НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Державна установа
«ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ГЕНОМІКИ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Директор ДУ «ІХБГ НАН України»
академік НАН України
_____Ярослав БЛЮМ
наказ № 15 від 28 квітня 2022 р.

ПРОГРАМА
НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

ГЕНОМНА ІНЖЕНЕРІЯ ТА СИНТЕТИЧНА БІОЛОГІЯ

для здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії
галузь знань 09 «Біологія»

спеціальність 091«Біологія

профіль підготовки «Біотехнологія»

КИЇВ – 2022

Робоча програма навчальної дисципліни **«Геномна інженерія та синтетична біологія»** для здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії *галузі знань* 09 «Біологія» за *спеціальністю* 091 «Біологія» за *профілем підготовки* «Біотехнологія».
«28» квітня 2022 року – 17 с.

Розробник:
Ємець А.І., д.б.н,, професор, чл.-кор. НАН України.

Робоча програма дисципліни **«Геномна інженерія та синтетична біологія»** схвалена на засіданні вченої ради ДУ «ІХБГ НАН України» (протокол № 6 від «28» квітня 2022 року).

Робоча програма дисципліни «Геномна інженерія та синтетична біологія» розглянута на засіданні випускового відділу геноміки та молекулярної біотехнології ДУ «ІХБГ НАН України».

Завідувач відділу академік НАН України Ярослав БЛЮМ

27 квітня 2022

© Ємець А.І., _____2022 рік
© _____, 20___ рік
© _____, 20___ рік

ВСТУП

Навчальна дисципліна **«Геномна інженерія та синтетична біологія»** є складовою освітньо-наукової програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії *галузі знань* 09 «Біологія» за *спеціальністю* 091 «Біологія» за *профілем підготовки* «Біотехнологія».

Дана дисципліна є обов'язковою дисципліною за ***спеціальністю*** 091 «Біологія».

Викладається у III семестрі II курсу аспірантури **в обсязі – 90 год.** ***(3 кредити ECTS)*** зокрема: *лекції – 16 год, практичні роботи – 14 год, самостійна робота – 60 год.* У курсі передбачено 2 *змістових модулі*. Завершується дисципліна **заліком.**

Мета дисципліни – поглиблення знань про інноваційні технології геномної інженерії, біотехнології для створення генетично модифікованих організмів та використання їх у експериментальних дослідженнях і промислових цілях; забезпечення практичної підготовки фахівців у сфері біотехнології рослин.

Завдання:

1) вивчення основних маніпуляцій із молекулами нуклеїнових кислот *in vitro*;

2) опанування методів створення векторних молекул, конструювання і селекції рекомбінантних молекул;

3) вивчення методів редагування геному:

4) вивчення особливостей проведення геномно-інженерних робіт із використанням рослинних об'єктів на різних рівнях їх організації (протопласти, органи;

5) відпрацювання та вдосконалення навичок проведення експериментальної роботи;

6) освоєння прикладних аспектів: селекційна робота з мікроорганізмами; навички виділення і роботи з молекулами ДНК; вивчення технологій отримання рекомбінантних ДНК *in vitro*; способи введення їх в клітини еукаріотів і прокаріотів; ідентифікація клітин, що містять рекомбінантні ДНК; конструювання штамів-продуцентів для використання в біотехнології та інших сферах;

7) вивчення значення та практичних аспектів синтетично створених організмів, розгляд сутності соціально-економічних і етичних проблем трансгенезу живих систем.

Згідно з вимогами освітньо-наукової програми шляхом формування Загальних та Спеціальних компетенцій аспірант повинен:

ЗК01. Знати та розуміти предметну область та розуміти професійну діяльність.
ЗК02. Бути здатним працювати в міжнародному контексті.
ЗК03. Бути здатним розробляти та управляти проектами.
ЗК04. Бути здатним мотивувати людей та рухатися вперед.
ЗК05. Бути здатним оцінювати та забезпечувати якість виконуваних робіт.
ЗК06. Бути здатним працювати автономно.

СК01. Бути здатним планувати і здійснювати комплексні оригінальні дослідження, досягати наукових результатів, які створюють нові знання у біології та дотичних до неї міждисциплінарних напрямах і можуть бути опубліковані у наукових виданнях з біології та суміжних галузей.

СК02. Бути здатним усно і письмово презентувати та обговорювати результати наукових досліджень та/або інноваційних розробок українською та англійською мовами, розуміти англомовні наукові тексти за напрямом досліджень.

