

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний педагогічний університет імені А.С.Макаренка
Природничо-географічний факультет
Кафедра біології та методики навчання біології

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних занять
з **«МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ
З ОСНОВАМИ БІОТЕХНОЛОГІЇ»**
*(для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
спеціальності 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини))*

Суми 2024

УДК [378.4+377]+[257.5+663.1](075.8)

М 54

*Друкується згідно з рішенням вченої ради
Сумського державного педагогічного університету
імені А. С. Макаренка
(протокол №2 від 30.09.2024 р.)*

Рецензенти:

Москаленко Микола Павлович, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології та методики навчання біології Сумського державного педагогічного університету імені А.С. Макаренка

Куш Юлія Іванівна, кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри біології людини, хімії та методики навчання хімії Сумського державного педагогічного університету імені А.С. Макаренка

М 54 Методичні вказівки до лабораторних занять з «Молекулярної біології з основами біотехнології» (для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) / **Уклад. Торяник В.М.** [Електронний ресурс]; Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка. – Суми: СумДПУ імені А. С. Макаренка, 2024. – 37 с.

Методичні вказівки укладено відповідно до робочої програми навчальної дисципліни «Молекулярна біологія з основами біотехнології» з метою допомоги здобувачам першого (бакалаврського) рівня вищої освіти за спеціальністю 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) у виконанні завдань лабораторних занять.

До змісту методичних вказівок входять розробки лабораторних занять, список рекомендованої літератури та інформаційних ресурсів.

Видання сприятиме засвоєнню та систематизації знань здобувачів вищої освіти про молекулярні механізми зберігання і реалізації генетичної інформації та основних методів біотехнології, а також формуванню фахових компетентностей вчителя біології.

Методичні вказівки можуть бути застосовані як під час очного, так і під час дистанційного навчання.

УДК [378.4+377]+[257.5+663.1](075.8)

©Торяник В. М., 2024

© СумДПУ імені А. С. Макаренка, 2024

ЗМІСТ

Передмова	4
Лабораторне заняття №1. Хімічний склад та структура нуклеїнових кислот	5
Лабораторне заняття №2. Розв'язування задач з теми «Хімічний склад та структура нуклеїнових кислот»	8
Лабораторне заняття №3. Організація геномів про- та еукаріотів	9
Лабораторне заняття №4. Загальні закономірності реплікації ДНК	12
Лабораторне заняття №5. Загальні закономірності репарації ДНК	14
Лабораторне заняття №6. Реалізація генетичної інформації: транскрипція	16
Лабораторне заняття №7. Реалізація генетичної інформації: трансляція	18
Лабораторне заняття №8. Регуляція експресії генів у про- та еукаріотів	21
Лабораторне заняття №9. Сучасні ДНК-технології. ПЛР.	24
Лабораторне заняття №10. Технологія рекомбінантних ДНК	27
Лабораторне заняття №11. Методи клітинної інженерії	29
Лабораторне заняття №12. Клітинні технології у рослинництві	31
Рекомендована література	34
Список інформаційних джерел	35

ПЕРЕДМОВА

Навчальна дисципліна «Молекулярна біологія з основами біотехнології» є обов'язковою складовою професійної підготовки здобувачів першого рівня вищої освіти за спеціальністю 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), головна мета якої – сформулювати у них знання про молекулярні механізми зберігання, реалізації та передачі генетичної інформації, використання цих механізмів у виробництві цільових продуктів за допомогою біологічних систем та рекомбінантної ДНК.

До структури методичних вказівок, укладених відповідно робочої навчальної програми навчальної дисципліни «Молекулярна біологія з основами біотехнології», входять розробки лабораторних занять, список рекомендованої літератури та інформаційних джерел.

Схема методичної розробки лабораторного заняття наступна:

- ❖ тема і мета лабораторного заняття;
- ❖ програмні теоретичні питання;
- ❖ питання для обговорення на лабораторному занятті;
- ❖ завдання для аудиторної роботи;
- ❖ завдання для самостійної позааудиторної роботи.

Список рекомендованих джерел та перелік інформаційних інтернет-ресурсів, що наводяться у кінці методичних вказівок, включає перелік підручників, навчальних посібників, збірників задач, з яких здобувач освіти може отримати необхідну інформацію для виконання завдань згідно тем лабораторних занять, а також додаткову інформацію з молекулярної біології та біотехнології.

