

**Міністерство освіти і науки України
Херсонський державний університет
Кафедра біології людини та імунології**

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Завідувач кафедри
біології людини та імунології
доцент Гасюк О.М.

“ ____ ” _____ 2019 року

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Основи генної інженерії

Спеціальність: 014.05 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Рівень вищої освіти: магістр

Факультет біології, географії і екології

2019 – 2020 навчальний рік

Програма складена на основі авторської навчальної програми доцента Лановенко О.Г. “Основи генної інженерії”, затвердженої на засіданні кафедри біології людини та імунології (протокол №1 від 03.09.2013 року)

Робоча програма навчальної дисципліни «**Основи генної інженерії**» для здобувачів другого (магістерського) рівня спеціальності 014.05 Середня освіта (Біологія та здоров’я людини).

Розробник: Лановенко Олена Геннадіївна, кандидат с/г наук, доцент кафедри біології людини та імунології ХДУ

Робочу програму схвалено на засіданні кафедри біології людини та імунології

Протокол № ____ від «__»_____2019 року

Завідувач кафедри біології людини та імунології

доцент Гасюк О.М.

(_____)
(підпис)

©_____, 2019 рік

1. Опис навчальної дисципліни

Найменування показників	Галузь знань, напрям підготовки, рівень вищої освіти	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 4	Галузь знань 01 – Освіта	Нормативна	
Змістових модулів – 2	Спеціальність: 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)	Рік підготовки	
		1-й	1-й
Загальна кількість годин – 120		Семестр	
		2-й	1-й
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 2 год. самостійної роботи студента – 3 год.	Рівень вищої освіти: Магістр	Лекції	
		20 год.	12 год.
		Практичні, семінарські	
		24 год.	10 год.
		Самостійна робота	
		76 год.	98 год.
		Вид контролю:	
		Денна форма навчання - диференційований залік	
		Заочна форма - екзамен	

Примітка.

Співвідношення кількості годин аудиторних занять до самостійної роботи становить (%):

для денної форми навчання – 36,7 : 63,3;

для заочної форми – 18,3: 81,7.

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Генна інженерія - найсучасніший напрямок генетики, який визначає прогрес цієї науки. Методи генної інженерії не тільки дозволяють глибше вивчати структуру і функціонування генів, але служать потужним засобом конструювання генетично змінених організмів, корисних людині. Генна інженерія служить основою сучасної біотехнології і цим визначається її велике практичне значення.

Навчальний курс "Основи генної інженерії" включає розділи, присвячені вивченню методик маніпуляцій з молекулами нуклеїнових кислот *in vitro*, ферментами генетичної інженерії, векторними молекулами, ознайомлення з методами конструювання та селекції рекомбінантних молекул ДНК. Значна увага приділяється проблемам експресії клонованих генів у складі гібридних молекул ДНК, генетичній інженерії певних груп організмів - бактерій, рослин і тварин.

Мета курсу: ознайомити студентів з інноваційними технологіями генної інженерії, які дозволяють створювати генетично модифіковані організми та використовувати їх для експериментальних досліджень і для промислових цілей.

Завдання курсу:

- **теоретичні:** озброїти майбутніх фахівців всебічними та глибокими знаннями в області методів генетичної інженерії;
- **пізнавальні:** оволодіти основними принципами отримання рекомбінантних ДНК, практичними аспектами генної інженерії; сприяти розвитку навичок критичного сприйняття та оцінки джерел інформації;
- **практичні:**
 - оволодіти методами генетичного конструювання клітин, методами очищення, фракціонування та виділення макромолекул з біологічних об'єктів; набути навичок самостійного пошуку необхідної наукової інформації у періодичних виданнях і через Інтернет.

Методи генетичної інженерії, засвоєні студентами при вивченні курсу, можуть бути використані при виконанні дипломних та курсових робіт.

Міждисциплінарні зв'язки: вивчення дисципліни базується на знаннях з біохімії, мікробіології, загальної та молекулярної генетики, молекулярної біології, цитології, біофізики, вірусології.

Компетентності, що формуються під час навчання

Шифр	Зміст компетентності
ЗК 3	Здатність вчитися і оволодівати сучасними знаннями
ЗК4	Здатність працювати в команді
ЗК5	Здатність спілкуватися державною українською мовою як усно, так і письмово
ЗК7	Здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях
ЗК8	Навички використання інформаційних і комунікаційних технологій
ФК1	Здатність до формування в учнів ключових і предметних компетентностей та здійснення міжпредметних зв'язків
ФК 2	Володіння основами цілепокладання, планування та проектування процесу навчання учнів
ФК 3	Здатність здійснювати об'єктивний контроль і оцінювання рівня навчальних досягнень учнів
ПК1	Здатність використовувати біологічні поняття, закони, концепції, вчення й теорії біології для пояснення та розвитку в учнів розуміння цілісності та взаємозалежності живих систем і організмів
ПК3	Здатність розкривати сутність біологічних явищ, процесів і технологій, розв'язувати біологічні задачі
ПК4	Здатність здійснювати безпечні біологічні дослідження в лабораторії та природних умовах, інтерпретувати результати досліджень

Результати вивчення дисципліни

Шифр	Зміст результатів навчання
ПРН 1	<i>Знає історичні етапи розвитку генної інженерії</i>
ПРН 3	<i>Знає та розуміє принципи, форми, сучасні методи, методичні прийоми навчання предмета в закладах загальної середньої освіти (рівень базової середньої освіти)</i>
ПРН 5	<i>Оперує базовими категоріями та поняттями спеціальності</i>
ПРН 10	<i>Здатний проектувати психологічно безпечне й комфортне освітнє середовище, ефективно працювати автономно та в команді, організувати співпрацю учнів та комунікацію з їхніми батьками</i>
ПРН 11	<i>Здатний цінувати різноманіття та мультикультурність, керуватися в педагогічній діяльності етичними нормами, принципами толерантності, діалогу й співробітництва</i>
ПРН 13	<i>Знає біологічну термінологію і номенклатуру, розуміє основні концепції, теорії та загальну структуру генної інженерії</i>
ПРН 17	<i>Знає основні закони й положення молекулярної біології</i>
ПРН 19	<i>Знає, розуміє і здатний використовувати рекомендації з методики навчання біології для виконання освітньої програми в базовій середній школі</i>
ПРН 21	<i>Виконує практичні завдання, інтерпретує результати дослідження</i>
ПРН 23	<i>Характеризує живі організми й системи різного рівня з використанням методів сучасної молекулярної біології, володіє різними методами генної інженерії</i>

3. Програма навчальної дисципліни

ВСТУП

Предмет і задачі курсу, зв'язок з іншими науками.

