

**Учреждение образования
«Международный государственный экологический институт имени
А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета**

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по учебной и
воспитательной работе

И.Э. Бученков

2021

Регистрационный № УД-945-21уч.



ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине
для специальности:

1-80 02 01 – Медико-биологическое дело

2021 г.

Учебная программа составлена на основе образовательного стандарта для специальности 1-80 02 01 – Медико-биологическое дело (ОСВО 1-80 02 01-2019 от 14.05.2019) и учебного плана специальности 1-80 02 01 – Медико-биологическое дело (рег. №108-18/уч. от 31.08.2018).

СОСТАВИТЕЛИ:

А. В. Бакунович, старший преподаватель кафедры экологической химии и биохимии учреждения образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой экологической химии и биохимии учреждения образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета (протокол №__ от _____ 2021);

Научно-методическим советом учреждения образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета (протокол № 10 от 24.06.2021)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Дисциплина «Генная инженерия» является важной составной частью программы подготовки специалистов медико-биологического профиля. Данная дисциплина относится к циклу общепрофессиональных и специальных дисциплин, которые создают теоретическую базу и формируют практические навыки специалистов для работы в научно-исследовательских, лечебно-диагностических лабораториях медико-биологических учреждений. В курсе рассматриваются вопросы, связанные с изучением строения, метаболизма и генетической организации прокариотических и эукариотических клеток, химической основе наследственности, механизмах репликации ДНК, транскрипции, способах реализации генетической информации в клетках, а также молекулярных механизмах, обеспечивающих изменения структуры ДНК. Курс включает современные сведения, касающиеся техники получения рекомбинантных ДНК, способах введения таких ДНК в клеточные системы экспрессии.

Цель учебной дисциплины – сформировать у студентов целостную систему знаний о структуре и свойствах биологических информационных макромолекул, а также об основных молекулярных механизмах, лежащих в основе функционирования живых клеток и многоклеточных организмов: метаболизме биологических макромолекул (ДНК, РНК и белков).

Задача дисциплины – дать основные понятия о строении и информационных свойствах нуклеиновых кислот. Показать принцип, механизмы и основы регуляции репликации ДНК прокариотических и эукариотических клеток, синтеза и созревания РНК, образования полипептидных цепей в ходе трансляции в биологических системах. Сформировать представления о задачах генной инженерии и практической значимости целевых продуктов, получаемых в результате введения рекомбинантных ДНК в клеточные системы экспрессии для фармацевтической промышленности и медицины.

В результате изучения дисциплины «Генная инженерия» обучающиеся должны:

знать:

- принципиальную организацию и молекулярные механизмы регуляции функционирования ДНК в качестве основного вещества наследственности;
- принципы, лежащие в основе сохранности, изменчивости и воспроизведения генетической информации;
- механизмы, посредством которых клетка обеспечивает синтез полинуклеотидных цепей и регулирует синтез белка;
- принципы кодирования и воспроизведения генетической информации, структуру и информационные функции биологических полимеров клетки;
- молекулярно-генетические механизмы регуляции экспрессии генов у прокариот и эукариот;

- аппарат трансляции и характеристику его отдельных компонентов в норме и патологии;
- разнообразие векторных молекул, использующихся в генной инженерии.

уметь:

- использовать полученные знания для оценки молекулярных механизмов функционирования клеточных и неклеточных биосистем;
- применять принципы прогнозирования свойств векторных систем используемых при клонировании генов;
- использовать молекулярно-биологические подходы для анализа процессов воспроизведения и реализации генетической информации;
- применять теорию синтеза полинуклеотидов в практике полимеразной цепной реакции;
- использовать методы молекулярной генетики для генной и клеточной инженерии и биотехнологии;
- пользоваться основными знаниями для создания рекомбинантных молекул ДНК;
- пользоваться знаниями, касающимися использования методов получения векторов различной природы для введения рекомбинантных ДНК с целью их экспрессии в подходящих клеточных системах.

владеть:

- базовыми представлениями о механизмах процессов репликации и репарации ДНК, транскрипции и процессинга РНК;
- знаниями, касающимися использования методов получения векторов различной природы для введения рекомбинантных ДНК с целью их экспрессии в подходящих клеточных системах;
- наиболее распространенными лабораторными методами исследований;
- навыками анализа диагностически выявляемых изменений физических свойств биополимеров, молекулярных структур и физиологических процессов;
- приемами определения субстратной специфичности основных нуклеаз.

