Декан биологического факультета МГУ

Академик М.П.Кирпичников

2015 г.

Рабочая программа дисциплины (модуля)

- 1. Код и наименование дисциплины (модуля): «Химия нуклеиновых кислот и основы генной инженерии.»
- 2. Уровень высшего образования подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
- 3. Направление подготовки 06.06.01 Биологические науки. Направленность (профиль) программы Биохимия.
- 4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (осенний, семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре биоорганической химии)
- 5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции (код компетенции)	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю						
УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях	Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) Владеть:						

	навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)
УК-2 Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.	Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31 (УК-2)
УК-3: Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач	Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2 (УК-3)
УК-4: Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке	Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1 (УК-4) Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32 (УК-4)
ОПК-1 Способность самостоятельно осуществлять научно- исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий	Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

- 6. Осенний семестр. Объем дисциплины (модуля) составляет 1 зачетных единицы, всего 108 академических часа, из которых 56 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (28 часов занятий лекционного типа, 28 часов семинарские занятия) и 52 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий и подготовка презентации).
- 7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: неорганическую и органическую химию, физическую химию, основы биохимии, основы молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований

УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах структуры и химических свойств нуклеиновых кислот и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области химии нуклеиновых кислот, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

- 8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.
- 9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание	Всего	В том числе										
разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	(час ы)	Кон	гактна	я рабо преп		иостоятельная работа чающегося, часы из них						
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	Всего	Выполн ение домашн их заданий	Подготовка рефератов и т.п.	Всего		

Основные этапы развития знаний о нуклеиновых кислотах (НК). Первичная структура Нуклеиновых кислот. Компоненты Нуклеиновых кислот.	6	2	2		4	2	2
Физические и химические свойства Нуклеиновых кислот.	8	2	2		4	4	4
Пространственная структура нуклеиновых кислот	8	2	2		4	4	4
Ферменты гидролиза и биосинтеза нуклеиновых кислот.	8	2	2		4	4	4
Выяснение первичной структуры нуклеиновых кислот	8	2	2		4	4	4
Химико-ферментативный синтез нуклеиновых кислот	8	2	2		4	4	4
Процессы с участием нуклеиновых кислот. Репликация, транскрипция, трансляция.	8	2	2		4	4	4
Введение в генную инженерию Предмет и задачи генной инженерии. Основные методы выделения и очистки нуклеиновых кислот.	6	2	2		4	2	2
Ферменты, используемые в генной инженерии	8	2	2		4	4	4
Полимеразная цепная реакция	8	2	2		4	4	4

Гибридизация нуклеиновых кислот. Антисмысловые РНК, нуклеиновые кислоты как ферменты: аптамеры, рибозимы, дезоксирибозимы	8	2	2		4	4	4
Современные методы секвенирования нуклеиновых кислот	8	2	2		4	4	4
Искусственные генетические конструкции	8	2	2		4	4	4
Трансгенные животные. Генная инженерия растений	8	2	2		4	4	4
Промежуточная аттестация - экзамен кандидатского минимума							
Итого	108	28	28		56	52	52

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

- 1. Ю.А.Овчинников. Биоорганическая химия. М., Просвещение, 1987.
- 2. В.Зенгер. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. М., Мир, 1987.
- 3. З.А.Шабарова, А.А.Богданов. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов. М., Химия, 1978.
- 4. А.С.Спирин. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. М., Высшая школа, 1986.
- 5. Дж. Уотсон, Дж. Туз, Д. Курц. Рекомбинантные ДНК. М., Мир, 1986.
- 6. А.В.Чемерис, Э.Д.Ахунов, В.А.Вахитов. Секвенирование ДНК. М., Наука, 1999.
- 7. Л.И. Патрушев. Экспрессия генов. М. Наука, 2000.
- 8. Л.И. Патрушев. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. М. Наука. 2004.
- 9. С.Н. Щелкунов. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2004.

- 10. Свердлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома: В 3т.Очерки структурной молекулярной генетики. Т. 1. М. Наука. 2009.
- 11. И.Ф. Жимулев. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2003.
- 12. Dale J.W., von Schantz M. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology. 2002 John Wiley & Sons, Ltd.
- 13. Primrose S.B, Twyman R.M., Old R.W. Principles of Gene Manipulation: Sixth Edition.

14.