У змісті завдань аудиторної і самостійної позааудиторної роботи використані ілюстрації з підручників та навчальних посібників зі списку рекомендованої літератури.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 1

Тема: Хімічний склад та структура нуклеїнових кислот.

Мета: сформувати знання про хімічну будову та структурні форми ДНК та РНК.

Програмні теоретичні питання:

1. Хімічна будова нуклеїнових кислот.
 - 1.1. Нуклеотиди.
 - 1.2. Полінуклеотидний ланцюг.
 - 1.3. Нуклеази.
2. Подвійна спіраль ДНК.
 - 2.1. Стабілізація подвійної спіралі.
 - 2.2. Конформаційні параметри подвійної спіралі.
 - 2.3. Структурні форми ДНК.
 - 2.4. Конформація В-ДНК.
3. Циркулярна ДНК.
4. Первинна, вторинна, третинна структура мРНК, тРНК, рРНК.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

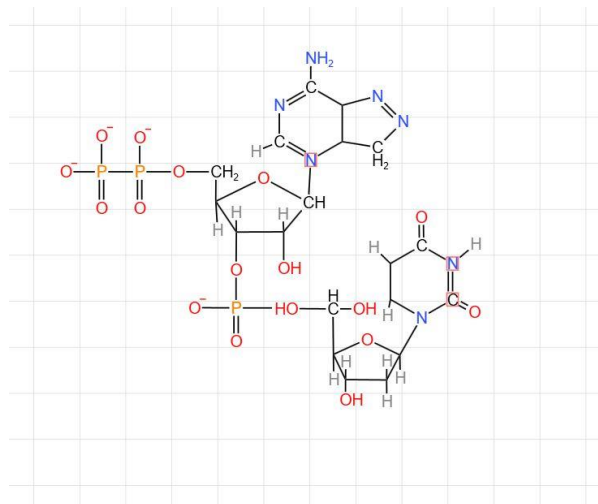
1. З яких трьох елементів складається нуклеотид? Назвіть основні фізико-хімічні властивості цих елементів.
2. Чим хімічно відрізняються між собою рибо- і дезоксирибонуклеїнові кислоти?
3. Між якими хімічними групами утворюється полінуклеотидний ланцюг за рахунок ковалентного зв'язку? Як позначаються кінці ланцюга і чому саме так?
4. Опишіть основні риси структури подвійної спіралі ДНК.
5. Які взаємодії стабілізують подвійну спіраль? Що лежить в основі комплементарності нуклеотидів і яке значення має комплементарність для стабілізації спіралі?
6. Які структурні форми подвійних спіралей нуклеїнових кислот Ви знаєте? Чим вони відрізняються? Які з цих форм є основними формами існування подвійних спіралей ДНК і РНК *in vivo*?
7. Які конформаційні параметри характеризують вигин і ступінь спіральної закрутки молекули ДНК?
8. Напишіть усі типи динуклеотидних контактів у складі полінуклеотидного ланцюга та у складі подвійної спіралі. Як і чому різняться ці два набори контактів?
9. Чим визначається локальна конформація та динамічні властивості подвійної спіралі?
10. В чому полягають особливості первинної та вторинної структури мРНК, тРНК, рРНК.

Завдання для аудиторної роботи

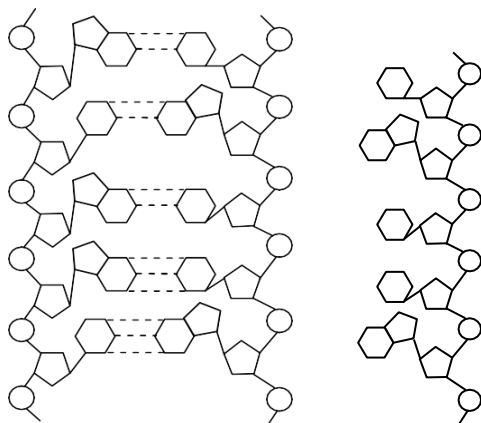
1. Виконайте тест.
2. Розв'яжіть практичні завдання:
 - 2.1. Заповніть таблицю:

Азотиста основа	Нуклеозид	Нуклеотид	Нуклеїнова кислота
Пурини			
Піримідини			

2.2. Під час зображення структури аденін- та тимідинвмісних динуклеотидів ДНК студент припустився 6-ти помилок. Знайдіть і поясніть ці помилки.



