



Методи генетичної модифікації

Робоча програма навчальної дисципліни (Силабус)

Реквізити навчальної дисципліни

Рівень вищої освіти	<i>Другий (магістерський)</i>
Галузь знань	<i>16 Хімічна та біоінженерія</i>
Спеціальність	<i>162 Біотехнології та біоінженерія</i>
Освітня програма	<i>Біотехнології</i>
Статус дисципліни	<i>Вибіркова</i>
Форма навчання	<i>Очна (денна)</i>
Рік підготовки, семестр	<i>5 курс, Осінній семестр</i>
Обсяг дисципліни	<i>4 кредити</i>
Семестровий контроль/ контрольні заходи	<i>Залік / модульна контрольна робота</i>
Розклад занять	<i>http://schedule.kpi.ua Лекції – 1,5 год на тиждень (1 заняття на 2 тижні), практичні – 1,5 год на тиждень.</i>
Мова викладання	<i>Українська</i>
Інформація про керівника курсу / викладачів	<i>Лектор: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, kharn7428@gmail.com, тел. 0675389990 Семінарські: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, kharn7428@gmail.com, тел. 0675389990</i>
Розміщення курсу	<i>Google classroom код курсу qсех6be</i>

Програма навчальної дисципліни

1. Опис навчальної дисципліни, її мета, предмет вивчення та результати навчання

Опис дисципліни. Під час навчання студенти ознайомляться з методами генетичної модифікації їх застосуванням будовою обладнання і режимами роботи. Знання одержані з курсу дозволять проводити генетичну модифікацію, та створювати трансгенні організми *in vitro*, проводити маніпуляції з нуклеїновими кислотами, ферментами та білками генетичного апарату.

Мета навчальної дисципліни. Метою є формування у студентів компетентностей щодо застосування методів генної модифікації, вирішенню проблем, що пов'язані з кожним методом, вибору методів для модифікації біологічних об'єктів.

Предмет навчальної дисципліни: методи впливу на генетичний апарат, обладнання та режими його роботи що необхідні для проведення генетичної модифікації.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми здобувачі вищої освіти повинні засвоїти компетентності:

ФК 5. Здатність розробляти нові біотехнологічні об'єкти і технології та підвищувати ефективність існуючих технологій на основі експериментальних та/або теоретичних досліджень та/або комп'ютерного моделювання;

ФК 6. Здатність планувати і виконувати експериментальні роботи в галузі біотехнології з використанням сучасних обладнання та методів, інтерпретувати отримані дані на основі сукупності сучасних знань та уявлень про об'єкт і предмет дослідження, робити обґрунтовані висновки;

ФК 9. Здатність застосовувати сучасні методи системного аналізу для дослідження та створення ефективних біотехнологічних процесів;

ФК 15. Здатність використовувати молекулярно-генетичні технології для створення нових біологічних агентів;

ФК 16. Здатність використовувати сучасні біофізичні технології для створення біотехнологічних процесів (продуктів);

ФК 17. Здатність використовувати методи молекулярної біоінженерії для модифікації біологічних агентів.

Програмні результати навчання.

Компетентності:

ПРН 5. *Знати молекулярну організацію та регуляцію експресії генів, реплікації, рекомбінації та репарації, рестрикції та модифікації генетичного матеріалу у про- та еукаріотів, стратегію створення рекомбінантних ДНК для цілеспрямованого конструювання біологічних агентів.*

ПРН 6. *Знати та оцінювати основні методичні прийоми культивування еукаріотичних клітин тваринного та рослинного походження, розробляти нові технології їх застосування у наукових цілях, медицині, сільському господарстві тощо*

ПРН 7. *Мати навички виділення, ідентифікації, зберігання, культивування, іммобілізації біологічних агентів, здійснювати оптимізацію поживних середовищ, обирати оптимальні методи аналізу, виділення та очищення цільового продукту, використовуючи сучасні біотехнологічні методи та прийоми, притаманні певному напрямку біотехнології.*

