Министерство просвещения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Ульяновский государственный педагогический университет
имени И.Н. Ульянова»
(ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова»)

Факультет естественно-географический
Кафедра биологии и химии

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН
ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ

Сертификат: 0233C9D60038B01A9E48C1A3FBB4A9D9F6
Владелец: Титов Сергей Николаевич
Действителен: с 07.07.2023 до 28.04.2038

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебно-методической
работе С.Н. Титов

ОСНОВЫ БЕЛКОВОЙ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Программа учебной дисциплины профильно-ориентируемого модуля

основной профессиональной образовательной программы высшего образования
– программы магистратуры по направлению подготовки
06.04.01. Биология

направленность (профиль) образовательной программы
Биотехнология с основами нанотехнологий

(очная форма обучения)

Составитель: Антонова Е.И., д.б.н., профессор
кафедры биологии и химии

Рассмотрено и одобрено на заседании ученого совета естественно-географического факультета , протокол от «31» мая 2023 г. №6

Ульяновск, 2023

Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина «Основы белковой и генетической инженерии» относится к дисциплинам обязательной части Блока 1. Дисциплины (модули) Профильно-ориентируемого модуля учебного плана основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы магистратуры по направлению подготовки 06.04.01 Биология, направленность (профиль) образовательной программы «Биотехнология с основами нанотехнологий», очной формы обучения.

Дисциплина опирается на результаты обучения, сформированные в рамках школьного курса «Биология» или соответствующих дисциплин среднего профессионального и высшего (уровень бакалавриата) образования, а также ряда дисциплин учебного плана, изученных обучающимися в 1 и 2 семестрах.

Результаты изучения дисциплины являются основой для подготовки к сдаче и сдача государственного экзамена и подготовки к защите и защита ВКР.

1. Перечень планируемых результатов обучения (образовательных результатов) по дисциплине

Целью освоения дисциплины «Основы генетической и белковой инженерии» является подготовка магистранта к будущей профессиональной деятельности. Дисциплина предназначена сформировать у магистрантов представления о современных подходах, методологии, направлениях развития биотехнологии, связи биотехнологии с другими дисциплинами.

Задачей освоения дисциплины является формирование у магистранта целостного представления о биотехнологии и современных информационных компьютерных технологиях в решении задач биотехнологии.

В результате освоения программы магистратуры обучающийся должен овладеть следующими результатами обучения по дисциплине «Основы генетической и белковой инженерии» (в таблице представлено соотнесение образовательных результатов обучения по дисциплине с индикаторами достижения компетенций):

Компетенция и индикаторы ее достижения в дисциплине	Образовательные результаты дисциплины (этапы формирования дисциплины)		
	знает	умеет	владеет
УК-2. Способен управлять проектом на всех этапах его жизненного цикла			
УК 2.1. Выстраивает этапы работы над проектом с учетом последовательности их реализации, определяет этапы жизненного цикла проекта.		**ОР-1**- умеет определять этапы жизненного цикла проекта	
УК 2.2. Определяет проблему, на решение которой направлен проект, грамотно формулирует цель проекта. Определяет исполнителей проекта.		**ОР-2** определяет проблему проекта	
УК 2.3. Проектирует		**ОР-3** определяет	

решение конкретных задач проекта, выбирая оптимальный способ их решения, исходя из действующих правовых норм и имеющихся ресурсов и ограничений.		задачи проекта	
УК 2.4. Качественно решает конкретные задачи (исследования, проекта, деятельности) за установленное время. Оценивает риски и результаты проекта.		**ОР-4** умеет оценивать риски проекта	
УК 2.5 Публично представляет результаты проекта, вступает в обсуждение хода и результатов проекта.			**ОР-5** владеет навыками представления проекта
ОПК-5. Способен участвовать в создании и реализации новых технологий в сфере профессиональной деятельности и контроле их экологической безопасности с использованием живых объектов.			
ОПК 5.1. Знает теоретические основы и практический опыт использования различных биологических объектов в промышленных биотехнологических процессах.	**ОР-6** знает способы использования биологических объектов в промышленных биотехнологических процессах.		
ОПК 5.2. Умеет применять критерии оценки эффективности биотехнологических процессов в различных сферах деятельности.		**ОР-7** применяет оценки эффективности биотехнологических процессов	
ОПК 5.3. Владеет опытом работы с перспективными для биотехнологических процессов живыми объектами, в соответствии с			**ОР-8** Владеет опытом работы с перспективными для биотехнологических процессов живыми объектами,

направленностью программы магистратуры.			

2. Объем дисциплины в зачетных единицах с указанием количества академических часов, выделенных на контактную работу обучающихся с преподавателем (по видам учебных занятий) и на самостоятельную работу обучающихся

Номер семестра	Учебные занятия						Форма промежуточной аттестации
	Всего		Лекции, час	Практические занятия, час	Лабораторные занятия, час	Самостоят. работа, час	
	Трудоемк.						
	Зач. ед.	Часы					
3	3	108	4	20		57	экзамен
Итого:	3	108	4	20		57	экзамен

3. Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

3.1. Указание тем (разделов) и отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

Наименование раздела и тем	Количество часов по формам организации обучения			
	Лекционные занятия	Практические занятия	Лабораторные занятия	Самостоятельная работа
3 семестр				
Тема 1. Предмет генетической и белковой инженерии	1	2		11
Тема 2. Молекулярная организация и функционирование генома	1	6		11
Тема 3. Методы генетической и белковой инженерии	1	8		14
Тема 4. Прикладное значение генетической и белковой инженерии	1	4		21
Всего по дисциплине:	**4**	**20**		**57**

3.2. Краткое описание содержания тем (разделов) дисциплины

Краткое содержание курса

Тема 1. Предмет генетической и белковой инженерии

Генная инженерия – одно из прикладных направлений генетических исследований для получения рекомбинантных генов, введения их в живые организмы с практическим применением в медицине, сельском хозяйстве, а также для научных исследований. Вклад В. Арбера, Д. Натанса, Х. Смита, П. Берга, У. Гилберта и Ф. Сэнгера в развитии методов генной инженерии и молекулярной биологии. Создание генетически модифицированных организмов и изучение их свойств. Белковая инженерия: основные подходы, достижения и перспективы.

Законодательство, регулирующее деятельность в области генетической и белковой инженерии.

Тема 2. Молекулярная организация и функционирование генома

Строение нуклеиновых кислот, их функции и значение. ДНК и РНК – носители генетической информации. Химическое строение и физические свойства нуклеиновых кислот. Пространственная структура ДНК и РНК, изменение под влиянием различных условий. Значение нуклеиновых кислот для живых организмов.

Природа гена. Эволюция представлений о гене. Молекулярные механизмы реализации наследственной информации. Транскрипция. Мир РНК в клетке. Обратная транскрипция, ревертаза. Генетический контроль и регуляция генной активности у прокариотических и эукариотических организмов. Трансляция. Основные свойства генетического кода. Структура и свойства транспортных РНК. Структура рибосом и их функция в белковом синтезе. Инициация и терминация белкового синтеза. Функциональные границы гена. Искусственный синтез генов. Особенности молекулярно-генетических процессов у высших организмов. Некоторые тенденции в эволюции гена.

