

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
Біолого-екологічний факультет
Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

ПРОГРАМА
вибіркової навчальної дисципліни
підготовки бакалавра
спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Дніпро
2017 рік

Робоча програма «Основи молекулярної біотехнології» для студентів за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія.
„___” _____ 2017 року - __ с.

Розробники:

Дрегваль О.А., доцент кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології, к.б.н., доцент

Робоча програма затверджена на засіданні кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології

Протокол від “___” _____ 2017 року № ___

Завідувач кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології

_____ (_____)
(підпис) (прізвище та ініціали)
“___” _____ 2017 року

Схвалено методичною комісією вищого навчального закладу за напрямом підготовки 6.051401 Біотехнологія

Протокол від. “___” _____ 2017 року № ___

“___” _____ 2017 року Голова _____ (Скляр Т.В.)

Схвалено Вченою радою біолого-екологічного факультету

Протокол від. “___” _____ 2017 року № ___

Голова _____ (Севериновська О.В.)
“___” _____ 2017 року

1. Опис навчальної дисципліни

Найменування показників	Галузь знань, спеціаліст, освітньо-кваліфікаційний рівень	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 10	Галузь знань <u>0514 Біотехнологія</u> (шифр і назва)	За вибором	
Модулів – 2	Напрям підготовки 6.051401 Біотехнологія	Рік підготовки:	
Змістових модулів – 4		3-й	-
Індивідуальне науково-дослідне завдання _____ (назва)	Спеціальність (професійне спрямування):	Семестр	
Загальна кількість годин – 300, із них 5 сем. – 160, 6 сем. – 140		5, 6 -й	-
		Лекції	
		66 год.	-
		Практичні, семінарські	
		16 год.	
		Лабораторні	
	34 год.	-	
	Самостійна робота		
	184 год.	-	
	У тому числі індивідуальні завдання:		
	-	-	
	Вид контролю: екзамен, екзамен		
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 5 сем. – 4 6 сем. - 3 самостійної роботи студента – 5 сем. - 5,4 6 сем. – 5,75	Перший (бакалаврський) рівень вищої освіти		

Примітка.

Співвідношення кількості годин аудиторних занять до самостійної і індивідуальної роботи становить:

для денної форми навчання – 1:1,5

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Метою викладання курсу «Основи молекулярної біотехнології» є формування у студентів уявлення про стратегію створення рекомбінантних ДНК для цілеспрямованого конструювання мікро- та макроорганізмів-продуцентів біологічно-активних речовин та ознайомлення їх з комплексом сучасних методів молекулярної біотехнології. У процесі вивчення курсу студенти отримають знання про головні поняття та процеси молекулярної біотехнології. Буде розглянуто молекулярно-біологічні та генно-інженерні аспекти застосування різних організмів у біотехнологічних дослідженнях та виробництві.

ЗАВДАННЯ

У завдання курсу входить вивчення:

- головних понять молекулярної біотехнології;
- відомостей про організми, що застосовуються у молекулярній біотехнології та аспектів їх використання;
- основ генетичної та клітинної інженерії.
-

У результаті вивчення дисципліни фахівець повинен знати:

- базові поняття молекулярної біотехнології;
- можливості застосування вірусів, бактерій, рослинних і тваринних клітин у молекулярній біотехнології;
- загальну методологію отримання рекомбінантного продуцента;
- сучасні підходи до отримання цільового гену;
- особливості застосування існуючих генетичних векторів в молекулярному клонуванні;
- методи введення генетичного матеріалу до реципієнтних клітин;
- способи скринінгу та селекції клітин, що містять рекомбінантну ДНК;
- особливості виділення та очищення цільового продукту;
- шляхи підвищення експресії клонованих генів;
- способи отримання рекомбінантних лікарських засобів: інтерферону, соматотропіну, моноклональних антитіл, вакцин, антибіотиків.

