



# Проблемні питання генної інженерії

## 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>Освітньо-наукова програма «Біотехнології»</i>
Статус дисципліни	<i>Вибіркова</i>
Форма навчання	<i>Очна (денна)</i>
Рік підготовки, семестр	<i>5 курс, Весняний семестр</i>
Обсяг дисципліни	<i>4 кредити</i>
Семестровий контроль/ контрольні заходи	<i>Залік / модульна контрольна робота</i>
Розклад занять	<i><a href="http://schedule.kpi.ua">http://schedule.kpi.ua</a> Лекції – 36 лекцій, 18 практик 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., асистент, Левтун Ігор Ігорович, <a href="mailto:kharn7428@gmail.com">kharn7428@gmail.com</a>, тел. 0675389990 Семінарські: к.т.н., асистент, Левтун Ігор Ігорович, <a href="mailto:kharn7428@gmail.com">kharn7428@gmail.com</a>, тел. 0675389990</i>
Розміщення курсу	<i>Google classroom код курсу <a href="#">qsex6be</a></i>

### Програма навчальної дисципліни

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

**Опис дисципліни.** Під час навчання студенти ознайомляться з методами генної модифікації та проблемами, що пов'язані з їх використанням або наслідками їх використання. Знання одержані з курсу дозволять вирішувати нестандартні питання пов'язані з генетичною модифікацією, застосовувати одержані знання для створення стабільних генетично модифікованих організмів, що відповідають міжнародним стандартам екологічної безпеки.

**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.

Згідно з вимогами освітньо-наукової програми здобувачі вищої освіти повинні засвоїти компетентності, якими повинен оволодіти здобувач:

- 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;
- 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;

- Здатність застосовувати сучасні методи системного аналізу для дослідження та створення ефективних біотехнологічних процесів;
- Здатність використовувати молекулярно-генетичні технології для створення нових біологічних агентів;
- Здатність використовувати сучасні біофізичні технології для створення біотехнологічних процесів (продуктів);
- Здатність використовувати методи молекулярної біоінженерії для модифікації біологічних агентів.

**Предмет навчальної дисципліни:** взаємозв'язок генетичного апарату та впливу на нього з розвитком та метаболізмом біологічних об'єктів, правильне культивування та поводження з методами і об'єктами для запобігання проблем.

**Програмні результати навчання.**

**Компетентності:**

- *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.*
- *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*
- *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.*
- *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.*
- *Мати навички використання молекулярно-генетичних технологій для створення нових біологічних агентів.*
- *Вміти використовувати методи молекулярної біоінженерії для створення нових біологічних агентів.*

**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, Біохімічні та фізичні методи аналізу в біотехнології.

**3. Зміст навчальної дисципліни**

Розділ 1. Методи генної модифікації

Тема 1.1. Технологія рекомбінантних ДНК

Тема 1.2. Клонування ДНК у прокаріотичних системах. Плазмідні вектори

Тема 1.3. Створення векторів на основі бактеріофагів.

Тема 1.4. Створення гібридних та клонувальних векторів. Експресія генів.

Тема 1.5. Особливості локалізації генів та їх експресії у прокаріот.

Тема 1.6. Модифікація еукаріотичних клітин. Особливості генетичного апарату еукаріот.

Тема 1.7. Методи модифікації еукаріотичних клітин. Віруси для модифікації еукаріотів.

Тема 1.8. Альтернативні методи внесення плазмід в клітини.

Тема 1.9. Культивування модифікованих організмів.

#### 4. Навчальні матеріали та ресурси

##### Базова література:

1. Загальна вірусологія: навчальний посібник: [для студентів вищих навчальних закладів] / С. П. Гудзь, Т. Б. Перетятко, Ю. О. Павлова. — Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2010. — 264 с. — (Серія «Біологічні студії»).
2. Bernard R. Glick. Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA 4th Edition/ Bernard R. Glick, Jack J. Pasternak, Cheryl L. Patten. ASM Press; 4th edition. 2009.
3. Desmond S. T. Nicholl. An Introduction to Genetic Engineering 3rd Edition. Cambridge University Press; 3rd edition. 2008.
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.

