии *Escherichia coli*.**

Строение клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Сферопласты и компетентные клетки. Плазмида pSC101 – первая векторная плазмида. Свойства плазмиды ColE1 и векторов на ее основе (серии векторов pBR и pUC). Векторы внедрения и векторы замещения. Векторы на основе фага лямбда. Космидные вектора. Библиотеки и энциклопедии генов.

##### **Тема 4. Генно-инженерная система грамположительных бактерий рода *Bacillus*.**

Строение клеточной стенки грамположительных бактерий. Модели трансформации компетентных клеток *B. subtilis*. Природная амплификация генов грамположительных бактерий. Свойства интегративных векторов грамположительных бактерий.

##### **Тема 5. Клонирование эукариотических генов в клетках прокариот.**

Сходства и различия транскрипционного и трансляционного аппарата прокариот и эукариот. Факторы, обеспечивающие правильную трансляцию эукариотических генов в клетках прокариот.