МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

УТВЕРЖДАЮ

И.о. заведующего кафедрой
генетики, цитологии и биоинженерии
_____В.Н. Калаев
05.06.2023 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Б1.В.ДВ.05.01 Генетическая инженерия и биобезопасность

1. Код и наименование направления подготовки: 06.03.01 Биология

2. Профиль подготовки: Генетика

3. Квалификация выпускника: бакалавр

4. Форма обучения: очная

5. Кафедра, отвечающая за реализацию дисциплины: генетики, цитологии и биоинженерии

6. Составители программы: Сыромятников М.Ю., к.б.н., доц.

7. Рекомендована: НМС медико-биологического факультета 29 мая 2023, протокол № 4

8. Учебный год: 2026-2027 **Семестр(ы)/Триместр(ы):** 8

9. **Цели и задачи учебной дисциплины**

Целями освоения учебной дисциплины являются: обеспечение теоретической подготовки бакалавров к системному восприятию молекулярно-биологических методов исследования в современной биологии, овладению обучающимися практических навыков лабораторной работы, необходимых для последующей профессиональной деятельности.

Задачи учебной дисциплины:

ознакомление бакалавров с основными кластерами теоретических знаний генетической инженерии, а также с наиболее актуальными и перспективными методами исследования в этой области.

10. Место учебной дисциплины в структуре ООП:

Учебная дисциплина «Генетическая инженерия и биобезопасность» относится к вариативной части Блока 1 «Дисциплины (модули)» Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология.

11. Планируемые результаты обучения по дисциплине/модулю (знания, умения, навыки), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями) и индикаторами их достижения:

Код	Название компетенции	Код(ы)	Индикатор(ы)	Планируемые результаты обучения
ПК-2	Способен проводить отдельные виды исследований в рамках поставленных задач по стандартным методикам	ПК-2.1	Планирует отдельные стадии исследования при наличии общего плана работы	Знать: теоретические основы генетической инженерии Уметь: применять полученные знания для поиска решения практических задач в области генетической инженерии Владеть: навыками проведения отдельных видов исследований по стандартным методикам
ПК-4	Способен проводить научные исследования в области генетики с применением современных методов и оборудования по актуальной проблеме	ПК-4.6	Выполняет работы по генотипированию у различных организмов для целей селекции и медицины	Знать: о последних достижениях в области применения имеющихся знаний о геноме бактерий Уметь: использовать современные молекулярно-генетические методы изучения структуры и функций генома Владеть: теоретическими знаниями о геноме бактерий

12. Объем дисциплины в зачетных единицах/час. — 8/108.

Форма промежуточной аттестации зачет

13. Трудоемкость по видам учебной работы

Вид учебной работы		Трудоемкость	
		Всего	По семестрам
			8 семестра
Аудиторные занятия		40	40
в том числе:	лекции	20	32
	практические		
	лабораторные	20	16
Самостоятельная работа		68	68
в том числе: курсовая работа (проект)			
Форма промежуточной аттестации *(экзамен – 36час.)*			
Итого:		108	108

13.1. Содержание дисциплины

№ п/п	Наименование раздела дисциплины	Содержание раздела дисциплины	Реализация раздела дисциплины с помощью онлайн-курса, ЭУМК*
1. Лекции			
1.1	Генная инженерия: предмет, цели и задачи.	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.	
1.2	Ферменты генной инженерии	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 Н. Терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза. Полинуклеотидкиназа фага Т4. Терминаза фага λ. Щелочные фосфатазы. Топоизомеразы.	
1.3	Методы генной инженерии		
1.4	Векторная система	Строение клеточной стенки грамотрицательных	