Картирование генов. Изучение функций генов. Регуляция работы генома и экспрессии генов.

Тема 3. Методы генетической и белковой инженерии

Ферменты, использующиеся в генетической инженерии. Особенности работы в лаборатории молекулярной генетике.

Методы выделения и очистки нуклеиновых кислот. Основные методы выделения ДНК и РНК: фенол-хлороформная экстракция, осаждение с использованием оксида кремния на колонках, использование магнитных частиц для выделения ДНК. Особенности выделения ДНК из растительных, животных организмов и бактерий, протоколы выделения. Электрофоретическое разделение нуклеиновых кислот: гель-электрофорез, капиллярный электрофорез. Хроматографическое разделение нуклеиновых кислот.

Методы получения кДНК и их клонирования. Ферменты рестрикции и модификации и их значение в генной инженерии. Полимеразная цепная реакция как метод амплификации нуклеиновых кислот, условия протекания реакции, её этапы и компоненты. Выбор генов для клонирования, подбор праймеров. Виды полимеразной цепной реакции: вложенная ПЦР, ПЦР в режиме реального времени, аллель-специфичная ПЦР, хот-старт ПЦР.

Методы получения рекомбинантных ДНК и способы введения в клетки. Использование рестриктаз, лигаз и транскриптаз для получения рекомбинантных ДНК. Понятие векторов и их использование в генной инженерии. Линкеры и адаптеры. Плазмидные, космидные и фагмидные векторы. Трансформация компетентных клеток для введения плазмидных векторов, тепловой шок и электропорация.

Методы изучения экспрессии рекомбинантных генов. Клетки бактерий и дрожжей как системы для изучения экспрессии рекомбинантных генов. Культуры клеток как экспрессирующие системы. Визуализация продуктов экспрессии генов.

Моделирование молекулярно-генетических конструкций.

Способы получения ферментов и белков с заданными свойствами.

Производство вакцинных препаратов.

Тема 4. Прикладное значение генетической и белковой инженерии

Генетически модифицированные организмы, их создание и использование в научных исследованиях и хозяйственной деятельности. Генная инженерия бактерий, животных и растений, особенности и достижения. Использование методов генной инженерии для

создания организмов с полезными свойствами. Генетическая трансформация организмов для изучения роли генов и белковых продуктов в клетках.

Генетическая инженерия человека, перспективы применения в медицине и этические аспекты. Применение методов генной инженерии в генотерапии наследственных заболеваний. Методы изменения генома человека, перспективные направления и разработки. Клонирование человека: правовой и моральные аспекты.

Современные достижения генной и белковой инженерии, перспективы развития. Генная инженерия и биотехнология. Молекулярная и клеточная инженерия. Роль микроорганизмов в синтезе органических веществ в медицине.

4. Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

Самостоятельная работа студентов является особой формой организации учебного процесса, представляющая собой планируемую, познавательно, организационно и методически направляемую деятельность студентов, ориентированную на достижение конкретного результата, осуществляемую без прямой помощи преподавателя. Самостоятельная работа студентов является составной частью учебной работы и имеет целью закрепление и углубление полученных знаний и навыков, поиск и приобретение новых знаний, а также выполнение учебных заданий, подготовку к предстоящим занятиям и экзамену. Она предусматривает, как правило, разработку рефератов, написание докладов, выполнение творческих, индивидуальных заданий в соответствии с учебной программой (тематическим планом изучения дисциплины). Тема для такого выступления может быть предложена преподавателем или избрана самим студентом, но материал выступления не должен дублировать лекционный материал. Реферативный материал служит дополнительной информацией для работы на практических занятиях. Основная цель данного вида работы состоит в обучении студентов методам самостоятельной работы с учебным материалом. Для полноты усвоения тем, вынесенных в практические занятия, требуется работа с первоисточниками. Курс предусматривает самостоятельную работу студентов со специальной литературой. Следует отметить, что самостоятельная работа студентов результативна лишь тогда, когда она выполняется систематически, планомерно и целенаправленно.

Задания для самостоятельной работы предусматривают использование необходимых терминов и понятий по проблематике курса. Они нацеливают на практическую работу по применению изучаемого материала, поиск библиографического материала и электронных источников информации, иллюстративных материалов. Задания по самостоятельной работе даются по темам, которые требуют дополнительной проработки.

Общий объем самостоятельной работы студентов по дисциплине включает аудиторную и внеаудиторную самостоятельную работу студентов в течение семестра.

Аудиторная самостоятельная работа осуществляется в форме выполнения тестовых заданий, кейс-задач, письменных проверочных работ по дисциплине. Аудиторная самостоятельная работа обеспечена базой тестовых материалов, кейс-задач по разделам дисциплины.

Внеаудиторная самостоятельная работа осуществляется в формах:

- реферат (доклад) с презентацией.

Для самостоятельной подготовки к занятиям по дисциплине рекомендуется использовать учебно-методические материалы:

1. Соловьев А.В. Введение в биотехнологию: учебно-методическое пособие. – Ульяновск: ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», 2017. – 13 с.

2. Соловьев А.В. Генная инженерия: учебно-методическое пособие. – Ульяновск: ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И. Н. Ульянова», 2017. – 69 с.

5. Примерные оценочные материалы для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине

Организация и проведение аттестации студента

ФГОС ВО ориентированы преимущественно не на сообщение обучающемуся комплекса теоретических знаний, но на выработку у бакалавра компетенций – динамического набора знаний, умений, навыков и личностных качеств, которые позволят выпускнику стать конкурентоспособным на рынке труда и успешно профессионально реализовываться.

В процессе оценки бакалавров необходимо используются как традиционные, так и инновационные типы, виды и формы контроля. При этом постепенно традиционные средства совершенствуются в русле компетентностного подхода, а инновационные средства адаптированы для повсеместного применения в российской вузовской практике.

Цель проведения аттестации – проверка освоения образовательной программы дисциплины-практикума через сформированность образовательных результатов.

Промежуточная аттестация осуществляется в конце семестра и завершает изучение дисциплины; помогает оценить крупные совокупности знаний и умений, формирование определенных компетенций.

Оценочными средствами текущего оценивания являются: доклад, тесты по теоретическим вопросам дисциплины, защита практических работ и т.п. Контроль усвоения материала ведется регулярно в течение всего семестра на практических (семинарских, лабораторных) занятиях.

