

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ БІОЛОГІЧНИЙ
КАФЕДРА САДОВО-ПАРКОВОГО ГОСПОДАРСТВА ТА ГЕНЕТИКИ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Декан біологічного факультету

Л.О. Омелянчик



2018

ОРГАНІЗАЦІЯ ГЕНОМА

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

підготовки магістра

спеціальності 091 Біологія

освітньо-професійна програма: Генетика, Біологія

Укладач: Войтович О.М., к.б.н., доцент, доцент кафедри садово-паркового господарства та генетики

Обговорено та ухвалено
на засіданні кафедри садово-паркового
господарства та генетики

Протокол № 7 від "28" 08 2018 р.

Завідувач кафедри садово-паркового
господарства та генетики

В. О. Лях
(ініціали, прізвище)

Ухвалено науково-методичною радою
біологічного факультету

Протокол № 1 від "30" 08 2018 р.

Голова науково-методичної ради біологічного
факультету

В. В. Перетяцько
(ініціали, прізвище)

2018 рік

1. Опис навчальної дисципліни

Найменування показників	Галузь знань, спеціальність, освітня програма, рівень вищої освіти	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 4	Галузь знань 09 Природничі науки	нормативна	
		Цикл професійної підготовки	
Розділів – 2	Спеціальність 091 Біологія	Рік підготовки:	
Загальна кількість годин – 120	Освітньо-професійні програми «Генетика», «Біологія»	1-й	1-й
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 4 год., самостійної роботи студента – 6 год.	Рівень вищої освіти: магістерський	Лекції	
		24 год.	6 год.
		Лабораторні	
		24 год.	6 год.
		Самостійна робота	
		72 год.	108 год.
		Вид підсумкового контролю: екзамен	

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Метою викладання навчальної дисципліни «Організація генома» є формування у студентів системи сучасних знань щодо особливостей структурно-функціональної організації генетичних систем вірусів, прокаріотів та еукаріотів, механізмів природньої регуляції їх активності, можливостей вивчення та маніпулювання генетичним матеріалом.

Основними **завданнями** вивчення дисципліни «Організація генома» є: набуття знань про молекулярну та клітинну організацію генома еволюційно різних груп організмів, особливості їх функціонування та регуляції, принципи використання генетичних маркерів та оцінки генетичного поліморфізму, опанування основних методичних підходів до дослідження генетичних систем, їх редагування та конструювання з використанням методів сучасної генетики, молекулярної біології, клітинної біології, геноміки та біоінформатики.

У результаті вивчення навчальної дисципліни «Організація генома» студент повинен **знати:**

- особливості структурної організації, фракційного складу та мінливості геному вірусів, прокаріот та еукаріот;
- особливості функціонування геномів та молекулярні принципів основних морфогенетичних процесів про- та еукаріот;
- особливості нехромосомної спадковості;
- механізми універсальної регуляції експресії генів та такої, що успадковується в клітинних поколіннях (епігенетичної);
- принципи та методи виділення та молекулярного маркування генетичних систем;
- сучасні методи вивчення і детекції молекулярно-генетичного поліморфізму і диференціації генотипів;
- основні методи секвенування геномів та їх анотації;

- основні підходи до застосування біоінформаційного аналізу та сфери його використання;
- сучасні досягнення і напрямки біотехнології та медичної генетики, які базуються на молекулярно-генетичних підходах маніпулювання геномами.

вміти:

- виділяти та очищати препарати нуклеїнових кислот прокаріотів, рослин та тварин;
- аналізувати та інтерпретувати дані щодо результатів молекулярно-генетичного дослідження геномів;
- проводити генетичну експертизу (встановлення поліморфізму та ідентифікації) геномів;
- обґрунтовувати вибір застосування певних молекулярних методів маркування генома у відповідності до задач дослідження;
- застосовувати отримані знання про технологію створення рекомбінантних ДНК у біотехнологічному процесі (зокрема, створенні трансгенних конструкцій);
- здійснювати пошук методичних підходів щодо з'ясування механізмів епігенетичної спадковості та можливостей регулювання характером експресії;
- критично мислити та прогнозувати наслідки редагування геномів доступними для людини засобами;
- опрацьовувати та аналізувати інформацію генетичних баз даних (зокрема, NCBI);
- опрацьовувати навчальну та наукову літературу, знаходити сучасні інформаційні джерела та здійснювати пошук та аналіз потрібної для виконання завдань інформації;

Згідно з вимогами освітньо-професійних програм студенти повинні досягти таких компетентностей: базові знання з розділів біології, що пов'язані структурою і функціональною організацією генетичних систем про- та еукаріотів (хромосомних і поза хромосомних), з принципами і механізмами реалізації генетичної інформації; здатність формулювати, аналізувати та синтезувати вирішення наукових проблем на абстрактному рівні шляхом декомпозиції їх на складові, які можна дослідити окремо в їх більш та менш важливих аспектах; здатність будувати відповідні моделі біологічних систем (особливо їх генетичних складових) та процесів, досліджувати їх для отримання нових висновків та поглиблення розуміння природи; здатність формулювати нові гіпотези та наукові задачі в галузі генетики, вибирати належні напрями та відповідні методи для їх розв'язання, беручи до уваги наявні ресурси; здатність ефективно використовувати базові знання принципів організації та проведення генетичних досліджень в лабораторних умовах, інтерпретувати факти, отримані під час спостережень і вимірювань, з погляду їх значущості і співвідносити їх з відповідною теорією; здатність використовувати базові знання принципів дослідження генетичних систем, можливостей сканування генома з метою встановлення генетичної основи ознак; здатність застосовувати методи маніпулювання генетичним матеріалом з метою його вивчення, ідентифікації, модифікації та створення ефективних схем генно-інженерних технологій відбору.

