



Методи генетичної модифікації

Робоча програма навчальної дисципліни (Силабус)

Реквізити навчальної дисципліни

Рівень вищої освіти	<i>Другий (магістерський)</i>
Галузь знань	<i>16 Хімічна інженерія та біоінженерія</i>
Спеціальність	<i>162 Біотехнології та біоінженерія</i>
Освітня програма	<i>ОНП Біотехнології</i>
Статус дисципліни	<i>Вибіркова</i>
Форма навчання	<i>Очна (денна)</i>
Рік підготовки, семестр	<i>1 курс, Весняний семестр</i>
Обсяг дисципліни	<i>4 кредити (120 годин): лекції - 36 год.; практичні – 18 год</i>
Семестровий контроль/ контрольні заходи	<i>Залік / модульна контрольна робота, ДКР</i>
Розклад занять	<i>http://schedule.kpi.ua Лекції – 2 год. на тиждень, практичні – 1 год на тиждень.</i>
Мова викладання	<i>Українська</i>
Інформація про керівника курсу / викладачів	<i>Лектор: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, kharn7428@gmail.com Практичні: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, kharn7428@gmail.com</i>
Розміщення курсу	<i>Матеріали курсу розміщені в Електронному Кампусі та на платформі Сікорський Дистанс</i>

Програма навчальної дисципліни

1. Опис навчальної дисципліни, її мета, предмет вивчення та результати навчання

Опис дисципліни. Під час навчання студенти ознайомляться з методами генетичної модифікації їх застосуванням будовою обладнання і режимами роботи. Знання одержані з курсу дозволять проводити генетичну модифікацію, та створювати трансгенні організми *in vitro*, проводити маніпуляції з нуклеїновими кислотами, ферментами та білками генетичного апарату.

Мета навчальної дисципліни. Метою є формування у студентів компетентностей щодо застосування методів генної модифікації, вирішенню проблем, що пов'язані з кожним методом, вибору методів для модифікації біологічних об'єктів.

Предмет навчальної дисципліни: методи впливу на генетичний апарат, обладнання та режими його роботи що необхідні для проведення генетичної модифікації.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми здобувачі вищої освіти повинні засвоїти компетентності:

ФК 5. Здатність розробляти нові біотехнологічні об'єкти і технології та підвищувати ефективність існуючих технологій на основі експериментальних та/або теоретичних досліджень та/або комп'ютерного моделювання;

ФК 6. Здатність планувати і виконувати експериментальні роботи в галузі біотехнології з використанням сучасних обладнання та методів, інтерпретувати отримані дані на основі сукупності сучасних знань та уявлень про об'єкт і предмет дослідження, робити обґрунтовані висновки;

ФК 15. Здатність використовувати молекулярно-генетичні технології для створення нових біологічних агентів;

ФК 16. Здатність використовувати сучасні біофізичні технології для створення біотехнологічних процесів (продуктів);

ФК 17. Здатність використовувати методи молекулярної біоінженерії для модифікації біологічних агентів.

Програмні результати навчання.

Компетентності:

ПРН 5. Знати молекулярну організацію та регуляцію експресії генів, реплікації, рекомбінації та репарації, рестрикції та модифікації генетичного матеріалу у про- та еукаріотів, стратегію створення рекомбінантних ДНК для цілеспрямованого конструювання біологічних агентів.

ПРН 7. Мати навички виділення, ідентифікації, зберігання, культивування, іммобілізації біологічних агентів, здійснювати оптимізацію поживних середовищ, обирати оптимальні методи аналізу, виділення та очищення цільового продукту, використовуючи сучасні біотехнологічні методи та прийоми, притаманні певному напрямку біотехнології.

ПРН 10. Упроваджувати найбільш ефективні біотехнологічні методи та прийоми у практичну виробничу діяльність на основі оцінки ефективності передових біотехнологій та врахування загальних тенденцій розвитку новітніх біотехнологій у провідних країнах.

ПРН 18. Мати навички використання молекулярно-генетичних технологій для створення нових біологічних агентів.

ПРН 20. Вміти використовувати методи молекулярної біоінженерії для створення нових біологічних агентів.