Підготовлений фахівець повинен уміти:

- обирати найбільш відповідний для досліджень і виробництва у галузі молекулярної біотехнології об'єкт;
- орієнтуватися у молекулярно-генетичних методах, що можуть бути застосовані для вивчення властивостей організмів-продуцентів;
- здійснювати лабораторні та виробничі процедури із біооб'єктами;
- застосовувати сучасні методи перенесення генетичного матеріалу у бактеріальні клітин-реципієнти;
- ідентифікувати трансформовані клітини;
- виділяти та аналізувати сучасними методами якісні препарати нуклеїнових кислот.

3. Програма навчальної дисципліни

МОДУЛЬ I

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ I. Молекулярна біотехнологія – сучасний стан розвитку дисципліни

ТЕМА 1. Вступ до предмету

Історія та перспективи розвитку молекулярної біотехнології та генної інженерії. Напрямки молекулярної біотехнології, її зв'язок з іншими науками. Об'єкти молекулярної біотехнології. Комерціалізація молекулярної біотехнології.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ II Основи генетичної інженерії

ТЕМА 2. Принципи і інструменти генетичної інженерії

Стратегія генетичної інженерії (молекулярне клонування). Ферменти генетичної інженерії: нуклеази, фосфомоноестерази, полінуклеотидкіназа, лігаза, ДНК-полімераза, термінальна дезоксинуклеотидилтрансфераза. Отримання генів. Виділення генів із ДНК. Хіміко-ферментативний синтез генів. Ферментативний синтез генів. Застосування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у генетичній інженерії. Синтез кДНК, що відповідає 3' та 5'-кінцям ДНК. Синтез генів за допомогою ПЛР. Конструювання рекомбінантних молекул нуклеїнових кислот. Характеристика клонувальних векторів. Плазмідні, фагові вектори, косміди та фазміди.

ТЕМА 3. Клонування генів

Термін «клонування» у генетичній інженерії. Введення молекул ДНК у клітини. Трансформація та трансфекція інтактних клітин та їх протопластів. Метод електропорації. Метод мікроін'єкції ДНК для трансформації клітин тварин та протопластів рослин. Метод агробактеріальної трансформації.

ТЕМА 4. Створення та скринінг клонотек. Характеристика продуктів клонування

Типи клонотек: геномні бібліотеки і бібліотеки кДНК. Способи ідентифікації генів у клонотеках. Ідентифікація генів за зміною фенотипу клітин. Імунологічний скринінг продуктів генів. Скринінг клонотеки за допомогою зондів. Визначення розміру гібридної ДНК методом гель-електрофорезу, електронної мікроскопії, вирізання вставки за допомогою рестриктаз. Картування сайтів для ендонуклеаз рестрикції. Визначення положення потрібного сегменту у вставці. Блоттінг ДНК за Саузерном. Визначення послідовності нуклеотидів у ДНК (секвенування). Секвенування ДНК методом обрива ланцюга.

ТЕМА 5. Оптимізація експресії генів, клонованих у прокаріотичних системах

Шляхи підвищення експресії клонованих генів. Експресія генів за участю сильних регульованих промоторів. Досягнення високого рівня трансляції чужеродних генів. Хімерні білки. Стабілізація мРНК і білкового продукту чужеродного гену.

ТЕМА 6. Отримання рекомбінантних білків за допомогою еукаріотичних систем

Системи експресії *Saccharomyces cerevisiae*. Системи експресії з використанням культур клітин комах. Системи експресії з використанням культур клітин ссавців.

ТЕМА 7. Точковий мутагенез та генна інженерія білків

Точковий мутагенез. Точковий мутагенез з використанням ДНК фага M13. Точковий мутагенез з використанням плазмідної ДНК. Нуклеотид-напрявлений мутагенез із використанням ПЦР-ампліфікації. Випадковий мутагенез з використанням «вироджених» олігонуклеотидних праймерів. Випадковий мутагенез з використанням аналогів нуклеотидів. Генна інженерія білків.

МОДУЛЬ 2

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ I. Основи клітинної інженерії

ТЕМА 1. Клітинна інженерія рослин

Культивування тканин та клітин рослин. Культури калусних тканин рослин. Культивування пухлинних тканин рослин. Суспензійні культури клітин. Культивування поодиноких культур клітин рослин. Гібридизація та клітинна селекція рослин. Клітинна реконструкція.

