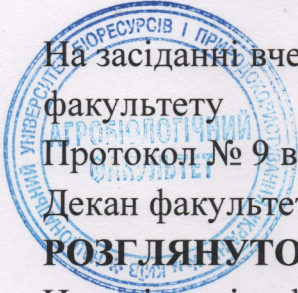


**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**  
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**



На засіданні вченої ради агробіологічного факультету

Протокол № 9 від 10 червня 2020 р.

Декан факультету Тонха О. Л.

**РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО**

На засіданні кафедри екобіотехнології та біорізноманіття

Протокол № 4 від 02 червня 2020 р.

Завідувач кафедри Патика М. В.

**РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**

**«ГЕНЕТИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ»**

Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»
Спеціальність	201 «Агрономія»
Рівень вищої освіти	Третій освітньо-науковий
Факультет	Агробіологічний

Розробники: д. с.-г. н., член-кор. НААН Патика М. В.,  
д. с.-г. н., с. н. с. Патика Т. І.

### 1. Опис навчальної дисципліни «Генетична інженерія»

<b>Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь</b>		
Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»	
Освітньо-науковий рівень	Третій	
Освітній ступінь	Доктор філософії	
Спеціальність	201 «Агрономія»	
Освітньо-наукова програма	«Агрономія»	
<b>Характеристика навчальної дисципліни</b>		
Вид	Вибіркова	
Загальна кількість годин	150	
Кількість кредитів ECTS	5	
Кількість змістових модулів	-	
Форма контролю	Іспит	
<b>Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форм навчання</b>		
	Денна форма навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	1	2
Семестр	2	1
Лекційні заняття	20	20
Практичні, семінарські заняття	-	-
Лабораторні заняття	30	30
Самостійна робота	100	100
Індивідуальні завдання	-	-
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання	5	-

## 2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Модифікація генетичного матеріалу здійснюється різними методами: в живому організмі (*in vivo*) і поза ним (*in vitro*), відповідно, це два напрямки — клітинна інженерія та генетична інженерія. За допомогою цих методів можливе отримання нових високопродуктивних продуцентів білків і пептидів людини, антигенів, вірусів та ін. Розвиток генетичної і клітинної інженерії призводить до того, що біотехнологічна промисловість все ширше завойовує нові галузі виробництва. Фундаментом для виникнення нових методів біотехнології послужили відкриття в генетиці, молекулярній біології, генетичної ензимології, вірусології, мікробіології та інших дисциплінах.

Від вивчення закономірностей функціонування генетичного матеріалу в клітині незабаром дослідники перейшли до генетичних маніпуляцій, тобто виникла нова експериментальна технологія, яка полягала в введенні в клітини чужорідних генів. Назви «генетична (або генна) інженерія» або «робота з рекомбінантними ДНК» еквівалентні. Суть цієї технології полягає в возз'єднанні фрагментів ДНК *in vitro* з наступним введенням нових («рекомбінантних») генетичних структур в живу клітину.

Генетична інженерія являє собою важливу складову біотехнології та розділ молекулярної генетики, що базується на розробці штучних генетичних систем з використанням маніпуляцій генами на молекулярному рівні шляхом конструювання рекомбінантних ДНК або РНК. Програма – максимум генної інженерії – створення життєздатного організму *de novo* за кресленнями, розробленими в лабораторії, так звана «синтетична біологія». Генетична інженерія полегшує обмін генами між природними генетичними системами. Вплив генетичної інженерії на сучасну біологію полягає в розвитку досліджень структури геномів і індивідуальних генів, з'ясування їх функцій (функціональна геноміка); отримані експресії рекомбінантних генів в новому генетичному оточенні – трансгенез; білкова інженерія; поява технологій, заснованих на антисмислових послідовностях; створення аптамерів, рібозимів і дезоксирібозимів; синтетична біологія.

Отже, сучасні підходи для здійснення різноманітних маніпуляцій із молекулами ДНК є сьогодні не тільки головним інструментарієм для фундаментальних досліджень у галузі молекулярної генетики, а й основою для розвитку нових біотехнологій, котрі базуються на генетичній модифікації мікроорганізмів, рослин і тварин як продуцентів продуктів харчування та біологічно активних сполук.

**Метою** даного курсу є формування у аспірантів сучасних знань щодо конструювання *in vitro* функціонально активних генетичних структур (рекомбінантних ДНК), або створення штучних генетичних програм (або систем експериментальних прийомів, що дозволяють конструювати лабораторним шляхом (в пробірці) штучні генетичні структури у вигляді так званих рекомбінантних або гібридних молекул ДНК).