Головні напрямки та перспективи розвитку сучасної науки.

Короткий історичний огляд розвитку науки.

Об'єкти генної інженерії.

Стан, проблеми, перспективи, практичне значення генної інженерії.

Тема 1. Структурно-функціональна організація геномів вірусів, прокаріот та еукаріот

Генетичні та фізичні карти геному.

Особливості структурно-функціональної організації геномів вірусів.

Будова та функціонування геномів прокаріотів. Модель Жакоба-Моно.

Регуляція транскрипції. Атенуація. Бактеріальний промотор.

Молекулярна організація генів еукаріотів. Особливості транскрипції генів еукаріотів.

Плазміди та мобільні генетичні елементи бактерій. Будова IS-елементів та транспозонів (Tn3, Tn5, Tn9) бактерій. Роль мобільних генетичних елементів.

Тема 2. Особливості використання біофізичних та біохімічних методів при проведенні генно-інженерних робіт

Оптичні методи, що використовуються для вимірювання концентрації нуклеїнових кислот, білків, антибіотиків, інших метаболітів.

Принцип метода гель-електрофорезу нуклеїнових кислот.

Ультрацентрифугування нуклеїнових кислот.

Методи кількісного визначення ферментів.

Тема 3. Ферменти, що використовуються в генній інженерії

3.1. Ферменти, що використовуються при конструюванні рекомбінантних ДНК. ферменти, за допомогою яких одержують фрагменти ДНК (нуклеази рестрикції);

- ферменти, що синтезують ДНК на матриці ДНК (полімерази) або РНК (зворотні транскриптази);

- ферменти, що з'єднують фрагменти ДНК (лігази);

- ферменти, що дозволяють змінити структуру кінців фрагментів ДНК (термінальні трансферази).

3.2. Властивості нуклеаз та способи їх використання в генній інженерії

Явище модифікації-рестрикції. Метилування ДНК фагів і бактерій. Вплив метилування на розщеплення ДНК ендонуклеазами рестрикції. Виявлення сайтів метилування ДНК. ДНК-метиلاзи, їх використання для одержання великих рестрикційних фрагментів ДНК.

Ферменти рестрикції і модифікації. Механізм дії рестриктаз. Номенклатура та характеристика рестриктаз.

Класифікація рестрикуючих ендонуклеаз.

Рестрикційне картування. Побудова карт рестрикції.

Варіабельні мікро- та мінісателітні ДНК. ДНК-фінгерпринт. Геномна дактилоскопія. Використання ендонуклеаз рестрикції для отримання та аналізу

геномних фінгерпринтів, виявлення перебудов геному та точкових мутацій, підрахунку числа копій генів, вивчення білок-нуклеїнових взаємодій та генетичного поліморфізму.

Поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів ДНК (ПДРФ). ПДРФ-аналіз та його використання.

3.3. Властивості ДНК-полімераз та способи їх використання в генній інженерії

Загальна характеристика ДНК-полімераз, які використовуються в генній інженерії. Типи нуклеазної активності: 5'-3'-полімеразна, 5'-3'-екзонуклеазна, 3'-5' – екзонуклеазна, їх використання в генно-інженерних роботах.

Будова та властивості ДНК-полімерази I та її Кленов-фрагмента, ДНК-полімераз фагів T4 і T7.

Термінальні трансферази. Будова та властивості термінальної дезоксинуклеотидил-трансферази (термінальної трансферази або полі-А – полімерази).

Тема 4. Методи аналізу структури нуклеїнових кислот

Виділення та очищення препаратів ДНК та РНК

4.1. Етапи виділення ДНК.

Особливості виділення плазмідної та вірусної ДНК. Способи депротейнізації нуклеїнових кислот. Виділення РНК з препаратів ДНК. Приготування препаратів РНК з бактеріальних клітин.

Синтез генів *in vitro*. Способи синтезу генів: хімічний і ферментативний, особливості їх використання.

Хімічний синтез олігодезоксирибонуклеотидів.

Етапи синтезу дволанцюгових фрагментів ДНК *in vitro*. Властивості ДНК-лігаз.

Синтез Х.Кораною генів т-РНК. Синтез К.Ітакурою генів інсуліну, соматотропину. Хімічний синтез лінкерів, адаптерів, регуляторних ділянок, ДНК-зондів, праймерів, нонсенс-кодонів.

Ферментативний синтез генів.

4.2. Методи виділення індивідуальних к-ДНК.

Комбінування хімічного та ферментативного синтезу полінуклеотидів. Монтування генів.

Молекулярна гібридизація нуклеїнових кислот

Включення міток у молекули ДНК і РНК *in vitro*. Поняття про ДНК-зонд.

Гібридизація нуклеїнових кислот *in situ*. Блот-гібридизація нуклеїнових кислот.

Аналіз результатів ДНК-РНК та ДНК-ДНК –гібридизації.

Напрямки використання методів гібридизації нуклеїнових кислот

Створення і використання ДНК-мікрочіпів.

Основні недоліки метода блот-гібридизації.

Секвенування нуклеїнових кислот.

4.3. Методи визначення нуклеотидної послідовності РНК

Методи визначення нуклеотидної послідовності ДНК. Метод секвенування ДНК за допомогою специфічного хімічного розщеплення (метод Максама і Гілберта).

Секвенування ДНК методом полімеразного копіювання Сенджера (метод термінуючих аналогів нуклеотидів). Характеристика векторів для секвенування ДНК.

Гібридизація нуклеїнових кислот *in situ* як метод виявлення специфічних послідовностей нуклеотидів. Блоттинг. Електроблоттинг. Методи гібридизації нуклеїнових кислот: гібридизація за Саузерном, Нозерн-блоттинг, Вестерн-блоттинг, дот- та слот- гібридизація (етапи проведення та розрішальна здатність).

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)

Використання ПЛР. Геноміка, транскриптоміка, протеоміка.

Тема 5. Вектори та векторні системи

Поняття про вектор. Вимоги до векторних молекул. Типи векторів, їх конструювання. Вектор та його ємкість.

Маркерні гени, які використовують в векторах загального призначення.

Способи конструювання векторів (зменшення розміру молекул, введення та видалення сайтів розщеплення рестриктазами, включення селективних маркерних генів).

Плазмідні вектори для прямого добору, для клонування промоторів та термінаторів, клонування кДНК.

Вектори для секвенування ДНК. Фагмідні вектори, їх конструювання та використання.

Вектори для прямого клонування продуктів ПЛР.

Вектори на основі хромосоми фага λ . Способи упаковки рекомбінантної ДНК у фагові частки.

Косміди, їх будова та особливості використання. Принципи конструювання і селекції рекомбінантних ДНК на основі космід.