	грамотрицательной бактерии *Escherichia coli.*	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.	
1.5	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.	
1.6	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.	
2. Практические занятия			
2.1			
2.2			
3. Лабораторные занятия			
3.1	Генная инженерия: предмет, цели и задачи.		
3.2	Ферменты генной инженерии		
3.3	Методы генной инженерии	Организация и принципы работы в молекулярно-биологические лаборатории для биомедицинских исследований. Приготовление растворов для выделения и анализа нуклеиновых кислот Выделение ДНК Электрофорез ДНК и РНК Выделение РНК Проведение обратной транскрипции с олиго-(dt) праймерами Постановка полимеразной цепной реакции Электроэллюция ДНК из геля Химическая эллюция Лигирование выделенного фрагмента в вектор pAL2-T Получение химически компетентных клеток E. coli. Трансформация бактерий E. coli тепловым шоком Электропорация бактерий Скрининг трансформантов с помощью ПЦР с колоний Бело-голубой скрининг трансформантов Выделение плазмидной ДНК Секвенирование фрагмента в плазмиде Верификация секвенированной последовательности	
3.4	Векторная система грамотрицательной бактерии *Escherichia coli.*	Плазмиды и фаги для *Escherichia coli.* Основные принципы работы	
	Генно-инженерная система грамположительных бактерий рода *Bacillus.*	Плазмиды и фаги для *Bacillus.* Основные принципы работы	
	Клонирование эукариотических генов в клетках прокариот.	Векторные системы эукаритотических организмов. Методы трансформации эукариотических организмов.	

13.2. Темы (разделы) дисциплины и виды занятий

№ п/п	Наименование темы (раздела) дисциплины	Виды занятий (количество часов)				
		Лекции	Практические	Лабораторные	Самостоятельная работа	Всего
1	Генная инженерия: предмет, цели и задачи.	4		0	2	6
2	Ферменты генной инженерии	6		0	30	36
3	Методы генной инженерии	0		20	20	40
4	Векторная система грамотрицательной бактерии *Escherichia coli.*	4		0	6	10
5	Генно-инженерная система грамположительных бактерий рода *Bacillus.*	4		0	6	10
6	Клонирование эукариотических генов в клетках прокариот.	2		0	4	6
	Итого:	20		20	68	108

14. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины: Виды учебной работы и последовательность их выполнения:

- аудиторная: лекции, лабораторные занятия – посещение в соответствии с учебным расписанием;

- самостоятельная работа: изучение теоретического материалы для сдачи зачета;

Прохождение промежуточной аттестации – зачет.

Дисциплина реализуется с применением дистанционных технологий.

15. Перечень основной и дополнительной литературы, ресурсов интернет, необходимых для освоения дисциплины

а) основная литература:

№ п/п	Источник
1	Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия / С. Н. Щелкунов. — Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2017. — 514 с.

б) дополнительная литература:

№ п/п	Источник
1	Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. - СПб : Издательство СПбГТУ, 2002. – 522 с.
2	Маниатис Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж.Сэмбрук. - М.: Мир, 1984. – 480 с.
3	Кучук Н.В. Генетическая инженерия высших растений / Н.В. Кучук. -Киев: Наукова думка, 1997. – 152 с.

в) информационные электронно-образовательные ресурсы (официальные ресурсы интернет)*:

№ п/п	Ресурс
1	Электронный каталог Научной библиотеки Воронежского государственного университета. – http:// www.lib.vsu.ru
2	Электронный университет - https://edu.vsu.ru

16. Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы

№ п/п	Источник
1	

17. Образовательные технологии, используемые при реализации учебной дисциплины, включая дистанционные образовательные технологии (ДОТ, электронное обучение (ЭО), смешанное обучение):

Электронный университет (https://edu.vsu.ru).