№ п/п	**СРЕДСТВА ОЦЕНИВАНИЯ,** используемые для текущего оценивания показателя формирования компетенции	Образовательные результаты дисциплины
1	**Оценочные средства для текущей аттестации** ОС-1. Групповые обсуждения ОС-2. Рефераты с докладами ОС-3. Письменные задания ОС-4. Письменные задания ОС-5. Письменные задания ОС-6. Лабораторная работа ОС-7. Лабораторная работа ОС-8. Письменные задания (контрольная работа) ОС-9. Рефераты с презентацией	ОР-1- умеет определять этапы жизненного цикла проекта ОР-2 определяет проблему проекта ОР-3 определяет задачи проекта ОР-4 умеет оценивать риски проекта ОР-5 владеет навыками представления проекта ОР-6 знает способы использования биологических объектов в промышленных биотехнологических процессах. ОР-7 применяет оценки эффективности биотехнологических процессов ОР-8 Владеет опытом работы с перспективными для биотехнологических процессов живыми объектами
2	**Оценочные средства для промежуточной аттестации** ОС-10 Экзамен в форме устного собеседования	

Описание оценочных средств и необходимого оборудования (демонстрационного материала), а также процедуры и критерии оценивания индикаторов достижения компетенций на различных этапах их формирования в процессе освоения образовательной программы представлены в Фонде оценочных средств для текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации по дисциплине «Основы белковой и генетической инженерии».

Материалы, используемые для текущего контроля успеваемости

обучающихся по дисциплине

Материалы для организации текущей аттестации представлены в п.5 программы.

Материалы, используемые для промежуточного контроля успеваемости обучающихся по дисциплине

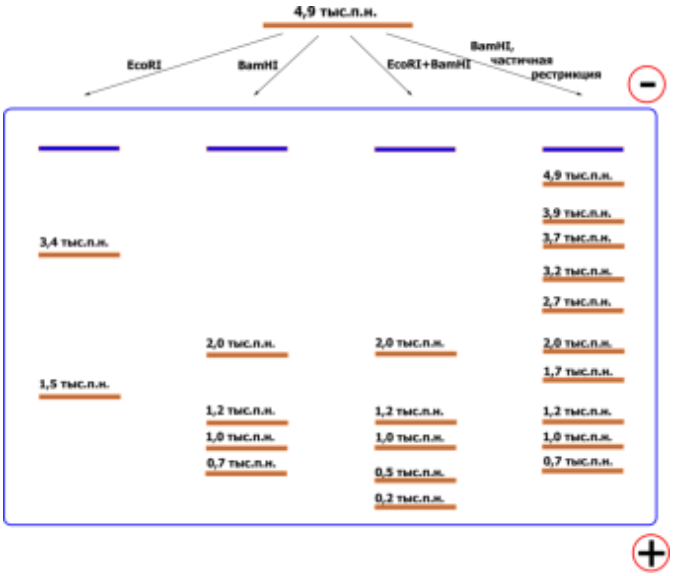
ОС-10 Экзамен в форме устного собеседования
Примерные вопросы к экзамену

1. Генная инженерия как наука, история развития, основоположники, основные достижения.
2. Организация молекулярно-генетических и генно-инженерных работ. Требования к технике безопасности. Особенности работы в молекулярно-генетической лаборатории.
3. Строение нуклеиновых кислот, их функции и значение.
4. Организация генома эукариот и прокариот, ядерные и неядерные гены, их значение в генной инженерии.
5. Основные методы генной инженерии. Методы выделения и очистки нуклеиновых кислот.
6. Электрофоретическое разделение нуклеиновых кислот: гель-электрофорез, капиллярный электрофорез. Хроматографическое разделение нуклеиновых кислот.
7. Методы получения изолированных генов и их клонирования.
8. Полимеразная цепная реакция как метод амплификации нуклеиновых кислот, условия протекания реакции, её этапы и компоненты.
9. Выбор генов для клонирования, подбор праймеров. Виды полимеразной цепной реакции: вложенная ПЦР, ПЦР в режиме реального времени, аллель-специфичная ПЦР, хот-старт ПЦР.
10. Ферменты рестрикции и модификации и их значение в генной инженерии.
11. Методы получения рекомбинантных ДНК и способы введения в клетки.
12. Методы изучения экспрессии рекомбинантных генов.
13. Генетически модифицированные организмы, их создание и использование в научных исследованиях и хозяйственной деятельности.
14. Генетическая инженерия человека, перспективы применения в медицине и этические аспекты. Генная терапия.
15. Современные достижения генной инженерии, перспективы развития.
16. Законодательство в области генной инженерии.

Примерные задачи для сдачи зачета

Задача 1. В результате обработки эндонуклеазами рестрикции фрагмента ДНК были получены следующие фрагменты: *Eco*R1: 2 kb и 3 kb; *Hind*III: 1 kb и 4 kb; *Hind*III + *Eco*R1: 2 kb, 2 kb и 1 kb. Постройте рестрикционную карту.

Задача 2. На рисунке изображены результаты гель-электрофореза участка ДНК длиной 4,9 тыс. п.н., который был обработан разными эндонуклеазами рестрикции. Необходимо нанести на карту участки рестрикции.



Результаты гель-электрофореза

Задача 3. Сиквенсовая реакция для целей секвенирования ДНК по Сэнгеру (секвенирование с обрывом цепи) проводилась в 4-х пробирках (в первой помимо dNTP содержался ddATP, во второй – ddTTP, в третьей – ddGTP, в четвертой – ddCTP). Использовался праймер длиной 20 нуклеотидов. В результате секвенирования установлен порядок нуклеотидов: AATAGTAGATCCCGTAGCTAG. Определите, фрагменты какой длины образовывались в каждой пробирке в ходе сиквенсовой реакции.

В конце изучения дисциплины подводятся итоги работы студентов на лекционных и практических занятиях путем суммирования заработанных баллов в течение семестра.

Критерии оценивания знаний обучающихся по дисциплине

Формирование балльно-рейтинговой оценки работы обучающихся

		Посещение лекций	Посещение практических занятий	Работа на практических занятиях	Экзамен
3 семестр	Разбалловка по видам работ	2 х 1=2 баллов	10 х 1=10 баллов	224 балла	64 балла
	Суммарный макс. балл	2 балла max	12 баллов max	236 баллов max	300 баллов max

Критерии оценивания работы обучающегося

	Баллы (3 ЗЕ)
«отлично»	более 271
«хорошо»	211-270
«удовлетворительно»	151-210
«не удовлетворительно»	150 и менее

6. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины

Успешное изучение курса требует от обучающихся посещения лекций, активной работы на практических занятиях, выполнения всех учебных заданий преподавателя, ознакомления с основной и дополнительной литературой.

Запись **лекции** – одна из форм активной самостоятельной работы обучающихся, требующая навыков и умения кратко, схематично, последовательно и логично фиксировать основные положения, выводы, обобщения, формулировки. В конце лекции преподаватель оставляет время (5 минут) для того, чтобы обучающиеся имели возможность задать уточняющие вопросы по изучаемому материалу. Из-за недостаточного количества аудиторных часов некоторые темы не удается осветить в полном объеме, поэтому преподаватель, по своему усмотрению, некоторые вопросы выносит на самостоятельную работу студентов, рекомендуя ту или иную литературу. Кроме этого, для лучшего освоения материала и систематизации знаний по дисциплине, необходимо постоянно разбирать материалы лекций по конспектам и учебным пособиям. В случае необходимости обращаться к преподавателю за консультацией.