ПРН 10. *Упроваджувати найбільш ефективні біотехнологічні методи та прийоми у практичну виробничу діяльність на основі оцінки ефективності передових біотехнологій та врахування загальних тенденцій розвитку новітніх біотехнологій у провідних країнах.*

ПРН 18. *Мати навички використання молекулярно-генетичних технологій для створення нових біологічних агентів.*

ПРН 20. *Вміти використовувати методи молекулярної біоінженерії для створення нових біологічних агентів.*

Знання:

- Застосовувати ферменти для модифікації генетичного апарату.
- Створення та аналіз рекомбінантних нуклеїнових кислот.
- Створення трансгенних організмів з стабільними ознаками, що не несуть загрозу навколишньому середовищу.

Уміння:

- ✓ Проводити клонування генів створювати трансгенні організми;
- ✓ оволодіння методами рекомбінації та модифікації нуклеїнових кислот та методами що супроводжують цей процес;
- ✓ Вирішення питань біологічної безпеки та стабільності ліній трансгенних організмів.

2. Пререквізити та постреквізити дисципліни (місце в структурно-логічній схемі навчання за відповідною освітньою програмою)

Пререквізити: мати базові знання з біохімії, цитології, біофізики, генетики, вірусології, методів аналізу в біотехнології, біохімічних та фізичних методів аналізу в біотехнології, проблемних питань генної інженерії.

3. Зміст навчальної дисципліни

Розділ 1. Модифікація клітин прокариотів та основні методи підготовки.

Тема 1.1. Одержання ізольованих генів.

Тема 1.2. Створення вектору для перенесення.

Тема 1.3. Проведення модифікації прокариот.

Тема 1.4. Правила відбору модифікованих організмів.

Розділ 2. Модифікація рослинних клітин.

Тема 2.1. Вектори для модифікації рослин.

Тема 2.2. Проведення модифікації рослинних клітин.

Розділ 3. Модифікація тваринних клітин.

Тема 3.1. Вектори для модифікації тварин.

Тема 3.2. Проведення модифікації тваринних клітин.

Тема 3.3. Особливості відбору модифікованих тварин.

Розділ 4. Модифікація клітин грибів.

Тема 4.1. Особливості модифікації клітин грибів.

4. Навчальні матеріали та ресурси

Базова література:

1. Glick B.R., . Patten C.L. Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA. - Washington : ASM Press, 2017.
2. Piguet, P., Poindron, P. Genetically Modified Organisms and Genetic Engineering in Research and Therapy. – 10.1159/isbn 978-3-8055-9066-2, 2012.
3. Федоренко В.О., Осташ Б.О., Гончар М.В., Ребець Ю.В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2007.
4. Viral vectors for gene therapy: Methods and protocols / Ed. by Machida C.A. - New Jersey: Humana Press, 2003.
5. Viral vectors: basic science and gene therapy / Ed. by Cid-Arregui A., Garcia-Carranca. - Natick: Eaton publishing, 2000.
6. Glick B.R., . Patten C.L. Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA. - Washington : ASM Press, 2017.

Допоміжна література:

1. Vektor targeting for therapeutic gene delivery / Ed. by Curiel D.T., Douglas J.T. - New Jersey: Wiley-Liss, 2002.
2. CRISPR. Methods and Protocols. Ed. By Lundgren M., Charpentier E., Fineran P.C. - NY: Humana Press, 2011.