18. Материально-техническое обеспечение дисциплины:

Учебная аудитория (для проведения занятий лекционного и семинарского типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля): специализированная мебель, проектор, ноутбук с возможностью подключения к сети «Интернет», экран настенный, ноутбук с возможностью подключения к сети «Интернет», шкаф с вытяжным устройством малый, микроскопы, микроцентрифуга, амплификатор, дозаторы, камера для горизонтального электрофореза, центрифуга, термостат WinPro 8, OfficeSTD, Kaspersky Endpoint Security	394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д.1, пом.1, ауд. 187

Помещение для самостоятельной работы	Компьютерный класс: специализированная мебель, компьютерная техника (компьютеры, принтер, сканер) с возможностью подключения к сети "Интернет" WinPro 8, OfficeSTD, Google Chrome, Kaspersky Endpoint Security	394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д.1, пом. I, ауд. 40/3
	Компьютерный класс: специализированная мебель, компьютерная техника (компьютеры, принтер, сканер) с возможностью подключения к сети "Интернет" WinPro 8, OfficeSTD, Google Chrome, Kaspersky Endpoint Security	394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д.1, пом. I, ауд. 40/5
	Компьютерный класс: специализированная мебель, компьютерная техника (компьютеры, принтер, сканер) с возможностью подключения к сети "Интернет" WinPro 8, OfficeSTD, Google Chrome, Kaspersky Endpoint Security	394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д.1, пом. I, ауд. 67
Помещения для хранения и профилактического обслуживания учебного оборудования	ноутбук, проектор	394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д.1, пом. I, ауд. 184а

19. Оценочные средства для проведения текущей и промежуточной аттестаций

Порядок оценки освоения обучающимися учебного материала определяется содержанием следующих разделов дисциплины:

№ п/п	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Компетенция(и)	Индикатор(ы) достижения компетенции	Оценочные средства
1.	Генная инженерия: предмет, цели и задачи.	ПК-2	ПК-2.1	
2.	Ферменты генной инженерии	ПК-2	ПК-2.1	
3.	Методы генной инженерии	ПК-2 ПК-4	ПК-2.1 ПК-4.6	Практические задания
4.	Векторная система грамотрицательной бактерии *Escherichia coli.*	ПК-2	ПК-2.1	
	Генно-инженерная система грамположительных бактерий	ПК-2	ПК-2.1	

№ п/п	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Компетенция(и)	Индикатор(ы) достижения компетенции	Оценочные средства
	рода *Bacillus.*			
	Клонирование эукариотических генов в клетках прокариот.	ПК-2	ПК-2.1	
Промежуточная аттестация форма контроля – зачет				КИМ

20. Типовые оценочные средства и методические материалы, определяющие процедуры оценивания

20.1. Текущий контроль успеваемости

Контроль успеваемости по дисциплине осуществляется с помощью следующих оценочных средств: практических заданий

Пример практического задания.

Тема: **Лигирование выделенного фрагмента в вектор pAL2-T**

1. Произвести очистку свежеприготовленного ПЦР-продукта с помощью колоночных наборов для выделения ДНК из реакционных смесей или путем фенольной экстракции с последующим переосаждением этанолом.

2. В стерильной пробирке на 0,2 мл приготовить реакционную смесь, смешивая реагенты в порядке, указанном ниже. Объём реакции 10 мкл:

Компонент	Стандартная реакция
Стерильная вода	до 10 мкл
5X Quick ligation буфер	2 мкл
pAL2-T вектор (50 нг/мкл)	1 мкл
ПЦР-продукт (100-1000 нг)	X мкл*
Quick-TA T4 ДНК лигаза	1 мкл

*X мкл – объём рассчитывается в пересчёте на массу, указанную в скобках

3. Перемешать компоненты реакции мягким пипетированием, сбросить капли со стенок пробирки путем импульсного откручивания.

4. Инкубировать смесь при комнатной температуре в течение 10-15 минут.

5. Заморозить смесь на -20°C после окончания реакции.

20.2. Промежуточная аттестация

Промежуточная аттестация по дисциплине осуществляется с помощью следующих оценочных средств:

Комплект разноуровневых заданий:

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.
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.