Учебная программа по дисциплине «Генная инженерия» разработана в соответствии с образовательным стандартом высшего образования первой ступени по специальности 1-80 02 01 – Медико-биологическое дело. Программа рассчитана на 108 часов, в том числе аудиторных 48 часов, из них на лекции отводится 24 часа, практические занятия – 12 часов, лабораторные занятия – 12 часов.

Изучение данного курса предусматривается учебным планом специальности 1-80 02 01 – Медико-биологическое дело очной формы обучения. Формой аттестации по учебной дисциплине служит экзамен в 7 семестре.

СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Тема №1 ДНК как носитель генетической информации. Структура и информационные функции ДНК. Доказательства генетической роли НК и функционирование ДНК в качестве вещества наследственности. Модель ДНК Уотсона и Крика. Правила спаривания оснований. Вращение связей между атомами, формирующими сахарофосфатный остов ДНК и свободное вращение С-1'-N-гликозидной связи. А-, В-, Н- и Z-формы ДНК. Хугстеновские пары. Суперспирализация ДНК (релаксированные, отрицательно и положительно суперспирализованные ДНК). ДНК-топоизомеразы прокариот и эукариот. ДНК- топоизомеразы I и II.

Тема №2 Организация геномов прокариот и эукариот. Различия генетической организации прокариотических и эукариотических клеток. Организация бактериального генома. Нуклеоид. Нуклеосомная организация генома эукариот. Мономерная и минимальная нуклеосома (нуклеосомный кор). Классификация гистонов и их роль в организации генома эукариот. Конденсация ДНК. Первый уровень упаковки ДНК в хромосоме. Сайты ацетилирования и модификации гистонов H3 и H4 с участием гистон-ацетилтрансферазы HAT1 при транскрипции. Участие гистон-деацетилазы HDHC1 в созревании гистонов H3 и H4. Гистоновый код.

Тема №3 Репликация ДНК. Типы репликации ДНК. Репликация кольцевых ДНК. θ -структура. Репликация по типу катящегося кольца (репликация ДНК фагов M13, ϕ X174, λ). Репликация с образованием D-петель. ДНК-полимеразы *E. coli* (ДНК-полимеразы I, II, III, IV и V). Инициация репликации ДНК *E. coli*. Локус *oriC* – точка начала репликации. Предзатравочный комплекс. Регуляция инициации репликации ДНК *E. coli*. Dam-метилаза. Последовательности GATC. Терминация репликации. Тер-последовательности. Множественность точек начала репликации у эукариот. ARS-элементы. Белки ORC, как основа формирования предрепликационных комплексов и их сборка. Комплекс ДНК-полимераза α /праймаза. Инициаторная ДНК. Синтез ДНК с участием ДНК-полимеразы δ . Удаление праймера и инициаторной ДНК с участием специфичной РНК-азы H и нуклеазы Fen1.

Тема №4 Репарация повреждений ДНК. Система коррекции несоответствий спаривания оснований. Роль последовательностей GATC в mismatch репарации. Эксцизионная репарация оснований. AP-сайты. ДНК-гликозилазы. Апурин-апиримидин-(AP)-эндонуклеазы. Эксцизионная репарация нуклеотидов. Нуклеаза ABC и ее компоненты – белки UvrA, UvrB, UvrC. UvrD-геликаза. Прямая репарация (обращение повреждений) ДНК. Механизмы обращения повреждений. Фотореактивация. ДНК-фотолиазы. Хромофоры ДНК-фотолаз. O⁶-метилгуанин-ДНК- метилтрасфераза. Прямая репарация 1- метиладенина и 3-метилцитозина. Белок AlkB. Репарация,

включающая рекомбинацию. SOS-ответ. Ферменты и белки SOS-репарации. Белки RecA и LexA.

Тема №5 Транскрипция. Информационная РНК. Концепция РНК-посредника Ф. Жакоба и Ж. Моно. Взаимоотношения процессов транскрипции, трансляции и деградации иРНК прокариот. Строение матричных РНК прокариот. Лидерные, трейлерные и кодирующие участки. Полицистронность иРНК прокариот. Спейсеры. Строение матричных РНК эукариот. Структурные элементы иРНК эукариот. Полиаденилирование и кэпирование иРНК. Структура кэпов. Метилирование кэпов. Синтез РНК. Инициация транскрипции и ее этапы. Структура промоторов прокариот. Консервативные последовательности для РНК-полимеразы II. Структура промоторов РНК-полимеразы II. Терминация транскрипции.