##### Допоміжна література:

1. Vektor targeting for therapeutic gene delivery / Ed. by Curiel D.T., Douglas J.T. - New Jersey: Wiley-Liss, 2002.

#### 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)
<b>Розділ 1. Методи генної модифікації</b>	
1.	<b>Вступ в дисципліну. Технологія рекомбінантних ДНК</b> Технологія рекомбінантних ДНК. Проблеми що супроводжують їх використання. Ферменти та механізми створення рекомбінантних ДНК. Методи виділення та визначення фрагментів ДНК та РНК. <b>Література: 1</b>
2.	<b>Клонування ДНК у прокаріотичних системах. Плазмідні вектори.</b> Основи методу. Особливості генетичного апарату прокаріот. Плазмідні вектори. pBR 322. Проблеми методів і їх вирішення. <b>Література: 1</b>
3.	<b>Створення векторів на основі бактеріофагів.</b> Особливості використання вірусів для введення генетичного матеріалу. Бактеріофаги T, Лямбда, M13. Створення гібридних векторів. Проблеми методів і їх вирішення. <b>Література: 2</b>
4.	<b>Створення гібридних та клонувальних векторів. Експресія генів.</b> Методи створення гібридних та клонувальних векторів. Особливості плазміди для її використання у векторі. Проблеми методів і їх вирішення. <b>Література: 4</b>
5.	<b>Особливості локалізації генів та їх експресії у прокаріот.</b> Методи для збільшення кількості копій гена. Інтеграція генів в клітини. Зв'язок мРНК з рибосомами. Трансляція чужорідних генів і збільшення ефективності. Проблеми методів і їх вирішення. <b>Література: 3</b>

6.	<b>Модифікація еукаріотичних клітин. Особливості генетичного апарату еукаріот.</b> Особливості генної модифікації клітин еукаріот. Створення векторів для успішної модифікації. Проблеми замовчування генів. Проблеми методів і їх вирішення. <b>Література: 4</b>
7.	<b>Методи модифікації еукаріотичних клітин. Віруси для модифікації еукаріотів.</b> Використання вірусів для внесення генетичної інформації в клітини еукаріот. Особливості систем захисту у еукаріот. Використання герпе-, бакуло-, папілома-, поліома-, адено-, ретро-, покс- вірусів. Проблеми використання і їх вирішення. <b>Література: 5</b>
8.	<b>Альтернативні методи внесення плазмід в клітини.</b> Фізичні та хімічні методи введення генетичного матеріалу. Проблеми методів введення і їх вирішення. <b>Література: 3</b>
9.	<b>Культивування модифікованих організмів.</b> Культивування в різних умовах. Обладнання для культивування. Особливості культивування рослинних і тваринних клітин після модифікації. Забезпечення біобезпеки для таких організмів. Сертифікація. <b>Література: 3</b>

## 5.2. Семінарські заняття

№ з/п	Теми семінарських занять	Кількість ауд. годин
1.	Технології рекомбінантних ДНК та РНК. Вирішення проблем що виникають при створенні векторів. <b>Література: 1-2</b>	3
2.	Модифікація прокариот. Вирішення типових проблем модифікації прокариот. <b>Література: 3-4</b>	3
3.	Модифікація еукаріот. Вирішення типових проблем модифікації еукаріот. <b>Література: 4-5</b>	4
4.	Методи закріплення ознак. Вирішення <b>Література: 5-6</b>	4
5.	Модульна контрольна робота	2
6.	Залік	2

## 6. Самостійна робота студента

- 1) Самостійна робота включає підготовку до МКР – 4 год. Підготовку до заліку – 6 год. Виконання ДКР – 10 год. На підготовку до аудиторних занять - 22 години, 24 год – для самостійного вивчення матеріалу.

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
1.	Основні події, що вплинули на розвиток методів модифікації.	2
2.	Варіанти плазмідних векторів для модифікації прокариот.	2
3.	Створення гібридних векторів.	2

№ з/п	Назва теми, що вноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
4.	Варіанти плазмідних векторів у сучасних методах.	2
5.	Наслідки введення чужорідних генів в клітини прокариот.	2
6.	Наслідки введення чужорідних генів в клітини еукаріот.	2
7.	Проблеми при модифікації еукаріот.	2
8.	Застосування методів внесення генетичного матеріалу на виробництві.	2
9.	Культивування генетично модифікованих мікроорганізмів.	2
10.	Контроль генетично модифікованих рослин.	2
11.	Сертифікація модифікованих організмів в Україні.	2
12.	Етичні проблеми створення трансгенних тварин і модифікація людини.	2

## 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, мікронавушники, 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, Реферат, доповіді за темами семінарських занять та відповіді на питання.

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
<b>Поточний контроль</b>			
МКР	1	30	30
Реферат	1	30	30
Доповідь на семінарі	4	7,5	30
Відповіді на семінарських заняттях	5	2	10
<b>Всього за поточний контроль</b>		<b>100</b>	
<b>Календарний контроль</b>			
<b>Перший календарний контроль</b>		25	
<b>Другий календарний контроль</b>		55	
<b>Семестровий контроль</b>			

<b>Залік</b>	60-100
--------------	--------

## **2. Критерії нарахування балів:**

### **2.1. Виконання модульної контрольної роботи (МКР):**

Максимальна кількість балів за МКР – 30. Кожен варіант МКР містить 3 питання по 10 балів кожне.

#### **Критерії оцінювання:**

Повна і вірна відповідь на питання – 10 балів,

Правильна але неповна відповідь на запитання, наявність незначних помилок – 10 – 6 балів;

Суттєві помилки або неповна відповідь – 5 – 1 бали.