2. Пререквізити та постреквізити дисципліни (місце в структурно-логічній схемі навчання за відповідною освітньою програмою)

Пререквізити: мати базові знання з біохімії, цитології, біофізики, генетики, вірусології, методів аналізу в біотехнології, біохімічних та фізичних методів аналізу в біотехнології, проблемних питань генної інженерії.

3. Зміст навчальної дисципліни

Розділ 1. Модифікація клітин прокариотів та основні методи підготовки.

Тема 1.1. Одержання ізольованих генів.

Тема 1.2. Створення вектору для перенесення.

Тема 1.3. Проведення модифікації прокариот.

Тема 1.4. Правила відбору модифікованих організмів.

Розділ 2. Модифікація рослинних клітин.

Тема 2.1. Вектори для модифікації рослин.

Тема 2.2. Проведення модифікації рослинних клітин.

Розділ 3. Модифікація тваринних клітин.

Тема 3.1. Вектори для модифікації тварин.

Тема 3.2. Проведення модифікації тваринних клітин.

Тема 3.3. Особливості відбору модифікованих тварин.

Розділ 4. Модифікація клітин грибів.

Тема 4.1. Особливості модифікації клітин грибів.

4. Навчальні матеріали та ресурси

Базова література:

1. Федоренко В.О., Осташ Б.О., Гончар М.В., Ребець Ю.В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2007.

Допоміжна література:

1. Glick B.R., . Patten C.L. Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA. - Washington : ASM Press, 2017.
2. Piguet, P., Poindron, P. Genetically Modified Organisms and Genetic Engineering in Research and Therapy. – 10.1159/isbn 978-3-8055-9066-2, 2012.
3. Viral vectors for gene therapy: Methods and protocols / Ed. by Machida C.A. - New Jersey: Humana Press, 2003.
4. Viral vectors: basic science and gene therapy / Ed. by Cid-Arregui A., Garcia-Carranca. - Natick: Eaton publishing, 2000.
5. Glick B.R., . Patten C.L. Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA. - Washington : ASM Press, 2017.
6. Vektor targeting for therapeutic gene delivery / Ed. by Curiel D.T., Douglas J.T. - New Jersey: Wiley-Liss, 2002.
7. CRISPR. Methods and Protocols. Ed. By Lundgren M., Charpentier E., Fineran P.C. - NY: Humana Press, 2011.

Навчальний контент

5. Методика опанування навчальної дисципліни (освітнього компонента)

5.1. Лекційні заняття

№ з/п	Назва теми лекції та перелік основних питань (перелік дидактичних засобів, посилання на літературу та завдання на СРС)
Розділ 1. Модифікація клітин прокаріотів та основні методи підготовки	
1.	Вступ в дисципліну. Одержання ізольованих генів Методи виділення нуклеїнових кислот та генів. Фізичні та хімічні методи виділення та внесення основних та допоміжних речовин у клітину. Методи виділення послідовностей та ізоляції генів прокаріот. Рестрикція-модифікація за допомогою ендонуклеаз 1-4 типів. Література: 1
2.	Особливості різних типів векторів для перенесення генетичної інформації. Плазмідні, космідні, фагмідні, фагові, штучні хромосоми. Вірусні і прокаріотичні вектори. Застарілі методи і чому від них відмовилися. Переваги та недоліки векторів. Література: 1
3.	Створення вектору для перенесення. Використання рестрикції-модифікації 2 типу для виділення необхідних послідовностей. Методи ідентифікації, розділення, ампліфікації таких фрагментів. Підготовка фрагментів для внесення. Можливість використання вірусних векторів. Література: 1
4.	ДНК бібліотеки. Геномні ДНК бібліотеки. кДНК бібліотеки. Скринінг бібліотек. Основні види маніпуляцій з бібліотеками. Література: 2