Тема №6 Процессинг РНК. Эндонуклеолитические и экзонуклеолитические ферменты. Рибонуклеаза III *E. coli*. Прерывистость генов эукариот. Экзоны и интроны. Прерывистость генов кодирующих тРНК и рРНК. Процессинг и сплайсинг транскриптов РНК-полимеразы II. Представления о пре-РНК. Сплайсинг пре-иРНК. Интроны, подчиняющиеся «правилу GU/AG». Точка ветвления интрона. Малые ядерные РНК и сплайсосома. Альтернативный сплайсинг и транс-сплайсинг. Участие РНК-полимеразы II в транскрибировании мяРНК и малых ядрышковых РНК. Кэпирование мяРНК U- типа (U1-U5, U7).

Процессинг транскриптов, синтезируемых РНК-полимеразой III. Процессинг тРНК. Уникальные свойства РНКазы Р. Сплайсинг дрожжевых тРНК. Размеры интронов в первичных транскриптах тРНК дрожжей. Отличие механизма сплайсинга тРНК от механизма сплайсинга пре-иРНК. Механизм сплайсинга тРНК. Полифункциональная тРНК-лигаза. Процессинг транскриптов РНК-полимеразы I. Наружные (НТС) и внутренние (ВТС) транскрибируемые спейсеры. Интроны группы I и группы II. Самосплайсинг рРНК.

Тема №7 Контроль генной экспрессии у прокариот. Концепция оперона. Конститутивные и репрессии синтеза ферментов. Индукторы и корепрессоры синтеза ферментов. Лактозный оперон. Парадокс индукции. Катаболитная репрессия. Триптофановый оперон. Структура и функционирование триптофанового оперона. Аттенуация экспрессии триптофанового оперона. Аттенуатор как р-независимый сайт терминации транскрипции.

Тема №8 Трансляция. Расшифровка генетического кода. Центральная догма молекулярной биологии. Колинеарность нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Синтетические олигонуклеотиды. Открытие полинуклеотидфосфорилазы. Гомо- и гетерополимеры. Установление терминирующих кодонов. Свойства генетического кода. Строение тРНК. Процесс активации аминокислот. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Инициация синтеза полипептидных цепей у про- и эукариот.

Элонгация полипептидных цепей. Терминация синтеза полипептидных цепей. Терминирующие кодоны. RF-1 и RF-2 – белковые факторы терминации. Фактор терминации RF-3.

Тема №9 Генетическая рекомбинация с участием мобильных генетических элементов. Методы получения рекомбинантных ДНК с помощью рестрикционных эндонуклеаз. Рестрикционные эндонуклеазы типа II. Характеристика рестриктазы *EcoRI*. Особенности сайтов узнавания и расщепления рестриктирующих эндонуклеаз типа II. «Понятие изошизомеров. Общий принцип получения рекомбинантных молекул ДНК. Объединение сегментов ДНК *in vitro*. Метод линкеров. Самокомплементарные, адапторные и дополняющие линкеры. Клонирование искусственных двухцепочечных фрагментов ДНК в составе многокопийного вектора. Конструирование синтетических генов с промежуточным клонированием отдельных модулей. Коннекторный метод. Использование дезоксирибонуклеотидилтрансферазы для получения рекомбинантной ДНК.

