

Федеральное агентство научных организаций  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**Пермский федеральный исследовательский центр  
Уральского отделения  
Российской академии наук**

Принято на заседании Объединенного ученого совета  
ПФИЦ УрО РАН  
Протокол № 1  
«03» июля 2017 г.



**Утверждаю**  
Директор ПФИЦ УрО РАН  
Чл.-корр. РАН А.А. Барях  
«28» сентября 2017 г.

**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ**

**«Генная инженерия»**

(наименование дисциплины по учебному плану)

Направление 06.06.01 «Биологические науки»  
(код и наименование)

Профиль программы аспирантуры 03.02.03 - Микробиология

Квалификация выпускника: Исследователь. Преподаватель-исследователь

Форма обучения: Очная

Курс: 2 Семестр(ы): 1

**Трудоёмкость:**

Кредитов по рабочему учебному плану: 3 ЗЕ

Часов по рабочему учебному плану: 108 ч

**Виды контроля:**

Экзамен: -нет

Зачёт: 1

Курсовой проект: - нет Курсовая работа: - нет

Пермь 2017

## 1. Наименование дисциплины

Генная инженерия

(полное наименование дисциплины)

## 2. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина входит в Блок 1 Относится к циклу вариативных дисциплин (дисциплин по выбору) профиля подготовки «ВД0», образовательного модуля 2 образовательной программы по направлению подготовки (специальности): Направление: **06.06.01** Биологические науки, направленность 03.02.03 - Микробиология

разработана на основании:

- федерального государственного образовательного стандарта высшего образования, утверждённого приказом Министерства образования и науки Российской Федерации «30» июля 2014 г. номер приказа «871» по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации)»;
- базового учебного плана очной формы обучения по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), программы аспирантуры «Микробиология», утверждённого «28» сентября 2017 г.

**Рабочая программа согласована с рабочими программами дисциплин**

Обязательными дисциплинами:

Микробиология

Методика оформления научно-квалификационной работы и подготовка к экзаменам по специальности.

Дисциплинами по выбору:

Биохимия прокариот;

Адаптация прокариот к стрессам;

Генетика микроорганизмов.

Программами научно-исследовательской практики и научно-исследовательской деятельности аспирантов.

участвующих в формировании компетенций совместно с данной дисциплиной.

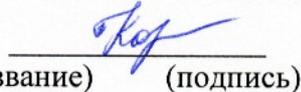
Разработчики

д.б.н., доцент



Е.Г. Плотникова

к.б.н.



Е.С. Корсакова

(учёная степень, звание)

(подпись)

(инициалы, фамилия)

Рецензент: д.м.н, зав. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ПГМУ

им. ак. Е.А. Вагнера, профессор,

(учёная степень, звание)

(подпись)



Э.С. Горовиц  
(инициалы, фамилия)

В курсе рассматриваются вопросы строения и свойств нуклеиновых кислот, методы генетической инженерии и технологии получения рекомбинантных ДНК. Курс предусматривает знакомство аспирантов с современными методами исследования генома, подходами и методами клонирования и экспрессии чужеродных генов в клетках бактерий, дрожжах и клетках высших эукариот. В результате изучения дисциплины аспирант должен повысить уровень знаний в области генетики, молекулярной биологии, биотехнологии, получить новые знания в области молекулярной генетики, научиться практически применять полученные теоретические знания при чтении и изучении научной литературы (научных статей, обзоров, монографий и т.д.). Курс ориентирован на приобретение у аспирантов знаний об основных принципах создания рекомбинантных ДНК и использовании их в биотехнологии, на формирование у аспирантов навыков и умений аналитической деятельности в данной области.

**Цель:**

Целью курса является изучение основных принципов и методов генетической инженерии.

**Задачи:**

Задачи курса связаны с углублением знаний по фундаментальным вопросам генетики, молекулярной биологии, биотехнологии, а также с формированием у слушателей следующих основных навыков, необходимых специалистам биологам в научной и учебной сферах деятельности:

- освоение знаний о принципах и методах генетической инженерии;
- получение знаний о молекулярно-генетических методах, используемых для создания и исследования рекомбинантных ДНК.