Ретровірусні та аденовірусні вектори. Принципи адресної доставки трансгенів.

Керування експресією трансгенів у клітинах-мишенях. Переваги і недоліки фагових векторів.

Принципи конструювання та використання векторів на основі ниткоподібних фагів.

Конструювання, будова і використання дріжджових штучних хромосом (YAC).

Векторні системи на основі фага P1 (PAC). Бактерійні штучні хромосоми (BAC). Штучні хромосоми ссавців (MAC) та людини (HAC).

Тема 6. Клонування генів. Створення бібліотек та клонок генів і геномів

Клонування фрагментів ДНК за сайтами рестрикції, а також з використанням адаптерів, лінкерів та коннекторів.

Типи бібліотек ДНК з використанням мікроорганізмів: геномна та клонова (кДНК).

6.1.Геномні бібліотеки. Клонування ДНК *in vivo*. Характеристика загальних стратегій створення рекомбінантних ДНК: метод "дробовика" (shotgun - клонування), ПЛР - клонування, клонування із використанням гетерологічних гібридизаційних проб. "Прогулянки" по хромосомах. Позиційне клонування.

Методи побудови контигів та суміщених фізично-генетичних карт (енциклопедій геномів).

6.2. Бібліотеки та клонотеки кДНК, генів та нуклеотидних послідовностей.

К-ДНК - бібліотеки. Ампліфікація бібліотек. Клонотеки генів. Способи їх одержання. Поняття про репрезентативність клонотеки. Клонотеки геномної ДНК та кДНК. Пошук послідовностей нуклеотидів у клонотеках генів. Використання мічених зондів. Методи скринингу бібліотек та клонотек ДНК з метою виявлення певних генів. Гібридизація із зондами. Використання ПЛР. Зворотня трансляція. Використання антитіл для добору клонів в експресованих клонотеках. Клонування *in silico*.

Тема 7. Способи конструювання рекомбінантних ДНК та введення їх у клітину

7.1. Основні методи зшивання фрагментів ДНК *in vitro*. Створення рекомбінантних молекул за одноіменними "липкими" кінцями (рестриктазно-лігазний метод). Схема рестриктазно - лігазного методу.

Створення рекомбінантних молекул ДНК конекторним методом (за "тупими кінцями"). Схема методу.

Зшивання фрагментів ДНК з різноіменними липкими кінцями. Використання лінкерів. Метод інсерційної інактивації маркерних генів вектора.

7.2. Методи введення екзогенної ДНК у клітину. Біологічні, хімічні, фізичні та механічні методи введення рекомбінантних ДНК у клітини. Способи введення рекомбінантного гена в клітину.

Векторний спосіб введення рекомбінантної ДНК. Вимоги до векторної ДНК, її склад. Трансформація бактеріальних клітин.

7.3. Способи введення ДНК у культивовані клітини тварин.

Біобалістика та інші способи прямого введення рекомбінантної ДНК у клітину.

Трансфекція. Мікроін'єкції. Бомбардування клітин мікрочастками.

Електропорація. Створення мікроотворів у клітинних мембранах за допомогою лазера. Метод «міні-клітин». Упаковка в ліпосоми.

Фенотипова селекція клонів клітин, що несуть гібридні ДНК.

7.4. Основні підходи до досягнення ефективної експресії клонованих генів.

Теоретичне та практичне значення оптимізації експресії клонованих генів.

Особливості експресії генів при перенесенні їх між різними видами прокариотів.

Особливості експресії генів бактерій в клітинах еукаріотів.

Експресія генів еукаріотів в клітинах прокариотів.

Експресія генів при перенесенні їх між різними видами еукаріотів.

Тема 8. Мутагенез *in vitro* та білкова інженерія

Теоретичне та практичне значення мутагенезу *in vitro* та білкової інженерії.

Генно-інженерне конструювання та розщеплення білків. Процедури білкової інженерії. Введення дисульфідних зв'язків, зменшення числа вільних сульфгідрильних залишків, заміни залишків амінокислот. Підходи до збільшення активності ферментів та зміни їх специфічності.

Пострансляційне згортання, модифікація та компартаменталізація генно-інженерних білків. Секреція генно-інженерних білків та їх деградація. Підходи до мінімізації протеолізу генно-інженерних білків.

Тема 9. Генетична інженерія промислових мікроорганізмів

Основні напрямки, теоретичне та практичне значення генетичної інженерії промислових мікроорганізмів. Маркерні гени та вектори.

Створення "гібридних" метаболітичних шляхів для продукції вторинних метаболітів та катаболізму ксенобіотиків.

Створення генно-інженерних штамів бактерій - продуцентів амінокислот, гормонів, інтерферонів та інших біологічно активних сполук.

Основні класи дріжджових векторів. Методи перенесення екзогенної ДНК в клітини дріжджів.

Основні способи створення генно-інженерних промислових штамів дріжджів та міцеліальних грибів.

Злиття протопластів як метод конструювання і вивчення штамів мікроорганізмів.

Тема 10. Генетична інженерія рослин

10.1. Методи, що використовуються для трансформації різних об'єктів рослинного походження. Системи контролю експресії рекомбінантних генів рослин. Вектори рослин на основі Ті-плазмід *Agrobacterium tumefaciens* та Rі - плазмід *A.rhizogenes*. Бінарні та коінтегральні векторні системи на основі Ті - плазмід.

Векторні молекули на основі хлоропластної та мітохондріальної ДНК, геномів вірусів та віроїдів, мобільних генетичних елементів рослин.

10.2. Методи перенесення екзогенної ДНК у клітини рослин.

Експресія генів, клонованих у клітинах рослин. Використання антисенс -РНК для контролю експресії генів рослин.

Принципова схема отримання трансгенних рослин. Етапи одержання трансгенних рослин за допомогою агробактерій. Методи введення сконструйованих Ті-плазмід у рослинну клітину.

10.3. Основні напрямки використання трансгенних рослин. Створення трансгенних рослин, стійких до ураження комахами, до гербіцидів, толерантних до стресів.

Сучасний етап розвитку генетичної інженерії рослин - "метаболітична інженерія", її сутність. Задачі метаболітичної інженерії.

Переваги і труднощі використання рослин як об'єкта генно-інженерних досліджень.

Теоретичне та практичне значення генетичної інженерії рослин, її досягнення та перспективи розвитку. Одержання та досвід використання рослинних геномодифікованих об'єктів. Властивості, вплив на якість продуктів харчування.

Проблеми біологічної безпеки трансгенних рослин.

Тема 11. Генетична інженерія тварин

Феномен трансгенозу. Необхідність одержання трансгенних тварин.

Вектори, що використовуються для доставки трансгенів в організм ссавців.