Тема №10 Векторы, применяемые в генной инженерии. Способы получения ДНК для клонирования. Понятие вектора. Основные требования, предъявляемые к векторным молекулам. Плазмиды и их классификация. Репликация со строгим и ослабленным контролем. Репликационные модули. Модули конъюгации. Модули резистентности. Свойства идеального плазмидного вектора. Плаزمида pBR322. Плазмиды рUC7. Фаговые векторы. Векторы на основе фага X. Cos-сайты. Векторы на основе фага M13. Геном фага M13. Плазмидно-фаговые векторы. Космиды, фазмиды. Трансформация клеток *E. Coli* K12 плазмидой pBR322. Условия трансформации. Трансфекция. Преимущества использования λ-векторных молекул. Гены устойчивости к антибиотикам. Клонирование трансформантов. Позитивные и негативные колонии. Химико-ферментативный синтез ДНК, кодирующей короткие аминокислотные последовательности. Использование обратной транскриптазы для получения клонируемой кДНК. Конструирование синтетического гена соматостатина. Конструирование экспрессирующего вектора для соматостатина на основе плазмиды pBR322. Бактериальный синтез соматостатина. Химерные полипептиды. Химический синтез генов А- и В-цепей инсулина. Продукция инсулина бактериальными клетками. Синтез кДНК инсулина для клонирования.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА ДИСЦИПЛИНЫ

Очная форма получения высшего образования

Номер раздела	Наименование раздела, темы	Количество аудиторных часов					Форма контроля знаний
		Лекции	Практические (семинарские) занятия	Лабораторные занятия	Управляемая самостоятельная работа	Иное	
1	2	3	4	5	6	7	8
1	ДНК как носитель генетической информации	2	–	4	–	–	1,2,5
2	Организация геномов прокариот и эукариот	2	–	–	–	–	2,5
3	Репликация ДНК	2	2	8	–	–	1,3,5
4	Репарация повреждений ДНК	2	2	–	–	–	1,3,5
5	Транскрипция	2	2	–	–	–	2,4,5
6	Процессинг РНК	4	–	–	–	–	3,4,5
7	Контроль генной экспрессии у прокариот	2	–	–	–	–	2
8	Трансляция	2	2	–	–	–	3,5
9	Генетическая рекомбинация с участием мобильных генетических элементов	2	2	–	–	–	3,5
10	Векторы, применяемые в генной инженерии. Способы получения ДНК для клонирования	4	2	–	–	–	3,4,5

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Примерный перечень тем практических/семинарских занятий

1. Молекулярные механизмы репликации ДНК.
2. Системы защиты ДНК. Репарация повреждений ДНК.
3. Транскрипция.
4. Созревание РНК: процессинг и сплайсинг.
5. Аппарат трансляции и характеристика его отдельных компонентов.
6. Векторные молекулы. Получение ДНК для клонирования.

Примерный перечень тем лабораторных работ

1. Эндонуклеолитическое расщепление нуклеиновых кислот.
2. Экзонуклеолитическая деградация нуклеиновых кислот.

Основная литература:

1. Молекулярная биология: молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации / С. Б. Бокуть, Н. В. Герасимович, А. А. Милютин. – Минск: «Вышэйшая школа», 2005. – 463 с.
2. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, К. Хопкин и др.; пер. с англ. – 2-е изд., испр – М. : Лаборатория знаний, 2018. — 768 с.
3. Молекулярная биология клетки: в 3-х томах. Т. 1 / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. – М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2017. – 808 с.
4. Медицинская генетика 2-е изд., испр. и доп.: учебное пособие для вузов / Т. Н. Борисова, Г. И. Чуваков – М.: Издательство Юрайт, 2019 – 159с.
5. Применение молекулярных методов исследования в генетике: учебное пособие / Л. Н. Нефедова – М.: НИЦ ИНФРА-М, 2018. – 104 с.

Дополнительная литература:

6. Генная инженерия: практическое руководство к выполнению лабораторных работ / Г.Г. Гончаренко, А.А. Сурков, А.Н. Лысенко. – Гомель: ГГУ им. Ф.Скорины, 2012. – 48 с.
7. Основы генетической инженерии. Методическое пособие / Отв.ред. Л.В. Хотылева.– Гомель: УО «ГГУ им. Ф.Скорины», 2003. – 118 с.
8. Генная инженерия в биотехнологии / Г.А. Журавлева; ред. С. Г. Инге-Вечтомов. – Спб.: Эко-Вектор, 2016. – 328 с.

Перечень рекомендуемых средств диагностики

Учебной программой дисциплины «Генная инженерия» специальности 1-80 02 01 – Медико-биологическое дело в качестве формы итоговой аттестации служит экзамен.

Контроль усвоения знаний предполагает выполнение тестовых

заданий, устных опросов, проведение коллоквиума, письменные контрольные работы по отдельным темам курса.

Перечень методических средств (наглядных и других пособий, методических указаний, специального программного обеспечения и т.п.)