Міждисциплінарні зв'язки: матеріал курсу «Організація генома» базується на таких дисциплінах як «Генетика», «Мікробіологія», «Молекулярна біологія», «Загальна цитологія та гістологія», «Основи еволюції» які вивчаються на бакалавраті та «Генетика людини». Знання, отримані при вивченні курсу «Організація генома» необхідні для вивчення таких дисциплін: «Генетика популяцій», «Методи вивчення генома людини і тварин», «Методи вивчення генома рослин», «Генетичні основи біотехнології», «Генетичні колекції», «Сигнальні системи клітин», «Спадкові хвороби людини», «Великий практикум з генетики рослин» та у подальшій професійній діяльності.

3. Програма навчальної дисципліни

Розділ 1. Структурно-функціональна організація генома вірусів, прокариотів та еукаріотів

Тема 1. Геном вірусів

Віруси – організми неклітинної будови. Складності систематичного положення. Будова та образ життя. Класифікації вірусів. Походження вірусів. Біологічне значення вірусів. Геном вірусів.

Бактеріофаги. Склад, будова генома, різноманіття, життєвий цикл. Літичні та лізогенні стратегії вірусів. Типи репродукції вірусів. Віруси еукаріотичних клітин. Склад, особливості будови, фракції генома, різноманіття, життєвий цикл. Фолдінг вірусних білків.

ДНК –віруси: різноманіття, характеристика окремих груп за особливостями будови генома. SV 40, Вірус золотистої мозаїки квасолі, бактеріофаг Т4, аденовіруси, вірус віспи, герпесу, гепатиту В, вірус мозаїки кольорової капусти. РНК- віруси: різноманіття, характеристика окремих груп за особливостями будови генома. РНК (+) вірус табачної мозаїки, поліомієліту, сказу, арбовіруси (енцефаліта). РНК (-) віруси грипу, паратиту, кору, реовіруси. Ретровіруси: ВІЛ. Гени та білки ВІЛ. Життєвий цикл, схема репродукції, інтеграція в геном хазяїна.

Генетична неоднорідність вірусних популяцій. Штам, тип, варіант, мутант, клон. Комплементация, фенотипове змішування, гетерогенність вірусних популяцій. Мутаційна мінливість та рекомбінація у вірусів. Реасортація. Змішана вірусна інфекція.

Вірусоїди, віроїди, пріони.

Тема 2. Геном прокариотів

Особливості будови прокариотичної клітини (бактерій та архей). Класифікації бактерії. Бактеріальні реплікони. Будова, розмір, розташування. Вторинна структура бактеріальної хромосоми.

Фракційний склад прокариотичної хромосоми: структурні гени, спейсерні ділянки, регуляторні елементи, мобільні елементи. Співвідношення кодуючої і регуляторної частин генома. Структурні гени, класифікація. Гомологічні гени.

Реплікація прокариотичної ДНК. Точки початку та термінації процесу. Генетична карта бактеріальної хромосоми.

Кор-геном, допоміжні гени, пан-геном.

Оперонна структура генів прокариотів. Лактозний оперон, схема, механізм дії, роль регуляторних елементів у позитивній і негативній регуляції активності генів.

Комунікація бактерій. Розпізнання кворуму. Біоплівки.

Горизонтальний перенос генів, його роль в еволюції. IS - елементи генома: будова, склад, значення, використання. Tn – елементи генома: будова, склад, значення, використання. Інтегрони та касети антибіотикорезистентності. *attB* – локуси.

CRISPR- локуси та «іммунна система» бактерій.

Плазміди: склад, будова, розмір. Епісоми. Класифікації та типи плазмід. Статеві, кол-, біодеградації, лікарської стійкості, патогенності (S та R-штами).

Генетична рекомбінація у бактерій: кон'югація, трансдукція, трансформація.

Тема 3. Геном еукаріотів. Еволюція геномів

Еволюція розміру і склад генома еукаріотів. С – парадокс.

Необхідність конденсації хроматину. Рівні організації хроматину. Еу- та гетеро хроматин. Диференціальне забарвлення хромосом.

Фракційний склад ядерного геному еукаріотів. Структурна організація кодуєчих послідовностей (генів) геному та їх регуляторного обслуговування (промотор, ТАТА-бокс, енхансери, сайленсери, інсулятори).

Енхансери та інсулятори. Енхансери - основний засіб регуляції транскрипції в клітинах вищих еукаріотів. Організація і механізми роботи енхансерів. Організація і механізми роботи інсуляторів. Особливості інсуляторів у дрозофіли і у ссавців. Білок CTCF - консервативний інсуляторний білок, головний інсуляторний білок у хребетних. Участь когезину в стабілізації 3d організації хроматину. Роль інсуляторів в 3d організації геномів. Гени глобінів - класичні модельні об'єкти регуляції експресії еукаріотичних генів. Складні регуляторні елементи, включаючи енхансери, інсулятори і сайленсери на прикладі регуляторної зони ВХ - С комплексу дрозофіли.

Фракція повторених послідовностей ДНК. Кількість, класифікація, визначення (швидкість реасоціації).

Сателітна ДНК. Склад, кількість, розташування, визначення, функції, використання. Бендінг хромосом. Мікросателіти. Склад, кількість, розташування, визначення, функції, використання. Унікальний генетичний профіль. Мінісателіти. Склад, кількість, розташування, визначення, функції, використання.

Кластерна організація генів. Нох- гени, гени рДНК та гістонових ДНК. Псевдогени. Функції та механізми виникнення.

Мобільні елементи генома. Відкриття. Розповсюдженість, Значення. Ретротранспозони та транспозони. Sine- та Line- повтори геному. Alu- повтор, L1- повтор генома людини.