Подготовка к лабораторным занятиям.

При подготовке к практическим занятиям студент должен изучить теоретический материал по теме занятия (использовать конспект лекций, изучить основную литературу, ознакомиться с дополнительной литературой, при необходимости дополнить конспект, делая в нем соответствующие записи из литературных источников). В случае затруднений, возникающих при освоении теоретического материала, студенту следует обращаться за консультацией к преподавателю. Идя на консультацию, необходимо хорошо продумать вопросы, которые требуют разъяснения.

В начале практического занятия преподаватель знакомит студентов с темой, оглашает план проведения занятия, выдает задания. В течение отведенного времени на выполнение работы студент может обратиться к преподавателю за консультацией или разъяснениями. В конце занятия проводится прием выполненных заданий, собеседование со студентом.

Результаты выполнения практических зданий оцениваются в баллах, в соответствии с балльно-рейтинговой системой университета.

Планы лабораторных занятий

Лабораторное занятие № 1

Тема 1. Предмет генетической и белковой инженерии (2 ч.)

Цель занятия: изучение предмета генетической и белковой инженерии, задач.

Групповое обсуждение вопросов:

1. Предмет и задачи генетической и белковой инженерии.
2. Знакомство с техникой безопасности в лаборатории молекулярной биологии. Функциональные зоны лаборатории. Проблема контаминации. Основное оборудование лаборатории молекулярной биологии.
3. Основные реактивы. Ферменты, использующиеся в молекулярной генетике и генной инженерии.
4. Перспективы развития генной инженерии и биотехнологии.
5. Знакомство с нормативными документами:

Федеральный закон от 5 июля 1996 г. N 86-ФЗ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности»;

Федеральный закон от 3 июля 2016 г. N 358-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в части совершенствования государственного регулирования в области генно-инженерной деятельности»;

Постановление Правительства РФ от 16 февраля 2001 г. N 120 «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов»;

Методические указания МУ 2.3.2.970-00 «Медико-биологическая оценка пищевой продукции из генетически модифицированных источников», 2000 г.;

Методические указания МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», 2009 г.;

Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», 2008 г.

Рекомендации к самостоятельной работе.
1. Лекционный материал по теме.
2. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 2

Тема 2. Молекулярная организация и функционирование генома (2 ч.)

Цель занятия: изучение молекулярно-генетических основ наследственности и изменчивости прокариот и эукариот, изучение механизмов функционирования геномов и регуляции экспрессии генов.

Рассматриваемые вопросы:

1. Центральная догма молекулярной биологии.
2. Структурная организация ДНК. Геном прокариот и эукариот: основная характеристика и отличия. Геном митохондрий. Геном вирусов.
3. Хромосомы. Гетерохроматин и эухроматин.
4. Репликация ДНК. Репарация ДНК. Транскрипция. Созревание РНК. Трансляция и протеом. Генетический код и его свойства.
5. Понятие «ген». Классификация генов. Механизмы регуляции экспрессии генов. Структура генов.
6. Эпигенетическое наследование.
7. Геном человека.

Рекомендации к самостоятельной работе.
1. Лекционный материал по теме.
2. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 3

Тема 2. Молекулярная организация и функционирование генома (4 ч.)

Цель занятия: изучение молекулярно-генетических основ наследственности и изменчивости прокариот и эукариот, изучение механизмов функционирования геномов и регуляции экспрессии генов на примере решения задач.

Задача 1. Какой химический элемент обязательно присутствует во всех нуклеиновых кислотах, но почти всегда отсутствует в белках? Какой химический элемент часто присутствует в белках, но всегда отсутствует в нуклеиновых кислотах?

Задача 2. мРНК содержит 30% гуанина, 24% аденина, 21% урацила, 25% цитозина. Определите состав фрагмента ДНК, являющегося матрицей для данной мРНК.

Задача 3. Фрагмент дцДНК содержит 23% остатков аденозина. Посчитайте долю остатков других нуклеотидов.

Задача 4. Сколько первичных структур может иметь тетрануклеотид, содержащий только остатки тимина и аденина?

Задача 5. дцДНК с молекулярной массой 103500 Да содержит 70 адениловых нуклеотидов. Определите количество всех нуклеотидов этой ДНК и длину фрагмента, если средняя линейная длина нуклеотида 0,34 нм, аминокислотного остатка – 0,35 нм, средняя молекулярная масса нуклеотида – 345 Да, а аминокислоного остатка – 110 Да.

Задача 6. Гистон H1 имеет молекулярную массу 20 кДа. Определите длину кодирующего его гена, если средняя линейная длина нуклеотида 0,34 нм, аминокислотного остатка – 0,35 нм, средняя молекулярная масса нуклеотида – 345 Да, а аминокислоного остатка – 110 Да.

Задача 7. Депуринизация (гидролитическое отщепление пуриновых оснований) ДНК в организме человека происходит с частотой $3*10^{-11}$ нуклеотидов в секунду. Подсчитайте, сколько депуринизаций в день происходит в соматической клетке человека.

Задача 8. Имеется молекула ДНК, имеющая следующую первичную структуру: 5`-AAGTCGGCGTAAGGCAACTT-3`. Определите соотношение пуринов и пиримидинов в цепи. Определите соотношений пуринов и пиримидинов в комплементарной цепи. Определите долю аденина в комплементарной цепи.

Задача 9. Ген эритропоэтина человека состоит из пяти экзонов. Сколько интронов содержит этот ген?

Задача 10. Сколькими способами может быть закодирован в генах участок белка из пяти мономеров: пролин – лизин – гистидин – валин – тирозин, если учесть вырожденность генетического кода (для решения используйте таблицу генетического кода – табл. 2)?

Задача 11. Начало кодирующей части гена FPGT коровы:

5`-ATGGACGCTGAAAGTAGACCTTCCGGCGAATCT-3`.

Какие будут последствия для белка, если произойдут следующие мутации (для решения используйте таблицу генетического кода – табл. 2):

1. Транзиция A1-G1;
2. Транзиция C6-T6;
3. Транзиция C8-T8;
4. Трансверсия G14-T14.

Задача 12. Сколько возможных старт-кодонов содержит последовательность: 5`-AATGTCGGCGTAATGGCAACTT-3`. Сколько возможных стартовых кодонов содержит комплементарная последовательность (для решения используйте таблицу генетического кода – табл. 2)? То же самое для стоп-кодонов.

Задача 13. В синтезе белка последовательно приняли участие молекулы ТРНК с антикодонами: CCC, GUG, AUU, UTT, AGG. Определите последовательность нуклеотидов во фрагменте гена, а также соответствующую часть последовательность аминокислот в синтезируемом белке (для решения используйте таблицу генетического кода – табл. 2).