Выбрать правильный ответ:

Участок ДНК, в котором записана информация о первичной структуре белка:
а) ген
б) геном
в) локус
г) хромосома

Совокупность методов, позволяющих путем операций in vitro переносить информацию из одного организма в другой – это:
а) хромосомная инженерия
б) генная инженерия
в) клеточная инженерия
г) гетерозис

Введение рекомбинантных плазмид в бактериальные клетки – это:
а) лигирование
б) скрининг
в) трансформация
г) рестрикция

Цели генной инженерии:
а) преодолевание межвидовых барьеров
б) передача отдельных наследственных признаков одних организмов другим
в) способность нарабатывать «человеческие» белки
г) все варианты ответов верны

Плазмида – это:
а) и-РНК бактерий
б) к-ДНК
в) двухцепочечная кольцевая ДНК
г) рестриктаза

Первым объектом генной инженерии стала:
а) E.coli
б) S.cerevisae
в) B.subtilis
г) Saccharomyces boulardii

Субстратами рестриктаз, используемых генным инженером, являются:
а) гомополисахариды
б) гетерополисахариды
в) нуклеиновые кислоты

г) белки

В прокариотических клетках CRISPR выполняют функцию:
а) репликации ДНК
б) противовирусной защиты
в) устойчивости к антибиотикам
г) устойчивости к факторам окружающей среды

CRISPR расшифровывается как:
а) короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами
б) длинные последовательности ДНК
в) минисателлиты, состоящие преимущественно из ГЦ-повторов
г) макросателлиты

Редактирование генов осуществляют с помощью:
а) кислот
б) солей
в) антибиотиков
г) систем CRISRP-Cas9, TALEN, ZFN

Белки семейства Casвстручаются у:
а) вирусов
б) эукариот
в) бактерий
г) грибов

В основе метода CRISPR-Cas9 лежит фермент:
а) нуклеаза
б) лигаза
в) полимераза
г) ДНКаза

К методу геномного редактирования относят:
а) NGS
б) CRISPR-Cas9
в) ПЦР
г) ПДРФ анализ

Рестрикция – это:
а) отбор клонов трансформированных бактерий, содержащих плазмиды, несущие нужный ген человека
б) введение бактериальных плазмид в бактериальную клетку
в) разрезание ДНК ферментом рестрикционной эндонуклеазой
г) включение фрагментов ДНК человека в плазмиды и сшивание «липких» концов

Основная проблема использования CRISPR-Cas9 в эукориотических клетках:
а) токсичность чужеродного агента
б) индукция ферроптоза
в) индукция апоптоза
г) неспецифическое связывание с ДНК

Отличительной особенностью праймированного редактирования является использование белка:
а) обратной транскриптазы
б) лигазы
в) полимеразы
г) нуклеазы

Нуклеаза – это фермент, способный:

а) заменять один нуклеотид на другой
б) образовывать пиримидиновый гомодимер
в) расщеплять нити ДНК
г) образовывать АФК

Индель – это:
а) метилированная ДНК
б) вставка или делеция нескольких нуклеотидов
в) однонуклеотидная замена
г) хромосомная транслокация

Редактирование оснований – это метод, позволяющий:
а) вносить индели в последовательность ДНК
б) вносить однонуклеотидную замену в последовательность ДНК
в) интегрировать фрагмент гена
г) удалять интрон из ДНК

Преобладающим типом репарации ДНК после CRISPR-Cas9 разрыва является:
а) негомологичное соединение концов
б) направленная гомологичная репарация
в) однонитевой отжиг
г) эксцизионная репарация

Ферментом, сшивающим две цепи ДНК при разрыве, является:
а) полимераза
б) лигаза
в) эндонуклеаза
г) метилтрансфераза

Рекомбинантная ДНК – это:
а) молекула ДНК, используемая в генной инженерии для передачи генетического материала внутрь клетки
б) кольцевая ДНК
в) лигированная ДНК
г) фрагмент ДНК, созданный путем объединения как минимум двух фрагментов из двух разных источников

По характеру хранимых данных базы данных делятся на:
а) первичные, вторичные, составные
б) архивные, курируемые, автоматические
в) простые, сложные, составные
г) первичные, вторичные, третичные

По механизму наполнения базы данных можно разделить на:
а) первичные, вторичные, составные
б) архивные, курируемые, автоматические
в) простые, сложные, составные
г) первичные, вторичные, третичные