СК03. Бути здатним застосовувати сучасні інформаційні технології, бази даних та інші електронні ресурси, спеціалізоване програмне забезпечення у науковій та навчальній діяльності.

СК05. Бути здатним виявляти, формулювати та вирішувати проблеми дослідницького характеру в галузі біології, оцінювати та забезпечувати якість досліджень, які проводять.

СК06. Бути здатним ініціювати, розробляти і реалізовувати комплексні інноваційні проекти в біології та дотичні до неї міждисциплінарні проекти.

СК07. Бути здатним дотримуватись етики досліджень, а також правил академічної доброчесності в наукових дослідженнях та науково-педагогічній діяльності.

СК08. Здатність сформувати системний науковий світогляд та загальнокультурний кругозір.

В результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен:

РН01. Мати концептуальні та методологічні знання з біології і на межі предметних галузей, а також дослідницькі навички, достатні для проведення наукових і прикладних досліджень на рівні світових досягнень з відповідного напряму, отримання нових знань та/або здійснення інновацій.

РН02. Вільно презентувати та обговорювати результати досліджень, наукові та прикладні проблеми біології державною та іноземною мовами, кваліфіковано відображати результати досліджень у наукових публікаціях у наукових виданнях.

РН03. Формулювати і перевіряти гіпотези; використовувати для обґрунтування висновків належні докази, зокрема, результати аналізу джерел літератури, експериментальних досліджень (опитувань, спостережень, експерименту) і математичного та/або комп’ютерного моделювання.

РН04. Розробляти та досліджувати концептуальні, математичні і комп’ютерні моделі процесів і систем, ефективно використовувати їх для отримання нових знань та/або створення інноваційних продуктів у біології та дотичних міждисциплінарних напрямах.

РН05. Планувати і виконувати експериментальні та/або теоретичні дослідження з біології та дотичних міждисциплінарних напрямів з використанням сучасного інструментарію, критично аналізувати результати власних досліджень і результати інших дослідників у контексті всього комплексу сучасних знань щодо досліджуваної проблеми.

РН06. Застосовувати сучасні інструменти і технології пошуку, оброблення та аналізу інформації, зокрема, статистичні методи аналізу даних великого обсягу та/або складної структури, спеціалізовані бази даних та інформаційні системи.

РН08. Глибоко розуміти загальні принципи та методи біологічних наук, а також методологію наукових досліджень, застосувати їх у власних дослідженнях у сфері біології та у викладацькій практиці.

Місце дисципліни ***(****в структурно-логічній схемі підготовки фахівців відповідного напряму підготовки)*.

Навчальна дисципліна «Геномна інженерія та синтетична біологія» є обов'язковою дисципліною з підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії *галузі знань* 09 «Біологія» за *спеціальністю* 091 «Біологія» за *профілем підготовки* «Біотехнологія».

У цій дисципліні поглиблюються знання про інноваційні технології геномної інженерії, біотехнології для створення генетично модифікованих організмів та використання їх у експериментальних дослідженнях і промислових цілях. Методи та прийоми лабораторних досліджень можуть застосовуватись як у дослідженнях суміжних наук, так і в міждисциплінарних.

Зв'язок з іншими дисциплінами.

Основою для вивчення навчальної дисципліни «Геномна інженерія та синтетична біологія» є обов'язкова дисципліна «Методологія наукових досліджень» та університетські дисципліни «Генетика», «Молекулярна біологія», «Біохімія», «Мікробіологія». Навчальна дисципліна «Геномна інженерія та синтетична біологія» є практично-орієнтованою для засвоєння знань та вмінь у системі професійної підготовки третього (освітньо-наукового) рівня з підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія за профілем підготовки «Біотехнологія».

ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Змістовий модуль 1. Геномно-інженерні дослідження.

Тема 1. Місце геномної інженерії в сучасної біології. Сучасний стан розвитку генно-інженерних досліджень ***(9 год).***

Основні досягнення молекулярної генетики, що зумовили появу та успішний розвиток геномної інженерії. Загальні принципи та стратегія, що лежать в основі розвитку методів геномної інженерії. Будова та характеристики молекули ДНК. Загальне уявлення про ферменти рестрикції та модифікації. Відкриття рестриктаз та ДНК-метилаз,. Номенклатура та класифікація рестриктаз. ДНК-лігаза. ДНК-полімераза І. Зворотня транскриптаза. Принципи роботи цих ферментів. Соматична гібридизація клітин. Особливості геномної інженерії рослин.

