

«Клітинна біотехнологія та генна інженерія»

Кафедра: біології, здоров'я людини та фізичної терапії

Викладач: доц.Трохимчук І.М.

E-mail: trohumchuk77@ukr.net

Кількість кредитів: 3

Семестр: 3

Форма контролю:екзамен

Вступ

Навчальна дисципліна «Клітинна біотехнологія та генна інженерія» є вибіркоким компонентом фахової підготовки здобувачів другого рівня вищої освіти і спрямована на вивчення перенесення одиниць спадковості (генів) з одного організму в інший, здійснюваний методами генної інженерії (технології рекомбінантних ДНК). В більшості випадків метою такого переносу є створення нового продукту або отримання вже відомого продукту в промислових масштабах. Значну частину біотехнологічних досліджень займають процеси бродіння з використанням бактерій, дріжджів, пліснявих грибів, водоростей, а також культур клітин тварин і рослин, метаболізм і біосинтетичні можливості яких забезпечують вироблення специфічних речовин.

Мета викладання навчальної дисципліни

Метою викладання навчальної дисципліни „Клітинна біотехнологія та генна інженерія” є надання можливості студенту оволодіти знаннями про основні способи вдосконалення кінцевих продуктів за допомогою методів модифікації генів шляхом їх клонування та забезпечення функціонування в організмі нового господаря, оптимізації роботи клонованих генів в про- та еукаріотичних системах.

Завдання вивчення дисципліни

Завдання навчальної дисципліни „Клітинна біотехнологія та генна інженерія” полягає в розумінні студентами технологій прямого генетичного впливу на живі організми, методик отримання в промислових масштабах цінних низькомолекулярних речовин і макромолекул, які в природних умовах синтезуються в мінімальних кількостях, а також організмів з наперед визначеними спадковими характеристиками. Біотехнологічні знання необхідні для підготовки студентів як майбутніх вчителів біології сучасної загальноосвітньої школи.

Очікувані результати вивчення навчальної дисципліни*

У результаті освоєння повного курсу навчальної дисципліни студенти повинні знати: методи виділення гена або системи чи групи генів з геномів одних видів організмів і перенесення та включення їх у роботу у складі геномів інших видів організмів, штучний синтез генів *in vitro*, розмноження виділеного або синтезованого гена чи генетичних структур, виділення автономних від хромосом клітин-господарів таких генетичних елементів, як плазміди, епісоми і переорієнтація напрямків їх функції, сполучення і створення нових функціональних систем шляхом поєднання геномів від різних таксономічних видів організмів, генну терапію *ex vivo* та *in vivo*, проблеми генетики людини та можливості їх розв'язання, нормативні положення та міжнародні угоди щодо питання про клонування людини.

Студенти повинні вільно володіти понятійним апаратом, знати основні проблеми навчальної дисципліни, її мету та завдання, оволодіти методологією досліджень геному і вміти грамотно інтерпретувати їхні результати. Мати системні знання про теоретичні основи та методологічні особливості застосування системного підходу у вивченні генетичних процесів модифікації живих організмів та отриманні рекомбінантних ДНК.

Програма навчальної дисципліни

Змістовий модуль 1. МОЛЕКУЛЯРНА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Тема 1. Промислові мікроорганізми.

Бактерії, дріжджі, цвільові гриби та мікроскопічні водорості, що використовуються в біотехнології. Продукти, що синтезуються промисловими мікроорганізмами. Переваги мікроорганізмів, в порівнянні з вищими організмами, для синтезу біологічно активних речовин. Вимоги до промислових штамів мікроорганізмів. Виділення продуцентів з природних джерел. Принципи використання мутагенів в селекції мікроорганізмів. Принципи отримання мутантів мікроорганізмів з порушеною регуляцією синтезу метаболітів.

Лабораторна робота 1. Використання мутантів в селекції.

Лабораторна робота 2. Гібридизація в селекції промислових мікроорганізмів.

Тема 2. Векторні молекули ДНК. Конструювання і селекція рекомбінантних молекул ДНК.

Вимоги до векторних молекул. Плазмідні вектори (pBR322, pUC19). Фагові вектори, косміди, фагміди (pBluescriptPISK+). Методи конструювання рекомбінантних ДНК. Фенотипова селекція клонів клітин, що містять рекомбінантні ДНК. Методи селекції рекомбінантних ДНК за допомогою гібридизації нуклеїнових кислот та імунологічних методів. Конструювання бібліотек геномів. Стратегії секвенування геномів. Структурна та функціональна геноміка.

