

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
«Биотехнологический лицей №21»



Утверждаю
директор лицея № 21 р.п. Кольцово

Суслопарова Л.В.

Приказ № 1 от 28.08.2017

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

учебного курса «**Основы генной инженерии**»

10 класс

Преподаватель: к.б.н.

Щербаков Дмитрий Николаевич

Цель курса познакомить школьников 10-го класса с базовыми понятиями генной инженерии

Результаты курса по окончании курса учащиеся будут иметь представление о генной инженерии, ее задачах, успехах, о методах, применяемых в генной инженерии. Будут уметь проводить рестрикционный анализ, составлять рестрикционные карты и ставить гель-электрофорез.

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.

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 β -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. / - Интернет-территория для тех, кто профессионально связан с биологией или молекулярной биологией. Профсоюзное место встречи, которое наполняется и поддерживается русскоязычным биологическим сообществом.

2. / - Сайт в формате учебника по биотехнологии, включающий раздел по генной инженерии.

3. / - Единое окно доступа к образовательным ресурсам, включает каталог ресурсов для высшей школы.

4. [/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. - 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. В список включены библиотеки иностранных университетов и научных организаций.

Оборудование

а) Для лекционных занятий используется мультимедийный проектор;

б) При выполнении заданий самостоятельной работы студенты могут пользоваться компьютерным классом биолого-почвенного факультета;

Материалы

а) презентации к лекциям;

б) рабочая программа дисциплины;

в) контрольные задания и темы рефератов для текущей аттестации и СРС

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов. - Новосибирск: Издательство НГУ, 2004.

2. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. - СПб : Издательство СПбГТУ, 2002.

План уроков по генной инженерии, 10 класс

№ п/п	Кол-во часов	Название урока	Оборудование	Содержание урока	Планируемые результаты обучение
1.	1 ч	Введение в генную инженерию	Презентация	Понятие о генной инженерии. Задачи генной инженерии. Строение ДНК и РНК. Репликация ДНК. Достижения генной инженерии.	<i>Знать</i> строение ДНК и РНК, репликацию ДНК. <i>Иметь представление</i> о задачах генной инженерии.
2.	1 ч	Плазмиды и их структурные элементы	Презентация	Плазмиды. Виды плазмид. Конъюгация. Структура плазмиды.	<i>Знать</i> что такое плаزمида, конъюгация, структурные элементы плазмид. <i>Иметь представление</i> о видах плазмид.
3.	1 ч	Гель-электрофорез	Презентация	Агарозный гель-электрофорез. Акриламидный гель-электрофорез.	<i>Знать</i> назначение гель-электрофореза. <i>Иметь представление</i> о различиях.
4.	1 ч	Ферменты рестрикции	Презентация	Рестрикция. Классы рестриктаз..	<i>Знать</i> назначение рестриктаз <i>Иметь представление</i> о применении рестриктаз в генной инженерии.
5.	1 ч.	Рестрикционная карта	Презентация	Рестрикционная карта. Виды рестрикционных карт. Задачи на составление рестрикционных карт.	<i>Знать</i> что такое рестрикционная карта. Уметь решать задачи на составление рестрикционной карты <i>Иметь представление</i> о том, как читать и составлять рестрикционную карту.
6.	1 ч.	Рестрикционный анализ	Презентация	Рестрикционный анализ. Лигирование. Задачи на проведение рестрикционного анализа	<i>Знать</i> что такое рестрикционный анализ. <i>Иметь представление</i> о лигировании
7.	1 ч	Бактерии в генной инженерии	Презентация	Бактериальные штаммы, трансформация, компетентность.	<i>Знать</i> что такое трансформация и компетентность. <i>Иметь представление</i> о бактериях в генной инженерии.
8.	1 ч	Полимеразная цепная реакция (ПЦР).	Презентация	Репликация. ПЦР. Задачи ПЦР. Применение ПЦР.	<i>Знать</i> что такое ПЦР, как происходит ПЦР. <i>Иметь представление</i> применении ПЦР
9.	1 ч	Виды ПЦР	Презентация	Виды ПЦР. Обратная транскрипция. Применение ПЦР.	<i>Знать</i> что такое обратная транскрипция. <i>Иметь представление</i> о видах ПЦР.

10.	1 ч	Биотехнология растений	Презентация	Генно-модифицированные растения. Ti-плазмиды. Трансфекция.	<i>Знать</i> что такое ГМР и трансфекция. <i>Иметь представление</i> о Ti-плазмидах, применение ГМР
11.	1.	Клонирование	Презентация	Клонирование по липким и тупым концам. Лигаза. Отжиг олигонуклеотидов. Несимметричные сайты рестрикции Программы для виртуального клонирования. Клонирование ПЦР продуктов. ТА-клонирование.	<i>Знать</i> что такое клонирование. <i>Иметь представление</i> о алгоритмах клонирования.
12.	1 ч	Высокопроизводительное клонирование.	Презентация	Безлигазное клонирование. Рестриктазы нового поколения. Сайт-специфический мутагенез. iGEM.	<i>Знать</i> что такое высокопроизводительное клонирование <i>Иметь представление</i> о видах клонирования.
13.	1 ч	Синтез генов	Презентация	Принципы синтеза генов. Коррекция ошибок при синтезе генов. Синтез геномов.	<i>Знать</i> зачем синтезируют гены и геномы. <i>Иметь представление</i> как происходит синтез генов.
14.	1 ч	Репликация	Презентация	Ориджин репликации. Полимеразы. Фрагмент Оказаки. Праймаза. Хеликаза. Топоизомераза.	<i>Знать</i> механизм репликации прокариот. <i>Иметь представление</i> о строении репликативной вилки.
15.	1 ч	Транскрипция	Презентация	РНК полимеразы, Промотор. Факторы транскрипции. Терминация транскрипции.	<i>Знать</i> механизм транскрипции прокариот. <i>Иметь представление</i> о строении промотера <i>E.coli</i> .
16.	1 ч	Трансляция	Презентация	Рибосома. Инициация синтеза белка. Элонгация синтеза. Терминация	<i>Знать</i> механизм синтеза белка. <i>Иметь представление</i> о этапах синтеза белка.
17.	1 ч	Химический синтез генов	Презентация	Нуклеозиды с защитными группами. Способы химического синтеза олиго- и полинуклеотидов.	<i>Знать</i> что такое химический синтез генов. <i>Иметь представление</i> о способах синтеза олигонуклеотидов.
18.	1 ч	Обобщающий урок	Презентация	Получение рекомбинантных белков. Плазмиды. Трансформация. Трансфекция. Трансдукция. Перспективы генной инженерии.	<i>Знать</i> принцип получения рекомбинантных белков. <i>Иметь представление</i> о достижениях и перспективах генной инженерии