Тема 2. Методи секвенування геномів ***(11 год.)***

Поява і розвиток технології секвенування геномів. Дидезоксинуклеотидний метод або метод секвенування по Сенгеру. Метод Едмана. Бісульфітне секвенування.

Піросеквенування. Високоефективне секвенування. Методи секвенування нового покоління (next-generation sequencing, NGS). Одномолекулярне секвенування. Таргентне секвенування. Секвенування ДНК одиночних клітин. Приклади секвенування геномів. Приклади розшифровки геномів рослин.

ТЕМА 3. Векторні конструкції, які використовують в геномній інженерії ***(11 год)***

Бактеріальні плазміди. Вектори на основі вірусів. Косміди і фазміди, віроїди. Хлоропластна та мітохондріальна ДНК для створення векторів. Траспозони і вектори на їх основі. Молекулярно-генетична організація бакуловірусів. Система експеруючих векторів на основі бакуловірусів. Створення човникових векторів на основі бакуловірусів для E.coli і клітин комах. Ретровіруси, аденовіруси та ліпосоми для перенесення генів. Штучні хромосоми дріжджів та ссавців (YAC – yeast artificial chromosomes, та MAC - mammalian artificial chromosomes). Експресія генів за участю сильних регуляторних промоторів. Промотори lac- і trp-оперонів E.coli; tac-промотор; промотор гена 10 бактеріофага T7.

Тема 4. Особливості клонування генів та організмів ***(12 год.)*.**

Особливості клонування генів. Вимоги до векторної ДНК, її складу. Промотори і термінатори генів. Експресія генів за участю сильних регуляторних промоторів. Промотори lac- і trp-оперонів E.coli; tac-промотор; промотор промотор гена 10 бактеріофагаT7. Селективні маркерні гени для відбору трансгенних клітин. Репортерні гени, їх типи. Зелений флуоресцентний білок (GFP- green fluorescent protein) з Aequorea victoria. Мутанти GFP. Отримання химерних генів з GFP для генетичної трансформації. Методи клонування тварин. Методи клонування рослин. Морфогенез в культурі in vitro. Фактори, що визначають ефективність морфогенезу рослин. Органогенез. Соматичний ембріогенез. Мікроклональне розмноження рослин.

Тема 5. Методи перенесення цільових генів в клітини ***(12 год.)***.

Трансфекція. Agrobacterium–опосередкова трансформація. Трансформація методом in planta. Мікроін'єкція. Електропорація. Метод «міні-клітин». Упакування в ліпосоми. ПЕГ-індукована трансформація. Біобалістична трансформація мікрочастинками. Трансформація за допомогою нанотрубок та наночастинок. Трансформація за допомогою полімерних носіїв. Компетентні клітини. Отримання компетентних клітин. Отримання протопластів. Відбір трансгенних клітин. Селекція трансгенних ліній рослин. Злиття протопластів. Селекція соматичних гібридів.

Тема 6. Методи редагування геному та приклади їх застосування ***(11 год.)***.

Поява та розвиток технології редагування геномів. Редагування геному за допомогою меганнуклеаз. Редагування геному за допомогою нуклеаз з цинковими пальцями (zinc fingers). Метод редагування геному за використання нуклеаз TALEN. Редагування геному за допомогою системи CRISPR-Cas. Приклади застосування методів редагування геному у тварин і людей. Редагування геному рослин. Перспективи використання цього методу.

Змістовий модуль 2. Синтетична біологія, особливості біологічного інструментарію.

Тема 7. Методи, які використовують в синтетичній біології ***(12 год.)***.

Поява та розвиток синтетичної біології. Штучний геном. Крейг Вентер і створена Mycoplasma mycoides JCVI-syn 1.0 або «Сінтія». Методи синтетичної біології. Проектування та побудова біологічних модулів та біологічних систем BioBrick (БіоБлок) як провідний стандарт синтетичної біології. Ієрархія стандарту. Переваги BioBrick. Програма iGEM: мета і перспективи.

Тема 8. Застосування синтетичної біології та подальше практичне використання синтетично створених організмів ***(12 год.)***.