**3. Планируемые результаты обучения по дисциплине**

Учебная дисциплина **Генная инженерия** обеспечивает формирование части компетенций ПК-1, ПК-2.

**3.1. Дисциплинарная карта компетенции ПК-1**

<b>Код ПК-1</b>	<b>Формулировка компетенции</b> Способность к поэтапному планированию и оформлению научно-исследовательских работ в области микробиологии
<b>Код ПК-1. 31.У2</b>	

**Требования к компонентному составу части компетенции**

<b>Перечень компонентов</b>	<b>Виды учебной работы</b>	<b>Средства оценки</b>
<p><b>В результате освоения компетенции студент:</b>  <b>ЗНАЕТ:</b> требования к грамотной формулировке задач, обоснованию актуальности и научной новизны исследования в области микробиологии.            Код 31 ПК-1 (31 УК-1);  <b>УМЕЕТ:</b> применять литературные данные, для трактовки результатов микробиологических</p>	<p>Лекции.            Самостоятельная работа студентов по изучению теоретического материала.</p>	<p>Устный опрос для текущего и промежуточного контроля.</p>

исследований Код У2 ПК-1		
-----------------------------	--	--

### 3.2. Дисциплинарная карта компетенции ПК-2

Код ПК-2	Формулировка компетенции
Код ПК-2. В1, У1, У2, З1	Готовность к оптимальному выбору подходов и методов для решения научно-исследовательских задач в области микробиологии

#### Требования к компонентному составу части компетенции

Перечень компонентов	Виды учебной работы	Средства оценки
<p><b>В результате освоения компетенции студент должен:</b></p> <p><b>ВЛАДЕТЬ</b> Фундаментальными знаниями в области микробиологии и смежных с ней наук Код В1 ПК-2</p> <p><b>УМЕТЬ:</b> анализировать и систематизировать информацию по теме исследования, Код У1 ПК-2</p> <p><b>УМЕТЬ:</b> анализировать и грамотно интерпретировать полученные результаты экспериментов. Код У2 ПК-2</p> <p><b>ЗНАТЬ:</b> подходы и методы изучения строения, биохимии, физиологии, генетики, бактериальных клеток. Код З1 ПК-2</p>	<p>Лекции. Самостоятельная работа студентов по изучению теоретического материала.</p>	<p>Устный опрос для текущего и промежуточного контроля.</p>

### 4. Объем и содержание дисциплины

Направления подготовки	<b>06.06.01</b> Биологические науки (направленность: Микробиология)
форма обучения	очная
№№ семестров, выделенных для изучения дисциплины	4
Объем дисциплины (з.е.)	3
Объем дисциплины (ак.час.)	108
Контактная работа с преподавателем (ак.час.), в том числе:	46
Проведение лекционных занятия	22
Проведение практических занятия, семинаров	0
Самостоятельная работа (ак.час.)	62

Формы текущего контроля	
Формы промежуточной аттестации	Зачет (4 семестр) 2 часа

### Тематический план

Наименование тем и разделов	Все го часов	Аудиторные занятия			самостоятельная работа
		лекции	лабораторные	практики	
<b>Всего</b>	108	44	0	0	62
Строение и свойства нуклеиновых кислот	8	4	0	0	4
Ферменты, используемые при создании рекомбинантных ДНК	10	4	0	0	6
Схемы создания рекомбинантных ДНК	10	4	0	0	6
Векторные молекулы	10	4	0	0	6
Методы введения ДНК в клетки про- и эукариот	10	4	0	0	6
Методы отбора гибридных клонов	12	6	0	0	6
Методы исследования рекомбинантных ДНК	12	6	0	0	6
Методы синтеза двухцепочечных фрагментов ДНК	10	4	0	0	6
Создание рекомбинантных ДНК в клетках E. coli	10	4	0	0	6
Векторные системы грамотрицательных бактерий. Векторы широкого круга хозяев.	14	4	0	0	10
Зачет	2				

## 5. Аннотированное описание содержания разделов и тем дисциплины

### Введение

Историческая справка о создании синтетических биологических систем на молекулярном уровне. Задачи и методы генетической инженерии.