Шляхи отримання трансгенних тварин.

11.1. Методи перенесення in vitro екзогенної ДНК в тваринні клітини.

Фактори, що впливають на експресію трансгенів в організмі трансгенних тварин. Спрямована активація та інактивація генів *in vivo*. Класичний підхід до одержання генних нокаутів.

Сучасні методи інактивації генів з використанням енхансерних, генних та промоторних ловушок.

Мікроін'єкції ДНК в пронуклеус запліднених яйцеклітин. Інтеграція трансгенів в хромосоми тварин. Експресія трансгенів в тваринних клітинах.

11.2.Методи, проблеми та перспективи клонування хребетних тварин.

Трансгенні тварини- біореактори («біологічні фабрики»). Трансгенні тварини з виключеними генами (генний нокаут). Трансгенні тварини як генетичні моделі спадкових захворювань.

11.3.Використання трансгенних тварин у фундаментальних дослідженнях.

Основні напрямки та досягнення генної інженерії тварин. Використання трансгенних тварин у тваринництві. Використання досягнень генної інженерії у тваринництві та рослинництві.

12. Генна терапія спадкових захворювань людини

Поняття про генну терапію. Типи генотерапії.

Розробка програми генної терапії, її етапи. Стратегії генної терапії.

Шляхи *ex vivo* та *in vivo* перенесення генетичної інформації в організм хворих.

Приклади лікування хвороб шляхом генотерапії *ex vivo* та *in vivo*.

Вектори для генної терапії (вірусні, невірусні). Маркери в генній терапії.

Підходи до генної терапії раку. Генна терапія інфекційних захворювань.

Перспективні шляхи використання методів генотерапії.

Етичні проблеми генної терапії. Проблеми генетичної безпеки людини.

Законодавство з питань генетичної безпеки людини.

Сучасні проблеми та практичне використання досягнень генної інженерії.

Перспективи розвитку генної інженерії у XXI столітті.

4. Структура навчальної дисципліни

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин											
	денна форма						Заочна форма					
	усього	у тому числі					усього	У тому числі				
		л.	п.	лаб.	інд.	сам. роб.		л	пр	лаб.	Інд.	с. р.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Змістовий модуль 1. Способи конструювання гібридних молекул ДНК												
Тема 1. Структурно-функціональна організація геному	8	2	4			2	12	2				10
Тема 2. Особливості використання біохім. і біофіз. методів	10	2	2			6	10		2			8
Тема 3. Ферменти, що використовуються в генній інженерії	10	2	2			6	12	2	2			8
Тема 4. Методи аналізу структури нуклеїнових кислот	10	2	2			6	12	2	2			8
Тема 5. Вектори та векторні системи	8	2				6	8					8
Тема 6. Клонування генів. Створення бібліотек та клонотек генів і геномів	8		2			6	8					8
Разом за змістовим модулем 1	54	10	12			32						
Змістовий модуль 2. Секвенування ДНК та експресія транс генів												
Тема 7.Способи конструювання рекомбінантних ДНК та введення їх у клітину	12	2	2			8	10		2			8
Тема 8. Мутагенез in vitro та білкова інженерія	12	2	2			8	8					8
Тема 9. Генетична інженерія промислових мікроорганізмів	12	2	2			8	10	2				8
Тема 10. Генетична інженерія рослин	12	2	2			8	10	2				8
Тема 11. Генна інженерія тварин	10	2	2			6	10	2				8
Тема 12. Генна терапія спадкових захворювань людини	8		2			6	10		2			8
Разом за змістовим модулем 2	66	10	12			44						
Усього годин	120	20	24			76	120	12	10			98

5. ЗМІСТОВІ МОДУЛІ НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

(денна форма навчання)

Змістовий модуль I. Способи конструювання гібридних молекул ДНК

Лекційний модуль:

1.	Структурно-функціональна організація геномів вірусів, про- та еукаріот	2 год.
2.	Особливості використання біохімічних і біофізичних методів генної інженерії	2 год.
3.	Ферменти, що використовуються в генній інженерії	2 год.
4.	Методи аналізу структури нуклеїнових кислот	2 год.
5.	Створення і використання ДНК-мікрочіпів.	2 год.

Практичний модуль:

1.	Структура та властивості нуклеїнових кислот. Ген і геном. Реплікація ДНК. База даних Genebank.	2 год.
2.	Структурно-функціональна організація геномів вірусів, прокариотів, еукаріот. Розв'язання задач з молекулярної генетики.	2 год.
3.	Регуляція активності генів про- та еукаріот	2 год.
4.	Ферменти, що використовуються в генній інженерії. Розв'язання задач з молекулярної біології	2 год.
5.	Побудова рестрикційних карт хромосом	2 год.
6.	Способи одержання бібліотек та клонотек кДНК і генів	2 год.

Модуль самостійної роботи:

Тема 1. Предмет і задачі генетичної інженерії - 2 год.

1. Головні напрямки та перспективи розвитку сучасної науки.
2. Короткий історичний огляд розвитку науки.
3. Стан, проблеми, перспективи, практичне значення генної інженерії

Тема 2. Структурно-функціональна організація геномів вірусів, прокариот, еукаріот - 6 год.

1. Генетичні та фізичні карти геному 2 год.
2. Особливості структурно-функціональної організації геномів вірусів 2 год.
3. Модель Жакоба-Моно. Регуляція транскрипції. Атенуація 2 год.

Тема 3. Ферменти, що використовуються в генній інженерії - 6 год.

1. Властивості нуклеаз та способи їх використання в генній інженерії 2 год.
2. Оптичні методи, що використовуються для вимірювання концентрації нуклеїнових кислот, білків, антибіотиків 2 год.
3. Методи кількісного визначення ферментів 2 год.

Тема 4. Методи аналізу нуклеїнових кислот - 6 год.

1. Етапи виділення ДНК. Методи виділення індивідуальних к-ДНК 2 год.
2. Напрямки використання методів гібридизації нуклеїнових кислот 2 год.

3. Методи визначення нуклеотидної послідовності РНК

Тема 5. Вектори та векторні системи

- 6 год.

1. Типи векторів, способи їх конструювання

2 год.

2. Плазмідні вектори та їх типи

2 год.

3. Конструювання, будова і використання YAC

2 год.

Тема 6. Клонування генів. Створення бібліотек та клонотек генів - 6 год.

1. Типи бібліотек ДНК з використанням мікроорганізмів

2 год.

2. Геномні бібліотеки. Клонування ДНК in vivo

2 год.

3. Бібліотеки та клонотеки кДНК, генів

2 год.