Застосування синтетичної біології для отримання біопалива з водоростей, електричного струму - за допомогою бактерій. Синбіосинтез складних білків і вуглеводів. Синбіо та отримання продуктів промислової хімії (пластмаса, полімери та інш.). Створення лікарських препаратів, синтетичних вакцин та пробіотиків для боротьби з інфекціями. Створення бактерії, що виявляють отруйні речовини, вибухівку та очищують ґрунт від пластикового сміття та інш. Підвищення продуктивності та стійкості культивованих рослин і тварин. Біоетика і біобезпека використання синтетичної біології

СТРУКТУРА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ЛЕКЦІЙ,
ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ, САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

№ з/п	Назва лекції	Кількість годин		
		лекції	практичні	СРС
	Змістовий модуль 1 *Геномно-інженерні дослідження*			
1	**Тема 1**. *Місце геномної інженерії в сучасної біології. Сучасний стан розвитку генно-інженерних досліджень*	2		7
2	**Тема 2.** *Методи секвенування геномів*	2	2	7
3	**Тема 3.** *Векторні конструкції, які використовують в геномній інженерії*	2	2	7
4	**Тема 4.** *Особливості клонування генів та організмів*	2	2	8
5	**Тема 5.** *Методи перенесення цільових генів в клітини*	2	2	8
6	**Тема 6.** *Методи редагування геному та приклади їх застосування*	2	2	7
	Разом за змістовим модулем 1	***12***	***10***	***44***
	Змістовий модуль 2. *Синтетична біологія, особливості біологічного інструментарію*			
7	**Тема 7**. *Методи, які використовують в синтетичній біології*	2	2	8
8	**Тема 8.** *Застосування синтетичної біології та подальше практичне використання синтетично створених організмів*	2	2	8
	Разом за змістовим модулем 2	***4***	***4***	***16***
	ВСЬОГО	**16**	**14**	**60**

Загальний обсяг – ***90*** *год.* ***(3 кредити ECTS)***, *у* тому числі:
Лекцій – ***16*** *год.*
Практичні заняття – ***14*** *год*
Самостійна робота – ***60*** *год.*

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1
Геномно-інженерні дослідження

ТЕМА 1. *МІСЦЕ ГЕНОМНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ В СУЧАСНОЇ БІОЛОГІЇ. СУЧАСНИЙ СТАН РОЗВИТКУ ГЕННО-ІНЖЕНЕРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ* ***(9 ГОД).***

Лекція 1. *МІСЦЕ ГЕНОМНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ В СУЧАСНОЇ БІОЛОГІЇ. СУЧАСНИЙ СТАН РОЗВИТКУ ГЕННО-ІНЖЕНЕРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ* ***(2 год.)***

Завдання для самостійної роботи (7 год.)

Будова та характеристики молекули ДНК.
Особливості ДНК про- та еукаріот
Особливості генно-інженерних маніпуляції у бактеріальних, тваринних і рослинних клітинах.

Контрольні запитання та завдання:

1. *Структурні елементи ДНК.*
2. *Особливості організації ДНК прокаріот.*
3. *Особливості організації ДНК еукаріот.*
4. *Особливості генно-інженерних маніпуляції у бактеріальних клітинах.*
5. *Особливості генно-інженерних маніпуляції у тваринних і рослинних клітинах.*
6. *Злиття тваринних клітин.*
7. *Злиття рослинних клітин.*

Рекомендована література:

[1, 7, 8, 9, 26, 28]

Тема 2. *МЕТОДИ СЕКВЕНУВАННЯ ГЕНОМІВ* **(12 год.)**

Лекція 2. *МЕТОДИ СЕКВЕНУВАННЯ ГЕНОМІВ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 1 (2 год.)

Ізолювання рослинної ДНК

Завдання для самостійної роботи (8 год.)

Методи ізолювання ДНК.
Метод ізолювання рослинної ДНК.
Метод ізолювання тваринної ДНК.

Контрольні запитання та завдання:

1. *Які існують методи ізолювання ДНК?*
2. *В чому суть методу ізолювання ДНК із рослин?*
3. *Як необхідно зберігати ізольовану ДНК?*
4. *Який барвник додають до зразків при проведенні електрофорезу в агарозному гелі?*
5. *Що таке «маркери ДНК (DNA ladder)»?*
6. *Як візуалізують розділені фрагменти ДНК?*

Рекомендована література:
[4, 5, 25]

Тема 3. *ВЕКТОРНІ КОНСТРУКЦІЇ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬ В ГЕНОМНІЙ ІНЖЕНЕРІЇ* ***(11 год.)***

Лекція 3. *ВЕКТОРНІ КОНСТРУКЦІЇ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬ В ГЕНОМНІЙ ІНЖЕНЕРІЇ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 2 (2 год.)
Ізолювання рослинної мРНК

Завдання для самостійної роботи (7 год.)
Метод ізолювання плазмідної ДНК.
Електрофорез ДНК в поліакриламідному гелі.
Електрофорез ДНК в агарозному гелі.