### Строение и свойства нуклеиновых кислот

Компоненты ДНК и РНК. Формы ДНК и РНК. Топология ДНК. Биологическая роль суперспирализации ДНК. Топологические изомеры. Денатурация и ренатурация ДНК.

### Ферменты, используемые при создании рекомбинантных ДНК

Эндонуклеазы рестрикции. ДНК-лигазы. ДНК-полимераза. Обратная транскриптаза. Нуклеаза Ba131. Терминальная трансфераза. Поли(А)-полимераза E. coli. Щелочная фосфатаза.

### **Схемы создания рекомбинантных ДНК**

Общая схема клонирования ДНК. Выбор векторных систем. Методы выделения ДНК. Получение рекомбинантных ДНК. Трансформация рекомбинантных плазмид в клетки про- и эукариот. Методы детекции рекомбинантных ДНК в клетках.

### **Векторные молекулы**

Основные характеристики клонирующего вектора. Плазмидные векторы. Векторы на основе фагов. Фагмиды. Векторы на основе хромосомы фага. Космиды - искусственные конструкции, созданные на основе плазмид и фага. Многофункциональные векторы для клонирования продуктов ПЦР. Бактериальные искусственные хромосомы. Челночные векторы. Искусственные хромосомы животных и человека.

### **Методы введения ДНК в клетки про- и эукариот**

Основные методы отбора гибридных клонов. Трансфекция. Трансформация. Компетентность клеток. Химические методы. Физические методы. Электропорация. Микроинъекции. Биобаллистика. Комбинированные методы трансформации.

### **Методы отбора гибридных клонов**

Основные методы отбора гибридных клонов. Фенотипическая селекция. Гибридизация нуклеиновых кислот *in situ*. Полимеразная цепная реакция. Функциональная комплементация. Радиоиммуноанализ белков *in situ*.

### **Методы исследования рекомбинантных ДНК**

Основные методы исследования рекомбинантной ДНК. Полимеразная цепная реакция. Методы секвенирования ДНК. Метод Сенгера. Автоматическое секвенирование ДНК. Анализ секвенированных рекомбинантных ДНК. Блоттинг по Саузерну. Электрофоретические методы исследования ДНК. Рестрикционный анализ.

### **Методы синтеза двухцепочечных фрагментов ДНК**

Применение синтетических двухцепочечных ДНК. Основные методы синтеза двухцепочечных фрагментов ДНК. Метод Кораны. Метод достраивания комплементарной цепи ДНК в присутствии праймера. Использование полимеразной цепной реакции для синтеза генов.

### **Создание рекомбинантных ДНК в клетках *B. coli***

Основные этапы создания рекомбинантных ДНК в клетках *E. coli*. Особенности строения клеток *E. coli*. Клеточная стенка *E. coli* и методы введения плазмидных и фаговых ДНК. Векторные системы и методы отбора рекомбинантных ДНК.

### **Векторные системы грамотрицательных бактерий. Векторы широкого круга хозяев.**

Плазмидный вектор pBR322: строение и отбор рекомбинантных клонов. Плазмидный вектор pUC19, «бело-голубой» тест. Векторы на основе хромосомы фага  $\lambda$ ; серий Charon,  $\lambda$ gt11,  $\lambda$ EMBL. Плазмиды и векторы широкого круга хозяев.

### **Рекомбинантные ДНК в грамположительных бактериях.**

Особенности строения клеток грамположительных бактерий. Клеточная стенка грамположительных бактерий и трансформация компетентных клеток. Клонирование векторов бактерий рода *Bacillus*. Векторные плазмиды, реплицирующиеся в клетках *E. coli* и *B. subtilis*. Челночные векторные системы. Особенности экспрессии генов грамположительных бактерий.

### **Генно-инженерные системы дрожжей**

Особенности генетической организации дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Клеточный цикл развития. Особенности строения генома. Плазмиды дрожжей. Интегративные векторные плазмиды. Клонирование векторов. Искусственные дрожжевые хромосомы. Векторы YFC.

### **Генно-инженерные системы культивируемых эукариотических клеток**

Эукариотические системы экспрессии рекомбинантных клонов. Мутантные сублинии клеток яичников китайских хомячков СНО. Клетки мышинной миеломы (линия Sp2/0). Клетки селезенки мышей (линия MEL). Клетки насекомых, зараженные бакуловирусами. Особенности введения ДНК в клетки млекопитающих и растений. Векторные системы на основе вирусов животных. Векторы растений.