Форма проміжного контролю: письмова контрольна робота; тестування

Змістовий модуль 2. Секвенування ДНК та експресія трансгенів

Лекційний модуль:

1.	Способи введення рекомбінантних ДНК у клітину	2 год.
2.	Мутагенез in vitro та білкова інженерія	2 год.
3.	Генетична інженерія промислових мікроорганізмів	2 год.
4.	Генетична інженерія рослин	2 год.
5.	Генна інженерія тварин	2 год.

Практичний модуль:

1.	Методи зшивання фрагментів ДНК in vitro та введення їх в клітину	2 год.
2.	Генно-інженерне конструювання та розщеплення білків	2 год.
3.	Створення генно-інженерних штамів бактерій	2 год.
4.	Методи, що використовуються для трансформації у рослин	2 год.
5.	Способи одержання трансгенних тварин	2 год.
6.	Методи генотерапії спадкових та набутих захворювань людини	2 год.

Модуль самостійної роботи:

Тема 7. Способи введення рекомбінантних ДНК у клітину

- 8 год.

1. Основні методи зшивання фрагментів ДНК in vitro

2 год.

2. Методи введення екзогенної ДНК у клітину

2 год.

3. Способи введення ДНК у культивовані клітини тварин

2 год.

4. Основні підходи до досягнення ефективної експресії клонованих генів

2 год.

Тема 8. Мутагенез in vitro та білкова інженерія

- 8 год.

1. Генно-інженерне конструювання та розщеплення білків

2 год.

2. Методи збільшення активності ферментів

2 год.

3. Пострансляційне згортання, модифікація та компартименталізація генно-інженерних білків

2 год.

4. Підходи до мінімізації протеолізу генно-інженерних білків

2 год.

Тема 9. Генетична інженерія промислових мікроорганізмів

- 8 год.

- | | |
|--|-----------------|
| 1. Основні напрямки, теоретичне та практичне значення генетичної інженерії промислових мікроорганізмів | 2 год. |
| 2. Етапи створення генно-інженерних штамів бактерій | 2 год. |
| 3. Основні класи дріжджових векторів. Методи перенесення екзогенної ДНК в клітини дріжджів | 2 год. |
| 4. Основні способи створення генно-інженерних промислових штамів дріжджів та міцеліальних грибів | 2 год. |
| Тема 10. Генетична інженерія рослин | - 8 год. |
| 1. Методи, що використовуються для трансформації рослин | 2 год. |
| 2. Методи перенесення екзогенної ДНК у клітини рослин | 2 год. |
| 3. Етапи одержання трансгенних рослин за допомогою агробактерій. Методи введення сконструйованих Ті-плазмід у рослинну клітину | 2 год. |
| 4. Основні напрямки використання трансгенних рослин, проблеми їх біологічної безпеки | 2 год. |
| Тема 11. Генна інженерія тварин | - 6 год. |
| 1. Вектори, що використовуються для доставки трансгенів в організм ссавців. Методи отримання трансгенних тварин | 2 год. |
| 2. Методи, проблеми та перспективи клонування хребетних тварин | 2 год. |
| 3. Використання трансгенних тварин у фундаментальних дослідженнях | 2 год. |
| 12. Генна терапія спадкових захворювань людини | - 6 год. |
| 1. Розробка програми генної терапії, її етапи. Стратегії генної терапії | 2 год. |
| 2. Шляхи ex vivo та in vivo перенесення генетичної інформації в організм хворих | 2 год. |
| 3. Вектори для генної терапії. Маркери в генній терапії | 2 год. |

Форма проведення і критерії оцінювання знань з тем, винесених на самостійне опрацювання, наведені в **Методичних рекомендаціях до самостійної роботи студентів.**

Форма проміжного контролю: тестування.

Підсумкова тека : письмова контрольна робота.

ОСНОВИ ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ
5. ЗМІСТОВІ МОДУЛІ НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
(заочна форма навчання)

**Змістовий модуль І. Способи конструювання гібридних молекул ДНК.
Секвенування ДНК та експресія трансгенів**

Лекційний модуль:

1. Структурно-функціональна організація геномів. Предмет і задачі генетичної інженерії - 2 год.
2. Ферменти, що використовуються в генній інженерії - 2 год.
3. Методи аналізу структури нуклеїнових кислот - 2 год.
4. Методи створення трансгенних мікроорганізмів - 2 год.
5. Методи створення трансгенних рослин - 2 год.
6. Генна інженерія тварин - 2 год.

Практичний модуль:

1. Особливості використання біофізичних та біохімічних методів при проведенні генно-інженерних робіт - 2 год.
2. Ферменти, що використовуються в генній інженерії.
Розв'язання задач з рестрикційного картування - 2 год.
3. Методи аналізу структури нуклеїнових кислот.
Побудова рестрикційних карт хромосом - 2 год.
4. Способи введення ДНК у культивовані клітини - 2 год.
5. Методи генотерапії спадкових та набутих захворювань людини - 2 год.

Модуль самостійної роботи:

Тема 1. Предмет і задачі генетичної інженерії - 10 год.

1. Головні напрямки та перспективи розвитку сучасної науки 4 год.
2. Короткий історичний огляд розвитку науки 4 год.
3. Стан, проблеми, перспективи, практичне значення генної інженерії 2 год.

Тема 2. Структурно-функціональна організація геномів вірусів, прокариотів та еукаріотів - 8 год.

1. Генетичні та фізичні карти геному 2 год.
2. Особливості структурно-функціональної організації геномів вірусів 2 год.
3. Модель Жакоба-Моно. Регуляція транскрипції. Аттенуація 2 год.
4. Особливості транскрипції генів еукаріот 2 год.

Тема 3. Ферменти, що використовуються в генній інженерії - 8 год.

1. Ферменти, що використовуються при конструюванні рекомбінантних ДНК 2 год.
2. Властивості нуклеаз та способи їх використання в генній інженерії 2 год.
3. Класифікація рестрикуючих ендонуклеаз 2 год.
4. ДНК-фінгерпринт. Геномна дактилоскопія 2 год.

Тема 4. Методи аналізу нуклеїнових кислот - 8 год.

1. Етапи виділення ДНК 2 год.
2. Синтез генів *in vitro*. Способи синтезу генів 2 год.
3. Методи виділення індивідуальних к-ДНК 2 год.
4. Напрямки використання методів гібридизації нуклеїнових кислот 2 год.