Контрольні запитання та завдання:
1. *Чи є різниця в ізолюванні плазмідної ДНК та ядерної ДНК із рослин?*
2. *В чому особливості ізолювання тваринної ДНК?*
3. *В яких випадках проводять електрофорез ДНК в агарозному гелі* ?
4. *В яких випадках проводять електрофорез ДНК в поліакриламідному гелі?*
5. *Як зв'язується бромистий етидій з ДНК?*

Рекомендована література:
[2, 4, 5, 9, 25, 33]

Тема 4. *ОСОБЛИВОСТІ КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ ТА ОРГАНІЗМІВ* ***(12 год.)***

Лекція 4. *ОСОБЛИВОСТІ КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ ТА ОРГАНІЗМІВ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 3 (2 год)
Мікроклональне розмноження рослин

Завдання для самостійної роботи (8 год.)
Приготування та стерилізація живильних середовищ для культивування рослинних та тваринних тканин та клітин
Роль макро- та мікроелементів і регулячторі просту в поживних середовищах
Мікроклональне розмноження модельних рослин з класу однодольних та дводольних.

Контрольні запитання та завдання:
1. *Наведіть джерела отримання експлантів.*
2. *Поясніть, які є способи стерилізації експлантів та насіння.*
3. *Умови культивування органів, тканин та клітин* in vitro.
4. *Специфіка вирощування калюсних тканин.*
5. *Суспензійні культури, їх отримання та культивування.*

6. *Протопласти рослин, їх ізолювання та культивування.*
7. *Специфіка вирощування диких та мутантних ліній Arabidopsis thalina*
8. *Морфогенез в культурі* in vitro.
9. *Фактори, що визначають ефективність регенерації рослин рослин.*
10. *Роль фітогормонів в регуляції морфогенезу рослин* in vitro.

Рекомендована література:

[3, 6, 8, 9]

Тема 5. *МЕТОДИ ПЕРЕНЕСЕННЯ ЦІЛЬОВИХ ГЕНІВ В КЛІТИНИ* ***(12 год.)***

Лекція 5. *МЕТОДИ ПЕРЕНЕСЕННЯ ЦІЛЬОВИХ ГЕНІВ В КЛІТИНИ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 4 (2 год)

Agrobacterium-опосередкована трансформація рослинних експлантів та селекція трансгенних клітин рослин

Завдання для самостійної роботи (8 год.)

1. *Джерела отримання експлантів.*
2. *Способи стерилізації експлантів та насіння.*
3. *Умови культивування органів, тканин та клітин* in vitro.
4. *Специфіка вирощування калюсних тканин.*
5. *Суспензійні культури, їх отримання та культивування.*
6. *Протопласти рослин, їх ізолювання та культивування.*
7. *Морфогенез в культурі* in vitro.
8. *Фактори, що визначають ефективність регенерації рослин рослин.*
9. *Особливості будови Т-ДНК агробактерій*

Контрольні запитання та завдання:

1. *Які види агробактерій використовують для трансформації рослни?*
2. *Суть метода т*рансформації in planta.
3. *Особливості отримання експлантів рослин.*
4. *Способи позбавлення бактеріальної контамінації при культивуванні клітин і тканин в умовах* in vitro.
5. *Соматичний ембріогенез і методи його досягнення.*
6. *Типи органогенеза і його індуктооги.*
7. *Селективні маркерні гени і селекція генетично змінених клітин/організмів.*

Рекомендована література:

[2, 3, 8, 9]

Тема 6. *МЕТОДИ РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ ТА ПРИКЛАДИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ* ***(11 год.)***

Лекція 6. *МЕТОДИ РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ ТА ПРИКЛАДИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 5 (2 год)

Приготування компетентних клітин
Трансформація бактерій

Завдання для самостійної роботи (7 год)

1. Відкриття імунної системи у бактерій
2. Спейсери і протоспейсери.
3. Білок Cas9 і його роль

Контрольні запитання та завдання:

1.Відкриття імунної системи у бактерій
2. Спейсери і протоспейсери.
3. Білок Cas9 та його роль.
4.Що таке crРНК і tracrРНК?
5. Як працює РНК-гід?
6. В чому полягає суть технологіїї самоклонування CRISP/Cas9?