Співвідношення фракцій генома різних еукаріотів (рослин, тварин, грибів).

Механізми еволюції геномів. Первинні біохімічні системи збереження та реалізації спадкової інформації на основі білків та РНК. Протогени. Геномний Лука. Виникнення ДНК геномів, переваги. Механізми виникнення нових генів. Дуплікації, перекомбінації, мутації. Транспозиції. Набуття генів в результаті горизонтального перенесення. Поліплоїдизація. Обґрунтування «надлишковості» ДНК. Гіпотези виникнення інтронів. Еволюція генома людини.

Тема 4. Мітохондріальний геном

Поняття про нехромосомну спадковість. Історія відкриття мітохондріальної спадковості. Організація молекул мітохондріальної ДНК різних систематичних груп організмів. Мінливість структури молекул мітохондріальної ДНК. Автономність та підпорядкованість ядру. Відмінності генетичного коду. Функціональна активність. Еволюційна сталість. Можливість використання. Мітохондріальні плазмідні. Гени мітохондрій. Інтрони та екзони мітохондріальних генів. Ядерні і плазмідні ДНК-послідовності в мітохондріальному геномі рослин. Великі і малі повтори. Реплікація мітохондріального генома. Мітохондріальні хвороби.

Тема 5. Геном хлоропластів

Хлоропласти – важливі органели рослинних клітин. Хлоропласти – цитоплазматичні органели рослин і водоростей з власною напівавтономною генетичною системою. Структурні особливості і специфіка функціонування генома. Особливості пластидної ДНК: нуклеотидний склад, конфігурація. Розмір і плоідність генома. Автономність та підпорядкованість ядру. Відмінності генетичного коду. Функціональна активність. Еволюційна сталість. Можливість використання.

Первинна структура пластидної ДНК рослин. Генетичний матеріал хлоропластів. Хлоропластні гени – ідентифікація і локалізація. Гени «домашнього господарства» хлоропластів. Гени, що контролюють процеси фотосинтезу. Експресія пластидних генів. Мутації генів хлоропластів.

Розділ 2. Методи вивчення та редагування геномів

Тема 6. Епігенетика

Історія виникнення терміна та поняття «епігенетика». Загальне уявлення про епігенетику. Історія відкриття епігенетичних механізмів. Загальний огляд механізмів, що забезпечують диференціальну експресію генів. Консервативність епігенетичних механізмів у еукаріотів.

Первинна, вторинна і третинна структури хроматину. Роль міжнуклеосомних взаємодій в упаковці хроматину. Роль гістону H1. Типи хроматинових петель. АТФ-залежний ремоделінг хроматину. Класифікація АТФаз, що входять до складу комплексів ремоделінга. Структура та функції комплексів ремоделінга.

Нуклеосома и нуклеосомний рівень організації хроматину. Структура корових гістонів та нуклеосоми. Взаємодія ДНК – нуклеосома. Варіанти гістонів. Пост-трансляційні модифікації гістонов: ацетилювання лізіна, метилювання лізіна та аргініна, фосфорилування серіна та треоніна. Інші модифікації гістонів: убіквітинування, сумоїлірування. Роль пост-трансляційних модифікацій гістонів. Зміни електростатичної взаємодії між гістонами та ДНК. Теорія “гістонового коду”. Складання-розбирання нуклеосоми. Гістонові шаперони.

Формування великих доменів репресованого або активного хроматину Приклади великих хроматинових доменів : H3K9Me_{2/3} хроматин, деацетилюваний хроматин у *S. cerevisiae*, H3K27Me₃ хроматин, інактивація X-хромосоми у ссавців, активація X-хромосоми у самців дрозоділи.

Метилювання ДНК і його роль в регуляції експресії генів Метилювання ДНК як приклад спрямованої ковалентної модифікації ДНК. Поширення модифікованих основ у різних організмів. Продукти ферментативного процесингу m5C. Висока мутабільність ДНК, що несе метильовані цитозини. ДНК-метилтрансферази (DNMT). DNMT що підтримують, ДНК-метилтрансферази вищих хребетних, що метилюють de novo. Ефекти метилювання CpG на регуляцію експресії генів. Взаємодія метилювання ДНК з системами метилювання, ацетилювання і убіквітинування гістонів. Деметилювання ДНК. Розподіл метилювання ДНК в геномі ссавців і його динаміка в життєвому циклі. Розподіл метилювання ДНК в геномі людини. CpG острівці. Різні типи промоторів і способи їх способи їх регуляції. Хвилі глобального метилювання і деметилювання ДНК. Порушення метилювання при канцерогенезі. Функції метилювання ДНК. Основні підходи до сайт-специфічного аналізу метилювання ДНК: метилчутливі рестриктази; розпізнавання антитілами або специфічними білками (ChIP); бісульфітна конверсія (модифікація бісульфітом Na: перетворення неметилюваного цитозину на урацил).

РНК-інтерференція – відкриття, принцип, основні властивості та механізми. Транскрипційний (TGS) і посттранскрипційний (PTGS) генетичний сайленсінг. Відкриття PTGS у рослин. Відкриття РНК-інтерференції у *C.elegans*. Різноманітність різновидів малих регуляторних РНК, принципи їх класифікації, особливості процесингу. siРНК і miРНК. PiРНК - особливості процесингу і функції. TasiРНК. Біологічні активності малих регуляторних РНК. Варіанти взаємодії малих регуляторних РНК зі своїми мішенями. Можливості участі комплексів, що містять малі РНК, на всіх стадіях регуляції експресії генів. Основні ("канонічні") біологічні активності малих регуляторних РНК.