Тема 5. Вектори та векторні системи	- 8 год.
1. Вимоги до векторних молекул. Типи векторів, їх конструювання	2 год.
2. Способи конструювання векторів	2 год.
3. Плазмідні вектори для прямого добору, для клонування промоторів та термінаторів, клонування кДНК	2 год.
4. Вектори для секвенування ДНК. Вектори для прямого клонування продуктів ПЛР	2 год.
Тема 6. Клонування генів. Створення бібліотек та клонотек генів і геномів	- 8 год.
1,2. Типи бібліотек ДНК з використанням мікроорганізмів: геномна та клонова (кДНК)	4 год.
3,4. Геномні бібліотеки. Клонування ДНК <i>in vivo</i>	4 год.
Тема 7. Способи введення рекомбінантних ДНК у клітину	- 8 год.
1. Основні методи зшивання фрагментів ДНК <i>in vitro</i>	2 год.
2,3. Методи введення екзогенної ДНК у клітину	4 год.
4. Способи введення ДНК у культивовані клітини тварин	2 год.
Тема 8. Мутагенез <i>in vitro</i> та білкова інженерія	- 8 год.
1,2. Генно-інженерне конструювання та розщеплення білків	4 год.
3. Методи збільшення активності ферментів та зміни їх специфічності	2 год.
4. Пострансляційне згортання, модифікація та компарменталізація генно-інженерних білків	2 год.
Тема 9. Генетична інженерія промислових мікроорганізмів	- 8 год.
1. Основні напрямки, теоретичне та практичне значення генетичної інженерії промислових мікроорганізмів	2 год.
2. Маркерні гени та вектори	2 год.
3. Створення генно-інженерних штамів бактерій	2 год.
4. Основні класи дріжджових векторів. Методи перенесення екзогенної ДНК в клітини дріжджів	2 год.
Тема 10. Генетична інженерія рослин	- 8 год.
1. Методи, що використовуються для трансформації різних об'єктів рослинного походження	2 год.
2. Методи перенесення екзогенної ДНК у клітини рослин	2 год.
3. Експресія генів, клонуваних у клітинах рослин	2 год.
4. Принципова схема отримання трансгенних рослин	2 год.
Тема 11. Генетична інженерія тварин	- 8 год.
1. Вектори, що використовуються для доставки трансгенів в організм ссавців	2 год.
2. Шляхи отримання трансгенних тварин	2 год.
3. Методи перенесення <i>in vitro</i> екзогенної ДНК в тваринні клітини	2 год.
4. Методи, проблеми та перспективи клонування хребетних тварин	2 год.
12. Генна терапія спадкових захворювань людини	- 8 год.
1. Типи генотерапії	2 год.
2. Розробка програми генної терапії, її етапи. Стратегії генної терапії	2 год.
3. Шляхи <i>ex vivo</i> та <i>in vivo</i> перенесення генетичної інформації в організм хворих	2 год.

4. Приклади лікування хвороб шляхом генотерапії ex vivo та in vivo 2 год.

Підсумкова тека: письмова контрольна робота, екзамен.

6. Методи навчання

Комплексне використання різноманітних методів організації і здійснення навчально-пізнавальної діяльності студентів та методів стимулювання і мотивації їх навчання сприяють розвитку творчих засад особистості майбутнього фахівця-біолога з урахуванням індивідуальних особливостей учасників навчального процесу й спілкування.

З метою формування професійних компетенцій широко впроваджуються інноваційні методи навчання, що забезпечують комплексне оновлення традиційного педагогічного процесу:

- комп'ютерна підтримка навчального процесу (слайди, опорні конспекти);
- впровадження інтерактивних методів навчання (робота в малих групах, міні-лекція, презентація експертної оцінки, опрацювання дискусійних питань).

Форми навчання: аудиторна та позааудиторна. Форми організації навчання: лекції, лабораторні роботи, самостійна робота студентів (аудиторна та позааудиторна).

Методи навчання: словесні (лекція, розповідь, пояснення, робота з книгою), наочні (демонстрації, ілюстрації), практичні (поставка експериментальних задач, тренувальні вправи – розв'язання розрахункових задач).

7. Методи контролю

У процесі оцінювання навчальних досягнень студентів застосовуються такі методи:

- **Методи усного контролю:** індивідуальне опитування, фронтальне опитування, співбесіда, екзамен.
- **Методи письмового контролю:** модульне письмове тестування; звіт, реферат.
- **Методи самоконтролю:** уміння самостійно оцінювати свої знання, самоаналіз.

Навчальні досягнення студентів оцінюються за модульно-рейтинговою системою, в основу якої покладено принцип поопераційної звітності, обов'язковості модульного контролю, накопичувальної системи оцінювання рівня знань, умінь та навичок; розширення кількості підсумкових балів до 100.

Відповідно до специфіки фахової підготовки перевага надається: під час складання екзамену – усному контролю, при складанні заліку – письмовому теоретичному та практичному контролю. Педагогічний контроль здійснюється

з дотриманням вимог об'єктивності, індивідуального підходу, систематичності і системності, всебічності та професійної спрямованості контролю.

8. Критерії оцінювання навчальних досягнень студентів

Оцінювання знань студентів за підсумкового контролю здійснюється на основі результатів поточного і проміжного контролю знань. Загальна підсумкова оцінка з дисципліни складається із суми балів за результатами поточного контролю та за виконання завдань, що виносяться на іспит.

Оцінювання знань студентів на основі даних *поточного контролю* відбувається:

- а) способом перевірки систематичності та активності роботи студента над вивченням програмного матеріалу дисципліни протягом семестру;
- б) способом виконання ним двох модульних завдань.

Контроль і оцінювання *систематичності та активності роботи* студента впродовж семестру здійснює викладач, який веде лабораторні заняття. Оцінюванню підлягають:

- 1) відповіді студентів і розв'язання задач на лабораторних заняттях, які оцінюються відповідно 0; 2,5; 5 балів кожне (при цьому викладач повинен опитати кожного студента не менше ніж 2 рази протягом семестру за умови регулярного відвідування останнім лабораторних занять);
- 2) активна робота студента на практичних заняттях: доповнення (максимальна оцінка 2,5 бала за правильні відповіді протягом одного заняття), висловлювання власної думки з обговорюваних питань та підготовка дискусійних, проблемних матеріалів з тих питань, що обговорюються на заняттях (максимальна оцінка 5 балів за роботу протягом одного заняття);
- 3) самостійна робота студентів - написання і презентація рефератів, міні-лекцій, кросворду з наданих тем (максимальна оцінка 5 балів) (див. Навчально-методичне забезпечення дисципліни).

Усі бали, отримані студентом протягом семестру за систематичність та активність роботи над вивченням програмного матеріалу дисципліни, підсумовуються викладачем (загальна кількість не може перевищувати 70 балів).

8.1. Критерії оцінки рівня знань на практичних заняттях

На практичних заняттях кожен студент з кожної теми виконує індивідуальні завдання.