ТЕМА 2. Клітинна інженерія тварин

Культивування клітин і тканин тварин. Гібридизація клітин тварин. Гібридома. Моноклональні антитіла. Схема отримання гібридом на основі мієломних клітин та імунних лімфоцитів.

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ II. Використання досягнень молекулярної біотехнології

ТЕМА 3. Конструювання і застосування генно-модифікованих мікроорганізмів

Отримання за допомогою генно-модифікованих мікроорганізмів вітамінів, амінокислот, етанолу, фруктози. Отримання лікарських препаратів: антибіотиків, інтерферонів, інсуліна. Виробництво моноклональних антитіл за допомогою *Escherichia coli*.

ТЕМА 4. Створення і використання генетично-модифікованих рослин

Прийоми отримання генно-модифікованих рослин без маркерів. Основні цілі створення трансгенних рослин. Створення стійких до різних факторів рослин. Створення рослин, стійких до комах-шкідників, вірусів, фітопатогенним грибам і бактеріям. Рослини, стійкі до несприятливих факторів навколишнього середовища. Рослини як «біореактори».

ТЕМА 5. Створення трансгенних тварин та їх використання

Методологія отримання трансгенних мишей. Застосування трансгенних мишей. Трансгенна велика рогата худоба, вівці, кози, свині, птахи, риби.

ТЕМА 6. Контроль досліджень у галузі молекулярної біології

Контроль експериментів з рекомбінантними ДНК. Контроль виробництва харчових продуктів ті харчових добавок. Контрольоване вивільнення генетично-модифікованих організмів у навколишнє середовище. Політика у галузі генної терапії соматичних клітин.

4. Структура навчальної дисципліни

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин					
	усього	у тому числі				
		л	п	лаб	інд	с.р.
1	2	3	4	5	6	7
1 семестр						
Модуль 1						
Змістовний модуль 1. Молекулярна біотехнологія – сучасний стан розвитку дисципліни						
Тема 1. Вступ до предмету	12	4				8
Разом за змістовним модулем 1	12	4				8
Змістовний модуль 2. Основи генетичної інженерії						
Тема 2. Принципи і інструменти генетичної інженерії	36	8		10		18
Тема 3. Клонування генів	20	2		8		10
Тема 4. Створення та скринінг	38	8		8		22

клонотек. Характеристика продуктів клонування						
Тема 5. Оптимізація експресії генів, клонованих у прокаріотичних системах	20	4		4		12
Тема 6. Отримання рекомбінантних білків за допомогою еукаріотичних систем	16	4		2		10
Тема 7. Точковий мутагенез та генна інженерія білків	18	4		2		12
Разом за змістовним модулем 2	148	30		34		84
Разом за модулем 1	160	34		34		92
2 семестр						
Модуль 2						
Змістовний модуль 1. Основи клітинної інженерії						
Тема 1. Клітинна інженерія рослин	26	6	2			18
Тема 2. Клітинна інженерія тварин	26	6	2			18
Разом за змістовним модулем 1	52	12	4			36
Змістовний модуль 2. Використання досягнень молекулярної біотехнології						
Тема 3. Конструювання і застосування генно-модифікованих мікроорганізмів	26	6	4			16
Тема 4. Створення і використання генетично-модифікованих рослин	26	6	4			16
Тема 5. Створення трансгенних тварин та їх використання	24	6	2			16
Тема 6. Контроль досліджень у галузі молекулярної біології	12	2	2			8
Разом за змістовним модулем 2	88	20	12			56
Разом за модулем 2	140	32	16			92
Усього годин	300	66	16	34		184

5. Теми семінарських занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Не передбачено	

6. Теми практичних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Клітинна інженерія рослин	2
2	Клітинна інженерія тварин	2
3	Конструювання і застосування генно-модифікованих мікроорганізмів	4
4	Створення і використання генетично-модифікованих рослин	4
5	Створення трансгенних тварин та їх використання	2
6	Контроль досліджень у галузі молекулярної біології	2

7. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Кількісна екстракція РНК, ДНК, їх фрагментів і похідних.	6
2	Генетична трансформація <i>Bacillus subtilis</i>	10
3	Виділення плазмідної ДНК	6
4	Отримання протопластів <i>Streptomyces recifensis var. lyticus</i> 2P-15	8
5	Трансформація протопластів <i>Streptomyces recifensis var. lyticus</i> 2P-15 плазмідною ДНК	6

8. Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Особливості розвитку досліджень і комерціалізація біотехнологічних досліджень у різних країнах світу	4
2	Ринок новітніх біотехнологічних препаратів та продуктів	4
3	Застосування рестриктаз для молекулярного клонування, фізичного картування молекул ДНК та медичній генодіагностиці	4
4	Загальна схема вектору на прикладі бактеріальної експресійної плазмиди	2
5	Вектори типу «штучні хромосоми»	2
6	Полімеразна ланцюгова реакція	2
7	Відбір трансформованих клітин, що містять рекомбінантну ДНК	2
8	Плазмідний вектор PUC19	2
9	Фосфорамидитний метод синтезу ДНК	4
10	Генетична трансформація прокаріот	5
11	Способи введення ДНК у дріжджові клітини	5
12	Створення і скринінг геномних бібліотек	2
13	Скринінг за допомогою гібридизації	6
14	Імунологічний скринінг	6
15	Скринінг за активністю білка	6
16	Клонування структурних генів еукаріот	2
17	Використання для експресії генів різних грамнегативних бактерій	6
18	Хімерні білки та їх застосування	6
19	Експресуючі вектори для роботи з клітинами ссавців	6
20	Системи експресії з використанням культур клітин комах	4
21	Олігонуклеотид-напрямлений мутагенез з використанням ПЦР-ампліфікації	6
22	Випадковий мутагенез з використанням «вироджених» олігонуклеотидних праймерів	6
23	Клітинна реконструкція	6
24	Культури калусних тканин рослин	6
25	Перспективи розвитку клітинної інженерії	6
26	Стволові клітини	4
27	Гібридоми, спосіб їх отримання і застосування	6
28	Застосування моноклональних антитіл	8
29	Конструювання продуцента вітаміна B ₂ на базі <i>Bacillus subtilis</i>	4
30	Отримання лікарських препаратів за допомогою генетично-	14

	модифікованих мікроорганізмів	
31	Отримання стійких до шкідливих комах рослин	10
32	Отримання стійких до вірусів рослин	8
33	Методологія отримання трансгенних тварин	4
34	Метод мікроін'єкції ДНК у запліднені яйцеклітини миші	4
35	Клонування за допомоги переносу ядра	4
36	Контроль вивільнення генетично-модифікованих організмів у навколишнє середовище	8
	Разом	184

9. Індивідуальні завдання

№ змістового модуля, теми	Вид завдання, тема	Кількість годин
	Не передбвчено	

10. Методи навчання

Словесні, наочні, практичні, проблемні, інтерактивні.

11. Методи контролю

Експрес-опитування, контрольна робота, доповідь-презентація, підсумковий (екзамен).

12. Розподіл балів, які отримують студенти

1 семестр (модуль 1)

Змістовий модуль №1	Змістовий модуль № 2						Екзамен	Сума
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	40	100
10	50							

T1, T2 ... T7 – теми змістових модулів.

2 семестр (модуль 2)

Змістовий модуль №1	Змістовий модуль № 2					Екзамен	Сума
T1	T2	T3	T4	T5	T6	40	100
20	40						

T1, T2 ... T6 – теми змістових модулів.

Шкала оцінювання: національна та ECTS

Сума балів за всі види навчальної діяльності	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою	
		для екзамену, диференційованого заліку, курсового проекту (роботи), практики, державної атестації	для заліку
90 – 100	A	відмінно	зараховано
82-89	B	добре	
75-81	C		
64-74	D	задовільно	
60-63	E		
0-59	FX	незадовільно з можливістю повторного складання	не зараховано з можливістю повторного складання
	F*	незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни	не зараховано з обов'язковим повторним вивченням дисципліни

* - оцінка F виставляється тільки за результатами складання заборгованості комісії.