Дополнительная литература

- 1. G.M.Blackburn, M.J.Gait (eds.). Nucleic Acids in Chemistry and Biology. Oxford: IRL Press, 1991; 2-е изд., 1996.
- 2. R.H.Garrett, C.M.Grisham, Biochemistry. Saunders College Publishing. 1995
- 3. Dale J.W., von Schantz M. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology. 2002 John Wiley & Sons, Ltd.
- 4. Primrose S.B, Twyman R.M., Old R.W. Principles of Gene Manipulation: Sixth Edition.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

http://de.msu.ru (Биологический фаультет/ Химия нуклеиновых кислот)

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

Описание материально-технической базы.

Кафедра биоорганической химии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

- 12. Язык преподавания: русский.
- 13. Преподаватель: доцент кафедры биоорганической химии Д.С.Есипов

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Химия нуклеиновых кислот» на основе карт компетенций выпускников

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	0	ЦЕНИВ <i>А</i> О	И и ПОК АНИЯ РЕЗ БУЧЕНИ ве (модулн	ЗУЛЬТА ІЯ	ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА	
	1,	2	3	4	5	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,

стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)						зачет
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

- 1. Суммируйте вклад, сделанный Р.Франклин для нашего понимания структуры ДНК. Как она пришла к таким выводам.
- 2. Основываясь на статье Уотсона и Крика (1953, *Nature*), какие экспериментальные наблюдения привели их к построению структуры ДНК.
- 3. Опишите экспериментальные подходы, использованные Avery et al. при исследовании трансформационных эффектов ДНК в *Pneumococcus*.
- 4. Сравните А-, В-, и Z-формы ДНК (включая упаковку сахаров, бороздки, гликозидные связи, наклон оснований, поворот и сдвиг.)
- 5. Нарисуйте 3'-эндо, О4'-экзо, 2'-эндо-конформации сахара.
- 6. Нарисуйте таутомерные формы четырех оснований А, С, G, Т. Покажите донорные и акцепторные водородные связи.
- 7. Какие ионизируемые группы в стандартных основаниях ДНК (A, C, G, T) и каковы значения рК этих групп.
- 8. Какая модель ДНК превалировала до экспериментов Чаргаффа? Почему эксперименты Чаргаффа опровергли эту модель?
- 9. В какой ситуации *syn*-конформация гликозидной связи переходит в *anti*-конформацию?
- 10. Нарисуйте Хугстиновскую пару. Нарисуйте неканонические пары и покажите, как Уотсон-Криковская пара может перейти в Хугстиновскую или неканонические пары.
- 11. Какая основная сила стабилизирует двойную спираль? Что в гетероциклических основаниях является основой для этого?
- 12. Почему гуанин формирует квадруплексные структуры, а аденин нет?
- 13. Что требуется для формирования триплекса ДНК? Какой тип спаривания формируется в 3-ей цепи ДНК?
- 14. Почему прибавление этанола приводит к переходу В-формы в А-форму ДНК?
- 15. Какую роль может играть триплекс ДНК в биологических системах?
- 16. Рестриктазное картирование ДНК с использованием концевой метки. Картирование с помощью рестриктаз.
- 17. Мутагенез с использованием олигонуклеотидов: метод Т.А. Кункеля; метод ПЦР с перекрывающимися праймерами; мегапраймеры в направленном мутагенезе.
- 18. Механизм ингибирующего действия антисмысловых нуклеиновых кислот: участие РНКазы Н, дезаминирование остатков аденина расплетающим ферментом; РНК-интерференция.
- 19. ДНК-метилазы, их использование для получения крупных рестрикционных фрагментов ДНК. ДНК-лигазы. Механизм лигирования ДНК Т4-ДНК-лигазой.
- 20. Количественная ПЦР (ПЦР в реальном времени). Области применения метода.
- 21. ДНК-зависимая ДНК-полимераза 1 *E.co1i* и ее фрагмент Кленова. Их использование для введения концевой *радиоактивной* метки, «затупления» концов ДНК и ник-трансляции. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК- полимеразы.
- 22. Этапы клонирования ДНК. Клонирование фрагментов ДНК по сайтам рестрикции, а также с использованием адаптеров и коннекторов.