Рекомендована література:

[10, 12, 13, 15, 21, 23, 29, 31, 32, 34, 35]

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2

Синтетична біологія, особливості біологічного інструментарію

ТЕМА 7. *МЕТОДИ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬ В СИНТЕТИЧНІЙ БІОЛОГІЇ* ***(12 год.)***

Лекція 7. *МЕТОДИ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬ В СИНТЕТИЧНІЙ БІОЛОГІЇ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 6 (2 год)

1. *Підготовка зразків для проведення полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ПЛР-ЗВ)*
2. *Проведення ПЛР-ЗВ*

Завдання для самостійної роботи (8 год.)

1. *Метод ізолювання мРНК.*
2. *Метод отримання кДНК*
3. *Методологія методу ПЛР-ЗВ*
4. *Використання методу ПЛР-ЗВ*

Контрольні запитання та завдання:

1. *Принцип полімеразної ланцюгової реакції.*
2. *Що визначають за допомогою методу ПЛР в реальному часі?*
3. *Як ізолюють мРНК з рослин?*
4. *Що таке зворотна транскрипція, і як вона відбувається?*
5. *Що таке ДНК-зонди?*
6. *Які мітки використовують в ПЛР-ЗВ?*

7. *Що таке флюорогенна шпилька?*
8. *В чому особливості методу FRET?*
9. *Як аналізують отримані метод ПЛР-ЗВ дані?*
10. *Які діагностики проводять за допомогою цього методу?*

Рекомендована література:

[2, 9, 30]

ТЕМА 8. *ЗАСТОСУВАННЯ СИНТЕТИЧНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ПОДАЛЬШЕ ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ СИНТЕТИЧНО СТВОРЕНИХ ОРГАНІЗМІВ* ***(12 год.)***

Лекція 8. *ЗАСТОСУВАННЯ СИНТЕТИЧНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ПОДАЛЬШЕ ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ СИНТЕТИЧНО СТВОРЕНИХ ОРГАНІЗМІВ* ***(2 год.)***

Практичне заняття 7 (2 год)

Візуалізація експресії репортерного гена GFP в трансгенних клітинах

Завдання для самостійної роботи (8 год.)

Кольорові варіанти GFP та мутації, пов'язані з виникненням кольорових варіантів GFP.

Особливості створення генетичних конструкцій, що містять GFP чи його варіанти, для вивчення певних внутрішньоклітинних структур.

Дослідження цитоскелетних структур за використання GFP.

Контрольні запитання та завдання:

1. *В чому полягає відмінність між люмінесцентною мікроскопією і лазерною скануючою конфокальною мікроскопією?*
2. *Як необхідно вирощувати лінії Arabidopsis thaliana, які експресують GFP для мікроскопічного дослідження?*
3. *Що таке Z-стек, і як виставити параметри для Z-стека?*
4. *Які особливості існують для дослідження рослинних тканин за допомогою лазерної конфокальної мікроскопії?*

Рекомендована література:

[9, 27]

Контроль знань і розподіл балів, які отримують здобувачі

Контроль здійснюється за модульно-рейтинговою системою.

У змістовий модуль 1 (ЗМ1) входять теми 1-6, у змістовий модуль 2 (ЗМ2) – теми 7-8.

Види контролю – поточний і підсумковий.

Поточний контроль здійснюється під час проведення навчальних занять і має на меті перевірку засвоєння студентами навчального матеріалу. Форма проведення поточного контролю під час навчальних занять: усне опитування, письмовий контроль, тестовий, самооцінювання, перевірка практичних навичок.

Обов'язковим для заліку є відпрацювання всіх практичних занять. У випадку відсутності студента, він може відпрацювати пропущене заняття у позааудиторний час (пропущених занять не може бути більше половини від загальної кількості занять).

Оцінювання за формами поточного контролю:

Коефіцієнт – 2,85

	ЗМ1		*ЗМ2*	
	Min. – 45 балів	*Max. – 70 балів*	*Min. – 15 балів*	*Max. – 30 балів*
Практична робота	*„3" x 5 = 15*	*„5" x 5 = 25*	*„3" x 2 = 6*	*„5" x 2 = 10*
Доповнення	*1*	*2*	*1*	*2*
Виступ	*2*	*2*	*2*	*2*
36"– мінімальна/максимальна оцінка, яку може отримати студент. [1]– мінімальна/максимальна залікова кількість робіт чи завдань.				