Індуктори РНК-інтерференції - дволанцюгові молекули РНК: структура, варіанти походження. РНК-інтерференція: перша стадія (dicing), друга стадія (silencing). Білок Dicer, особливості будови і взаємодія з кофакторами. Комплекс RISC: компоненти, функції. Розщеплення РНК-мішені. Білки Ago (argonaute): структура і роль на різних стадіях.

Геномний імпринтинг. Інактивація X-хромосоми. Гени груп Polycomb и Trithorax. Епігенетична пам'ять. Успадкування ON або OFF стану гена впродовж декількох поколінь організмів у багатоклітинних.

Тема 7. Виділення та вивчення ДНК (електрофоретичний розподіл)

Загальна біохімічна стратегія дослідження макромолекул. Засоби виділення нуклеїнових кислот з різного біологічного матеріалу. Варіанти центрифугування, що застосовуються при виділенні нуклеїнових кислот. Етапи очищення препарату ДНК та реагенти, що при цьому застосовуються. Буфери, детергенти, реагенти очищення та осадження ДНК. Спектрофотометрія нуклеїнових кислот.

Ферменти маніпулювання ДНК: джерела, класифікація, номенклатура. ДНК-полімерази (полімераза Корнберга, фрагмент Кленова, термостабільна Таг-полімераза, зворотня транскриптаза). Ендонуклеази рестрикції. Лігази. Ферменти модифікації кінців.

Електрофорез ДНК в агарозному гелі: принцип, параметри (розмір, конформація ДНК, фізичні умови), етапи. Візуалізація результатів електрофоретичного розділення ДНК (маркери та барвники). Аналіз результатів ферментативної рестрикції певного зразка ДНК. Рестрикційні профілі та рестрикційні карти. Електрофоретичний профіль продуктів рестрикції: кількісний та якісний аналіз бендів.

Тема 8. Молекулярні методи дослідження геномів (генні банки, поліморфізм ДНК, гібридизація ДНК)

Генні банки та геномні бібліотеки. Створення, зберігання та використання. Експресійна кДНК-бібліотека.

Денатурація та гібридизація ДНК. Радіоактивне та нерадіоактивне маркування. кДНК-зонди. Гібридизаційний аналіз.

Ідентифікація генів. Молекулярні маркери – генетичні маркери, які аналізуються на рівні ДНК. Алелі маркерних локусів та характер їх успадкування: повне і неповне домінування.

Поліморфізм ДНК. Генетичне маркування. Типи ДНК-маркерів за основним методом аналізу, що застосовується при їх використанні.

ПДРФ (RFLP) – аналіз: принцип, процедура, застосування. Саузерн-блоттінг. Нозерн-блоттінг.

VNTR - метод ДНК-фінгерпринтингу. Флуоресцентна гібридизація *in situ*. FISH-гібридизація.

Полімеразна ланцюгова реакція – метод ампліфікації фрагментів ДНК. ПЛР-аналіз. Принцип, схема, можливості. Переваги та недоліки. ПЛР-маркери: RAPD-маркери (випадково ампліфікована поліморфна ДНК), ISSR та SSR - маркери (мікросателітна та міжмікросателітна ДНК), поліморфізм довжини ампліфікованих фрагментів (AFLP). Інші варіанти ПЛР-маркування.

Типи ПЛР-аналізу. Кількісна ПЛР – ПЛР в реальному часі. ПЦР зі зворотною транскрипцією. «Вкладена» ПЛР. «Інвертована» ПЛР. Асиметрична ПЛР. Touchdown (Stepdown) ПЛР. Метод молекулярних колоній. ПЛР довгих фрагментів.

Застосування ПЛР у вирішенні окремих молекулярно-генетичних задач. Тестування наявності мутації – алель-специфічна ПЛР. Введення функціональних модифікацій і мутацій методом ПЛР. Поєднання двох фрагментів ДНК. Введення або видалення фрагментів ДНК. ПЛР з виродженими праймерами. ДНК-фінгерпринтинг. Дослідження структурної організації генів.

Оцінка поліморфізму ДНК за SNP (поліморфізм окремих нуклеотидів) - маркерами. SNP-поліморфізм – основа сучасної ідеології геномного сервісу по типіруванню ДНК.

ДНК-мікрочип технологія. Ідентифікація геномів, порівняльний геномний аналіз.

Тема 9. Секвенування ДНК

Секвенування – розшифровка нуклеотидної послідовності ДНК. Методи секвенування: переваги, недоліки, обмеження, застосування. Секвенування за Сенгером (метод секвенування з обривом ланцюга). Секвенування ДНК за Максамом – Гілбертом (хімічний метод). Піросеквенування (за Ронагі).

Системи секвенування другого (Solexa (Illumina), 454, SOLiD) третього (Helicos, Pacific Biosciences, Oxford Nanopore) покоління.

Секвенування геномів. Принципи, схема, етапи. Технологія "shotgun" (метод дробовика). Отримання рідів (читань). Покриття (глибина секвенування). Складання контигів. Об'єднання контигів в скаффолди. Заповнення гепів (gaps). Референсні геноми. Ресеквенування. Секвенування de novo.

Геномні проекти. Проект «Геном людини».

Тема 10. Біоінформатика - молекулярна біологія in silico

Біоінформатика як наука, що розробляє і застосовує технології інформатики для аналізу, систематизації молекулярно-біологічних даних, використовує фізико-математичні методи для моделювання процесів, що відбуваються на молекулярному рівні з метою виявлення структур, функцій та взаємодії макромолекул (ДНК, РНК, білків) з подальшим використанням цих знань. Предмет, цілі та задачі біоінформатики. Об'єкти дослідження біоінформатики. Теорія ймовірності як інструмент біоінформатики.