5.	<p>Проведення модифікації прокариот. Правила відбору модифікованих організмів. Використання карт рестрикції PFGE. Ендонуклеази та рестриктази для модифікації прокариотичної ДНК. Використання ДНК полімерази. Методи відбору модифікованих клітин. Обладнання для культивування та розділення модифікованих клітин. Найбільш поширені модельні організми. Використання ПЛР, гібридизації, мікроматриць.</p> <p>Література: 2</p>
6.	<p>Моніторинг транскрипції. Використання методів для спостереження транскрипції. ПЛР у реальному часі. Нозерн-блотінг. Захисні ендонуклеази. Аналіз на мікрочіпах.</p> <p>Література: 2</p>
7.	<p>Виділення та очистка продуктів експресії з прокариотичних клітин. Експресія у прокариотичних клітинах. Локалізація білкових продуктів. Очистка після одержання.</p> <p>Література: 3</p>
Розділ 2. Модифікація рослинних клітин	
8.	<p>Вектори для модифікації рослин. Особливості модифікації клітин рослин. Методи що можуть бути застосовані для внесення генетичного матеріалу. Методи та обладнання необхідні для проведення процесу. Створення векторів та нуклеїнових кислот для модифікації.</p> <p>Література: 3</p>
9.	<p>Проведення модифікації рослинних клітин. Особливості генетичного апарату рослин як об'єкта генетичної модифікації. Сайти рестрикції що використовуються. Особливості культивування модифікованих клітин.</p> <p>Література: 4</p>
10.	<p>Виділення та очистка продуктів експресії з рослинних клітин. Експресія у рослинних клітинах. Локалізація білкових продуктів. Очистка після одержання.</p> <p>Література: 3</p>
Розділ 3. Модифікація тваринних клітин	
11.	<p>Вектори для модифікації тварин. Особливості модифікації клітин тварин. Методи що можуть бути застосовані для внесення генетичного матеріалу. Методи та обладнання необхідні для проведення процесу. Створення векторів та нуклеїнових кислот для модифікації.</p> <p>Література: 5</p>
12.	<p>Проведення модифікації тваринних клітин. Особливості генетичного апарату тварин, як об'єкта генетичної модифікації. Сайти рестрикції що використовуються. Особливості культивування модифікованих клітин. Застосування різних вірусів для модифікації. Методи введення ДНК у яйцеклітину, введення ДНК у стовбурові клітини, введення ДНК за допомогою векторів на основі вірусів, трансфекція, введення ДНК за допомогою ліпосом.</p> <p>Література: 5</p>
13.	<p>Особливості відбору модифікованих тварин. Культивування в різних умовах. Обладнання для культивування. Особливості культивування тваринних клітин після модифікації. Забезпечення біобезпеки для таких організмів. Сертифікація.</p> <p>Література: 5</p>

14.	Виділення та очистка продуктів експресії з тваринних клітин. Експресія у тваринних клітинах. Локалізація білкових продуктів. Очистка після одержання. Література: 5
Розділ 4. Модифікація клітин грибів	
15.	Особливості модифікації клітин грибів. Особливості генетичного апарату грибів як об'єкта генетичної модифікації. Сайти рестрикції що використовуються. Особливості культивування модифікованих клітин. Одержання стабільних ліній. Види що найчастіше використовуються та їх особливості. Література: 6
16.	Виділення та очистка продуктів експресії з клітин грибів. Експресія у клітинах грибів. Локалізація білкових продуктів. Очистка після одержання. Література: 6
17.	Білок білкові взаємодії. Основні взаємодії між білками. Проблеми і можливості що виникають при взаємодії різних білків в клітині. Захист цільових білків. Гібридні білки. Література: 6
18.	Сучасне і застаріле обладнання та методи його застосування. Обладнання та інструменти. Методи застосування. Особливості будови. Інтеграція обладнання в проектах. Література: 6

5.1. практичні заняття

№ з/п	Теми практичних занять	Кількість ауд. годин
1.	Модифікація клітин прокариотів. Література: 1-2	3
2.	Модифікація рослинних клітин. Література: 3-4	3
3.	Модифікація тваринних клітин. Література: 3-4	4
4.	Модифікація клітин грибів. Література: 5-6	4
5.	МКР	2
6.	Залік	2

6. Самостійна робота студента

- Самостійна робота включає підготовку до МКР – 4 год. Підготовку до заліку – 6 год. Виконання ДКР – 10 год. На підготовку до аудиторних занять - 22 години, 24 год – для самостійного вивчення матеріалу.