Навчальний контент

5. Методика опанування навчальної дисципліни (освітнього компонента)

5.1. Лекційні заняття

№ з/п	Назва теми лекції та перелік основних питань (перелік дидактичних засобів, посилання на літературу та завдання на СРС)
Розділ 1. Модифікація клітин прокариотів та основні методи підготовки	
1.	<p>Вступ в дисципліну. Одержання ізольованих генів</p> <p>Генетичний апарат еукаріот. Основні механізми регуляції генів прокариот. Можливі сайти рестрикції у поширених біологічних агентах. Виділення нуклеїнових кислот та генів. Фізичні та хімічні методи виділення та внесення основних та допоміжних речовин у клітину. Методи виділення послідовностей та ізоляції генів прокариот. Рестрикція-модифікація за допомогою ендонуклеаз 1-4 типів.</p> <p>Література: 1</p>
2.	<p>Створення вектору для перенесення.</p> <p>Використання рестрикції-модифікації 2 типу для виділення необхідних послідовностей. Методи ідентифікації, розділення, ампліфікації таких фрагментів. Підготовка фрагментів для внесення. Можливість використання вірусних векторів.</p> <p>Література: 1</p>
3.	<p>Проведення модифікації прокариот. Правила відбору модифікованих організмів.</p> <p>Використання карт рестрикції PFGE. Ендонуклеази та рестриктази для модифікації прокариотичної ДНК. Використання ДНК полімерази. Методи відбору модифікованих клітин. Обладнання для культивування та розділення модифікованих клітин. Найбільш поширені модельні організми. Використання ПЛР, гібридизації, мікроматриць.</p> <p>Література: 2</p>
Розділ 2. Модифікація рослинних клітин	
4.	<p>Вектори для модифікації рослин.</p> <p>Особливості модифікації клітин рослин. Методи що можуть бути застосовані для внесення генетичного матеріалу. Методи та обладнання необхідні для проведення процесу. Створення векторів та нуклеїнових кислот для модифікації.</p> <p>Література: 3</p>
5.	<p>Проведення модифікації рослинних клітин.</p> <p>Особливості генетичного апарату рослин. Сайти рестрикції що використовуються. Особливості культивування модифікованих клітин.</p> <p>Література: 4</p>
Розділ 3. Модифікація тваринних клітин	
6.	<p>Вектори для модифікації тварин.</p> <p>Особливості модифікації клітин тварин. Методи що можуть бути застосовані для внесення генетичного матеріалу. Методи та обладнання необхідні для проведення процесу. Створення векторів та нуклеїнових кислот для модифікації.</p> <p>Література: 5</p>
7.	<p>Проведення модифікації тваринних клітин.</p> <p>Особливості генетичного апарату тварин. Сайти рестрикції що використовуються. Особливості культивування модифікованих клітин. Застосування різних вірусів для модифікації. Методивведення ДНК у яйцеклітину, введення ДНК у стовбурові клітини, введення ДНК за допомогою векторів на основі вірусів, трансфекція, введення ДНК за допомогою ліпосом.</p> <p>Література: 5</p>

8.	Особливості відбору модифікованих тварин. Культивування в різних умовах. Обладнання для культивування. Особливості культивування рослинних і тваринних клітин після модифікації. Забезпечення біобезпеки для таких організмів. Сертифікація. Література: 6
Розділ 4. Модифікація клітин грибів	
9.	Особливості модифікації клітин грибів. Особливості генетичного апарату грибів. Сайти рестрикції що використовуються. Особливості культивування модифікованих клітин. Одержання стабільних ліній. Види що найчастіше використовуються та їх особливості. Література: 6

5.2. Семінарські заняття

№ з/п	Теми семінарських занять	Кількість ауд. годин
1.	Модифікація клітин прокаріотів. Література: 1-3	3
2.	Модифікація рослинних клітин. Література: 1-3	3
3.	Модифікація тваринних клітин. Література: 1-3	4
4.	Модифікація клітин грибів. Література: 5-6	4
5.	МКР	2
6.	Залік	2

6. Самостійна робота студента

1) Самостійна робота включає підготовку до МКР – 10 год. Підготовку до заліку – 16 год.