2.3. У схемі будови ДНК та РНК позначте: 1) перші літери назв хімічних компонентів нуклеотидів: А – аденін, G – гуанін, Т – тимін, С – цитозин, U – урацил, D – дезоксирибоза, R – рибоза, P – фосфат; 2) нуклеотид; 3) нуклеозид; 4) зв'язки між нуклеотидами.



2.4. Напишіть послідовність ДНК, що комплементарна такій: ATGCGCTTATTTCGAC. Напишіть послідовність РНК, комплементарну цьому ланцюгу ДНК.

2.5. Зробіть схематичний рисунок вторинної структури т-РНК і вкажіть структурні частини молекули.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Заповніть таблицю:

Клас РНК	% від загальної кількості	Коефіцієнт Сведберга	Еукаріотична чи прокаріотична клітина	Число РНК
рРНК				
тРНК				
мРНК				

2. Поміркуйте:

1 березня 2005 р. у відкритому космосі виявлена унікальна структура. Виділений з неї генетичний матеріал за хімічним складом нагадує ДНК. Він містить залишки чотирьохатомного цукру еритрози і рівну молярну кількість фосфатних груп. Крім того, має шість азотистих основ: аденін (а), гуанін (G), тимін (Т), цитозин (С), гіпоксантин (Н) і ксантин (Х).

Кількісне співвідношення таке: $A=T=N$, $C=G=X$.

Дифракційний аналіз за допомогою Х-променів виявив регулярну структуру діаметром 30 нм.

Припустіть, якою є загальна молекулярна модель виявленої структури.

Які способи спарювання Н та Х можливі у цій моделі?

Враховуючи постійний діаметр молекули, що дорівнює 30 нм, чи можна вважати Н та Х: а) пуринами чи піримідинами; б) один – пурином, інший – піримідином?

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 2

Тема: Розв'язування задач з теми «Хімічний склад та структура нуклеїнових кислот».

Мета: навчитися розв'язувати типові задачі щодо хімічного складу та структури нуклеїнових кислот.

Завдання для підготовки до заняття

1. Повторіть програмні теоретичні питання з теми (див. зміст лаб. зан. №1).

Завдання для аудиторної роботи

1. У «Методичних рекомендаціях до розв'язування типових задач з «Молекулярної біології» (для самостійної роботи здобувачів вищої освіти за ОПП 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), 091 Біологія) / укладач Торяник В.М. – Суми : ФОП Цьома С.П., 2022. 32 с.» опрацюйте:

а) зміст параграфів «Одиниці вимірювання» «В процесі розв'язування задачі виділяють певні етапи», «Під час розв'язування задач потрібно пам'ятати»;

б) зміст «Теми 1».

2. Під керівництвом викладача розв'яжіть задачі № 1, 3, 5, 6.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Визначити число нуклеотидних пар на відрізку подвійної спіралі ДНК довжиною 10,2 нм, яка знаходиться: а) в А-формі; б) в В-формі.

2. Розрахувати молекулярну масу і довжину фрагмента ДНК, що містить 1850 н.п., якщо він знаходиться: а) в А-формі; б) в В-формі; в) в С-формі.

3. В препаратах ДНК, виділених з двох видів бактерій, вміст аденіну складає відповідно 32% і 17%. Визначити вміст гуаніну, тиміну і цитозину.

4. У молекулі ДНК з відносною молекулярною масою 69000 на аденілові нуклеотиди припадає 8625 а.о.м. (відносна молекулярна маса одного нуклеотида становить у середньому 345). Скільки міститься у складі цієї ДНК нуклеотидів аденілових, гуанілових, цитидилових, тимідилових кожного окремо? Яка довжина цієї ДНК?

5. Молекула ДНК в одному ланцюзі містить 125 аденілових і 310 гуанілових нуклеотидів, в іншому – 278 аденілових і 115 гуанілових нуклеотидів. Визначте довжину ДНК.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 3

Тема: Організація геномів про- та еукаріотів.