13. Методичне забезпечення

Вінніков А.І., Черевач Н.В., Жерносекова І.В., Лаврентьєва К.В. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт із курсу «Біотехнологія».- Дніпропетровськ: РВВ ДНУ, 2010.

14. Рекомендована література

Базова

1. Глик Б. Молекулярная биотехнология: Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
Огурцов А.Н. Молекулярная биотехнология. Фундаментальные и прикладные аспекты / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2012. – 432 с.
2. Божков А.И. Биотехнология / А.И. Божков. – Х. : Федорко, 2008. – 364 с.
3. Безбородов А.М. Ферментационные процессы в биотехнологии / А.М. Безбородов, Н.А. Загустина, В.О. Попов. – М. : Наука, 2008. – 335 с.
4. Войнов Н.А. Современные проблемы и методы биотехнологии / Н.А. Войнов, Т.Г. Волова, Н.В. Зобова и др. – Красноярск : ИПК СФУ, 2009. – 418 с.
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М. : Академия, 2003. – 208 с.
7. Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика /пер. с англ.. под ред.. С.И. Алиханяна М: Мир, 1981. – 646с.
8. Белясова Н. А. Молекулярная биотехнология : электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / Н. А. Белясова. – Минск : БГТУ, 2012. – 173 с.
9. Федоренко В.О. , Осташ Б.О., Гончар М.В., Ребець Ю.В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. Навчальний посібник для студентів біологічних факультетів університетів. – Львів: Видавничий центр імені Івана Франка, 2007.- 279 с.

Допоміжна

1. Брода П. Плазмиды /пер. с англ.. под ред.. А.А. Баева М: Мир, 1982. – 220с.

2. Кордюм В.А. Генетическая инженерия фитопатогенных бактерий К: Наукова думка, 1988. – 128с.
3. Glick B.R. Molecular biotechnology: Principles and applications of recombinant DNA, 4th ed. / B.R. Glick, J.J. Pasternak, C.L. Patten. – Herndon : ASM Press, 2009. – 1018 p.
4. Berg J.M. Biochemistry / J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, G.J. Gatto. – New York : W.H. Freeman and Company, 2012. – 1221 p.
5. Назарова А.Ф. Трансфекция нуклеиновыми кислотами бактериофагов. – М.: Наука, 1980. – 105с.
6. Левис Р., Ботстайн Д., Рот Д. Генетика бактерий /Пер. с англ. Ю.Н. Зографа/ Под. ред. Б.Р. Хесина. М.: Мир, 1984. – 176 с.

15. Інформаційні ресурси

Бібліотека ДНУ (вул. Казакова, 8)

1. Интернет-ресурс «Молекулярная биотехнология»
<http://sites.google.com/site/anogurtsov/lectures/mbt/>.
2. Интернет-ресурс «Massive Open Online Courses – BiotechU (thinkBiotech)» –
<https://www.mooc-list.com/course/biotechu-thinkbiotech>
3. Интернет-ресурс «Online Courses Coursera – Гены и состояние человека (от поведения до биотехнологий)» – <https://www.coursera.org/learn/genes>
4. Интернет-ресурс «Online Courses edX – Molecular Biology – Part 1: DNA Replication and Repair» – <https://www.edx.org/course/molecular-biology-part-1-dna-replication-mitx-7-28-1x1-0>
5. Интернет-ресурс «Online Courses edX – Molecular Biology – Part 2: Transcription and Transposition» – <https://www.edx.org/course/molecular-biology-part-2-transcription-mitx-7-28-2x-0>
6. Интернет-ресурс «Online Courses Coursera – Генетика (Genetics)» –
<https://www.coursera.org/learn/nsu-genetics>
7. Интернет-ресурс «Университет без границ – Математическое моделирование биологических процессов» – <http://universitetbezgraniz.ru/courses/biology/bio101/>
8. Интернет-ресурс «Foxford – Методы молекулярной биологии и молекулярная биотехнология» – <https://foxford.ru/wiki/biologiya/metody-molekulyarnoy-biologii-i-molekulyarnaya-biotehnologiya>
9. Интернет-ресурс «Молекулярная биотехнология. Биоинженерия» –
<http://cit.ksavm.senet.ru/biblio/Books/molekular.pdf>