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
1.	Опрацювання загальної теорії модифікації клітин.	4
2.	Методи та обладнання для модифікації прокаріот.	4
3.	Методи та обладнання для модифікації рослин.	4
4.	Методи та обладнання для модифікації тварин.	4
5.	Методи та обладнання для модифікації грибів.	4
6.	Вірусні вектори що використовуються.	4
7.	Підготовка до МКР	10
8.	CRISPR, Sleeping beauty, PiggyBac, MAGE методи.	4
9.	Стабілізація нуклеїнових кислот.	4
10.	Правила техніки безпеки при генетичній модифікації. Запобігання потраплянню біологічних агентів та вірусів у навколишнє середовище.	4

№ з/п	Назва теми, що вноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
11.	Підготовка до Заліку	16

Політика та контроль

7. Політика навчальної дисципліни (освітнього компонента)

Система вимог, які ставляться перед студентом:

- відвідування лекційних та семінарських занять є обов'язковою складовою вивчення матеріалу;
- на лекції викладач користується власним презентаційним матеріалом; використовує клас на платформі G suite for education для викладання матеріалу поточної лекції, додаткової інформації та інше;
- для виступу на семінарському занятті студент робить доповідь з використанням презентаційних матеріалів, після доповіді відповідає на запитання аудиторії та викладача;
- написання модульної контрольної роботи відбувається на останньому лекційному занятті без застосування допоміжних засобів (мобільні телефони, планшети та ін.);
- заохочувальні бали виставляються за участь у конкурсах робіт екологічного спрямування, підготовку оглядів наукових праць чи виступи на конференціях з доповідями за тематикою дисципліни. Кількість заохочуваних балів не більше 10;

Неприйнятними у навчальній діяльності для студентів є:

- 1) Плагіат – навмисне чи усвідомлене оприлюднення (опублікування), повністю або частково, чужого твору (тексту або ідей) під іменем особи, яка не є автором цього твору, без належного оформлення посилань.
- 2) Шахрайство, а саме:
 - фальсифікація або фабрикація інформації, наукових результатів та наступне використання їх в академічній роботі;
 - підробка підписів в документах;
 - використання під час контрольних заходів заборонених допоміжних матеріалів або технічних засобів (шпаргалки, мікронавушки, телефони, планшети тощо);
 - посилання на літературні джерела, які не було використано в роботі;
 - списування при складанні будь-якого виду контролю;
 - проходження процедур контролю знань підставними особами.
- 3) Несанкціонована співпраця, а саме:
 - надання допомоги для здійснення акту академічної нечесності – навмисна чи усвідомлена допомога або спроба допомоги іншому вчинити акт академічної нечесності;
 - придбання в інших осіб чи організацій з наступним поданням як власних результатів навчальної та наукової діяльності (звітів, рефератів, контрольних).
- 4) Пропонування чи отримання неправомірної винагороди при оцінюванні результатів успішності, виконання навчальних чи дослідницьких завдань.
- 5) Використання родинних або службових зв'язків для отримання позитивної або вищої оцінки при складанні будь-якого виду підсумкового контролю або переваг у роботі.

8. Види контролю та рейтингова система оцінювання результатів навчання (PCO)

Поточний контроль: написання експрес-опитування на лекційних заняттях, МКР, доповіді за темами семінарських занять.

Календарний контроль: провадиться двічі на семестр як моніторинг поточного стану виконання вимог силабусу.

Семестровий контроль: Залік.

Умови допуску до семестрового контролю: мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу та виступи на семінарі, а також семестровий рейтинг більше 30 балів.

Рейтинг студента з дисципліни складається з балів, що студент отримує за:

Вид та елементи контролю (Вид робіт)	Кількість	Ваговий бал	Сума балів по елементу контролю
Поточний контроль			
МКР	1	60	60
Доповідь на семінарі	4	7,5	30
Відповіді на семінарських заняттях	5	2	10
Всього за поточний контроль		100	
Календарний контроль			
Перший календарний контроль		25	
Другий календарний контроль		55	
Семестровий контроль			
Залік		60-100	

2. Критерії нарахування балів:

2.1. Виконання модульної контрольної роботи (МКР):

Максимальна кількість балів за МКР – 60. Кожен варіант МКР містить 12 питань по 5 балів кожне. Робота зараховується якщо студент набирає не менше 36 балів з 60.