Мета: сформувані знання про молекулярну організацію прокаріотичних, еукаріотичних, вірусних генів та геномів.

Програмні теоретичні питання

1. Еволюція уявлень про ген. Сучасне визначення гена.
2. Молекулярна організація генів.
3. Структура гена про- та еукаріотів.
4. Класифікація генів згідно їх функцій.
5. Загальне поняття про геном, його специфічні риси.
6. Особливості будови вірусних геномів.
7. Класифікація ДНК- та РНК-геномних вірусів.
8. Структурна організація геному окремих вірусів і бактеріофагів.
9. Особливості структурної організації геному прокаріот.
10. Цитоплазматичні генетичні структури геному прокаріот (плазміді та епісоми).
11. Мобільні генетичні елементи геному прокаріот (IS-елементи і транспозони).
12. Структурна організація геному еукаріот.
13. Організація генів та структура геномів еукаріот.
14. Геном ДНК-вмісних цитоплазматичних структур. Геном мітохондрій. Геном хлоропластів.
15. Мобільні генетичні елементи геному еукаріот.

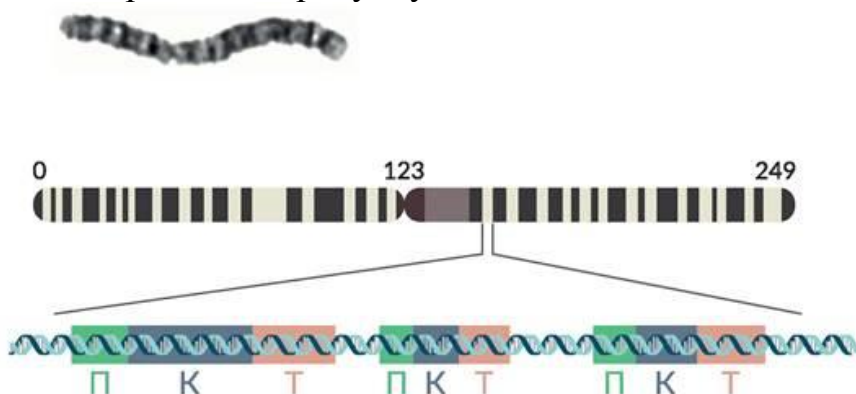
Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Що таке ген? Хто є автором цього поняття?
2. Що таке геном? Хто є автором цього поняття?
4. Як організований геном вірусів?
5. У чому полягає перекриття генів у вірусів та еукаріотів?
6. Що таке нуклеоїд? У чому його відмінність від ядра?
7. На які дві групи розподіляють прокаріоти і чому?
8. Що таке «плазмід»? Які властивості вона може надавати клітинам прокаріот?
9. За якими ознаками археї подібні до прокаріот?
10. Які генетичні особливості археї подібні до еукаріотичних?
11. У чому полягають кількісні особливості геному еукаріот?
12. У чому полягає різниця між генотипом і геномом окремої клітини певного організму?
13. Вкажіть різницю між інтронами і екзонами в геномі еукаріот.
14. Яка різниця між кластером генів і опероном?
15. У чому полягає найсуттєвіша відмінність між геномами про- та еукаріотів?
16. Назвіть основні типи послідовностей ДНК, що повторюються.

17. Що таке «сателітна ДНК»? Якими властивостями вона характеризується?
18. Які типи диспергованих повторюваних послідовностей ДНК існують?
19. З яких компонентів складається хроматин?
20. Що таке «гістон»? На які класи вони поділяються? У чому полягає їх відмінність?
21. Що розуміють під поняттям «компактизація ДНК»? Від чого залежить її ступінь?
22. Вкажіть рівні структурної організації хроматину в еукаріот.
23. Вкажіть компоненти, з яких складається нуклеосомна фібрила.
24. Яким чином відбувається компактизація ДНК на другому рівні при формуванні соленоїдної структури?
25. У чому полягає особливість укладання ниток хроматину на третьому рівні конденсації хроматину і ДНК?
26. Вкажіть особливості ділянок хромосомної ДНК, що взаємодіють із ядерним матриксом.
27. Вкажіть, які негістонові білки входять до складу хроматину. У чому полягають їх функції?
28. Хто вперше синтезував штучний ген?
29. Які геноми розшифровано?
30. Розмір геному виявляється не пов'язаним з його складністю та неабияк відрізняється навіть у споріднених організмів. Учені називають це парадоксом величини С. Як сучасна наука пояснює цей парадокс?