Задача 14. Длина проматричной РНК – 561 нм, экзоны в ней составляют 20%. Определите длину зрелой мРНК, количество в ней нуклеотидов и сколько аминокислот в ней закодировано, если средняя линейная длина нуклеотида 0,34 нм, аминокислотного остатка – 0,35 нм, средняя молекулярная масса нуклеотида – 345 Да, а аминокислотного остатка – 110 Да.

Задача 15. Укажите последовательности нуклеотидов участков молекулы информационной РНК, образовавшихся на участках гена, в которых нуклеотиды ДНК расположены следующим образом:

а) AAATGCGATCGCTAGTCG;
б) AGGTCTCTTATCCTAGCTA;
в) ATGTCGTTATAGCTAGCTA;
г) TTGCGATCGATCCAGCTACA.

Задача 16. Химическое исследование показало, что 30% общего числа азотистых оснований данной информационной РНК приходится на урацил, 26% – на цитозин и 24% – на аденин. Что можно сказать о нуклеотидном составе соответствующего участка двуцепочечной ДНК, «слепком» с которого является исследованная РНК?

Задача 17. Напишите последовательность аминокислот, если последовательность мРНК: GUAGCCUACCCAGACUUUGCG.

Задача 18. Сколько вариантов нуклеотидной последовательности мРНК могут соответствовать олигопептиду: Met Gln Ser Cys Gly Trp Ile?

Задача 19. Имеются по одной последовательности разных генов двух бактерий – мезофильной почвенной и термофила из горячего источника:

… AAT GAA AGT GAA ATG GAT TGT GCT …

… GCG CGG GGG AGG GGC GCC AAG CCG …

По приведённым последовательностям требуется выяснить, какой бактерии какая последовательность является наиболее соответствующей (для решения используйте таблицу генетического кода – табл. 2, а также схематическое изображение аминокислот – рис. 13).

Задача 20. Ранжируйте по вероятности возникновения мутационные события, а также укажите их названия (трансверсия, транзиция):

A → U;
A → C;
A → T;
A → G;
A → делеция.

Рекомендации к самостоятельной работе.

1. Лекционный материал по теме.
2. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 4

Тема 3. Методы генетической и белковой инженерии (2 ч.)

Цель занятия: изучить методы, используемые в генетической инженерии (гель-электрофорез, рестрикции).

Вопросы для письменного ответа:

1. Гель-электрофорез для разделения нуклеиновых кислот и белков. Разновидности гель-электрофореза.
2. Эндонуклеазы рестрикции.
3. Принцип рестрикционного анализа и его применение на практике (выявление мутаций, картирование генов).

Задачи для решения:

Задача 1. Результаты рестрикции кольцевой плазмиды pX: *Bam*HI – 13 kb, *Hind*III – 8 kb+ 5 kb, *Bam*HI + *Hind*III – 6 kb + 5 kb + 2 kb. Постройте рестрикционную карту.

Задача 2. В результате обработки эндонуклеазами рестрикции фрагмента ДНК были получены следующие фрагменты: *Eco*R1: 2 kb и 3 kb; *Hind*III: 1 kb и 4 kb; *Hind*III + *Eco*R1: 2 kb, 2 kb и 1 kb. Постройте рестрикционную карту.

Задача 3. Вставка фрагмента ДНК в плазмидный вектор возможна в двух ориентациях. На рисунке изображена прямая ориентация. Для проверки (скрининга) результатов лигирования (вставки) проведен анализ фрагментов рестрикции с помощью эндонуклеазы рестрикции *Nco*I (C^CATGG).

Необходимо установить, фрагменты какой длины образуются в случае:

а) лигирования вектора самого на себя, без вставки;
б) прямой вставки;
в) обратной вставки.

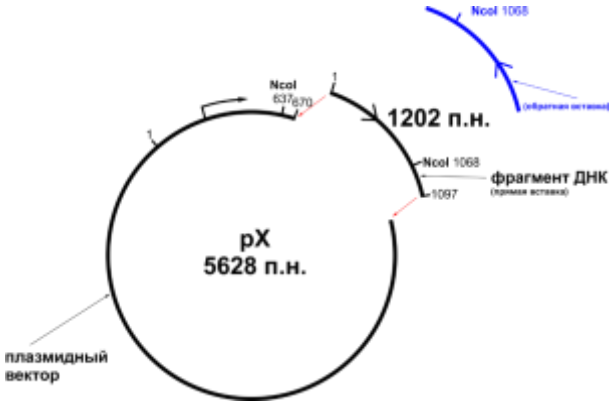
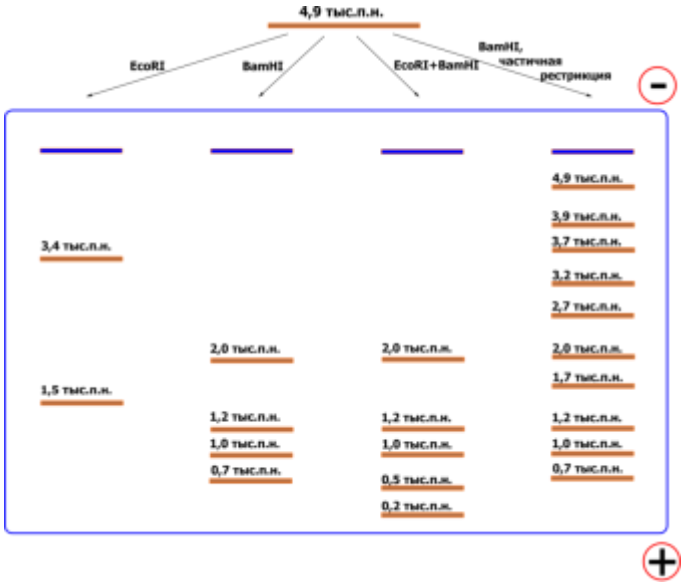


Схема плазмиды и ДНК-вставки

Задача 4. С помощью горизонтального агарозного гель-электрофореза анализировались пробы. Маркер молекулярных длин содержал фрагменты ДНК длиной 100 п.н., 200 п.н., 500 п.н., 1000 п.н. и 2000 п.н. Образец 1 содержал фрагменты ДНК длиной 250 п.н., образец 2 – 200 п.н. и 650 п.н., образец 3 – 1200 п.н. Нанесите соответствующие полосы на схему геля (размеры полос подписать).

Схема агарозного геля

Задача 5. На рисунке изображены результаты гель-электрофореза участка ДНК длиной 4,9 тыс. п.н., который был обработан разными эндонуклеазами рестрикции. Необходимо нанести на карту участки рестрикции.



Результаты гель-электрофореза

Задача 6. Вставка фрагмента ДНК в плазмидный вектор возможна в двух ориентациях. На рисунке изображена прямая ориентация. Для проверки (скрининга) результатов лигирования (вставки) проведен анализ фрагментов рестрикции с помощью эндонуклеазы рестрикции *Taq*I (T^CGA).

Необходимо установить, фрагменты какой длины образуются в случае:

а) лигирования вектора самого на себя, без вставки;

б) прямой вставки;

в) обратной вставки.

