

**АВТОНОМНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»
(АНОО ВО «УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»)**

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

«Практикум по генетической и белковой инженерии»

Уровень образования: высшее образование – программа специалитета
Специальность: 06.05.01 Биоинженерия и биоинформатика
Направленность (профиль): Биоинженерия

1. Трудоемкость дисциплины (модуля): 5 з.е.

2. Место дисциплины в учебном плане: дисциплина «Практикум по генетической и белковой инженерии» входит в Блок 1. «Дисциплины (модули)», обязательную часть, раздел «Профессиональная подготовка» и изучается в 13-16 модулях (7-8 семестры).

3. Цель дисциплины (модуля): формирование практических навыков в области методов геномной инженерии как нового направления биологической науки для использования в практической деятельности.

4. Задачи дисциплины (модуля):

– Формирование практических навыков работы с современными методами генетической и белковой инженерии.

– Освоение основных методов и подходов, используемых при создании искусственных генетических конструкций и для различных целей (научных и производственных).

5. Перечень разделов (тем) дисциплины и их краткое содержание:

Наименование раздела (темы) дисциплины (модуля)	Краткое содержание
Основные объекты, используемые в генетической инженерии	Методы, используемые для создания генетических конструкций, ферменты (рестриктазы, Т4ДНК-полимераза, фрагмент Кленова, полинуклеотидкиназа, нуклеаза S1, фосфатаза, ДНК-лигаза). Плазмиды. Ориджины репликации. Совместимость плазмид. Селективные маркеры. Полилинкер. Бело-голубая селекция. Саузерн, нозерн и вестерн блоты. Гибридизация колоний. Клонирование генетических конструкций в бактериальных клетках. ПЦР. Конструирование праймеров. Ферменты (Taq- полимераза, Pfu-полимераза, Pfu-Turbo, обратная транскриптаза). Условия денатурации, отжига и элонгации. Случайный и сайтнаправленный мутагенез (точечный, делеционный, инсерционный). Амплификация участка ДНК, окружающего известный ген. RT-PCR. Real-timePCR. Иммуно-ПЦР.
Работа с библиотеками генов, экспрессия целевых генов	Библиотеки генов. Размер библиотеки. Расщепление генов, геномов на фрагменты для конструирования библиотек. Векторы (на основе фага, лямбда, космиды, УАС"и, ВАС'и) их емкость, особенности работы с ними. Физическая карта генома человека. STS. Прогулка по хромосоме. Библиотеки к ДНК (конструирование, нормализация, размер). Методы скрининга библиотек. Дифференциальный скрининг, вычитательная гибридизация. Амплификация библиотек. Экспрессия генов в клетках дрожжей. Виды дрожжевых векторов. Ориджины репликации. Селективные маркеры. Дрожжевые промоторы. Индуцибельные системы. Дрожжевая двугибридная система. Одногибридная, тригибридная, обратная двугибридная система. Необходимые контроли. Получение рекомбинантных белков в бактериальных клетках. Используемые промоторы (lac, lac, trc, T5, T7). Превращение конститутивных промоторов в индуцибельные. Особенности системы с T7 промотором.

	Способы борьбы с подтеканием промотора. Оптимизация экспрессии. Тэги (6xHis, GST, ZZ). Выделение и очистка рекомбинантных белков. Тельца включения. Белковый сплайсинг (механизм, использование для получения рекомбинантных белков). Трансдуцирующие пептиды.
Секвенирование. Генетическая модификация эукариотических клеток	Секвенирование. Принципы секвенирования. Метод Максама-Гилберта. Метод Сэнджера. Способы разделения и детекции фрагментов ДНК. Современные методы секвенирования. Системы введения трансгенов в клетки млекопитающих, основанные на гомологичной рекомбинации. Негативная и позитивная селекция. Нокаутирование генов. Получение трансгенных животных. Cre-lox и Pr- firt рекомбинация. Условный нокаут. Факторы, влияющие на эффективность трансляции в клетках прокариот и эукариот. Метод бицистронных конструкций для идентификации IRES-элементов. Источники артефактов. Получением РНКin vitro. Метод Toe-print. SELEX. Создание рандомизированных библиотек. Получение РНК и ДНК аптамеров. Методы селекции, количество циклов, тестирование, применение. Редактирование генов.

6. Образовательные результаты освоения дисциплины (модуля):

Код и наименование компетенции	Код и наименование индикатора достижения компетенции
ОПК-3. Способен проводить экспериментальную работу с организмами и клетками, использовать физико-химические методы исследования макромолекул, математические методы обработки результатов биологических исследований	ИОПК-3.1 Применяет полученные знания об экспериментальной работе в области биотехнологии и адекватно выбирает алгоритмы для решения задач в области биоинженерии
	ИОПК-3.2 Выбирает оптимальные пути решения биотехнологических задач на основе современной методологии с использованием современного оборудования и экспериментальных методов
	ИОПК-3.3 Работает с современным лабораторным оборудованием общего назначения, а также специализированными приборами для молекулярно-генетических исследований (амплификаторы, приборы для электрофоретического разделения биомолекул и т.п.)
	ИОПК-3.4 Использует базовые знания фундаментальных разделов математики и биоинформатики в объеме, необходимом для обработки информации и анализа биологических данных, в том числе в соответствии с задачами генетики, геномики и генетических технологий
ОПК-4. Способен применять методы биоинженерии и биоинформатики для получения новых знаний и для получения биологических объектов с	ИОПК-4.1 Применяет методы биоинженерии и биоинформатики для получения биологических объектов с целенаправленно измененными свойствами
	ИОПК-4.2 Способен выбирать молекулярно-генетические и молекулярно-биологические методы для решения задач профессиональной деятельности