**Завдання** курсу: формування знань про спрямоване та цільове конструювання молекулярних генетичних систем поза організмом з наступним введенням їх в живий організм; ознайомлення з принципами роботи з

рекомбінантною ДНК як складовою генетичного апарату рецепієнтного організму з новими та унікальними генетичними, біохімічними, фізіологічними властивостями; вивчення технології рекомбінантних ДНК за допомогою різних методів (наприклад, специфічного розщеплення ДНК нуклеазами рестрикцій, що прискорює виділення і маніпуляції з окремими генами; швидким секвенуванням всіх нуклеотидів в очищеному фрагменті ДНК, що дозволяє визначати межі гена і амінокислотну послідовність; конструюванням рекомбінантних ДНК; гібридизацією нуклеїнових кислот, що дозволяє виявляти специфічні послідовності РНК або ДНК з більшою точністю і чутливістю, засновану на їх здатності зв'язувати комплементарні послідовності нуклеїнових кислот; клонуванням ДНК через ампліфікацію *in vitro* за допомогою ланцюгової полімеразної реакції або введення фрагмента ДНК в бактеріальну клітину, яка після такої трансформації відтворює цей фрагмент у мільйонах копій; введенням рекомбінантних ДНК в клітини або організми.

### **3. Програма та структура навчальної дисципліни для повного терміну денної (заочної) форми навчання**

**Тема 1. Генетична інженерія як наука, фундамент для виникнення нових методів.** Основні напрями генетичних досліджень. Можливості та перспективи генної інженерії.

**Теми 2-3. Ферменти генетичної інженерії.** Основні групи ферментів. Рестриктази; Полімерази; Лігази; Полінуклеотидкінази; Термінальна трансфераза; Фосфатази; Нуклеази; Екзонуклеаза III *E.coli*. Екзонуклеаза фага  $\lambda$ ; S1-нуклеаза. РНКаза А. ДНКаза I. **Поняття вектора і його ємкості** (Загальна характеристика).

**Тема 4. Конструювання рекомбінантних ДНК.** Рестрикційно-лігазний метод. Коннекторний метод.

**Теми 5-6. Визначення нуклеотидної послідовності (секвенування) ДНК.** Метод Маскама-Гілбеота (хімічний). Метод Сенгера (ферментативний). Гібридизація – метод виявлення специфічних послідовностей нуклеотидів. Порівняльна характеристика секвенування і функціонального аналізу. Переваги та недоліки.

**Теми 7-8. Методи клонування ДНК.** Клонування ДНК *in vitro*. Полімеразно-ланцюгова реакція. Прямий відбір цільового клону. **Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP).** Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).

**Тема 9. Генетична інженерія рослин.** Трансформація рослинного генома-регуляторні елементи. Введення генів в рослинні клітини. Експресія генетичного матеріалу в трансгенних рослинах. Введення ДНК в клітини рослин за допомогою Ti- і Ri-плазмід. Досягнення генної інженерії рослин. Економічна вигода і проблеми біобезпеки трансгенних рослин.

**Тема 10. Генетичні інженерія мікробних клітин.** Аналіз мікробного різноманіття (метагеному мікробних угруповань). Маркерні гени та їх потенційне застосування. Метагеном – екологічне джерело генів. Основні проблеми, що виникають при генетичних маніпуляціях.

## Структура навчальної дисципліни

Назви тем	Кількість годин											
	денна форма						Заочна форма					
	усь- го	у тому числі				с. р.	усь- го	у тому числі				с. р.
л		п	лаб	інд	л			п	лаб	інд		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<b>Тема 1.</b> Генетична інженерія як наука, фундамент для виникнення нових методів. Основні напрями генетичних досліджень. Можливості та перспективи генної інженерії.	14	2		2		10	14	2		2		10
<b>Тема 2.</b> Ферменти генетичної інженерії. Основні групи ферментів. Рестриктази; Полімерази; Лігази; Полінуклеотидкінази; Термінальна трансфераза; Фосфатази; Нуклеази; Екзонуклеаза III E.coli. Екзонуклеаза фага λ; S1-нуклеаза. РНКаза A. ДНКаза I.	14	2		2		10	14	2		2		10
<b>Тема 3.</b> Поняття вектора і його ємкості (Загальна характеристика).	14	2		2		10	14	2		2		10
<b>Тема 4.</b> Конструювання рекомбінантних ДНК. Рестрикційно-лігазний метод. Коннекторний метод.	12	2				10	12	2				10
<b>Тема 5.</b> Визначення нуклеотидної послідовності (секвенування) ДНК. Метод Маскама-Гілбеота (хімічний). Метод Сенгера (ферментативний). Гібридизація – метод виявлення специфічних послідовностей нуклеотидів.	16	2		4		10	16	2		4		10
<b>Тема 6.</b> Порівняльна характеристика секвенування і функціонального аналізу. Переваги та недоліки.	16	2		4		10	16	2		4		10
<b>Тема 7.</b> Методи клонування ДНК. Клонування ДНК <i>in vitro</i> . Полімеразно-ланцюгова реакція. Прямий відбір цільового клону.	16	2		4		10	16	2		4		10
<b>Тема 8.</b> Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).	14	2		2		10	14	2		2		10
<b>Тема 9.</b> Генетична інженерія рослин. Трансформація рослинного генома-регуляторні елементи. Введення генів в рослинні клітини. Експресія генетичного матеріалу в трансгенних рослинах. Введення ДНК в клітини рослин за допомогою Ti- і Ri-плазмід. Досягнення генної інженерії рослин. Економічна вигода і проблеми біобезпеки трансгенних рослин.	16	2		4		10	16	2		4		10