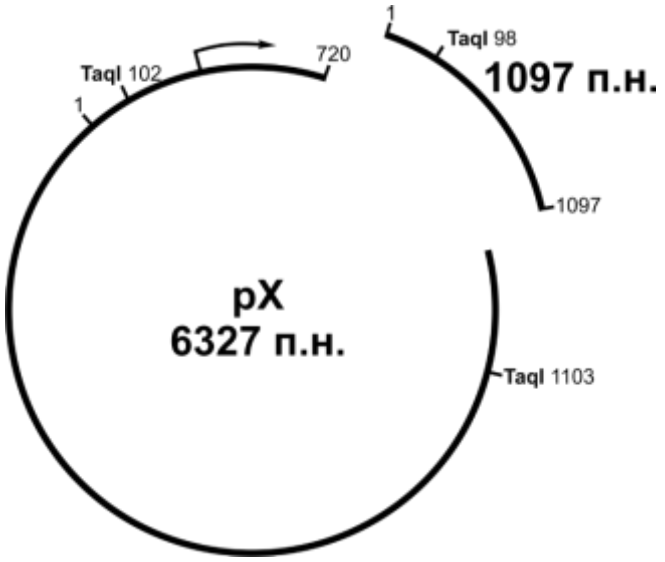
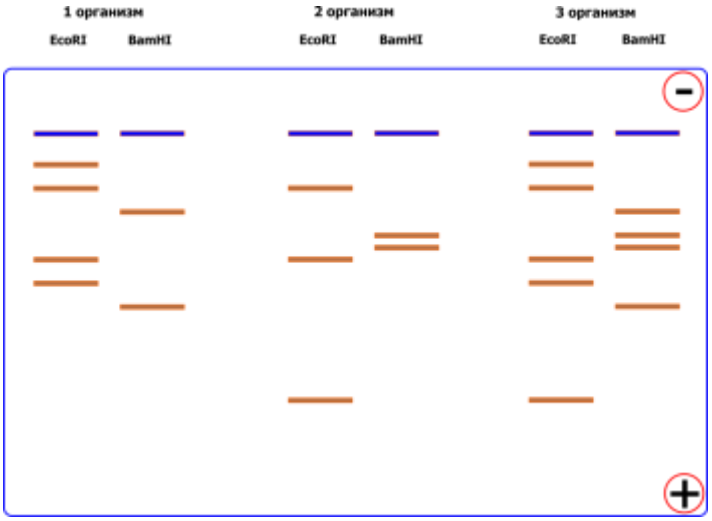


Схема плазмиды и ДНК-вставки

Задача 7. Продукт амплификации – ген, полученный от разных диплоидных организмов, был обработан двумя эндонуклеазами рестрикции – *Eco*RI и *Bam*HI. Определите гомо- или гетерозиготность изучаемых организмов.



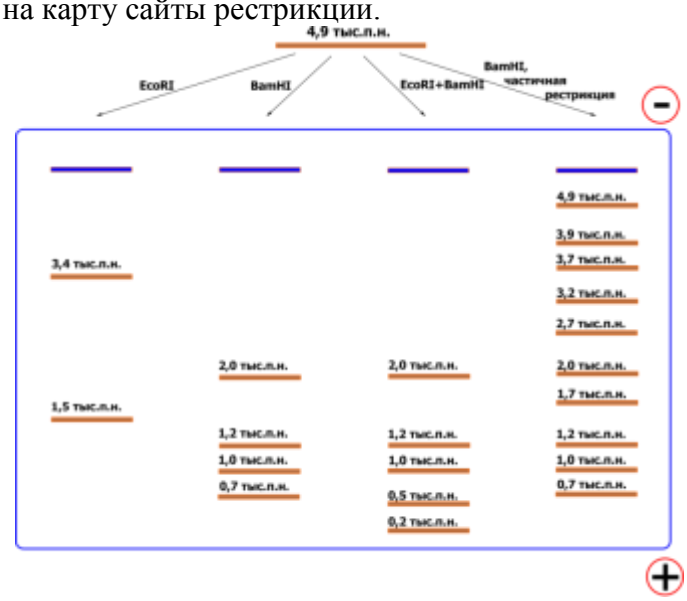
Результаты гель-электрофореза

Задача 8. Сиквенсовая реакция для целей секвенирования ДНК по Сэнгеру (секвенирование с обрывом цепи) проводилась в 4-х пробирках (в первой помимо dNTP содержался ddATP, во второй – ddTTP, в третьей – ddGTP, в четвертой – ddCTP). Использовался праймер длиной 20 нуклеотидов. В результате секвенирования установлен порядок нуклеотидов: AATAGTAGATCCCGTAGCTAG. Определите, фрагменты какой длины образовывались в каждой пробирке в ходе сиквенсовой реакции.

Задача 9. Почему молекулы мРНК имеют короткие периоды полураспада по сравнению с другими молекулами РНК?

Задача 10. Одна из частых спонтанных мутаций ДНК – гидролиз аминогруппы цитозина с превращением его в урацил. Как влияет данная замена на структуру ДНК?

Задача 11. На рисунке изображены результаты гель-электрофореза участка ДНК длиной 4,9 тыс. п.н., который был обработан разными эндонуклеазами рестрикции. Необходимо нанести на карту сайты рестрикции.



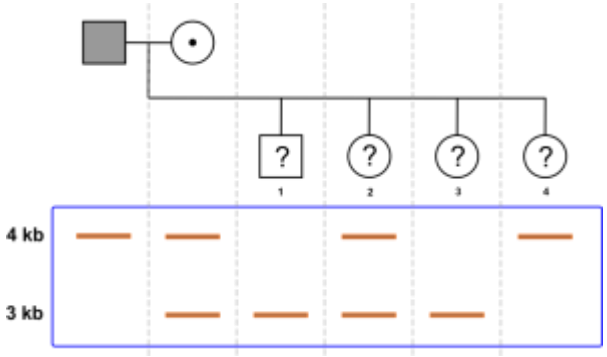
Результаты гель-электрофореза

Задача 12. Геном *Drosophila melanogaster* составляет примерно 1,6 х 10^8 п.н. Скорость синтеза ДНК равна 30 п.н. в минуту. У ранних эмбрионов дрозофилы геном реплицируется за 5 минут, сколько для этого потребуется точек начала двунаправленной репликации?

Задача 13. Какова средняя частота появления новых мутаций у человека, если человеческий геном содержит 30000 генов, которые мутируют с частотой 10^{-5} на одну гамету. Сколько новых мутаций имеется в современной популяции людей – 7,3 млрд. человек.

Задача 14. Ген человеческого инсулина содержит несколько интронов. Объясните, как можно клонировать этот ген в бактериальных клетках с дальнейшей продукцией инсулина, если в бактериальных клетках интроны не удаляются?