- 23. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Стандартные условия проведения ПЦР. Наиболее критические параметры реакции. Разновидности ПЦР: метод «горячего старта», ОТ-ПЦР, амплификация длинных фрагментов ДНК, методы повышения точности амплификации.
- 24. Принципы получения трансгенных животных. Использование эмбриональных стволовых клеток в трансгенезе.
- 25. Понятие вектора и его емкости. Селектируемые маркеры. Полилинкер. Функциональная классификация векторов: экспрессирующие векторы, челночные (бинарные) векторы. Особенности строения плазмидных векторов.
- 26. Антисмысловые РНК и олигонуклеотиды. Механизмы ингибирующего действия на экспрессию генов. Области применения этой технологии.
- 27. Векторы на основе хромосомы фага λ. Их использование для получения клонотек нуклеотидных последовательностей.
- 28. Генный нокаут. Исследование функций генов и моделирование наследственных заболеваний с помощью генного нокаута.
- 29. Рестриктазные карты и их построение. Гибридизация по Саузерну. Концепция STS-маркеров. Контиги. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей. Электронная ПЦР.
- 30. Ретровирусные векторы. Принципы адресной доставки трансгенов. Управление экспрессией трансгенов в клетках-мишенях.
- 31. Космиды и фазмиды в качестве векторов. Их емкость. Области применения в генной инженерии.
- 32. Клонотеки кДНК, генов и нуклеотидных последовательностей. Их репрезентативность. Способы введения ДНК в клетки: трансформация, трансфекция, электропорация.
- 33. Олигонуклеотидные аптамеры. Их получение и применение.
- 34. Методы отбора последовательностей из клонотек ДНК. Гибридизация с зондами. Использование ПЦР. Использование антител и функциональные тесты.
- 35. Исследование экспрессии генов. Нозерн-блоттинг. Защита мРНК от действия РНКаз. Анализ регуляторных последовательностей ДНК. Футпринтинг в исследовании ДНК-белковых взаимодействий.
- 36. Сверхъемкие векторы ҮАС, ВАС и РАС. Их использование для получения клонотек геномной ДНК.
- 37. Рестриктазы. Их номенклатура и классификация. Рестриктазы II типа основной инструмент генной инженерии. Формы разрывов двухцепочечных ДНК, возникающих под действием рестриктаз. Изошизомеры. Изменение субстратной специфичности рестриктаз в неоптимальных условиях.
- 38. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), их использование для получения кДНК. Клонотеки кДНК.
- 39. Причины низкой эффективности клонирования животных.
- 40. Предмет и задачи генной инженерии. Основоположники генной инженерии В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, У. Гилберт, Ф. Сэнгер.
- 41. Два подхода к анализу дифференциальной экспрессии генов на уровне транскрипции при использованием микрочиповых технологий.
- 42. Денатурация и ренатурация ДНК. Температура плавления. Кинетика плавления и кривые плавления ДНК. Гибридизация. Гибридизация по Саузерну и Нозерн-блоттинг.
- 43. Основные этапы получения трансгенных растений.
- 44. Методы выделения ДНК и РНК.

- 45. Сравнение популяций мРНК методом серийного анализа экспрессии генов (SAGE).
- 46. Использование агробактерий и Ті-плазмид для получения трансгенных растений.
- 47. Секвенирование ДНК по методу Сэнгера.
- 48. Принципы высокопроизводительного параллельного секвенирования ДНК.
- 49. Системы секвенирования ДНК второго поколения. Создание молекулярных клонов секвенируемой ДНК: полимеразные колонии и кластеры на твердой подложке.
- 50. Системы секвенирования ДНК третьего поколения: секвенирование отдельных молекул ДНК.
- 51. Пиросеквенирование. Секвенирование лигированием. Обратимые терминаторы синтеза ДНК и особенности их структуры.
- 52. Три типа векторов, используемых при агробактериальной трансформации клеток растений: «обезоруженная» Т-ДНК, коинтеграты Ті-плазмид и бинарные векторы.
- 53. Трансформация хлоропластов для получения трансгенных (трансплантомных) растений. Мультигенная инженерия.
- 54. Дифференциальный дисплей и его использование для сравнения популяций мРНК.