Критерії оцінювання:

Повна і вірна відповідь на питання – 5 балів,

Правильна але неповна відповідь на запитання, наявність незначних помилок – 4-3,5 балів;

Суттєві помилки або неповна відповідь – 3,5 – 1 бали.

Відсутня або неправильна відповідь – 0 – 1 бали.

2.2. Доповідь на семінарському занятті:

Кожний студент робить 4 доповіді по 1 на кожний розділ. Максимальна кількість балів за доповідь 7,5.

Критерії оцінювання:

Розкриття теми, помилки відсутні – 7,5 балів,

Тема розкрита повністю але присутні помилки – 7 – 5 бали,

Тема не розкрита або велика кількість помилок – 0 – 5 бали.

2.3. Відповіді на семінарському занятті:

Максимальна кількість балів за відповідь на питання на семінарському занятті 2 бали. Максимальна кількість балів за всі питання 10.

Критерії оцінювання:

Правильна відповідь без помилок – 2 бали.

Відповідь з незначними помилками або неповна – 1 бал.

Неправильна відповідь – 0 балів.

2.4. Семестровий контроль

Наприкінці семестру **умовою допуску до заліку** є мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу, виступи на семінарі.

Студенти які виконали умови допуску до семестрового контролю і набрали більше 60 балів можуть, за бажанням, отримати залікову оцінку відповідно до університетської шкали.

Студенти, що набрали менше 60 балів за семестр в обов'язковому порядку мають написати залікову роботу.

Студенти, що бажають підвищити свій семестровий бал і набрали більше 60 балів за семестр можуть підвищити бал написанням залікової роботи. При цьому рейтингові бали, отримані за семестр обнуляються.

Залікова робота виконується у письмовій формі та передбачає 4 питання по 25 балів кожне.

Критерії оцінювання:

Повна та правильна відповідь на запитання – 25 балів.

Неточності у відповіді або незначні помилки – 24 – 15 балів.

Велика кількість незначних помилок або неправильно сформульована відповідь – 15 – 5 балів.

Суттєві помилки або неповна відповідь – 5 – 1 балів.

Відповідь неправильна або відсутня – 0 балів.

Таблиця відповідності рейтингових балів оцінкам за університетською шкалою:

<i>Кількість балів</i>	<i>Оцінка</i>
100-95	Відмінно
94-85	Дуже добре
84-75	Добре
74-65	Задовільно
64-60	Достатньо
Менше 60	Незадовільно
Не виконані умови допуску	Не допущено

9. Додаткова інформація з дисципліни (освітнього компонента)

- перелік теоретичних питань, які виносяться на семестровий контроль (залік) наведено в додатку 1;
- на початку семестру викладач аналізує існуючі дистанційні курси за тематикою дисципліни та пропонує пройти відповідні безкоштовні курси студентам. Після отриманням студентом сертифікату з успішного проходження дистанційних чи онлайн курсів за відповідною тематикою, викладач закриває відповідну частину курсу (семінари чи лекції).

Робочу програму навчальної дисципліни (силабус):

Складено асистентом кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, к.т.н., Левтуном Ігорем Ігоровичем

Ухвалено кафедрою біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології (протокол № 15 від 29.06.2022)

Погоджено Методичною комісією факультету (протокол № 9 від 30.06.2022)

Перелік теоретичних питань, які виносяться на залік:

1. Наведіть методи збільшення кількості модифікованої ДНК. У чому переваги та недоліки використання прокариотів для цього?
2. Що таке плазмідний вектор? Навести особливості будови рBR 322 та проблеми що можуть виникати при її використанні.
3. Навести особливості використання вірусних векторів для введення генетичного матеріалу. Переваги та недоліки використання Бактеріофагів (Т, Лямбда, М13)
4. Системи рестрикції-модифікації Типу I, III і IV.
5. Системи рестрикції-модифікації Типу II. Поділ ензимів рестрикції-модифікації Типу II на підтипи.
6. Генетичний контроль ензимів рестрикції-модифікації Типу II. Регулювання експресії генів, які кодують ензими рестрикції-модифікації Типу II.
7. Принципи використання ендонуклеаз рестрикції Типу II у генетичній інженерії.
8. Умови розщеплення ДНК ендонуклеазами рестрикції. Фракціонування фрагментів ДНК за допомогою електрофорезу.
9. Методи побудови рестрикційних карт. Побудова фізичних карт хромосом (PFGE-карт).
10. Властивості і використання в генетичній інженерії ДНК-ази I, екзонуклеаз I і III, екзонуклеази фага λ , нуклеаз S1 і Bal31.
11. Властивості і використання в генетичній інженерії рибонуклеаз A, T1 і H.
12. Властивості ДНК-полімераз і способи їх використання у генетичній інженерії. ДНК-полімераза I E. coli та її Кленовфрагмент.
13. ДНК-полімерази бактеріофагів T4 і T7.
14. РНК-залежні ДНК-полімерази (зворотні транскриптази). Синтез кДНК за допомогою зворотної транскриптази.
15. Властивості РНК-полімераз та способи їх використання у генетичній інженерії.
16. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Принцип ПЛР. Цикли ПЛР
17. Характеристика ДНК-полімераз, які використовуються у ПЛР.
18. Різновиди ПЛР та особливості їх застосування. ПЛР в реальному часі.
19. Принципи проведення молекулярної гібридизації нуклеїнових кислот. Умови денатурації та реасоціації ланцюгів нуклеїнових кислот.
20. Радіоактивні і нерадіоактивні мітки ДНК та методи їх внесення і виявлення.
21. Варіанти гібридизації нуклеїнових кислот. ДНК-ДНК гібридизація за Саузерном. Northern-блот-гібридизація.
22. Гібридизація нуклеїнових кислот *in situ*. Технологія ДНКмікроматриць.
23. Основні властивості векторних молекул. Класифікація векторних молекул.
24. Способи конструювання плазмідних векторів. Вектори на основі репліконів плазмід ColE1 і рMB1.
25. Способи конструювання і селекції рекомбінантних ДНК на основі плазмідних векторів.
26. Штучні дріжджові та бактерійні хромосоми.
27. Основні особливості, переваги і недоліки вірусних векторів.
28. Особливості генома бактеріофага λ як основи для конструювання векторів. Типові вектори на основі бактеріофага λ . Способи селекції рекомбінантних λ -фагів.
29. Косміди. Створення космідних бібліотек геномів. Системи пакування λ -ДНК *in vitro*.
30. Будова генома і цикл розвитку бактеріофага М13. Будова і використання фагмід.
31. Порівняльна характеристика векторів на основі вірусів тварин і рослин.
32. Будова і життєвий цикл ретровірусів. Геноми ретровірусів. Генوم вірусу імунодефіциту людини HIV-1.
33. Будова зворотної транскриптази та інтегрази HIV-1. Механізм зворотної транскрипції та інтеграції HIV-ДНК в клітинну ДНК.