Аналіз генетичних послідовностей. Як знайти у сіквенсі ген. Відкриті рамки зчитування. Пошук інтрон-екзонних меж за відмінними особливостями. Пошук попередньо розташованих регуляторних послідовностей. Пошук ділянок ДНК, які транскрибуються, але не транлюються. Функціональна анотація геномів (розмітка геномів).

Передбачення функцій генів. Передбачення структури та функції білків. Знаходження мішеней та перспективних сполук для медикаментозної дії.

Філогенетичні дослідження. Визначення сімейств родинних послідовностей і побудова моделей еволюції. Гени-ортологі та гени-паралогі. Вирівнювання подібних послідовностей і відновлення філогенетичних дерев з метою визначення еволюційних зв'язків. Філогенетичний патерн.

Оцінка біологічного різноманіття. Метагенетика.

Комп'ютерне конструювання біомолекул. Побудова молекулярних моделей білків та дослідження механізму функціонування макромолекул, спираючись на їх моделі.

Складання генетичних мереж. Структурно-функціональна організація основних типів генетичних мереж організму - циклічних, гомеостазу, генетичних мереж індивідуального розвитку (онтогенезу, життєвого циклу) та генетичних мереж стрес-відповіді. Гібридні генні мережі, розповсюдження в природі та їх реконструкція (мегагеноми, пангеноми) методами геноміки, протеоміки та із застосуванням біоінформаційного аналізу.

Біоінформаційні ресурси. Пошукові системи: Entrez, BLAST. Біоінформаційні бази даних. Міжнародна система баз даних нуклеотидних послідовностей. Бази NCBI, EBI, NIG. Бази даних нуклеотидних послідовностей, білкових послідовностей та 3d структур, спеціалізовані біоінформаційні ресурси (по об'єктах та задачах). Принципи пошуку та аналізу наявної в базах інформації.

Тема 11. Технологія рекомбінантних ДНК – основа генетичної інженерії і молекулярного клонування

Поняття про рекомбінантні ДНК. Історія. Створення рекомбінантних ДНК - зшивання фрагментів різних видів *in vitro*. Необхідність розробки векторної системи. Вимоги до векторних систем.

Природні вектори: плазмиди та віруси. Векторні системи у молекулярно-генетичних дослідженнях: принципи, різноманіття, створення, використання. Клонуючі, експресуючі та інтегративні вектори.

Вектори на основі плазмід pSC101, pBR322, pUC, вектори на основі штамів фага λ , створення, застосування та обмеження. Штучні векторні системи. Косміди - штучні конструкції, створені на основі плазмід і фага λ . Дріжджові штучні хромосоми або YAC.

Бактеріальні штучні хромосоми (ВАС). Вектори, отримані на основі бактеріофага P1 і ВАС - штучні хромосоми або РАС. Фозміди. Створення, застосування та обмеження.

Ті -плазміді *Agrobacterium tumefaciens* – основні вектори для трансгеноза. Засоби створення. Т-ДНК.

Способи прямого введення генів у клітину: трансфекція; мікроін'єкція; електропорація; метод «міні-клітин»; пакування в ліпосоми; електронна гармата. Ефективність та застосування.

Підготовка реципієнтної системи для трансгеноза. Оцінка ефективності трансгеноза та стабільності експресії клонованого гена. Репортерні системи. Застосування репортерних (маркерних) генів першого, другого і третього поколінь. NPT-ген (неоміцинофосфотрансферази і інших антибіотикостійких генів), GUS-ген (глюкуронідаза) GFP-ген (green fluorescence protein). Селекція клітин на середовищах з антибіотиками. Виявлення продуктів експресії репортерних генів і / або їх активності. Отримання рекомбінантного білка в бактеріальних клітинах, клітинах тварин, комах та рослин.

4. Структура навчальної дисципліни

Назви тематичних розділів і тем	Кількість годин							
	денна форма				заочна форма			
	усього	у тому числі			усього	у тому числі		
		л.	лаб.	сам. роб.		л.	лаб.	сам. роб.
Розділ 1. Структурно-функціональна організація генома вірусів, прокариотів та еукаріотів								
Тема 1. Геном вірусів	10	2	2	6	10	1	–	9
Тема 2. Геном прокариотів	10	2	2	6	10	1	–	9
Тема 3. Геном еукаріотів. Еволюція геномів	20	4	4	12	20	1	–	19
Тема 4. Мітохондріальний геном	10	2	2	6	10	–	1	9
Тема 5. Геном хлоропластів	10	2	2	6	10	–	1	9
Разом за розділом 1	60	12	12	36	60	3	2	55
Розділ 2. Методи вивчення та редагування геномів								
Тема 6. Епігенетика	10	2	2	6	10	1	–	9
Тема 7. Виділення та вивчення ДНК (електрофоретичний розподіл)	10	2	2	6	10	1	1	8
Тема 8. Молекулярні методи дослідження геномів (генні банки, поліморфізм ДНК, гібридизація ДНК)	10	2	2	6	10	1	–	9
Тема 9. Секвенування ДНК	10	2	2	6	10	–	1	9
Тема 10. Біоінформатика - молекулярна біологія in silico	10	2	2	6	10	–	1	9
Тема 11. Технологія рекомбінантних ДНК – основа генетичної інженерії і молекулярного клонування	10	2	2	6	10	–	1	9
Разом за розділом 2	60	12	12	36	60	3	4	53
Усього годин	120	24	24	72	120	6	6	108