Для студентів, які набрали сумарно меншу кількість балів ніж *критично-розрахунковий мінімум* ***60*** *балів*, для здачі заліку обов'язкове проходження додаткового тестування.

Підсумковий контроль проводиться на останньому практичному занятті і складається із суми балів усіх змістових модулів.

При простому розрахунку отримаємо:

	Змістовий модуль 1	Змістовий модуль 2	Залік (підсумкова оцінка)
Мінімум	45	15	60
Максимум	**70**	**30**	**100**

При цьому, кількість балів:

- **1-34** відповідає оцінці «незадовільно» з обов'язковим повторним вивченням дисципліни;
- **35-39** відповідає оцінці «незадовільно» з можливістю повторного складання;
- **40-60** відповідає оцінці «задовільно» («достатньо»);
- **61-69** відповідає оцінці «задовільно»;
- **70 - 80** відповідає оцінці «добре»;
- **81 - 89** відповідає оцінці «добре» («дуже добре»);
- **90 - 100** відповідає оцінці «відмінно».

Шкала оцінювання академічної успішності аспіранта

Рівень досягнень, % /Marks, (бали за освітнюдіяльність)	Оцінка ЄКТС/ECTS	Оцінка за національною шкалою (Nationalgrade)
90 – 100	**A**	**відмінно** (Excellent)
82 – 89	**B**	**добре** (Good)
74 – 81	**C**	
64 – 73	**D**	**задовільно** (Satisfactory)
60 – 63	**E**	

35 – 59	**FX**	**незадовільно** (Fail) з можливістю повторного складання
1 – 34	**F**	**незадовільно** (Fail) з обов'язковим повторним вивченням дисципліни

Методи навчання

Пояснювально-ілюстративні, частково-пошукові, проблемного навчання, дослідницькі.

Технічні засоби навчання

Проектор мультимедійний Epson EMP-S42, 2 , рік введення в експлуатацію – 2004; ноутбук, екран, Zoom/Google Meet — сервіси для дистанційного навчання та он-лайн консультацій.

Матеріальне забезпечення дисципліни

Аудиторії, лабораторії відділу клітинної біології та біотехнології, Центр колективного користування приладами ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Glick B.R., Pasternak J.J., Patten C.L. Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA, 4th edition. ASM Press, Washington DC, 2010.
2. Lal R., Lal S. Genetic Engineering of Plants for Crop Improvement. CRC Press, 2017, 256 p.
3. Кушнір Г. П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. Київ: Наукова думка, 2005. 270 с.
4. Westermeier R. Electrophoresis in Practice. A Guide to Methods and Application of DNA and Protein Separations, 3rd ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2001, 368 p.
5. Hanada K. DNA Electrophoresis. Methods and Protocols, Humana Press, 2020, 228 p.
6. Hull R., Head G., Tzotzos G.T. Genetically Modified Plants: Assessing Safety and Managing Risk. 2nd edition, Academic Press, 2020, 742 p.
7. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія. К: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 384 с.
8. Miglani G.S. Genetic Engineering: Principles, Procedures and Consequences. Alpha Science Intern., Limited, 2016, 754 p.
9. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular Biology of the Cell. Sixth Edition. Garland Science: New York and Abingdon, UK. 2014. 1464 p.