Загальні критерії оцінювання успішності студентів, які отримали за 4-бальною шкалою оцінки «відмінно», «добре», «задовільно», «незадовільно», подано у таблиці:

Оцінка	Критерії оцінювання
«відмінно»	ставиться за повні та міцні знання матеріалу в заданому обсязі, вміння вільно виконувати практичні завдання, передбачені навчальною програмою; за знання основної та додаткової літератури; за вияв креативності у розумінні і творчому використанні набутих знань та умінь.
«добре»	ставиться за вияв студентом повних, систематичних знань із дисципліни, успішне виконання практичних завдань, засвоєння основної та додаткової літератури, здатність до самостійного поповнення та оновлення знань. Але у відповіді студента наявні незначні помилки.
«задовільно»	ставиться за вияв знання основного навчального матеріалу в обсязі, достатньому для подальшого навчання і майбутньої фахової діяльності, поверхову обізнаність з основною і додатковою літературою, передбаченою навчальною програмою; можливі суттєві помилки у виконанні практичних завдань, але студент спроможний усунути їх за допомогою викладача.
«незадовільно»	виставляється студентові, відповідь якого під час відтворення основного програмового матеріалу поверхова, фрагментарна, що зумовлено початковими уявленнями про предмет вивчення. Така оцінка ставиться студенту, неспроможному до навчання чи виконання фахової діяльності після закінчення ВНЗ без повторного навчання за програмою відповідної дисципліни.

Кількість балів за роботу з теоретичним матеріалом, на лабораторних заняттях, під час виконання самостійної та індивідуальної навчально-дослідної роботи залежить від дотримання таких вимог:

- своєчасність виконання навчальних завдань;
- повний обсяг їх виконання;
- якість виконання навчальних завдань;
- самостійність виконання;
- творчий підхід у виконанні завдань;
- ініціативність у навчальній діяльності.

8.2. Підсумкове оцінювання знань студента

Рейтинг студента із засвоєння дисципліни визначається за 100-бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 60 балів, і рейтингу з атестації (диференційованого заліку або екзамену) - 40 балів. Атестація проводиться у формі письмової контрольної роботи.

Рейтинг студента з дисципліни переводиться в національну оцінку та оцінку ECTS. Рівень знань оцінюється:

1.1. За шкалою ECTS – “A”, за шкалою навчального закладу 90 – 100 балів, за національною шкалою **“відмінно”** – студент дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично вірні відповіді не менш ніж на 90% запитань; рішення задач та практичні вправи вірні; демонструє знання підручників, посібників, інструкцій; проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій, реферати з основних тем курсу.

1.2. За шкалою ECTS – “BC” за шкалою навчального закладу 74 – 89 балів, за національною шкалою **“добре”**– студент володіє знаннями матеріалу на рівні 1.1, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, за допомогою викладача швидко орієнтується і знаходить правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій, реферати з основних тем курсу.

1.3. За шкалою ECTS – “DE”, за шкалою навчального закладу 60 – 73 бали, за національною шкалою **“задовільно”**– коли студент дає правильну відповідь не менше ніж на 60% питань, або на всі запитання дає недостатньо обґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які виправляє за допомогою викладача. При цьому враховується наявність конспекту за темою завдань та самостійність.

1.4. За шкалою ECTS – “FX”, за шкалою навчального закладу 35 – 59 балів, за національною шкалою **“незадовільно з можливістю повторного складання”** – студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35% питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які частково виправляє за допомогою викладача. Має неповний конспект лекцій.

1.5. За шкалою ECTS – “F”, за шкалою навчального закладу менше 35 балів, за національною шкалою **“незадовільно з обов’язковим повторним курсом”** – коли студент дає правильну відповідь менше ніж на 35% питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді; допускає грубі помилки, не має конспекту лекцій, не виконує завдання у встановлені терміни.

Шкала оцінювання навчальних досягнень студентів

Семибальна система	Середній бал	100-бальна система	Залік	Семибальна система	Середній бал	100-бальна система	Залік
Відмінно A (5)	5	100	Зараховано	Незадовільно FX (2)	2,9	59	Не зараховано
	4,9	97			2,8	56	
	4,8	93			2,7	53	
	4,7	90			2,6	50	
Добре B (4,5)	4,6	89			2,5	47	
	4,5	85			2,4	44	
	4,4	82			2,3	41	
Добре C (4)	4,3	81			2,2	38	
	4,2	78			2,1	36	
	4,1	76			2,0	35	
	4,0	74		1,9	34		
Задовільно D (3,5)	3,9	73		1,8	29		
	3,8	70		1,7	23		
	3,7	68		1,6	18		
	3,6	66		1,5	13		
	3,5	64		1,4	8		
Задовільно E (3)	3,4	63		1,3	4		
	3,3	62		1,2	3		
	3,2	61	1,1	2			
	3,1	60	1	1			
	3,0	60					

Список рекомендованої літератури

Основна література

1. Карпов О.В. Клітинна та генна інженерія: Підручник / О.В. Карпов, С.В. Демидов, С.С. Кир'яченко. - К.: Фітосоціоцентр, 2010. - 208 с.
2. Сиволоб, А.В. Молекулярна біологія: підручник / А.В. Сиволоб. - К. : Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2008. - 384 с.
3. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Учеб.-справ.пособие/ С.Н.Щелкунов.- Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2010.- 514 с.

Додаткова література

1. Горбунова В.Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В.Н. Горбунова, В.С.Баранов.- Санкт-Петербург: Специальная литература, 1997.- 286 с.
2. Патрушев Л. И. Искусственные генетические системы. Т. 1. Генная и белковая инженерия / Л.И. Патрушев. – М.: Наука, 2004. – 526 с.

INTERNET-ресурси

1. Текстова база даних Pubmed [Електронний ресурс].- Режим доступу: <http://www.pubmedcentral.nih.gov> , вільний – Загл. з екрану. (Англомова текстова безкоштовна база даних медичних і біологічних публікацій, створена Національним центром біотехнологічної інформації (NCBI)).
2. Професійний сайт Molbiol [Електронний ресурс].- Режим доступу: <http://molbiol.edu.ru> , вільний – Загл. з екрану. (Інтернет-територія для тих, хто професійно пов'язаний з біологією або молекулярною біологією).
3. База даних Genebank [Електронний ресурс].- Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, вільний – Загл. з екрану. (База даних, що містить послідовності ДНК, розміщена на сервері Національного центру біотехнологічної інформації США).
5. Програма NEBcutter2 [Електронний ресурс].- Режим доступу: <http://tools.neb.com/NEBcutter2/>, вільний – Загл. з екрану. (Програма, що дозволяє проводити рестрикційний аналіз *in silico*).
6. Програма WEBcutter2 [Електронний ресурс].- Режим доступу: <http://rna.lundberg.gu.se/cutter2/>, вільний – Загл. з екрану. (Програма, що дозволяє проводити рестрикційний аналіз *in silico*).
7. Каталог бібліотеки ХДУ: <http://elibrary.kspu.edu/>