#### **Бесклеточные белоксинтезирующие системы**

Бесклеточные белоксинтезирующие системы. Бесклеточные системы на основе компонентов клеток *E. coli*. Эукариотические бесклеточные белоксинтезирующие системы. Ретикулоцитаная система синтеза балка. Системы из зародышей пшеницы.

### **6. Перечень вопросов для проведения промежуточной аттестации**

06.03.01 Биология (Профиль: Микробиология)

#### **1 семестр. Экзамен**

1. Строение ДНК
2. Свойства ДНК
3. Строение РНК
4. Эндонуклеазы рестрикции
5. Рестриктазы класса II
6. ДНК-лигазы
7. ДНК-полимераза I *E. coli*
8. Фрагмент Кленова
9. Обратная транскриптаза
10. Нуклеаза Ba131
11. Терминальная трансфераза
12. Поли(А)-полимераза *E. coli*
13. Щелочная фосфатаза
14. Методы создания рекомбинантных ДНК
15. Рестриктазно-лигазный метод
16. Основные характеристики клонирующего вектора
17. Плазмидные векторы
18. Плазмидный вектор pBR322
19. Плазмидный вектор pUC19
20. Векторы на основе фагов.
21. Фаг M13
22. Фагмиды
23. Векторы на основе хромосомы фага
24. Векторы серий Chaon
25. Космиды
26. Многофункциональные векторы для клонирования продуктов ПЦР
27. Бактериальные искусственные хромосомы
28. Челночные векторы
29. Искусственные хромосомы животных и человека
30. Трансфекция
31. Трансформация
32. Компетентность клеток
33. Химические методы
34. Электропорация
35. Микроинъекции
36. Биобаллистика

37. Комбинированные методы трансформации
38. Основные методы отбора гибридных клонов
39. Фенотипическая селекция
40. Гибридизация нуклеиновых кислот in situ
41. Полимеразная цепная реакция
42. Функциональная комплементация
43. Радиоиммуноанализ белков in situ
44. Секвенирование ДНК
45. Блоттинг по Саузерну
46. Электорофоретические методы исследования ДНК
47. Основные методы синтеза двухцепочечных фрагментов ДНК

## 7. Перечень основной и дополнительной учебной литературы

**Основная:** Ившина И. Б. Большой практикум "Микробиология": учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по направлению 020400.62 "Биология" (профиль "Микробиология")/И. Б. Ившина.-Санкт- Петербург: Проспект науки, 2014, ISBN 978-5-903090-97-6.-112,-Библиогр.: с. 92-94.

1. **Дополнительная:** Уилсон К., Уолкер Д. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии: [пер. с англ]/ К. Уилсон, Д. Уолкер. -2-е изд.-Москва: Бинوم. Лаборатория знаний, 2015. -848с.

## 8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине

Образовательный процесс по дисциплине **Генная инженерия** предполагает полнотекстовые книги и журналы, базы данных, реферативные и информационные ресурсы сайта NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

## 9. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине

Лекционный зал, оборудованный интерактивной и обычной досками, мультимедийным проекционным оборудованием EPSON EMP – TW10 и EPSON H391B.

Оборудование в лабораториях:

- Атомно-абсорбционный пламенно-эмиссионный програм.-управл.спектрофотометр
- Газовый хроматограф GC-2014
- Лабор. установка для измерения наноразмерных частиц на базе анализатора Malvern
- Хромато-масс-спектрометрическая система
- Низкотемпературный морозильник
- Жидкостной хроматограф LC-20
- Амплификатор градиен. с блок.в копл:пробир,стрипы,планш.
- Микроскоп оптический лабораторный "Аксиостар" 3 шт.
- Микроскоп тринокулярный MC-400
- Респирометр замкнутого цикла для автоматиз.измер.уров. потребл.кислор.и выдел.уг
- Система ввода изображения "Видео-Тест-Размер"
- Спектрофотометр