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
1.	Опрацювання загальної теорії модифікації клітин.	2
2.	Методи та обладнання для модифікації прокариот.	2
3.	Методи та обладнання для модифікації рослин.	2
4.	Методи та обладнання для модифікації тварин.	2

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
5.	Методи та обладнання для модифікації грибів.	2
6.	Вірусні вектори що використовуються.	2
7.	Плазмідні вектори і їх застосування.	2
8.	Фагмідні вектори і їх застосування.	2
9.	CRISPR, Sleeping beauty, PiggyBac, MAGE методи.	2
10.	Стабілізація нуклеїнових кислот.	2
11.	Методи закріплення ознак і запобігання замовчуванню генів.	2
12.	Правила техніки безпеки при генетичній модифікації. Запобігання потраплянню біологічних агентів та вірусів у навколишнє середовище.	2

Політика та контроль

7. Політика навчальної дисципліни (освітнього компонента)

Система вимог, які ставляться перед студентом:

- на лекції викладач користується власним презентаційним матеріалом; використовує клас на платформі G suite for education для викладання матеріалу поточної лекції, додаткової інформації та інше;
- для виступу на практичному занятті студент робить доповідь з використанням презентаційних матеріалів, після доповіді відповідає на запитання аудиторії та викладача;
- написання модульної контрольної роботи відбувається на останньому лекційному занятті без застосування допоміжних засобів (мобільні телефони, планшети та ін.);
- заохочувальні бали виставляються за участь у конкурсах робіт екологічного спрямування, підготовку оглядів наукових праць чи виступи на конференціях з доповідями за тематикою дисципліни. Кількість заохочуваних балів не більше 10;

Неприйнятними у навчальній діяльності для студентів є:

1) Плагіат – навмисне чи усвідомлене оприлюднення (опублікування), повністю або частково, чужого твору (тексту або ідей) під іменем особи, яка не є автором цього твору, без належного оформлення посилань.

2) Шахрайство, а саме:

- фальсифікація або фабрикація інформації, наукових результатів та наступне використання їх в академічній роботі;
- підробка підписів в документах;
- використання під час контрольних заходів заборонених допоміжних матеріалів або технічних засобів (шпаргалки, мікронавушники, телефони, планшети тощо);
- посилання на літературні джерела, які не було використано в роботі;
- списування при складанні будь-якого виду контролю;
- проходження процедур контролю знань підставними особами.

3) Несанкціонована співпраця, а саме:

- надання допомоги для здійснення акту академічної нечесності – навмисна чи усвідомлена допомога або спроба допомоги іншому вчинити акт академічної нечесності;
- придбання в інших осіб чи організацій з наступним поданням як власних результатів навчальної та наукової діяльності (звітів, рефератів, контрольних).

4) Пропонування чи отримання неправомірної винагороди при оцінюванні результатів успішності, виконання навчальних чи дослідницьких завдань.

5) Використання родинних або службових зв'язків для отримання позитивної або вищої оцінки при складанні будь-якого виду підсумкового контролю або переваг у роботі.

8. Види контролю та рейтингова система оцінювання результатів навчання (PCO)

Поточний контроль: написання експрес-опитування на лекційних заняттях, МКР, доповіді за темами практичних занять.

Календарний контроль: провадиться двічі на семестр як моніторинг поточного стану виконання вимог силабусу.

Семестровий контроль: Залік.

Умови допуску до семестрового контролю: мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу та виступи на практичному занятті, а також семестровий рейтинг більше 30 балів.

Рейтинг студента з дисципліни складається з балів, що студент отримує за:

Вид та елементи контролю (Вид робіт)	Кількість	Ваговий бал	Сума балів по елементу контролю
Поточний контроль			
МКР	1	30	30
ДКР	1	30	30
Доповідь на практичному занятті	4	7,5	30
Відповіді на практичних заняттях	5	2	10
Всього за поточний контроль		100	
Календарний контроль			
Перший календарний контроль		25	
Другий календарний контроль		55	
Семестровий контроль			
Залік		60-100	

2. Критерії нарахування балів:

2.1. Виконання модульної контрольної роботи (МКР):

Максимальна кількість балів за МКР – 30. Кожен варіант МКР містить 6 питань по 5 балів кожне.