<b>Тема 10.</b> Генетичні інженерія мікробних клітин. Аналіз мікробного різноманіття (метагеному мікробних угруповань). Маркерні гени та їх потенційне застосування. Метагеном – екологічне джерело генів. Основні проблеми, що виникають при генетичних маніпуляціях.	18	2	6	10	18	2	6	10
<b>Усього годин</b>	150	20	30	100	150	20	30	100

#### 4. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	ПЛР, гель-електрофорез, детекція ПЛР-продукту.	6
2	Ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD).	6
3	Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).	6
4	Робота з опрацювання отриманих даних за допомогою спеціалізованих комп'ютерних програм (MEGAN, QIIME тощо).	6
5	Програми секвенування геномів. Публічні бази даних.	6

#### 5. Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1.	Генетичне різноманіття та філогенетичний аналіз біоматеріалу.	20
2.	Дослідження плазмидного складу мікроорганізмів ґрунту. Бібліотеки клонів генів 16S рРНК.	20
3.	Кластерний аналіз профілів ДНК тест-культур.	20
4.	Комплексні дослідження ресурсів біому і структури мікробного (прокаріотного) різноманіття.	20
5.	Генетичне різноманіття та філогенетичний аналіз біоматеріалу.	20

#### 6. Методи навчання

Успіх навчання загалом залежить від внутрішньої активності аспірантів, від характеру їхньої діяльності, то саме характер діяльності, ступінь самостійності та творчості мають бути важливими критеріями у виборі методу.

Пояснювально-ілюстративний метод. Аспіранта здобувають знання, слухаючи розповідь, лекцію, з навчальної або методичної літератури, через екранний посібник у «готовому» вигляді. Сприймаючи й осмислюючи факти, оцінки, висновки, вони залишаються в межах репродуктивного (відтворювального) мислення. Такий метод якнайширше застосовують для передавання значного масиву інформації. Його можна використовувати для викладення й засвоєння фактів, підходів, оцінок, висновків.

Репродуктивний метод. Ідеться про застосування вивченого на основі зразка або правила. Діяльність тих, кого навчають, є алгоритмічною, тобто відповідає

інструкціям, розпорядженням, правилам – в аналогічних до представленого зразка ситуаціях.

Метод проблемного викладення. Використовуючи будь-які джерела й засоби, педагог, перш ніж викладати матеріал, ставить проблему, формулює пізнавальне завдання, а потім, розкриваючи систему доведень, порівнюючи погляди, різні підходи, показує спосіб розв'язання поставленого завдання. Студенти стають ніби свідками і співучасниками наукового пошуку.

Частково-пошуковий, або евристичний метод. Його суть – в організації активного пошуку розв'язання висунутих педагогом (чи самостійно сформульованих) пізнавальних завдань або під керівництвом педагога, або на основі евристичних програм і вказівок. Процес мислення набуває продуктивного характеру, але його поетапно скеровує й контролює педагог або самі студенти на основі роботи над програмами (зокрема й комп'ютерними) та з навчальними посібниками. Такий метод, один з різновидів якого є евристична бесіда, – перевірений спосіб активізації мислення, спонукання до пізнання.

Дослідницький метод. Після аналізу матеріалу, постановки проблем і завдань та короткого усного або письмового інструктажу ті, кого навчають, самостійно вивчають літературу, джерела, ведуть спостереження й виміри та виконують інші пошукові дії. Ініціатива, самостійність, творчий пошук виявляються в дослідницькій діяльності найповніше. Методи навчальної роботи безпосередньо переходять у методи, які імітують, а іноді й реалізують науковий пошук.

## 7. Форми контролю

Контроль знань і умінь (поточний і підсумковий) з дисципліни здійснюють згідно з кредитно-модульною системою організації навчального процесу. Рейтинг студента із засвоєння дисципліни визначається за 100 бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

Критерії оцінки рівня знань на лабораторних, семінарських та практичних заняттях. На лабораторних заняттях кожен аспірант з кожної теми виконує індивідуальні завдання. Рівень знань оцінюється: “відмінно” – аспірант дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично вірні відповіді не менш ніж на 90% запитань, рішення задач та лабораторні вправи вірні, демонструє знання підручників, посібників, інструкцій, проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “добре” – коли аспірант володіє знаннями матеріалу, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, проте за допомогою викладача швидко орієнтуються і знаходять правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “задовільно” – коли аспірант 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;

“незадовільно з можливістю повторного складання” – коли студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35 % питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки. Має неповний конспект лекцій.