34. Загальні принципи конструювання і використання ретровірусних векторів. Переваги і недоліки ретровірусних систем. Системи векторів на основі HIV-1.
35. Будова генома аденоасоційованих (AAV) вірусів як основи для конструювання векторів. Конструювання і використання векторів на основі AAV.
36. Генна терапія за допомогою векторів на основі лентивірусів і AAV. Проблеми генної терапії на основі вірусних векторів. Шляхи вдосконалення вірусних векторів.
37. Класифікація транспозонів. Основні хімічні реакції, які каталізують транспозази.
38. Ефекти транспозонів. «Життєвий цикл» транспозона. Регуляція і контроль транспозиції.
39. Будова транспозонів Tn5 і Tn3.
40. Основні механізми транспозиції: нереплікативна, реплікативна, кон'югативна.
41. Tn7 і Tn7-подібні транспозони. Tn7-подібні транспозони, які містять CRISPR-Cas-системи.
42. Характеристика суперродина транспозонів ITm (Tc1/mariner).
43. Реконструкція і структура транспозона Sleeping beauty.
44. Механізм ексцизиї та інсерції транспозонів Tc1/mariner на прикладі транспозона Sleeping Beauty. Роль білків клітини господаря в транспозиції Sleeping beauty.
45. Транспозон piggyBac. Механізми ексцизиї та інсерції piggyBac.
46. Модифіковані версії транспозонів Sleeping beauty і PiggyBac.
47. Використання Sleeping beauty і PiggyBac в геномній інженерії. Переваги і недоліки їх використання.
48. Порівняння транспозонів і вірусів як знарядь геномної інженерії. Гібридні транспозон-вірусні вектори.
49. Каспозони. Системи Cas-транспозон (CRISPR-Tn).
50. Бінарна векторна система транспозиції. Параметри, за якими оцінюють ефективність використання транспозонів в геномній інженерії.
51. Особливості, переваги, недоліки транспозонного мутагенезу.
52. Фагові і плазмідні суїцидні вектори для транспозонного мутагенезу.
53. Загальна схема проведення транспозонного мутагенезу і аналізу його результатів у бактерій.
54. Використання транспозонного мутагенезу для визначення функцій генів і складу суттєвих генів в геномах організмів.
55. Типи сайт-специфічних рекомбіназ. Структура і механізм дії сайт-специфічних рекомбіназ. Регуляція експресії сайтспецифічних рекомбіназ.
56. Сайт-специфічні рекомбінази Cre і Flp. Рекомбінаційні процеси, які каталізують Cre- і Flp-рекомбінази.
57. Способи використання Cre- і Flp-рекомбіназ. Конструювання «безмаркерних» штамів з делеціями та інтеграціями генів; отримання незворотних Cre/loxP-, Flp/FRT-залежних інсерцій та інверсій.
58. Сайт-специфічна інтеграза бактеріофага ϕ C34 і принцип її використання в геномній інженерії.
59. Принцип рекомбіногенної інженерії. Гомологічна рекомбінація як основа рекомбінірунгу.
60. Механізм RecBCD- і RecF-залежної гомологічної рекомбінації.
61. Red-система бактеріофага λ і принципи її застосування у рекомбінірунгу.
62. RecET-система гомологічної рекомбінації лямбдоїдного профага λ і її застосування у рекомбінірунгу.
63. Основні варіанти застосування рекомбінірунгу. Делеції генів у хромосомі за допомогою рекомбінірунгу. Пряме клонування ДНК і субклонування за допомогою рекомбінірунгу.
64. Принцип мультиплексної автоматизованої геномної інженерії (MAGE). Основні параметри, переваги і недоліки MAGE.
65. Природа хоумінгу. Розповсюдженість і номенклатура хоумінгових нуклеаз. Структура хоумінгових нуклеаз. Сайти в ДНК, на які діють хоумінгові нуклеази.
66. Використання хоумінгових нуклеаз для індукування гомологічної та негомологічної рекомбінації і генного таргетингу. Переваги і недоліки використання хоумінгових нуклеаз.
67. Репарація двониткових розривів ДНК за механізмами гомологічної рекомбінації і «з'єднання негомологічних кінців».