Цель базы данных:
а) накапливать данные
б) организовывать данные
в) обеспечивать свободный доступ к данным
г) все ответы верны

Эндонуклеаза – это:
а) фермент, расщепляющий нуклеотидную цепь на две или более короткие цепи путем расщепления внутренних фосфодиэфирных связей

б) фермент, отщепляющий концевые нуклеотиды от полинуклеотидной цепи путём гидролиза фосфодиэфирных связей между нуклеотидами
в) фермент, катализирующий соединение двух молекул с образованием новой химической связи
г) фермент РНК-полимеразы, который принимает участие в репликации ДНК.

Никаза – это фермент, способный:
а) катализировать репликацию макромолекул
б) синтезировать полимеры нуклеиновых кислот
в) разрезать только одну цепь ДНК
г) катализировать гидролиз ковалентной связи

Нуклеазы Casдоставляют в живые клетки в:
а) виде белков
б) виде мРНК
в) составе экспрессионного ДНК-вектора
г) все ответы верны

Каждый цинковый палец способен узнать последовательность из:
а) одного нуклеотида
б) двух нуклеотидов
в) трех нуклеотидов
г) четырех нуклеотидов

Прибор, в котором осуществляется ПЦР, называется
а) секвенатор
б) амплификатор
в) флуориметр
г) биореактор

Для работы полимеразы необходимы:
а) ионы калия
б) ионы марганца
в) ионы железа
г) ионы магния

Праймеры – это:
а) короткие искусственно синтезированные олигонуклеотиды
б) термостабильные ферменты
в) «строительный материал» для синтеза новой цепи ДНК
г) участок ДНК, который необходимо амплифицировать

В основе полимеразной цепной реакции лежит процесс:
а) трансляции
б) репликации
в) транскрипции
г) трансдукции

Одноцепочечная молекула ДНК, используемая в качестве индикатора, называется:
а) линкером
б) вектором
в) зондом
г) биосенсором

Нуклеаза FokIиспользуется в методах геномного редактирования:
а) TALEN и ZFN
б) TALENиCRISPR-Cas9
в) ZFN иCRISPR-Cas9
г) мегануклеазы и TALEN

Развернутые ответы:
- Участки транскриптома, активирующие или дезактивирующие РНКполимеразу через транскрипционные факторы у эукариот:
- Введение рекомбинантных плазмид в бактериальные клетки – это:
- Основоположником генной инженерии по праву считают:
- Резкое увеличение риска развития рака при мутациях генов BRCA обусловлено:
- Белки, конденсирующие хроматин при делении клеток:
- CRISPR в прокариотической клетке выполняет функцию:
- Для доставки нуклеиновых кислот в клетке не может быть использован:
- Резкое увеличение риска развития рака при мутациях генов BRCA обусловлено:
- Микроорганизмы, не имеющие оформленного ядра:
- Учение о способах улучшения генофонда человека:
- Какой белок связывается с белком-активатором?
- Комплекс осуществляющий синтез ДНК:
- Сущность какого процесса заключается в синтезе молекулы видоспецифичного белка?
- Какой белок является удобным инструментом для редактирования геномов?
- Субстратами для какого фермента служат рибонуклеозидтрифосфаты?
- В каком комплексе встречаются три основных типа РНК: мРНК, тРНК и рРНК?
- Какой белок необходим для соединения фрагментов Оказаки?
- Перечислите основные различия между CRISPR-Cas9 и праймированным редактированием.
- Опишите методы праймированного редактирования.
- Перечислите векторные системы для модификации эукариотических организмов.

Критерии оценивания:

Отлично – студент набрал 80% от максимального количества баллов за тест и развёрнутые ответы и выше

Хорошо - студент набрал 60-79% от максимального количества баллов за тест и развёрнутые ответы

Удовлетворительно - студент набрал 45-59% от максимального количества баллов за тест и развёрнутые ответы

Неудовлетворительно - студент набрал 44% и менее от максимального количества баллов за тест и развёрнутые ответы