Критерії оцінювання:

Повна і вірна відповідь на питання – 5 балів,

Правильна але неповна відповідь на запитання, наявність незначних помилок – 5 – 3 балів;

Суттєві помилки або неповна відповідь. Відсутня або неправильна відповідь – 2 – 0 балів.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше 36 балів з 60.

2.2. Виконання домашньої контрольної роботи (ДКР):

Максимальна кількість балів за ДКР – 30. Кожен варіант ДКР містить 3 задачі по 10 балів кожна.

Критерії оцінювання:

Повна і вірна відповідь на питання – 10 балів,

Правильна але неповна відповідь на запитання, наявність незначних помилок – 10 – 6 балів;

Суттєві помилки або неповна відповідь – 5 – 1 бали.

Відсутня або неправильна відповідь – 0 – 1 бали.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше 18 балів з 30.

2.3. Доповідь на практичному занятті:

Кожний студент робить 4 доповіді по 2 на кожний розділ. Максимальна кількість балів за доповідь 7,5.

Критерії оцінювання:

Розкриття теми, помилки відсутні – 7,5 балів,

Тема розкрита повністю але присутні помилки – 7 – 6 бали,

Тема не розкрита або велика кількість помилок – 0 – 5 бали.

2.4. Відповіді на практичному занятті:

Максимальна кількість балів за відповідь на питання на практичному занятті 2 бали. Максимальна кількість балів за всі питання 10.

Критерії оцінювання:

Правильна відповідь без помилок – 2 бали.

Відповідь з незначними помилками або неповна – 1 бал.

Неправильна відповідь – 0 балів.

2.5. Семестровий контроль

Наприкінці семестру **умовою допуску до заліку** є мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу, виступи на практичному занятті.

Студенти які виконали умови допуску до семестрового контролю і набрали більше 60 балів можуть, за бажанням, отримати залікову оцінку відповідно до університетської шкали.

Студенти, що набрали менше 60 балів за семестр в обов'язковому порядку мають написати залікову роботу.

Студенти, що бажають підвищити свій семестровий бал і набрали більше 60 балів за семестр можуть підвищити бал написанням залікової роботи. При цьому рейтингові бали, отримані за семестр обнуляються.

Залікова робота виконується у письмовій формі та передбачає 4 питання по 25 балів кожне.

Критерії оцінювання:

Повна та правильна відповідь на запитання – 25 балів.

Неточності у відповіді або незначні помилки – 24 – 20 балів.

Велика кількість незначних помилок або неправильно сформульована відповідь – 20 – 15 балів.

Суттєві помилки, відповідь неправильна або відсутня – 14-0 балів.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше ніж 60 зі 100 балів.

Таблиця відповідності рейтингових балів оцінкам за університетською шкалою:

<i>Кількість балів</i>	<i>Оцінка</i>
100-95	Відмінно
94-85	Дуже добре
84-75	Добре
74-65	Задовільно
64-60	Достатньо
Менше 60	Незадовільно
Не виконані умови допуску	Не допущено

9. Додаткова інформація з дисципліни (освітнього компонента)

- перелік теоретичних питань, які виносяться на семестровий контроль (залік) наведено в додатку 1;
- на початку семестру викладач аналізує існуючі дистанційні курси за тематикою дисципліни та пропонує пройти відповідні безкоштовні курси студентам. Після отриманням студентом сертифікату з успішного проходження дистанційних чи онлайн курсів за відповідною тематикою, викладач закриває відповідну частину курсу (практики чи лекції).