№ п.п.	Наименование или назначение	Вид
1.	Молекулярные модели В-, А- и Z-ДНК. Альтернативные двухспиральные структуры ДНК.	Рисунок
2.	Конформационные вариации остатков дезоксирибозы и конформеры нуклеотидов.	Таблица
3.	Палиндромы и зеркальные повторы.	Рисунок
4.	Трехцепочечные структуры ДНК.	Рисунок
5.	Особенности строения Н-ДНК.	Рисунок
6.	Положительная и отрицательная суперспирализация ДНК.	Рисунок
7.	Равновесные эквивалентные отрицательные суперспирали ДНК.	Рисунок
8.	Механизм действия бактериальной ДНК-топоизомеразы I.	Рисунок
9.	Организация хромосомы <i>E. coli</i> .	Рисунок
10.	Электронные микрофотографии волокон хроматина диаметром 10 нм и 30 нм.	Рисунок
11.	Получение нуклеосом.	Рисунок
12.	Характеристика и свойства гистонов млекопитающих.	Рисунок
13.	Структура минимальной хромосомы (а) и (b).	Рисунок
14.	Строение нуклеофиламента и спирального соленоида.	Рисунок
15.	Различные уровни организации хроматина в эукариотической клетке (а), (b) и (с).	Рисунок
16.	Сайты модификации гистонов H3 и H4 при транскрипции и сборке нуклеосом <i>de novo</i> .	Рисунок
17.	Электронная микрофотография реплицирующейся кольцевой ДНК.	Рисунок
18.	Строение ДНК-полимеразы III <i>E. coli</i> .	Рисунок
19.	Структура локуса <i>ori C</i> хромосомы кишечной палочки.	Рисунок
20.	Инициация репликации ДНК бактерий.	Рисунок
21.	Синтез лидирующей и отстающей цепей ДНК.	Рисунок
22.	Механизм действия ДНК-лигаз.	Схема
23.	Терминация синтеза бактериальной ДНК.	Рисунок
24.	Структура точки начала репликации.	Рисунок
25.	Механизм синтеза ДНК эукариот.	Рисунок
26.	Окислительное дезаминирование цитозина под действием азотистой кислоты.	Схема
27.	Мутации, вызываемые включением аналогов природных нуклеотидов (5-Br-dUTP).	Схема
28.	Система исправления ошибок спаривания у прокариот.	Рисунок
29.	Механизм эксцизионной репарации.	Рисунок
30.	Обращение повреждений.	Рисунок
31.	Репарация, включающая рекомбинацию.	Рисунок
32.	SOS-ответ.	Рисунок

Формы контроля знаний

№ п/п	Форма
1	Выборочный контроль на лекциях
2	Проверка конспектов лекций студентов
3	Устный опрос студентов при проведении практических занятий
4	Защита подготовленного студентом реферата
5	Проведение экзамена для студентов специальности 1-80 02 01 – Медико-биологическое дело

**ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ РАБОЧЕЙ ПРОГРАММЫ
С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ СПЕЦИАЛЬНОСТИ**

Название дисциплины, изучение которой связано с дисциплиной рабочей программы	Кафедра, обеспечивающая изучение этой дисциплины	Предложения кафедры об изменениях в содержании рабочей программы	Решение кафедры, разрабатывавшей рабочую программу (с указанием даты и номера протокола)
Биологическая физика	Кафедра экологической химии и биохимии	нет	№ 05 от 28.04.21
Общая биохимия	Кафедра экологической химии и биохимии	нет	№ 05 от 28.04.21
Общая и экологическая биохимия	Кафедра экологической химии и биохимии	нет	№ 05 от 28.04.21

СОГЛАСОВАНО:

Заведующий кафедрой экологической химии и биохимии

С. Н. Шахаб

**Дополнения и изменения к учебной программе
по дисциплине «Генная инженерия»
на 2022/2023 учебный год**

В программу вносятся следующие дополнения:

№	Дополнения и изменения	Обоснование
1	В тему: «Репарация повреждений ДНК»	Добавлена информация о белках RecBCD и сайтах Chi

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры экологической химии и биохимии (протокол № 1 от 30.09.22 г.)

Заведующий кафедрой

С.Н. Шахаб

УТВЕРЖДАЮ

Декан факультета

А.Г. Сыса