- Ферментер ВЛС 2 шт.
- Флуоресцентный блок
- Фотометр планшетный Мультискан Асцент без фильтров и программ.
- Холодильник мед.вертикальный 382 л tc-86/в комплекте/
- Автоклавируемый ферментер и биореактор
- Амплификат.с многоур.контр.темпер.в компл.с градиен.набор./
- Гель-документир.сист.(BioRad) в компл.с управ.комп.и принтере
- Многофункцион.микропланшетный ридер INFINITE M200
- Спектрофотометр UV-1650PC в компл. с термостатир.ячейкой и кюветами кварцев.
- Трансиллюминатор MACROVUE UV-25
- УОС-99-01ламинарный бокс "САМПО" (ВЛ-12-1000)
- Ультразвуковой процессор с таймер.и режим. пульсации+зонд супенчатый 2мм для обр
- Высокоэффективный жидкостной хроматограф LC-20 AD в комплекте
- Цифровой спектрофотометр PD-303UV
- Микровизор mVizo-103
- Комплект для прямого копирования PhotoMan
- Микроплан.спектрофот.б/темпер.контр.в компл.с ПО Benchmark Plus
- Сист.аналит.жидк.хроматограф.для идентиф.и очист.белков и пептидов/колон.,коллек
- Спектрофотометр UV-1700 в компл. фирмы Шимадзу
- Жидкостный сцинтиляционный счетчик
- Низкотемпературный морозильник
- Амплификат.с многоур.контр.темпер.в компл.с градиен.набор./
- Ячейка электрофореза,16см,20 лунок,1ммтолщ.геля(BioRad)
- Спектрофотометр UV-mini-1240
- Устр.компьютер.4-х канал.д/обнаруж.в реж.реальн.врем.флуоресцент.детекц.специф.п
- Bio-Rad Laboratories для проведения ПЦР с детекцией э/форезом
- Жидкостной хроматограф LC-20AD
- Спектрофотом. BioSpec-Mini в компл.с 1-позиц.держат.кювет на 10мм,каб
- Камера д/провед.пульс-электрофор.с охлаж.модулем
- Автоклавируемый ферментер и биореактор
- Газовый хроматограф GC-2014
- Жидкостной хроматограф высокого давления
- Градиентн. амплификатор на 2 смен.блока с 2 блок.96\*0,2 мл
- Микроскоп лабораторный "Лейка"
- Оборудование для анализа ДНК
- Спектрофотометр Ultrospec 3300 pro
- Установка для амплификации и электрофореза нуклеиновых кислот
- Установка для секвенирования ДНК модель MEGA BASE в комплекте
- Сканирующий кюветный спектрофотометр SmartSpec Plus с кварц спектрофотометр.кювет
- Автоклавируемый ферментер и биореактор
- Анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАН
- Двухлучевой спектрофотометр модель UV-1650(PC) в компл. с програм.обеспечением,
- Скан.кювет.спектрофот.в компл:кварц.спектр.кювета,кюветы,управ.ко
- Жидкостной хроматограф LC-20

- Лабораторная установка для ПЦР в реальном времени
- Микроскоп LEICA DM 2000 в комплекте
- Спектрофлуориметр RF-1501
- Планшетный спектрофотометр xMark(BioRad) 200-1000 нм
- Ультразвуковой процессор с таймер.и режим. пульсации+зонд супенчатый 2мм.

## 10. Планируемые результаты обучения по дисциплине для формирования компетенции и критерии их оценивания

### Оценочные средства

Вид мероприятия промежуточной аттестации : **Зачет**

Способ проведения мероприятия промежуточной аттестации : **Письменное контрольное мероприятие**

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации : 2 з.е.

### Показатели оценивания

Отсутствие знаний, умений и навыков	Неудовлетворительно
Наличие общих, неконструктивных знаний в области генной инженерии, фрагментарные знания ферментов, применяемых при работе с ДНК и РНК, принципы их работы; методов, применяемых в генной инженерии.	Удовлетворительно
В целом сформированные, системно организованные знания теории генной инженерии, незначительные ошибки в знаниях методов, генной инженерии.	Хорошо
Высокий уровень знаний в области генной инженерии. Системные знания о методах, применяемых в генной инженерии. Успешное применение их в решении конкретных научных задач.	Отлично