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:
 - 2.1. Поясніть, що зображено на рисунку:



- 2.2. Схематично намалюйте будову геному прокариотів та еукаріотів.
- 2.3. Диплоїдний набір хромосом ссавців містить до 10^9 п.н. Якщо така кількість ДНК наявна у хроматиновій нитці, і кожна ділянка ДНК розміром 200 п.н. зв'язана з дев'ятьма гістонами і упакована у нуклеосому, а кожна група з шести нуклеосом скручена в соленоїд з кінцевим рівнем упакування 1:50, то визначте наступне:

- a) загальну кількість нуклеусом;
- b) загальну кількість соленоїді;
- c) загальну кількість гістонових молекул, зв'язаних з ДНК диплоїдного набору хромосо;
- d) загальну довжину усіх фібрил.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Порівняйте хімічну природу, розмір та «форму» геномів вірусів, прокаріотів та еукаріотів. Оформіть відповідь у вигляді таблиці:

Характеристика геному	Віруси	Прокаріоти	Еукаріоти

2. Розв'яжіть задачі: Геном ретровірусу представлений двома молекулами РНК, кожна молекула РНК містить три гени: ген *gag* складається з 2000 нуклеотидів, ген *pol* – з 2900 нуклеотидів та ген *env* – з 1800 нуклеотидів. На позагенні послідовності РНК припадає 15% геному. Визначте масу кожного гена окремо та масу генома ретровірусу.

3. Знайдіть і наведіть декілька фактів щодо неочікуваних результатів розшифрування та аналізу геному людини.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 4

Тема: Загальні закономірності реплікації ДНК.

Мета: сформувати знання про загальний механізм та принципи реплікації ДНК та особливості реплікації у про- та еукаріотів.

Програмні теоретичні питання:

1. Види матричного синтезу біополімерів.
2. Загальні закономірності реплікації.
3. Реплікація в клітинах прокариотів.
4. Реплікація ДНК бактеріальних плазмід.
5. Реплікація ДНК у клітинах еукаріотів.
6. Постреплікативна модифікація ДНК.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Що таке реплікон? Охарактеризуйте основні типи репліконів.
2. Дайте визначення реплікативної вилки. Яка різниця між двома ланцюгами ДНК, що синтезуються під час реплікації? Що таке фрагменти Оказаки?
3. Які ферментативні активності мають бактеріальні ДНК-полімерази? Порівняйте особливості й функціональне значення ДНК-полімераз I і III.
4. Опишіть основні риси просторової структури ДНК-полімераз.
5. Які спільні риси мають РНК- і ДНК-полімерази? У чому полягають принципові відмінності між ними?
6. Що таке реплісома? Назвіть її основні компоненти та їхнє функціональне значення.
7. Дайте визначення гелікази. Яку роль вона відіграє в реплікації? Що таке білки SSB?
8. Що таке праймер? Навіщо він потрібен, яка його хімічна природа, який елемент реплісоми його синтезує?
9. Яку роль виконує лігаза при реплікації ДНК?
10. Як забезпечується висока процесивність ДНК-полімерази?
11. Які топологічні проблеми виникають під час реплікації та за допомогою чого вони розв'язуються?
12. Дайте визначення ориджина. Як саме здійснюється ініціація реплікації в бактерій?
13. Укажіть особливості еукаріотичної системи реплікації порівняно з прокариотичною.
14. Які ДНК-полімерази працюють в еукаріотичній клітині? Яка полімераза здійснює ініціацію реплікації?
15. Яку функціональну роль виконує теломераза? Опишіть механізм роботи цього ферменту.

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.

2. Виконайте практичні завдання:

2.1. Охарактеризуйте склад реплікативного комплексу клітин прокариотів:

Білкові фактори (активність, функції)	Ферменти (активність, функції)

2.2. Охарактеризуйте склад реплікативного комплексу клітин еукаріотів:

Ферменти (активність, функції)	Білкові фактори (активність, функції)

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Охарактеризуйте особливості механізмів реплікації вірусних геномів:

1.1 РНК-геномних вірусів (РНК-залежний синтез РНК).