Відсутня або неправильна відповідь – 0 – 1 бали.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше 18 балів з 30.

### **2.2. Виконання реферату:**

Максимальна кількість балів за реферат – 30.

#### **Критерії оцінювання:**

Повне і вірне розкриття теми, актуальність та коректність прикладів, відсутність помилок – 30 балів,

Правильне але неповне розкриття теми, наявність незначних помилок – 29 – 25 балів;

Суттєві помилки або значне відхилення від заданої теми реферату – 24 – 18 бали.

Значні помилки, що свідчать про відсутність розуміння теми – 17 – 0 бали.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше 18 балів з 30.

### **2.3. Доповідь на семінарському занятті:**

Кожний студент робить 4 доповіді по 2 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 – 6 бали,

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

### **2.4. 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.

### **2.5. Семестровий контроль**

Наприкінці семестру **умовою допуску до заліку** є мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу, Домашню 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 5 питань по 20 балів кожне.

#### **Критерії оцінювання:**

Повна та правильна відповідь на запитання – 20 балів.

Неточності у відповіді або незначні помилки – 19 – 16 балів.

Велика кількість незначних помилок або неправильно сформульована відповідь – 15 – 12 балів.

Суттєві помилки, відповідь неправильна або відсутня – 11-0 балів.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше ніж 60 зі 100 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 № 18 від 25.05.2023)

**Погоджено** Методичною комісією факультету (протокол № 11 від 26.06.2023)



## Перелік теоретичних питань, які виносяться на залік:

1. Наведіть методи збільшення кількості модифікованої ДНК. У чому переваги та недоліки використання прокаріотів 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  $\lambda$ , 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 ДНК мікроматриць.
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  $\lambda$  як основи для конструювання векторів. Типові вектори на основі бактеріофага  $\lambda$ . Способи селекції рекомбінантних  $\lambda$ -фагів.
29. Косміди. Створення космідних бібліотек геномів. Системи пакування  $\lambda$ -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. Геном 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 суперродини транспозонів ITm (Tc1/mariner).
43. Реконструкція і структура транспозона Sleeping beauty.
44. Механізм ексцизії та інсерції транспозонів Tc1/mariner на прикладі транспозона Sleeping Beauty. Роль білків клітини господаря в транспозиції Sleeping beauty.
45. Транспозон piggyBac. Механізми ексцизії 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  $\phi$ 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  $\lambda$  і принципи її застосування у рекомбінірунгу.
62. RecET-система гомологічної рекомбінації лямбдоїдного профага  $\lambda$  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 синтетаза, факторів елонгації трансляції, рибосом.
84. Інженерія ортогональних пар аміноацил-тРНК синтетаза-/ 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 квадруплетними 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.

Перелік теоретичних питань, які виносяться на МКР:

1. Наведіть методи збільшення кількості модифікованої ДНК. У чому переваги та недоліки використання прокаріотів для цього?
2. Навести особливості використання вірусних векторів для введення генетичного матеріалу. Переваги та недоліки використання Бактеріофагів (Т, Лямбда, M13)
3. Принципи використання ендонуклеаз рестрикції Типу II у генетичній інженерії.
4. Умови розщеплення ДНК ендонуклеазами рестрикції. Фракціонування фрагментів ДНК за допомогою електрофорезу.
5. Методи побудови рестрикційних карт. Побудова фізичних карт хромосом (PFGE-карт).
6. Системи рестрикції-модифікації Типу I, III і IV.
7. Системи рестрикції-модифікації Типу II. Поділ ензимів рестрикції-модифікації Типу II на підтипи.
8. Генетичний контроль ензимів рестрикції-модифікації Типу II. Регулювання експресії генів, які кодують ензими рестрикції-модифікації Типу II.
9. Застосування CRISPR-Cas систем для діагностики і генної терапії захворювань.
10. Використання CRISPR-Cas систем для конструювання об'єктів біотехнології.
11. Порівняльна характеристика векторів на основі вірусів тварин і рослин.
12. Що таке плазмідний вектор? Навести особливості будови рBR 322 та проблеми що можуть виникати при її використанні.
13. Властивості і використання в генетичній інженерії ДНК-ази I, екзонуклеаз I і III, екзонуклеази фага  $\lambda$ , нуклеаз S1 і Bal31.
14. Властивості і використання в генетичній інженерії рибонуклеаз A, T1 і H.
15. Властивості ДНК-полімерази і способи їх використання у генетичній інженерії. ДНК-полімераза I *E. coli* та її Кленовфрагмент.
16. ДНК-полімерази бактеріофагів T4 і T7.
17. Радіоактивні і нерадіоактивні мітки ДНК та методи їх внесення і виявлення.
18. Основні властивості векторних молекул. Класифікація векторних молекул.
19. Способи конструювання і селекції рекомбінантних ДНК на основі плазмідних векторів.