Лабораторна робота 3. Ферменти генетичної інженерії.

Лабораторна робота 4. Молекулярна діагностика спадкових захворювань.

Лабораторна робота 5. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Тема 3. Мікробіологічні виробництва.

Схема мікробіологічного виробництва. Періодичні та безперервні мікробіологічні процеси. Принцип будови та функціонування ферментерів. Етапи промислового мікробіологічного процесу. Контроль та регулювання процесів ферментації. Екологічні проблеми в промисловій мікробіології. Біотехнологія харчових продуктів, продуктів бродіння та органічних кислот. Мікробіологічний синтез біологічно активних речовин. Мікробіологічний синтез полісахаридів та ліпідів. Властивості основних типів полісахаридів і ліпідів мікробного походження, та їх практичне використання. Біотехнологія отримання мікробного білка. Біотехнологія отримання водню, метану, вуглеводнів, паливного етанолу. Біотрансформації та біогеотехнологія. Біотехнологічна переробка відходів та ксенобіотиків. Бактерійні добрива і засоби захисту рослин. Мікробні та вірусні ентомогенні препарати та засоби захисту рослин.

Лабораторна робота 6. Промислові процеси з використанням іммобілізованих ферментів і клітин.

Лабораторна робота 7. Імуноферментний аналіз: отримання моноклональних та поліклональних антитіл.

Змістовий модуль 2. КЛІТИННА ТА ГЕНЕТИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ

Тема 4. Клітинні культури та клітинна інженерія.

Культури тваринних і рослинних тканин та їх використання для виробництва інтерферону, вакцин, алкалоїдів. Трансплантація тваринних ембріонів. Регенерація рослин з клітинних культур. Парасексуальна гібридизація шляхом злиття протопластів у мікроорганізмів та вищих рослин. Гібридизація соматичних клітин тварин. Кріобанки. Безвірусний садівний матеріал у рослинництві.

Лабораторна робота 8. Експресія генів в складі рекомбінантних молекул ДНК.

Тема 5. Маніпуляції з молекулами нуклеїнових кислот *in vitro*.

Основні етапи генно-інженерного експерименту. Ендонуклеази рестрикції, використання рестриктаз для побудови фізичних карт та молекулярної діагностики спадкових захворювань. ДНК-полімерази, їх використання в генній інженерії. Методи введення в нуклеїнові кислоти радіоактивних і нерадіоактивних міток та способи їх виявлення. Методи ДНК-ДНК та ДНК-РНК гібридизації, використання гібридизації нуклеїнових кислот в молекулярній діагностиці. ДНК-лігази. Методи хімічного синтезу одониткових олігодезоксирибонуклеотидів, етапи синтезу дволанцюгових фрагментів ДНК. Зворотня транскриптаза, синтез кДНК. Направлений мутагенез молекул ДНК *in vitro*. "Нокаут" генів. Принципи використання антисенс-РНК.

Тема 6. Конструювання і селекція рекомбінантних молекул ДНК.

Вимоги до векторних молекул. Плазмідні вектори (pBR322, pUC19). Фагові вектори, косміди, фагміди (pBluescriptII SK+). Методи конструювання рекомбінантних ДНК. Фенотипова селекція клонів клітин, що містять рекомбінантні ДНК. Методи селекції рекомбінантних ДНК за допомогою гібридизації нуклеїнових кислот та імунологічних методів. Конструювання бібліотек геномів. Стратегії секвенування геномів. Структурна та функціональна геноміка.

Тема 7. Генетична та клітинна інженерія промислово важливих мікроорганізмів

Принципи конструювання промислових мікроорганізмів за допомогою методів клітинної та генної інженерії. Злиття протопластів. Клонування генів, що контролюють лімітуючі стадії шляхів метаболізму. Генно - інженерне конструювання продуцентів незамінних амінокислот. Проблеми та досягнення генної інженерії псевдомонад, стрептоміцетів, бацил, коренебактерій, дріжджів. Технологічні процеси з використанням мікроорганізмів, сконструйованих генно-інженерними методами.