ОСНОВИ ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Підсумкові контрольні питання

1. Предмет і задачі генетичної інженерії. Головні напрямки та перспективи розвитку сучасної науки.
2. Історія виникнення та розвитку досліджень у галузі генетичної інженерії. Роль генної інженерії у розвитку біотехнології, сільського господарства, медицини, охорони природи.
3. Особливості структурно-функціональної організації геному вірусів, прокариотів та еукаріот. Особливості геному людини.
4. Сучасне поняття про ген. Транскрипція. Регуляторні елементи генів. Генетичний код. Схема реалізації генетичної інформації в організмі.
5. Структура генів прокариот (регуляторні області). Регуляція експресії у прокариот.
6. Будова генів еукаріот і регуляція їх експресії. Інсулятори. Енхансери, сайленсери, їх роль в експресії генів.
7. Процесинг мРНК. Структура мРНК (функціональні області).
8. Трансляція (біосинтез білка), стадії, регуляція (у про- та еукаріот).
9. Мінливість геному. Поліморфні сайти рестрикції. ПДРФ-аналіз та його використання.
10. Варіабельні мікро- та мінісателітні ДНК. ДНК-фінгерпринт. Геномна дактилоскопія та її використання.
11. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) як метод аналізу геномної ДНК.
12. Ферменти, що використовуються в генній інженерії, їх характеристика.
13. Система рестрикції-модифікації бактерій. Ендонуклеази рестрикції. Ізошизомери.
14. Принципи фізичного картування геному. Принципи побудови рестрикційних карт.
15. ДНК-лігази. Механізм лігування ДНК Т4-ДНК-лігазою.
16. Властивості ДНК-полімераз та способи їх використання в генній інженерії.
17. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Будова сучасного ампліфікатора. Компоненти реакційної суміші, необхідні для проведення ПЛР.
18. Варіанти ПЛР (Real-time ПЛР, ПЛР *in situ*, асиметрична ПЛР), їх можливості. Методи підвищення точності ампліфікації. Практичне використання ПЛР.
19. Будова, властивості РНК-залежних ДНК-полімераз (зворотніх транскриптаз) ретровірусів, їх використання для одержання кДНК.
20. Етапи виділення ДНК. Особливості виділення плазмідної та вірусної ДНК.
21. Гібридизація нуклеїнових кислот *in situ*. Методи блот-гібридизації нуклеїнових кислот: гібридизація за Саузерном, Нозерн-блоттинг, Вестерн-блоттинг, дот- та слот-гібридизація (етапи проведення та розрішальна здатність). Основні недоліки метода блот-гібридизації.

22. Напрямки використання методів гібридизації нуклеїнових кислот (ідентифікація генів та вивчення їх експресії, діагностика спадкових захворювань та інфекційних агентів, визначення спадкового поліморфізму, проведення таксономічних досліджень та геномної дактилоскопії тощо).
23. Створення і використання ДНК-мікрочіпів.
24. Методи визначення нуклеотидної послідовності ДНК. Секвенування за Сенгером (метод обриву ланцюга). Принцип роботи автоматического секвенатора.
25. Секвенування ДНК за Максамом і Гілбертом (метод хімічної деградації).
26. Клонування генів. Створення бібліотек генів. Векторні системи.
27. Методи скринінгу послідовностей нуклеотидів у клонотеках генів. Використання мічених зондів: гомологічні та гетерологічні зонди. Використання ПЦР. Використання антитіл.
28. Поняття про вектор. Вимоги до векторних молекул. Типи векторів, їх конструювання. Вектор та його ємкість. Полілінкер.
29. Створення рекомбінантних молекул ДНК ДНК-лігазним та конекторним методами. Використання лінкерів.
30. Методи перенесення рекомбінантних ДНК у реципієнтні клітини прокариот (трансформація). Ідентифікація клітин-реципієнтів, що одержали новий ген.
31. Основні напрямки білкової інженерії. Підходи до конструювання нових білків, не існуючих у природі.
32. Біологічні, хімічні, фізичні та механічні методи введення рекомбінантних ДНК у клітини. Способи введення ДНК у культивовані клітини тварин.
33. Перенесення генів за допомогою вірусів. Перенесення генів з використанням клітинних рецепторів.
34. Принципова схема отримання трансгенних рослин. Ті-плазмида. Т-ДНК. Коінтегративна векторна система. Бінарна векторна система. Експресія трансгена *in vitro*.
35. Промотори векторів рослин. Регуляторні елементи. Репортерні гени. Маркери селекції. Проблема видалення маркерів селекції із кінцевого продукта.
36. Основні напрямки використання трансгенних рослин. Переваги і труднощі використання рослин як об'єкта генно-інженерних досліджень.
37. Теоретичне та практичне значення генетичної інженерії рослин, її досягнення та перспективи розвитку.
38. Векторні системи клітин тварин, особливості їх молекулярної організації.
39. Методи одержання трансгенних тварин. Нокаутні миші, їх використання.
40. Використання трансгенних тварин: біореактори («біологічні фабрики»), тварини з виключеними генами (генний нокаут). Трансгенні тварини як генетичні моделі спадкових захворювань.
41. Методи, проблеми та перспективи клонування хребетних тварин.
42. Експресія генів при перенесенні їх між різними видами прокариотів. Експресія генів бактерій в клітинах еукаріотів.

43. Експресія генів еукаріотів в клітинах прокаріотів. Експресія генів при перенесенні їх між різними видами еукаріотів.
44. Основні напрямки, теоретичне та практичне значення генетичної інженерії промислових мікроорганізмів.
45. Основні класи дріжджових векторів: інтегративні та реплікативні плазмідні вектори, штучні хромосоми. Методи перенесення екзогенної ДНК в клітини дріжджів.
46. Основні напрямки створення генно-інженерних промислових штамів дріжджів та міцеліальних грибів.
47. Злиття протопластів як метод конструювання і вивчення штамів мікроорганізмів.
48. Захворювання людини, до яких можна застосовувати генну терапію. Стратегії генної терапії (перенесення в клітину "здорового" гена, пригнічення небажаної функції гена, посилення імунної відповіді).
49. Вектори для генної терапії (вірусні, невірусні). Маркери в генній терапії.
50. Генна терапія інфекційних захворювань. Етичні проблеми генної терапії. Проблеми генетичної безпеки людини. Законодавство з питань генетичної безпеки людини.