целенаправленно измененными свойствами, проводить анализ результатов и методического опыта исследования, определять практическую значимость исследования	ИОПК-4.3 Оценивает и прогнозирует перспективность объектов своей профессиональной деятельности для биотехнологических производств
ПК-3. Способность выполнять работы по осуществлению процессов получения биотехнологической и биомедицинской продукции	ИПК-3.1 Способен проводить испытания образцов целевых продуктов биотехнологического и биомедицинского производства, исходного сырья и упаковочных материалов, промежуточной продукции и объектов производственной среды
	ИПК-3.2 Планирует и осуществляет биотехнологические процессы с использованием культур микроорганизмов, культур клеток, тканей растений и животных
	ИПК-3.3 Анализирует и выбирает методы контроля качества биотехнологического и биомедицинского производства

7. Оценочные и методические материалы

7.1. Оценочные материалы для организации текущего контроля

Лабораторные работы (ЛР 1-6)

Форма: устная, синхронная

Место и время проведения: во время контактной работы на лабораторных работах, согласно расписанию.

Примеры лабораторных работ:

Лабораторная работа 1.

Основные объекты, используемые в генетической инженерии. Постановка на практике полимеразной цепной реакции и электрофореза ДНК в полиакриламидном и агарозном геле. Разные способы визуализации ДНК в геле. Окраска ДНК серебром и флуоресцентными красителями.

Лабораторная работа 2.

Работа с библиотеками генов, экспрессия целевых генов. Работа с плазмидами. Трансформация компетентных клеток *E.coli* плазмидной ДНК. Бело-голубая селекция. Отбор рекомбинантов. Очистка плазмидной ДНК из клеток *E.coli*. Рестрикционный анализ.

Лабораторная работа 3.

Секвенирование. Подготовка образцов для секвенирования. Постановка на практике секвенирующих реакций. Очистка продуктов секвенирующих реакций перед электрофорезом. Демонстрация капиллярного электрофореза на приборе “ABIPrism3500”. Практическая работа по чтению нуклеотидных последовательностей (“трейсов”), идентификация мутаций в ДНК методом секвенирования. Принципы секвенирования ДНК нового поколения.

Лабораторная работа 4.

Генетическая модификация эукариотических клеток. Гетерологичная экспрессия в клетках *E.coli*. Продукция белков в системе с промотором T7 ДНК-полимеразы и С-терминальным гексагистиридиновым трактом. Очистка белков аффинной хроматографией на конке с фиксированными ионами никеля.

Лабораторная работа 5.

Генетический нокдаун. Знакомство с конфокальным микроскопом. Оценка временной экспрессии генов белков, слитых с зеленым флуоресцентным белком, в эукариотических клетках.

Лабораторная работа 6.

Микрочипы. Генотипирование. Виды и способы получения белковых микрочипов. Генная модификация растений. Способы ведения чужеродных генов в растения. Агробактериальное заражение и трансформация растений. Тi плаزمиды. Селективные маркеры. Получение и анализ трансгенных растений. Вирусные векторы. Сайленсинг. Свойства трансгенных растений.

Критерии оценки:

1. Лабораторная работа выполнена (10).
2. Лабораторная работа не выполнена (0).

7.2. Оценочные материалы для организации промежуточной аттестации

- Форма проведения: устная (синхронная), в очном формате в зависимости от расписания. Промежуточная аттестация включает в себя: консультацию (К1), которая проводится после изучения 1-го модуля; экзамен (Э1), который проводится после изучения 2-го модуля; консультацию (К2), которая проводится после изучения 3-го модуля; экзамен (Э2), который проводится после изучения 4-го модуля.

- Место проведения: учебная аудитория.

Пример экзаменационного задания:

1. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Принцип ПЦР.
2. Преимущества способов получения белков генно-инженерным путем по сравнению с традиционными методами.

В каждом экзаменационном билете будет указано два вопроса из предложенного перечня вопросов для подготовки к экзаменам. Дополнительные вопросы будут также выбраны из предложенного перечня вопросов для подготовки к экзаменам. Максимальный балл на экзамене – 10 баллов с учётом дополнительных вопросов.

Критерии оценки:

1. Получен правильный ответ на первый вопрос (2).
2. Полнота правильного ответа (0-2).
3. Получен неправильный ответ на первый вопрос (0).
4. Получен правильный ответ на второй вопрос (2).
5. Полнота правильного ответа (0-2).
6. Получен неправильный ответ на второй вопрос (0).
7. Получены ответы на дополнительные вопросы (0-2).

7.3. Методические рекомендации

Обучение по дисциплине предполагает изучение курса на аудиторных занятиях (практические занятия) и в ходе самостоятельной работы студентов. Студентам необходимо ознакомиться с содержанием рабочей программы дисциплины, с целями и задачами дисциплины, ее связями с другими дисциплинами образовательной программы, методическими разработками по данной дисциплине.

Обучение по дисциплине проводится последовательно путем проведения практических занятий с углублением и закреплением полученных знаний в ходе самостоятельной работы с последующим переводом знаний в умения в ходе практических занятий. Получение углубленных знаний по изучаемой дисциплине достигается за счет дополнительных часов к аудиторной работе самостоятельной работы студентов. Выделяемые часы целесообразно использовать для знакомства с дополнительной научной литературой по проблематике дисциплины, анализа научных концепций и современных подходов к осмыслению рассматриваемых проблем. К самостоятельному виду работы студентов относится работа в библиотеках, в электронных поисковых системах и т.п. по сбору материалов, необходимых для проведения практических занятий или выполнения конкретных заданий преподавателя по изучаемым темам. Обучающиеся могут установить электронный диалог с преподавателем, выполнять посредством него контрольные задания.