Задача 15. От женщины носительницы Х-сцепленной гемофилии и мужчины, страдающего гемофилией, родились 4 детей. Для выявления мутации использовали метод RFLP (изучение полиморфизма длин рестрикционных фрагментов – ПДРФ), где ДНК из лимфоцитов периферической крови обработали рестриктазой *Hind*III и полученные фрагменты гибридизовали с меченой пробой. Результаты представлены на рисунке. Определите фенотипы и носительство гена гемофилии у детей.



Результаты гель-электрофореза

Задача 16. Фрагмент ДНК с целевым геном необходимо лигировать в плазмиду pX (см. рисунок). Стрелкой указан промотор, под который необходимо провести лигирование. Показаны старт- и стоп-кодоны, а также сайты рестрикции. Предложите схему рестрикции и лигирования.

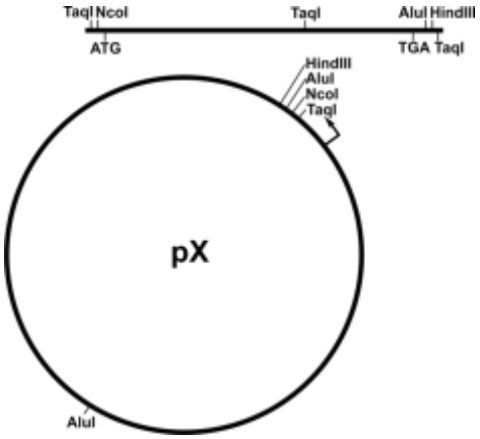


Схема плазмиды и ДНК-вставки

Рекомендации к самостоятельной работе.
1. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 5

ОС-5. Письменные задания

Тема 3. Методы генетической и белковой инженерии (2 ч.)

Цель занятия: изучить методы, используемые в генетической инженерии (ПЦР, секвенирование).

Содержание работы:
Письменные вопросы:
1. ПЦР – схема проведения, состав ПЦР-смеси.
2. Применение ПЦР для фундаментальных и прикладных исследований.
3. Секвенирование ДНК – значение метода.
4. Секвенирование по Сэнгеру
5. Секвенирование NGS.

Задачи для решения:

Задача 1. Произвести расчет состава ПЦР-смеси:

	Исходная концентрация реагентов	Необходимая концентрация реагентов в ПЦР-смеси	Объем (мкл)
вода			
dNTP	10 мМ	250 мкМ	
праймер 1	10 мкМ	0,5 мкМ	
праймер 2	10 мкМ	0,5 мкМ	
буфер	10х (10-кратный)	1х (1-кратный)	
полимераза (мкл)	5 е.а. / 1 мкл	5 е.а. / 100 мкл	
матрица (мкл)			10
объем смеси (мкл):			100

Задача 2. Произвести расчет состава ПЦР-смеси:

	Исходная концентрация реагентов	Необходимая концентрация реагентов в ПЦР-смеси	Объем (мкл)
вода			
dNTP	10 мМ	200 мкМ	
праймер 1	55 мкМ	0,5 мкМ	
праймер 2	40 мкМ	0,5 мкМ	
буфер	10х (10-кратный)	1х (1-кратный)	
полимераза (мкл)	5 е.а. / 1 мкл	5 е.а. / 100 мкл	
матрица (мкл)			10
объем смеси (мкл):			200

Задача 3. Изучить графики количественной ПЦР, выполненной на амплификаторе qTower 2.0, с помощью программы qPCR soft (Analytik Jena). Интерпретировать полученные результаты.

Задача 4. Для целей видовой идентификации с помощью ПЦР бактерий *E. coli* необходимо подобрать праймеры. В качестве маркера использовать 16S-рибосомальную ДНК. Используемые программы:

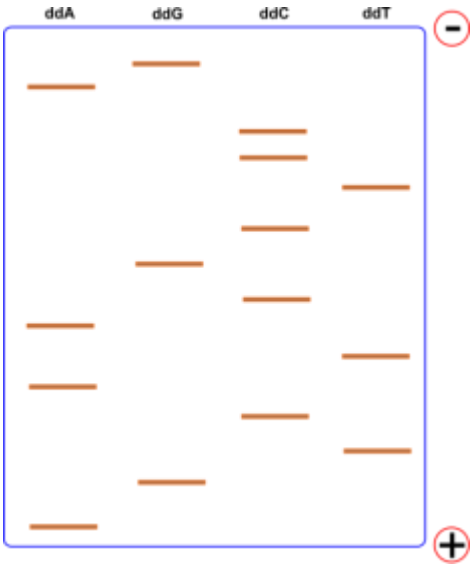
MEGA (http://www.megasoftware.net/),
ресурс OligoAnalyzer http://eu.idtdna.com/calc/analyzer,
ресурс GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

Задача 5. Предложите схемы, как с помощью ПЦР и системы праймеров возможно:
- соединить 2 фрагмента ДНК;
- встроить новый участок в ДНК;
- удалить внутренний фрагмент ДНК.

Задача 6. Сколько потребуется молекул прямого и обратного праймера для амплификации фрагмента ДНК в течение 28 циклов?

Задача 7. Сколько нужно молекул дезоксинуклеотид-трифосфатов, чтобы амплифицировать фрагмент ДНК длиной 50 п.н. в течение 15 циклов?

Задача 8. На рисунке представлен секвенирующий гель-электрофорез. Определите последовательность матричной цепи от 5` конца к 3` концу.



Схематическое изображение результатов
секвенирующего гель-электрофореза

Задача 9. Сиквенсовая реакция для секвенирования по Сэнгеру (секвенирование с обрывом цепи) проводилась в 4-х пробирках (в первой + ddATP, во второй + ddTTP, в третьей + ddGTP, в четвертой + ddCTP).

В результате секвенирования удалось установить порядок нуклеотидов:

AATAGTAGATCCCGTAGCTAGCTAGCTTTAGTCCTGC (37 нуклеотидов)

Для секвенирования использовался праймер:

AATAGTAGATCCCGTAGC (12 нуклеотидов)

Определите, фрагменты какой длины образовывались в каждой пробирке в ходе сиквенсовой реакции.

Задача 10. Провести анализ сиквенсов (контигов), полученных с помощью прямого и обратного праймеров, с целью получения консенсусного сиквенса. Произвести редактирование сиквенсов, используя хроматограмму секвенирования. Используемое программное обеспечение: SeqScanner (Applied Biosystems) и Mega.

Рекомендации к самостоятельной работе.

1. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 6

Тема 3. Методы генетической и белковой инженерии (2 ч.)

Лабораторная работа «Трансформация бактериальных клеток»

Цель работы: изучить способ трансформации бактериальных клеток, познакомиться со структурой плазмиды pET-15b.

В работе анализируются посевы бактериальных клеток *E. coli* без плазмиды, трансформированные бактериальные клетки, раствор с плазмидами на средах: (1) LA + xGal и Amp и (2) LA + Amp.