5. Теми лекційних занять

№ теми з/прогр.	Назва теми	Кількість годин	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
1	Геном вірусів	2	1
2	Геном прокаріотів	2	1
3-4	Геном еукаріотів. Еволюція геномів.	4	1
5	Мітохондріальний геном	2	–
6	Геном хлоропластів	2	–
7	Епігенетика	2	1
8	Виділення та вивчення ДНК (електрофоретичний розподіл)	2	1
9	Молекулярні методи дослідження геномів (генні банки, поліморфізм ДНК, гібридизація ДНК)	2	1
10	Секвенування ДНК	2	–
11	Біоінформатика - молекулярна біологія in silico	2	–
12	Технологія рекомбінантних ДНК – основа генетичної інженерії і молекулярного клонування	2	–
Разом		24	6

6. Теми лабораторних занять

№ теми з/прогр.	Назва теми	Кількість годин	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
1	Геном вірусів	2	–
2	Геном прокаріотів	2	–
3-4	Геном еукаріотів	4	–
5	Мітохондріальний геном	2	1
6	Геном хлоропластів	2	1
7	Епігенетика	2	–
8	Виділення та вивчення ДНК (електрофоретичний розподіл)	2	1
9	Молекулярні методи дослідження геномів (генні банки, поліморфізм ДНК, гібридизація ДНК)	2	–
10	Секвенування ДНК	2	1
11	Біоінформатика - молекулярна біологія in silico	2	1
12	Технологія рекомбінантних ДНК – основа генетичної інженерії і молекулярного клонування	2	1
Разом		24	6

7. Самостійна робота

№ теми з/прогр.	Назва теми	Кількість годин	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
1	Різноманіття вірусів. Життєвий цикл основних груп вірусів, особливості репродукції та рівень патогенності.	6	9
2	Особливості будови та функціонування прокариотичного геному в залежності від систематичного положення, екологічної стратегії та біотичного оточення.	6	9
3	Регуляторні ділянки хроматину еукаріотів: енхансери, інсулятори і сайленсери. Механізми виникнення еволюційно нових генів.	12	19
4	Мітохондріальні хвороби людини.	6	9
5	Особливості пластомного успадкування ознак строкатості та продуктивності фотосинтезу.	6	9
6	Геномний імпринтинг. Інактивація X-хромосоми. Гени груп Polycomb и Trithorax.	6	9
7	Виділення ДНК з різного біологічного матеріалу: хромосоми бактерій, плазмід бактерій, ядер рослинних клітин та їх хлоропластів, ядер тваринних клітин та їх мітохондрій.	6	9
8	Типи та сфери застосування ПЛР- аналізу. SNP- поліморфізм – основа сучасної ідеології геномного сервісу по типіруванню ДНК.	6	9
9	Системи секвенування третього покоління (Helicos, Pacific Biosciences, Oxford Nanopore).	6	9
10	Структурно-функціональна організація основних типів генетичних мереж організму - циклічних, гомеостазу, генетичних мереж індивідуального розвитку (онтогенезу, життєвого циклу) та генетичних мереж стрес-відповіді. Гібридні генні мережі, розповсюдження в природі та їх реконструкція (мегагеноми, пангеноми) методами геноміки, протеоміки та із застосуванням біоінформаційного аналізу.	6	9
11	Оцінка ефективності трансгеноза та стабільності експресії клонованого гена. Репортерні системи. Виявлення продуктів експресії репортерних генів і / або їх активності. Отримання рекомбінантного білка в бактеріальних клітинах, клітинах тварин, комах та рослин.	6	9
Всього		72	108

Індивідуальне практичне завдання

Індивідуальне практичне завдання передбачає виконання таких видів робіт: написання наукового огляду за запропонованою тематикою, підготовку презентації, захист індивідуального практичного завдання.

Орієнтовна тематика

1. Вірусоїди, віроїди, пріони.
2. Імунна система прокариотів. CRISPR-Cas система.
3. Клітинна аддикція (система токсин- антитоксин).

4. Мобільні генетичні елементи еукаріотів.
5. Основні тенденції еволюції геномів.
6. Світ регуляторних РНК.
7. Напрямки, перспективи та обмеження практичного використання РНК-інтерференції.
8. Геномний імпринтинг.
9. Генетична ідентифікація.
10. SNP – маркери генома: практичне застосування.
11. Генетичне дослідження поліморфізмів ДНК.
12. Різноманіття ПЛР-технологій.
13. Генна терапія та редагування генома.
14. Геномний проект «Геном людини».
15. Горизонтальний перенос генів.
16. Успіхи та ризики трансгенних технологій.
17. Зворотня генетика: Т-ДНК-інсерційний мутагенез / T-DNA tagging.
18. Зворотня генетика: генний сайленсінг та TILLING – метод.
19. Егоїстична ДНК.
20. Метагенетика.
21. Зміни активності генома в онтогенезі. Ембріональне диференціювання.
22. Генетичні програми та механізми старіння.

Обов'язкові складові частини наукового огляду та презентації: історія вивчення питання, внесок видатних вітчизняних та закордонних вчених у розвиток питання, сучасний стан питання, молекулярно-генетичні механізми процесів, характеристика об'єктів, технологія та сфери використання, перспективи.

8. Види контролю і система накопичення балів

При викладанні даного курсу використовується поточний і підсумковий контроль знань. Контроль навчальної діяльності з дисципліни «Організація генома» здійснюється за допомогою системи оцінювання за 100-бальною шкалою. Співвідношення між поточним і підсумковим контролем у загальній оцінці навчальної діяльності студента з дисципліни становить 60:40.