ПРОГРАММА экзамена по спецкурсу «Химия нуклеиновых кислот»

Основные этапы развития знаний о нуклеиновых кислотах (НК). Первичная структура НК. Компоненты НК. Открытие НК. Работы Ф.Мишера. Развитие представлений о ДНК как носителе генетической информации. "Один ген - один фермент". "Фаговая группа". Окончательное установление строения НК. Рентгеноструктурные исследования НК. Модель двойной спирали ДНК. Основной постулат молекулярной биологии. НК - биополимеры, построенные из нуклеотидов, соединенных фосфодиэфирной связью. Гетероциклические основания. Углеводная компонента. Нуклеозиды и нуклеотиды. Редкие (минорные) компоненты НК. Номенклатура НК.

Физические и химические свойства НК. Олиго- и полинуклеотиды. НК дезоксирибо- и рибо-ряда. Межнуклеотидные и N-гликозидные связи - сходство и различие в составе ДНК и РНК. Полярность межнуклеотидной связи и полинуклеотидной цепи. Устойчивость к щелочному и кислотному гидролизу. Таутомерия. Химические реакции с участием нуклеиновых кислот.

Пространственная структура нуклеиновых кислот. Работы Э.Чаргаффа. Рентгеноструктурные исследования ДНК. Возникновение концепции двойной спирали. Основные структурные характеристики двойной спирали и ее биологическое значение. Двойная спираль Уотсона-Крика, комплементарность и взаимная ориентация цепей. Стэкинг оснований. Описание двойной спирали. Торсионные углы. Основные формы двойных спиралей ДНК - А, В и их разновидности. Z-спираль. Методы выяснения вторичной структуры ДНК. Денатурация и ренатурация двойных спиралей нуклеиновых кислот. Гипер- и гипохромия. Гетеродуплексы.

Ферменты гидролиза и биосинтеза нуклеиновых кислот. Ферменты, расщепляющие ДНК и РНК. Эндо- и экзонуклеазы. Рибо- и дезоксирибонуклеазы. Фосфодиэстеразы. Рестрикционные эндонуклеазы. Полинуклеотидкиназа. ДНК- и РНК-полимеразы. ДНК- и РНК-лигазы.

Выяснение первичной структуры нуклеиновых кислот. Олиго- и полинуклеотидные зонды как инструмент исследования нуклеиновых кислот. Методы введения радиоактивной метки в нуклеиновые кислоты. Анализ ближайших соседей. Метод блуждающего пятна (фингерпринт по Сенгеру). Определение первичной структуры нуклеиновых кислот. Метод Максама-Гилберта. Ферментативные

методы секвенирования нуклеиновых кислот. Метод Сенгера. Крупномасштабное секвенирование нуклеиновых кислот. Проект "Геном человека".

Химико-ферментативный синтез нуклеиновых кислот. Синтез олиго- и полинуклеотидов. Методы синтеза. Синтез на полимерном носителе. Принцип работы автоматического синтезатора. Синтез и применение модифицированных олигонуклеотидов. Антисмысловая технология и модифицированные олигонуклеотиды. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Количественные аспекты ПЦР. Однонаправленная ПЦР. Использование ПЦР для секвенирования ДНК и идентификации точечных мутаций.

Процессы с участием нуклеиновых кислот. Репликация, транскрипция, трансляция. Репликация хромосомы *E.coli*. Репликация ДНК бактериофагов и плазмид. Репликация в эукариотических клетках. Транскрипция в бактериальных клетках. Регуляция транскрипции. Процессинг РНК. Трансляция. Пространственная структура тРНК. Генетический код. Частота встречаемости кодонов. Инициация и терминация трансляции.

Введение в генную инженерию Предмет и задачи генной инженерии.

Основоположники генной инженерии В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, У. Гилберт, Ф. Сенгер. Их вклад в развитие данного направления исследований.

Основные методы выделения и очистки нуклеиновых кислот.

Фенольный метод очистки, сорбция ДНК на поверхности стекла, щелочной метод выделения бактериальных плазмид. Электрофоретическое и хроматографическое разделение нуклеиновых кислот. Метод аффинной хроматографии мРНК на олиго(dT)-целлюлозе. Электрофоретическая подвижность разных форм плазмидной ДНК: суперскрученной, релаксированной и линейной. Влияние бромистого этидия на электрофоретическую подвижность плазмидной ДНК. Определение размеров фрагментов ДНК с помощью электрофореза. Капиллярный электрофорез. Электрофорез в импульсном электрическом поле. Выделение метафазных хромосом с помощью проточной цитометрии. Препаративный электрофорез.

