

## Аннотация рабочей программы дисциплины «Молекулярная биотехнология»

**Целью** освоения дисциплины «Молекулярная биотехнология» является формирование комплекса знаний об состоит в познании теоретических и практических основ манипулирования и доставки генов в клетки, конструирования рекомбинантных молекул ДНК, методам и подходам экспрессии чужеродных генов в бактериях, дрожжах, растительных и животных клетках, а также основ работы с клетками, тканями и органами животных и растений..

### **Задачи дисциплины**

- обеспечить готовность реализовать качество и безопасность сельскохозяйственного сырья и продуктов его переработки в соответствии с требованиями нормативной и законодательной базы;
- обеспечить готовность студентов реализовывать технологии хранения и переработки продукции растениеводства и животноводства.

### **Тема. Основные вопросы.**

#### **Тема 1. ВВЕДЕНИЕ**

"Этапы развития генной инженерии Определение и разделы генетической инженерии. Основной метод, предпосылки и этапы развития генной инженерии. Основные этапы генно-инженерного эксперимента. Перспективы генетической инженерии. Методы выделения ДНК из клеток, трансформации бактерий и электрофоретического разделения нуклеиновых кислот. Успехи и перспективы развития генетической инженерии. Генетическая инженерия как раздел молекулярной биологии и как база новой биотехнологии."

#### **Тема 2. ФЕРМЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

Ферменты репликации. ДНК-лигазы. Репликация ДНК *in vitro*. Свойства ДНК – полимераз Ферменты рестрикции. Ферменты рестрикции и модификации (рестриктазы, модифицирующие метилазы). Физическое картирование молекул ДНК. Полимеразная цепная реакция Полимеразная цепная реакция. Полимеразы (ДНК-полимераза I *E. coli*. ДНК-полимераза фага T4. ДНК-полимераза фага T7. Таq-полимераза. Определение первичной структуры ДНК. Сиквеназы. РНК-зависимая ДНК-полимераза. Поли(А)-олимераза. РНК-полимеразы фагов T3, T7 и SP6. Нуклеазы. Нуклеазы S1, Bal31 и Mung bean. Экзонуклеаза III *E. coli*. Экзонуклеаза фага лямбда. Панкреатическая ДНКаза. Рибонуклеаза. Терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза. Щелочные фосфатазы. Полиинуклеотидкиназа фага T4.

#### **Тема 3. ВЕКТОРЫ ДЛЯ КЛОНИРОВАНИЯ В БАКТЕРИЯХ**

"Классификация векторов. Общая характеристика и классификация векторов. Общие и дополнительные свойства векторов. Выбор между плазмидными или фаговыми векторами. Плазмидные векторы *E. coli*. Репликация плазмид. "Плазмиды и векторы. Плазмиды pSC101 и ColE1. Плазмиды с терморегулируемой репликацией. Векторы серии pBR и pUC. Векторы для прямой селекции рекомбинантов. Векторы для клонирования промоторов и терминаторов, для секреции чужеродных белков из клетки. Физиология и генетика фага лямбда. Генетическая и физическая карты лямбда. Транскрипционная программа. Установление лизогенного состояния. Специфическая трансдукция. Репликационная программа. Упаковка ДНК в головку фага. Векторы, сконструированные на основе ДНК фага лямбда. Sp1 – фенотип. Векторы

внедрения и замещения. Сборка фагов *in vitro*. "

Векторы на основе ДНК нитевидных фагов. Векторы, созданные на базе ДНК нитевидных фагов. Жизненный цикл фага M13. Векторные мутанты на основе M13. Идентификация рекомбинантных клонов. Гибридные векторы (фагмиды, космиды, фазмиды). Фагово – специфичная транскрипция. Векторы для экспрессии с использованием T7, T3 и SP6 РНК – полимераз

#### **Тема 4. КЛОНИРОВАНИЕ ДНК**

Операции на ДНК. Подготовка фрагментов ДНК для клонирования. Способы получения фрагментов ДНК определенного размера. Объединение фрагментов ДНК. Выбор концентрации фрагментов ДНК для их объединения. Использование линкеров и адаптеров при объединении фрагментов ДНК. Коннекторный метод объединения фрагментов ДНК. Синтез олигонуклеотидов и генов. Направленный мутагенез. Сайт-специфический мутагенез. Системы клонирования. Трансформация клеток и сферопластов *E. coli*. Особенности клонирования в других видах бактерий. Клонирование кДНК. Обратная транскриптаза. Клонирование продуктов полимеразной цепной реакции.

#### **Тема 5. БАНКИ ГЕНОВ И ГЕНОМОВ**

Геномные библиотеки. Проблемы создания геномной библиотеки и банков генов. Создание банков генов с помощью фаговых и космидных векторов. Банки генов. Число клонов в банке. Составление и хранение коллекции клонов. Банк кДНК. Анализ больших фрагментов ДНК. "Прогулки" и "прыжки" по хромосоме. Проблемы скрининга. Метод гибридизации колоний. Иммунологические методы.

#### **Тема 6. ПЦР**

"Оптимизация генной экспрессии. Особенности экспрессии прокариотических и эукариотических генов. Слитные белки и проблема рамки считывания. Синтез нативных чужеродных белков. Оптимизация экспрессии генов на уровне транскрипции и трансляции. Структура промотора, регулируемые промоторы. Гибридные опероны. "

Суперпродукенты. Роль подбора кодонов. Суперпродукенты и проблема стабильности векторов и белков. Секреция чужеродных белков.

#### **Тема 7. КУЛЬТУРА КЛЕТОК, ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ**

Историческая справка. Тотипотентность растительной клетки. Культура каллусных тканей. Культура протопластов. Техника введения в культуру и методы культивирования изолированных клеток и тканей растений. Стерилизация. Питательные среды. Влияние физических факторов. Методы культивирования изолированных клеток и тканей для получения БАВ.

Растения и их культура изолированных клеток и тканей как промышленный источник БАВ. Растения. Культура изолированных клеток и тканей

#### **Тема 8. КУЛЬТУРА КЛЕТОК, ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ.**

История. Методы введения клеток в культуру. Особенности культивируемых клеток животных. Гибридома. ИФА.

#### **Тема 9. БИОБЕЗОПАСНОСТЬ.**

Понятие. Законы и приказы РФ. Этапы регистрации в РФ и мире. Методы контроля и оценки.

**Объем дисциплины 180 часов, 5 з.е.**

**Форма промежуточного контроля – экзамен**