10. Belhaj, K., Chaparro-Garcia, A., Kamoun, S., Patron, N. J., & Nekrasov, V. (2015). Editing plant genomes with CRISPR/Cas9. Current opinion in Botechnology, 32, 76-84. DOI:10.1016/j.copbio.2014.11.007
11. BioBricks Foundation. *BioBricks Foundation*.
12. Chu, V. T., Weber, T., Wefers, B., Wurst, W., Sander, S., Rajewsky, K., & Kühn, R. (2015). Increasing the efficiency of homology-directed repair for CRISPR-Cas9-induced precise gene editing in mammalian cells. Nature biotechnology. DOI:10.1038/nbt.3198
13. Cong, L., & Zhang, F. (2015). Genome Engineering Using CRISPR-Cas9 System. In Chromosomal Mutagenesis. Methods in Molecular Biology Vol. 1239, 2015, P. 197—217. Springer New York.
14. Edze R. Westra, Angus Buckling & Peter C. Fineran (2014). CRISPR-Cas systems: beyond adaptive immunity. Nature Reviews Microbiology. DOI:10.1038/nrmicro3241
15. Engineering Biology Problems Book, 2016. doi: 10.2139/ssrn.2898429
16. Erwin L. van Dijk, Hélène Auger, Yan Jaszczyszyn, Claude Thermes. (2014). Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends in Genetics***.** 30, P. 418-426.
17. Morphogenesis in Plants: Molecular Approaches (Roubelakis-Angelakis K.I., Tran Thanh Van K., eds). IV. Series: NATO ASI series. Series A, Life sciences; V. 253, P. 283.
18. Wenfang Spring Tan, Daniel F. Carlson, Mark W. Walton, Scott C. Fahrenkrug, Perry B. Hackett. Precision editing of large animal genomes. Advances in Genetics. 2012. Vol. 80. P. 37—97. doi:10.1016/B978-0-12-404742-6.00002-8.
19. Extreme Genetic Engineering: an Introduction on Synthetic Biology. 2007 e-book https://www.cbd.int/doc/emerging-issues/etcgroup-introduction-synthetic-biology-2011-013-en.pdf
20. Hanczyc M. M. Engineering Life: A Review of Synthetic Biology. Artificial Life. 2020. 26 (2). P. 260–273 https://doi.org/10.1162/artl_a_00318
21. Kennedy E.M., Cullen B.R. Bacterial CRISPR/Cas DNA endonucleases: A revolutionary technology that could dramatically impact viral research and treatment. Virology, (2015). P. 479—480 DOI:10.1016/j.virol.2015.02.024
22. Kevin M. Esvelt, Harris H. Wang. Genome-scale engineering for systems and synthetic biology. Molecular Systems Biology. 2013. Vol. 9. P. 641. doi:10.1038/msb.2012.66.
23. Genetic Engineering: Principles and Methods (Genetic Engineering: Principles and Methods, 27) J. K. Setlow (Ed.). New York, Plenum Press, 2006
24. Knight, Thomas F; Reshma P Shetty; Drew Endy. Engineering BioBrick vectors from BioBrick parts. J. Biol. Engin. 2008. Vol. 14. p. 1—12. doi:10.1186/1754-1611-2-5
25. Laemmli U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature, 1970. V.227. P. 680–685
26. Lodish H., Berk A., Kaiser C. A., Krieger M., Scott M. P., Bretscher A., Ploegh H., Matsudaira P. Molecular Cell Biology (Six edition). Freeman and Company, New York, 2007, 973 p.
27. LSM 510 Laser Scanning Microscope. Carl Zeiss Mikroskopie, Jena, Germany. 1998.330 p. https://mcb.illinois.edu/microscopy/manuals/LSM_510_Manual.pdf
28. Pierce B.A. Genetics: A conceptual approach (Fourth edition) W.H.Freeman and Company, New York, 2012. – 857 p.Режим доступу: https://www.studmed.ru /pierce-ba-genetics-a-conceptual-approach-fourth-edition_d746c9e4b5d.html

29. Rath, D., Amlinger, L., Rath, A., & Lundgren, M. The CRISPR-Cas immune system: Biology, mechanisms and applications. Biochimie. 2015. P. Vol. 117. P. 119-128. DOI:10.1016/j.biochi.2015.03.025
30. Real-time PCR hand book. Applied Biosystems https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/global/Forms/PDF/real-time-pcr-handbook.pdf
31. Barrangou R. Cas9 Targeting and the CRISPR revolution. Science. 2014. Vol. 344, N 6185. P. 707–708. doi:10.1126/science.1252964
32. Tavakoli K., Pour-Aboughadareh A., Kianersi F., Poczai P., Etminan A., Shooshtari L. Applications of CRISPR-Cas9 as an advanced genome editing system in life sciences. BioTech 2021. Vol. 10. 14. https://doi.org/10.3390/biotech10030014
Sambrook J., David W.R. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spri ng Harbor, 2001. Vol. 2. 763 p.
33. Anzalone A.V., Koblan L.W., Liu D.R. Genome editing with CRISPR–Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. Nat. Biotechnol. 2020. Vol. 38**,** p**.** 824–844. https://doi.org/10.1038/s41587-020-0561-9.
34. Terns R. M., Terns M. P. CRISPR-based technologies: Prokaryotic defense weapons repurposed. Trends Genet. 2014. Vol. 30(3): 111. DOI:10.1016/j.tig.2014.01.003.
35. Ding W., Zhang Y., Shi S. Development and application of CRISPR/Cas in microbial biotechnology. Front. Bioeng. Biotechnol. 2020.Vol. 8:711. doi: 10.3389/fbioe.2020.00711