68. Принцип використання програмованих нуклеаз в геномній інженерії. Властивості ендонуклеази FokI, важливі для її використання в програмованих нуклеазах.
69. «Цинкові пальці» як структурні мотиви білків, що використовуються в геномній інженерії.
70. Нуклеази на основі ZFP – ZFN. Способи забезпечення специфічності ZFN. Види редагування генома, які виконують за допомогою ZFN.
71. Будова і властивості нуклеаз на основі TAL-ефекторних білків.
72. Дизайн і способи використання TALEN. Фактори, які впливають на ефективність ZFN і TALEN.
73. Системи набутого імунітету бактерій CRISPR-Cas. Їх організація, розповсюдженість і біологічна роль. Класифікація систем CRISPR-Cas.
74. Організація і механізм функціонування систем CRISPR-Cas типу II.
75. Принципи і види геномного редагування за допомогою систем CRISPR-Cas.
76. Використання CRISPR-Cas систем для вивчення будови та експресії генома і редагування епігенома.
77. Застосування CRISPR-Cas систем для діагностики і генної терапії захворювань.
78. Використання CRISPR-Cas систем для конструювання об'єктів біотехнології.
79. Завдання, які вирішуються за допомогою репрограмування генетичного коду. Можливі варіанти використання організмів з перекодованим геномом.
80. Природна «експансія» ядерного (нуклеоїдного) генетичного коду.
81. Варіанти генетичного коду геномів мітохондрій і пластид.
82. Особливості кодування протеїногенних амінокислот селеноцистеїну і пірролізину.
83. Характеристика основних об'єктів інженерії ортогональних систем синтезу білка: тРНК, аміноацил-тРНК синтетаз, факторів елонгації трансляції, рибосом.
84. Інженерія ортогональних пар аміноацил-тРНК синтетаз-/ тРНК.
85. Сумісні взаємно ортогональні пари aa-PC/тРНК для включення в білок різних неканонічних амінокислот (нкАК).
86. Інженерія ортогональних фактору елонгації трансляції EF-Tu і рибосом.
87. Фактори, які впливають на ефективність включення в білки нкАК. Експериментальні підходи, які дають змогу включення в білки багатьох нкАК.
88. Стратегії, переваги і недоліки перепризначення нонсенс-кодонів.
89. Стратегії, переваги і недоліки компресії змістовних синонімічних кодонів у варіабельних і визначених позиціях генома.
90. Створення в геномі додаткових кодонів. Кодування нкАК квадруплентними кодонами. Використання в процедурах експансії генетичного коду кодонів, як і містять неприродні пари основ. «Nachtmoji» ДНК і РНК.
91. Поєднання процедур експансії генетичного коду і метаболічної інженерії для конструювання продуцентів біологічно активних речовин.
92. Основні принципи і методичні підходи у синтетичній біології, спрямованій на дизайн і редагування геномів. Відмінності між нативними і синтетичними геномами.
93. Основні методи хімічного і хіміко-ферментативного синтезу олігонуклеотидів, генів і регуляторних елементів генома.
94. Складання синтетичних геномів з фрагментів. Трансплантація синтетичних геномів.
95. Реструктуризація нативних геномів методами геномної інженерії.
96. Концепція мінімального генома. Конструювання організмів з мінімальним синтетичним геномом.
97. Застосування підходів синтетичної біології для вивчення теоретичних проблем біології та конструювання об'єктів біотехнології.
98. Основні підходи для забезпечення ефективної експресії трансгенів. Будова векторів експресії.
99. Пояснити у чому полягають особливості культивування рослинних і тваринних клітин після модифікації. Запропонувати типові рішення для проблем культивування модифікованих рослинних клітин.
99. Методи вивчення гетерологічної експресії генів. Використання репортерних генів для аналізу експресії генів.

- 100.Тетрациклін-індуцибельні системи контролю експресії генів і їх використання у векторах для геномної інженерії
- 101.Оптимізація експресії клонованих генів за рахунок зміни їх кодонного складу, стабілізації мРНК і рекомбінантних білків.
- 102.Генетична стабільність трансгенних організмів