	Вид контрольного заходу	Кількість контрольних заходів	Кількість балів за 1 захід	Усього балів
1	Виконання, оформлення та захист лабораторних робіт	12	2	24
2	Поточне усне опитування	12	2	24
3	Тестування за розділом	2	6	12
4	Індивідуальне практичне завдання	1	20	20
	Екзамен (у письмовій формі за білетами під час сесії)	1	20	20
Всього		28		100

Поточний контроль

Поточне усне опитування – 2 бали. Відбувається на кожному лабораторному занятті до виконання лабораторної роботи за запитаннями до самопідготовки. Оцінюється а) глибина розкриття запитання, б) його розуміння, в) використання при підготовці рекомендованої та додаткової літератури, г) креативність суджень, д) зв'язок з іншими темами. Відповідність відповіді кожному з вищеперерахованих критеріїв (а-д) оцінюється в 0,4 бала. Максимальна кількість балів за один захід – 2 бали. Максимальна кількість балів за всі контрольні заходи – 24 бали.

Виконання, оформлення та захист протоколів лабораторних занять – 2 бали. Під час виконання цього контрольного заходу студенти повинні виконати лабораторну роботу, занести у протокол відповідні записи, скласти необхідні схеми, відповісти на запропоновані питання для роздумів, зробити висновки. Окрім того, студент має захистити лабораторні роботи (протягом одного тижня з дня її проведення), тобто відповісти на запитання викладача щодо теоретичного та практичного їх змісту.

Кожен захід максимально оцінюється в 2 бали, в тому числі: **1 бал** – особисте виконання всіх завдань на занятті; **0,5 бали** – повне, охайне оформлення протоколу; **0,5 бали** – чітка, обґрунтована відповідь на три запитання.

Максимальна кількість балів за всі контрольні заходи впродовж семестру – 24 бали.

Тестування за розділом – 6 балів. Тестування проводиться як за матеріалом, який вивчається на лекціях та лабораторних заняттях, так і за темами, винесеними на самостійне опрацювання. Тестування може проводитись як письмово, так і в електронному вигляді у системі Moodle.

Робота містить 40 тестових запитань (1 тест – 0,15 бала), максимальна кількість балів за один захід – 6. Максимальна кількість балів за всі контрольні заходи – 12 балів.

До складання іспиту допускаються студенти, які набрали не менше 35 балів з 60 можливих.

Підсумковий контроль

Підсумковий контроль складається з індивідуального практичного завдання та екзамену.

Індивідуальне практичне завдання оцінюється максимально у 20 балів за види робіт: науковий огляд за запропонованою тематикою – 10 балів, презентація – 5 балів, захист – 5 балів.

Науковий огляд оцінюється у 10 балів згідно з такими критеріями:

1. правильність оформлення огляду – обсяг – не менше 8 сторінок формату А4; наявність основних структурних розділів – титульної сторінки, змісту, вступу, основної частини, яка може ділитися на необхідні розділи, висновків – 1 бал;
2. наявність переліку літературних посилань (не менше восьми джерел, які видані протягом останніх 10 років, серед яких мають бути періодичні видання) – 1 бал;
3. повнота розкриття тематики – 7 балів:

Складові частини: історія вивчення питання – 1 бал;

внесок видатних вітчизняних та закордонних вчених у розвиток питання – 0,5 бала;

сучасний стан питання, новизна навчальної та наукової інформації – 2 бали;

молекулярно-генетичні механізми процесів – 1 бал;

характеристика об'єктів – 0,5 бала;

технологія та сфери використання – 1 бал;

перспективи – 1 бал;

4. чіткість, логічна послідовність викладення матеріалу, правильність сформульованих висновків – 1 бал.

Вимоги до презентації:

1. обсяг – не менше 10-ти слайдів, повинна містити перелік електронних ресурсів, з використанням яких було зроблено презентацію;
2. наявність ілюстративного матеріалу до кожного аспекту доповіді;
3. відповідність питанням, які розкриваються у науковому огляді.

Презентація оцінюється у 5 балів за такою шкалою:

- 5 балів: презентація виконана згідно з усіма вимогами;
- 4 бали: наявні незначні помилки в підбраному ілюстраційному матеріалі;
- 3 бали: відсутній ілюстраційний матеріал до окремих складових частин доповіді;
- 2 бали: відсутній ілюстраційний матеріал до суттєвих складових доповіді, натомість презентація перевантажена текстовою інформацією;
- 1 бал: тематика розкрита неповністю.

Захист оцінюється у 5 балів:

- чітка, структурована доповідь на 5-7 хв. – 1-2 бали,
- правильні відповіді на запитання – 1-3 бали.

Екзамен проводиться у письмовій формі під час екзаменаційної сесії. За екзамен студент може набрати максимально 20 балів. Білет складається з двох теоретичних запитань, одного практичного завдання та 10 тестів. Кожне завдання оцінюється за 5-ти бальною шкалою. Правильна відповідь на тест оцінюється у 0,5 бала.

5-ти бальна шкала оцінювання:

5 балів – відповідь бездоганна за змістом, формою та обсягом. Студент вільно володіє матеріалом: при відповіді показує відмінне знання навчальної літератури, робить узагальнюючі висновки, використовує знання з суміжних галузевих дисциплін, доцільно використовує матеріал при наведенні прикладів.

4 бали передбачають досить високий рівень знань і навичок. При цьому відповідь логічна, містить деякі неточності при наведенні прикладів. Можливі труднощі при формулюванні узагальнюючих висновків.

3 бали – студент відповідає по суті питання і в загальній формі розбирається у матеріалі, але відповідь неповна, містить неточності, порушується послідовність викладення матеріалу, виникають труднощі у наведенні прикладів.

2 бали студент лише в загальній формі розбирається у матеріалі, відповідь неповна і неглибока, лише частково розкриває зміст запитання. Студент дає недостатньо правильні формулювання, відчуває труднощі при наведенні прикладів.

1 бал виставляється, коли студент не знає значної частини програмного матеріалу, не розкриває зміст запитання.