Ферменты, используемые в генной инженерии. Эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы). Номенклатура и классификация. Формы разрывов двухцепочечных ДНК, возникающих под действием рестриктаз. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК. Их «затупление»; использование линкеров и адаптеров для создания сайтов рестрикции. Изошизомеры, гетерошизомеры и изокаудомеры. Изменение субстратной специфичности рестриктаз в неоптимальных условиях. ДНК-метилазы. Использование для получения крупных рестрикционных фрагментов ДНК. Урацил-ДНК-гликозилазы. ДНК- и РНК-лигазы. Механизм лигирования ДНК Т4-ДНК-лигазой. РНК-лигаза бактериофага Т4. ДНК-зависимая ДНК-полимераза І *E.coli* и фрагмент Кленова. Использование для введения концевой радиоактивной метки, "затупления" концов ДНК и ник-трансляции. Реакции, осуществляемые этими ферментами: синтез ДНК на ДНК-матрицах, пирофосфоролиз, 3'- и 5'-корректирующие экзонуклеазные активности, flap-активность ДНК-полимераз. Термостабильные ДНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), использование для получения кДНК. Три стратегии синтеза кДНК: со случайными праймерами, олиго-dT-праймерами и специфическими праймерами. SMART-синтез кДНК. Применение полинуклеотидкиназы для введения концевой радиоактивной метки, а также фосфорилирования олиго- и полинуклеотидов. Терминальная трансфераза, использование для синтеза коннекторов. Щелочные фосфатазы. Нуклеазы в генной инженерии. Экзонуклеаза III *E.coli*. Экзонуклеаза Фага □. S1-нуклеаза. РНКаза А и ДНКаза I.

Полимеразная цепная реакция К. Муллис изобретатель ПЦР. Общая схема ПЦР. Устройство современного амплификатора. Компоненты реакционной смеси, необходимые для проведения ПЦР. Особенности конструирования праймеров. Факторы, влияющие на точность синтеза ДНК, и возможности ее повышения. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Методы ПЦР: стандартная ПЦР, множественная ПЦР, асимметричная ПЦР, гнездовая ПЦР, ПЦР с «горячим стартом», ПЦР, сопряженная с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), амплификация больших участков ДНК с высокой точностью (long PCR), ПЦР *in situ*, аллельспецифическая ПЦР, метил-чувствительная ПЦР, иммуно-ПЦР, эмульсионная ПЦР, цифровая ПЦР. Случайная амплификация полиморфных последовательностей (метод RAPD). Количественная ПЦР (ПЦР в реальном времени). Устройство амплификатора для ПЦР в реальном времени. Порог числа циклов. Принцип действия зондов Таq-Мап, зондов, основанных на резонансном переносе энергии флуоресценции (FRET), «молекулярных маяков», праймеров типа «Скорпион» и «Амплифлюр». Определение числа молекул матричной ДНК.

Гибридизация нуклеиновых кислот. Антисмысловые РНК, нуклеиновые кислоты как ферменты: аптамеры, рибозимы, дезоксирибозимы

Современные методы секвенирования нуклеиновых кислот

Пиросеквенирование. Секвенирование лигированием. Принципы высокопроизводительного параллельного секвенирования ДНК Создание молекулярных клонов секвенируемой ДНК: полимеразные колонии и кластеры на твердой подложке. Системы секвенирования ДНК третьего поколения: секвенирование отдельных молекул ДНК.

Искусственные генетические конструкции, векторы для клонирования ДНК. Гены – маркеры. Методы клонирования ДНК. Геномные библиотеки и библиотеки кДНК. Регуляция экспрессии генов прокариот. Регуляция экспрессии генов эукариот. Способы прямого введения генов. Генетические манипуляции с бактериальными клетками.

Трансгенные животные и растения

Введение генов в клетки млекопитающих. Характеристика векторов для переноса генов в животные клетки. Генетическая трансформация соматических клеток млекопитающих. Генотерапия. Получение трансгенных животных. Трансформация растительного генома – регуляторные элементы. Введение генов в растительные клетки. Экспрессия генетического материала в трансгенных растениях. Характеристика Ті- и Ri-плазмид. Генетическая трансформация растений с помощью Ті- и Ri-плазмид. Достижения генной инженерии растений. Проблемы биобезопасности трансгенных растений.