Расходные материалы и реактивы: плазмиды pET-15b, штамм *E.coli*: TG1 / MC / BL21(DE3), чашки Петри с агаризованной средой LB и добавленными xGal (разведение xGal – диметилформамидом (DMF) или Dimethylsulfoxide (DMSO); stock-solution: 20 мг/мл (0,1 г на 5 мл), рабочая концентрация: 20–40 мкг/мкл (разведение ~ 1 : 500)) и ампициллином (100

мкл на 20 мл, рабочая концетрация: 100 мкг/мл), жидкая среда LB, пипетки Пастера (от 100 мкл), дозатор с наконечниками (0,5 мкл), среда LB, $CaCl_2$ 1М, лед, формочка для льда, пробирки 1,5 мл, вортекс, центрифуга, термостат (37–42ºС).

Ход выполнения работы:

1. 2 мл среды LB + 200 мкл ночной культуры *E. coli* (MC, BL21).
2. Рост при 37ºС до OD = 0,2–0,3 (в термостате-качалке или шейкере-инкубаторе).
3. Центрифугирование при 14000 rpm, 30``–1`, тщательно слить супернатант.
4. К осадку добавить раствор охлажденного $CaCl_2$ (сток – 1 М, финальная концентрация – 100 мМ), пробы поместить в лёд, пипетировать.
5. Центрифугирование при 14000 rpm, 30``; слить супернатант, оставить около 50–100 мкл; пробы поместить в лёд.
6. Добавить 0,5 мкл плазмид (pET-15b), перемешать пипетированием.
7. Инкубация 1 ч во льду.
8. Инкубация при 42ºС, 2`.
9. Добавить 1 мл среды LB. Инкубация при 37ºС, 30`.
10. Центрифугирование при 14000 rpm, 30``–1`, слить супернатант, оставить около 100 мкл.
11. Произвести высев на чашку Петри с агаризованной средой LB (все 100 мкл). К среде предварительно добавлены маркеры: xGal (40-50 мг/мл) и/или ампициллин.
12. Инкубация при 37ºС до появления колоний.
13. Изучить и проанализировать результаты посевов.

Отчетность: отчет о выполнении лабораторной работы.

Рекомендации к самостоятельной работе.

1. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 7

Тема 3. Методы генетической и белковой инженерии (2 ч.)

Лабораторная работа «Дизайн векторной генетической конструкции»

Цель работы: Проведение дизайна генетической конструкции целевого гена (на выбор) в бактериальную плазмиду pET-15b, знакомство с основными биоинформационными базами данных, основными методами генной инженерии.

Ход выполнения работы:

1. Изучить особенности бактериальной плазмиды pET-15b на основе информации, представленной в сети Интернет; изучить карту плазмиды, основные структурно-функциональные области.
2. С помощью ресурса Национальный центр биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information) (www.ncbi.nlm.nih.gov) найти и скачать нуклеотидную последовательность плазмиды и целевого гена, кодирующий целевой белок эукариот (на выбор).
3. Предложить схему получения структуры гена, пригодной для вставки, провести дизайн лигирования гена в плазмиду под промотор, описать механизм индукции биосинтеза целевого белка. Дизайн векторной конструкции со вставкой провести в программах Mega (http://www.megasoftware.net) или Unipro UGENE (http://ugene.net/ru) (бесплатно распространяющееся программное обеспечение). Для дизайна используйте частоты встречаемости кодонов у разных групп организации, структурно-функциональные особенности организации генов про- и эукариот. Для анализа частот встречаемости кодонов используйте любой доступный ресурс (например, от GenScript: https://www.genscript.com/tools/codon-frequency-table)

Отчетность: отчет о выполнении лабораторной работы.

Рекомендации к самостоятельной работе.

1. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

Лабораторное занятие № 8

Тема 4. Прикладное значение генетической и белковой инженерии (4 ч.)

Цель занятия: изучение прикладного значения генетической инженерии, современных достижений.

Содержание работы:

Темы для рефератов с презентацией:

1. Генетически модифицированные организмы, их создание и использование в научных исследованиях и хозяйственной деятельности.
2. Генетическая инженерия человека, перспективы применения в медицине и этические аспекты. Генная терапия.
3. Современные достижения генной инженерии, перспективы развития.
4. Законодательство в области генной инженерии.
5. Белковая инженерия.

Рекомендации к самостоятельной работе.

1. Соответствующие главы рекомендованных учебников.

7. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, Интернет-ресурсов, необходимых для освоения дисциплины

Основная литература

1. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: учебное пособие / С. Н. Щелкунов. – Изд. 4-ое, стереот. 3-му. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2010. – 514 с.: ил., табл., схем. – ISBN 978-5-379-01064-5 – URL: https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=57527
2. Жукова А. Г. Молекулярная биология: учебник с упражнениями и задачами / А.Г. Жукова, Н.В. Кизиченко, Л.Г. Горохова. – Москва; Берлин: Директ-Медиа, 2018. – 269 с.: ил., табл. – ISBN 978-5-4475-9674-3 – URL: https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=488606

Дополнительная литература

1. Пак И.В. Введение в биотехнологию: учебное пособие: [16+] / И. В. Пак, О.В. Трофимов, О.А. Величко; Тюменский государственный университет. – 3-е изд., перераб. и доп. – Тюмень: Тюменский государственный университет, 2018. – 160 с.: ил. – ISBN 978-5-400-01454-3 – URL: https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=567615
2. Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции : материалы Научно-практической конференции с международным участием (Ростов-на-Дону, 2–4 ноября 2017 г.) / гл. ред. Т.П. Шкурат, А.В. Усатов, А.Е. Панич; Южный федеральный университет. – Ростов-на Дону; Таганрог : Южный федеральный университет, 2017. – 159 с. : табл., граф., ил. – ISBN: 978-5-9275-2542-3 – URL: https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=570728

Интернет-ресурсы

– National Center for Biotechnology Information. – Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov

Лист согласования рабочей программы
учебной дисциплины (практики)

Направление подготовки: 06.04.01 Биология
Профиль: Биотехнология с основами нанотехнологий
Рабочая программа: Основы белковой и генетической инженерии
Составитель: Е.И. Антонова – Ульяновск: УлГПУ, 2023.

Программа составлена с учетом федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01 Биология, утверждённого Министерством образования и науки Российской Федерации, и в соответствии с учебным планом.

Составители _____ Е.И. Антонова
(подпись)

Рабочая программа учебной дисциплины (практики) одобрена на заседании кафедры биологии и химии "5" мая 2023 г., протокол № 10

Заведующий кафедрой

_____ Н.А. Ленгесова 25.05.2023
личная подпись расшифровка подписи дата

Рабочая программа учебной дисциплины (практики) согласована с библиотекой

Сотрудник библиотеки

_____ Ю.Б. Марсакова 30.05.23
личная подпись расшифровка подписи дата

Программа рассмотрена и одобрена на заседании ученого совета естественно-географического факультета "31" мая 2023 г., протокол №6

Председатель ученого совета естественно-географического факультета

_____ Д.А. Фролов 31.05.2023
личная подпись расшифровка подписи дата