

ГЕНЕТИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ
Кафедра Екобіотехнології та біорізноманіття
Агробіологічний факультет

Лектор	Патика Микола Володимирович
Семестр	2
Освітньо-науковий ступінь	phD доктор філософії
Кількість кредитів ЄКТС	5
Форма контролю	Екзамен
Аудиторні години	50 (20 год лекцій, 30 год лабораторних занять)

Загальний опис дисципліни

Метою даної дисципліни 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).

Теми лекцій:

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

Тема 2. Ферменти генетичної інженерії. Основні групи ферментів. Рестриктази; Полімерази; Лігази; Полінуклеотидкінази ;Термінальна трансфераза; Фосфатази; Нуклеази; Екзонуклеаза III *E.coli*. Екзонуклеаза фага λ ; S1-нуклеаза. РНКаза А. ДНКаза I.

Тема 3. Поняття вектора і його ємкості (Загальна характеристика).

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

Тема 5. Визначення нуклеотидної послідовності (секвенування) ДНК. Метод Маскама-Гілбеота (хімічний). Метод Сенгера (ферментативний). Гібридизація – метод виявлення специфічних послідовностей нуклеотидів.

Тема 6. Порівняльна характеристика секвенування і функціонального аналізу. Переваги та недоліки.

Тема 7. Методи клонування ДНК. Клонування ДНК *in vitro*. Полімеразно-ланцюгова реакція. Прямий відбір цільового клону.

Тема 8. 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. Генетична 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.

Теми лабораторних занять:

1. ПЛР, гель-електрофорез, детекція ПЛР-продукту.
2. Ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD).
3. Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).
4. Робота з опрацювання отриманих даних за допомогою спеціалізованих комп'ютерних програм (MEGAN, QIIME тощо).
5. Програми секвенування геномів. Публічні бази даних.

Список рекомендованої літератури:

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 Высшэйшая 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:

9. Nair A. J. Introduction to biotechnology and genetic engineering /A. J. Nair //Infinity Science Press LLC. Hingham; Massachusetts; New Delhi, 2008. — 798 p.
10. 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.
11. Green Tringe S., Rubin M. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. *Nature reviews: Genetics*. Nature Publishing Group. 2005. Vol. 6. P. 805–814.
12. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии.-СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999.- 522 с.
13. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Т. 1-2.-М.: Мир, 1998.