Підсумкова (загальна оцінка) курсу навчальної дисципліни. Є сумою рейтингових оцінок (балів), одержаних за окремі оцінювані форми навчальної діяльності: поточне та підсумкове тестування рівня засвоювання теоретичного матеріалу під час аудиторних занять та самостійної роботи (модульний контроль); оцінка (бали) за виконання лабораторних досліджень. Підсумкова оцінка виставляється після повного вивчення навчальної дисципліни, яка виводиться як сума проміжних оцінок за змістовні модулі. Остаточна оцінка рівня знань складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

## 8. Розподіл балів

Оцінювання здобувачів відбувається згідно положення «Про екзамени та заліки у НУБіП України» від 25.09.2019 р. протокол № 2

Оцінка національна	Оцінка ЄКТС	Визначення оцінки ЄКТС	Рейтинг здобувача, бали
Відмінно	A	<b>ВІДМІННО</b> – відмінне виконання лише з незначною кількістю помилок	<b>90–100</b>
Добре	B	<b>ДУЖЕ ДОБРЕ</b> – вище середнього рівня з кількома помилками	<b>82–89</b>
	C	<b>ДОБРЕ</b> – в загальному правильна робота з певною кількістю грубих помилок	<b>74-81</b>
Задовільно	D	<b>ЗАДОВІЛЬНО</b> – непогано, але зі значною кількістю недоліків	<b>64–73</b>
	E	<b>ДОСТАТНЬО</b> – виконання задовольняє мінімальні критерії	<b>60-63</b>
Незадовільно	FX	<b>НЕЗАДОВІЛЬНО</b> – потрібно працювати перед тим як отримати залік	<b>35–39</b>
	F	<b>НЕЗАДОВІЛЬНО</b> – необхідна серйозна подальша робота	<b>01–34</b>

Для визначення рейтингу здобувача із засвоєння дисципліни  $R_{\text{ДИС}}$  (до 10 балів) одержаний рейтинг з атестації (до 30 балів) додається до рейтингу здобувача з навчальної роботи  $R_{\text{НР}}$  (до 70 балів):

$$R_{\text{ДИС}} = R_{\text{НР}} + R_{\text{АТ}}$$

## 9. Методичне забезпечення

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти освіти, навчальні плани, навчальні програми з усіх нормативних і вибіркового навчальних дисциплін; програми навчальної, виробничої та інших видів практик; підручники і навчальні посібники; інструктивно-методичні матеріали до семінарських, практичних і лабораторних занять; індивідуальні навчально-дослідні завдання; контрольні роботи; текстові та електронні варіанти тестів для поточного і підсумкового контролю, методичні матеріали для організації самостійної роботи аспірантів.



## 10. Рекомендована література

### Базова:

1. Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М. : Мир, 1984. 480 с.
2. Гадзало Я.М. Агробиология ризосферы растений: монография /Я.М. Гадзало, Н.В. Патыка, А.С. Заришняк. – К.: Аграрна наука, 2015. – 386 с.
3. Ніколайчук В. І., Горбатенко І. Ю. Генетична інженерія. Ужгород, 1999. - 188 с.
4. Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М. : Мир, 1984. 480 с.
5. Гончаренко Г. Г. Основы генетической инженерии.- Минск: Изд-во Вышэйшая школа, 2005.
6. Rastogi G., Sani R.K. Molecular Techniques to Assess Microbial Community Structure, Function, and Dynamics in the Environment. Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications. Springer New York, 2011: 29-57.
7. Wooley J. C. Metagenomics: Facts and artifacts, and computational challenges. Journal of computer science and technology. 2010. 1(25): 71-81.
8. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd edn. Cold Spring Harbour Laboratory Publ., NY, 1989.

### Додаткова:

1. Nair A. J. Introduction to biotechnology and genetic engineering /A. J. Nair //Infinity Science Press LLC. Hingham; Massachusetts; New Delhi, 2008. — 798 p.
2. Uroz S., Buee M., Murat C. [et al.]. Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and surrounding soil. Environ Microbiol. 2010. №. 2. P. 281–288.
3. Green Tringe S., Rubin M. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. Nature views: Genetics. Nature Publishing Group. 2005. Vol. 6. P. 805–814.
4. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии.-СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999.-522 с.
5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Т. 1-2.-М.: Мир, 1998.