Шкала оцінювання: національна та ECTS

За шкалою ECTS	За шкалою університету	За національною шкалою	
		Екзамен	Залік
A	90 – 100 (відмінно)	5 (відмінно)	Зараховано
B	85 – 89 (дуже добре)	4 (добре)	
C	75 – 84 (добре)		
D	70 – 74 (задовільно)	3 (задовільно)	
E	60 – 69 (достатньо)		
FX	35 – 59 (незадовільно – з можливістю повторного складання)	2 (незадовільно)	Не зараховано
F	1 – 34 (незадовільно – з обов'язковим повторним курсом)		

9. Рекомендована література

Основна:

1. Молекулярна генетика та технології дослідження геному : навч. посіб. / М. І. Гиль, О. Ю. Сметана, О. І. Юлевич ; за ред. професора М. І. Гиль. Миколаїв : МНАУ, 2014. 280 с.
2. Б. Льюин Б. Гены. Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2012. 896 с.
3. Генетика : підручник / А. В. Сиволоб, С. Р. Рушковський, С. С. Киряченко та ін.; Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 320 с.
4. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Москва : Мир, 2001. 2 т. 388 с.
5. Генетика человека : курс лекций / В. В. Гринев. Минск : БГУ, 2006. 131 с.
6. Сиволоб А. В. Молекулярна біологія : підручник. Київ : Видавничо-поліграфічний центр Київський університет, 2008. 384 с.
7. Эпигенетика / под ред С. Д. Элліса, Т. Дженювейна, Д. Ренберга. Москва : Техносфера, 2010. 496 с.
8. Браун Терри А. Геномы / перевод с английского А.А.Светлова; под ред. д. б. н., проф. А.А.Миронова. Москва – Ижевск : Институт компьютерных исследований, 2011. 944 с.
9. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид ; пер. с нем. 3-е изд. Москва Лаборатория знаний, 2019. 324 с.
10. Основы генной инженерии и биоинженерии : учебное пособие в 2-х частях / А. Н. Огурцов, О. Н. Близнюк, Н. Ю. Масалитина. Харьков : НТУ «ХПИ», 2018. 224 с.
11. Основы биоинформатики : учебное пособие / А. Н. Огурцов. Харьков : НТУ «ХПИ», 2013. 400 с.
12. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений : учеб.-метод. пособие / Н. А. Кутлунина, А. А. Ермошин. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2017. 142 с.
13. Каспирович, Д. А. Молекулярные механизмы генетических процессов: методы изучения геномов : методическое пособие / Д. А. Каспирович, Н. А. Глинская, Е. М. Волкова. Пинск : ПолесГУ, 2015. 52 с.
14. Нефедова Л. Н. Применение молекулярных методов исследования в генетике : учебное пособие. Москва : ИНФРА-М, 2012. 104 с.
15. Эпигенетика / ред. Закиян С. М. , Власов В. В., Дементьева Е. В. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2012. С. 465-479.

Додаткова:

1. Лутова Л. А., Ежова Т. А., Додуева И. Е., Осипова М. А. Генетика развития растений / Под ред. С. Г. Инге-Вечтомова . Санкт-Петербург : «Наука», 2010. 432с.
2. Brown T. A. Gene cloning and DNA analysis: an introduction. Chichester : Wiley-Blackwell, 2010. 320 p.
3. Griffiths A. J. F., Wessler S. R., Lewontin R. C., Carroll S. B. An introduction to genetic analysis, 9th Ed. New York : Freeman Co, 2007. 800 p.
4. Birchler J. A. Plant chromosome engineering: methods and protocols. Humana Press, Berlin Heidelberg, 2010. 351 p.
5. Равин Н. В., Шестаков С.В. Геном прокариот. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2013. Т.17. №4/2. С. 972 - 984.
6. Каюмов А. Р. Практикум по молекулярной генетике. Учебно-методическое пособие / А.Р. Каюмов, О. А. Гимадуудинов. Казань : КФУ, 2016. 36 с.
7. Колчанов Н. А., Е.В. Игнатьева Е. В., Подколотная О. А., Лихошвай В. А., Матушкин Ю. Г. Генные сети. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2013. Т.17. №4/2. С. 833 - 850.
8. Гвоздева Е. С., Дейнеко Е. В., Загорская А. А., Сидорчук Ю. В., Уварова Е. А., Пермякова Н. В. Практикум по генетической инженерии и молекулярной биологии растений. Томск : Томский государственный университет, 2012. 96 с.

9. Великов В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство : учеб. пособие Саратов: Издательство «Саратовский источник», 2013. 84 с.
10. Синявская М. Г., Даниленко Н. Г., Луханина Н. В., Шимкевич А. М., Давыденко О. Г. Экспрессия хлоропластного генома: современные представления и экспериментальные пути изучения. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2015. 19(5). С. 511 – 528.
11. Molecular genetics of bacteria / Larry Snyder ... [et al.]. 4th ed. Washington, DC 20036-2904, USA: Library of Congress Cataloging-in-Publication. 732 с.
12. Молекулярная генетика : методические указания по выполнению лабораторных работ / Е. Г. Климентова и др.. Ульяновск : УлГУ, 2018. 36 с.
13. Herzog R. W., Zolotukhin S. A guide to human gene therapy. World Scientific Publishing Co, 2010. 416 p.

Інформаційні ресурси

1. Наукова бібліотека ЗНУ. URL: <http://library.znu.edu.ua/>.
2. Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського. URL: <http://www.nbuv.gov.ua/>.
3. Сайт Національного інституту молекулярної біології і генетики. URL: <http://www.imbg.org.ua>
4. База даних Національного центра NCBI - National Center for Biotechnology Information. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
5. Національна наукова медична бібліотека України URL: <https://library.gov.ua/svitovi-e-resursy/>

Погоджено
з навчальним відділом

Ольга Димкіна О.Б.

«12» листопада 2018р.