Робочу програму навчальної дисципліни (силабус):

Складено асистентом кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, к.т.н., Левтуном Ігорем Ігоровичем

Ухвалено кафедрою біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології (протокол № 18 від 25.05.2023)

Погоджено Методичною комісією факультету (протокол № 11 від 26.06.2023)

Перелік теоретичних питань, які виносяться на залік:

1. Властивості РНК-полімераз та способи їх використання у генетичній інженерії.
2. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Принцип ПЛР. Цикли ПЛР
3. Характеристика ДНК-полімераз, які використовуються у ПЛР.
4. Різновиди ПЛР та особливості їх застосування. ПЛР в реальному часі.
5. Принципи проведення молекулярної гібридизації нуклеїнових
6. кислот. Умови денатурації та реасоціації ланцюгів нуклеїнових кислот.
7. Радіоактивні і нерадіоактивні мітки ДНК та методи їх внесення і виявлення.
8. Варіанти гібридизації нуклеїнових кислот. ДНК-ДНК гібридизація за Саузерном. Northern-блот-гібридизація.
9. Системи рестрикції-модифікації Типу I, III і IV.
10. Системи рестрикції-модифікації Типу II. Поділ ензимів рестрикції-модифікації Типу II на підтипи.
11. Генетичний контроль ензимів рестрикції-модифікації Типу II. Регулювання експресії генів, які кодують ензими рестрикції/модифікації Типу II.
12. Застосування CRISPR-Cas систем для діагностики і генної терапії захворювань.
13. Використання CRISPR-Cas систем для конструювання об'єктів біотехнології.
14. Порівняльна характеристика векторів на основі вірусів тварин і рослин.
15. Що таке плазмідний вектор? Навести особливості будови рBR 322 та проблеми що можуть виникати при її використанні.
16. Властивості і використання в генетичній інженерії ДНК-ази I, екзонуклеаз I і III, екзонуклеази фага λ , нуклеаз S1 і Bal31.
17. Властивості і використання в генетичній інженерії рибонуклеаз A, T1 і H.
18. Властивості ДНК-полімераз і способи їх використання у генетичній інженерії. ДНК-полімераза I *E. coli* та її Кленовфрагмент.
19. ДНК-полімерази бактеріофагів T4 і T7.
20. Радіоактивні і нерадіоактивні мітки ДНК та методи їх внесення і виявлення.
21. Основні властивості векторних молекул. Класифікація векторних молекул.
22. Способи конструювання і селекції рекомбінантних ДНК на основі плазмідних векторів.

Перелік теоретичних питань, які виносяться на МКР:

1. Що таке рекомбінантні нуклеїнові кислоти? Які ферменти використовуються для їх створення? Які проблеми виникають на стадіях створення рекомбінантної ДНК *in vitro*?
2. Наведіть методи збільшення кількості модифікованої ДНК. У чому переваги та недоліки використання прокариотів для цього?
3. Що таке плазмідний вектор? Навести особливості будови рBR 322 та проблеми що можуть виникати при її використанні.
4. Навести особливості використання вірусних векторів для введення генетичного матеріалу. Переваги та недоліки використання Бактеріофагів (Т, Лямбда, М13)
5. Навести обов'язкові та бажані особливості плазміди для її використання у векторі.
6. Чим відрізняються клонувальні та гібридні вектори?
7. Що необхідно для коректної інтеграції генів в клітини? Які проблеми часто виникають на даному етапі?
8. Які особливості генної модифікації клітин еукаріот? Що необхідно зробити для успішної реалізації плазмідного вектора?
9. Навести особливості використання вірусів для модифікації клітин еукаріот.
10. Перерахувати фізичні та хімічні методи введення генетичного матеріалу. Навести переваги та недоліки кожного методу.
11. Пояснити у чому полягають особливості культивування рослинних і тваринних клітин після модифікації. Запропонувати типові рішення для проблем культивування модифікованих рослинних клітин.
12. Системи рестрикції-модифікації Типу I, III і IV.
13. Застосування CRISPR-Cas систем для діагностики і генної терапії захворювань.
14. Використання CRISPR-Cas систем для конструювання об'єктів біотехнології.

Список тем на ДКР.

1. Розрахунок довжин фрагментів рестрикції.
2. Аналіз результатів електрофорезу.
3. Аналіз впливу точкових мутацій на роботу рестриктаз.
4. Побудова можливих результатів ампліфікації з різних фрагментів (Липкі, тупі кінці).
5. Робота зворотної транскриптази.
6. Розрахунок можливості/реальності створення вектору за розміром гену що вбудовується.