1.2 ДНК-геномних вірусів.

2. Якою є точність реплікації ДНК? Як вона забезпечується?

3. Розв'яжіть задачу: Геном *Drosophila melanogaster* становить приблизно $1,6 \times 10^8$ п.н. Швидкість синтезу ДНК – 30 п.н. за хвилину. У ранніх ембріонів дрозофіли увесь геном реплікується за 5 хвилин. Скільки для цього потрібно точок початку двоспрямованої реплікації?

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 5

Тема: Молекулярні механізми репарації ДНК.

Мета: сформувати знання про різноманітність систем репарації ДНК та їх механізми.

Програмні теоретичні питання:

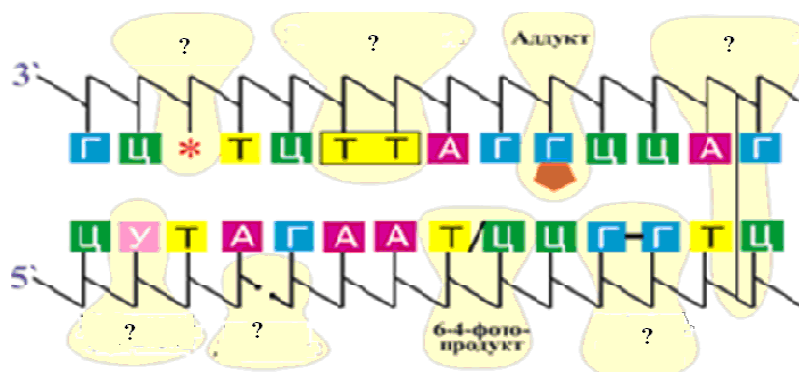
1. Механізми прямої репарації. Фотореактивація.
2. Типи ексцизійної репарації.
3. Репарація не комплементарних пар основ.
4. Негомологічне з'єднання кінців ДНК.
5. Постреплікативна (рекомбінаційна) репарація.
6. SOS-репарація.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

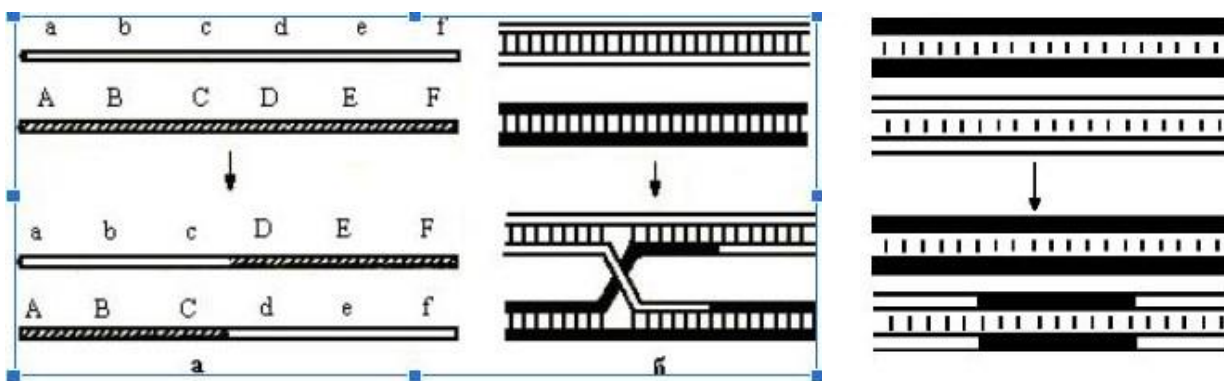
1. Який фермент здійснює фотореактивацію?
2. Яке типове пошкодження найчастіше виникає у ДНК при опроміненні ультрафіолетом?
3. Наведіть приклади прямої репарації.
4. Який фермент видаляє модифіковану азотисту основу при ексцизійній репарації азотистих основ?
5. Яка система білків забезпечує ексцизійну репарацію нуклеотидів?
6. Що таке місметч?
7. За яких умов у клітині спрацьовує SOS-репарація?
8. Завдяки якій модифікації азотистих основ здійснюється впізнання ланцюга, який треба замінити, при репарації помилково спарених нуклеотидів?
9. Яка система забезпечує процес негомологічного з'єднання кінців ДНК?

Завдання для аудиторної роботи

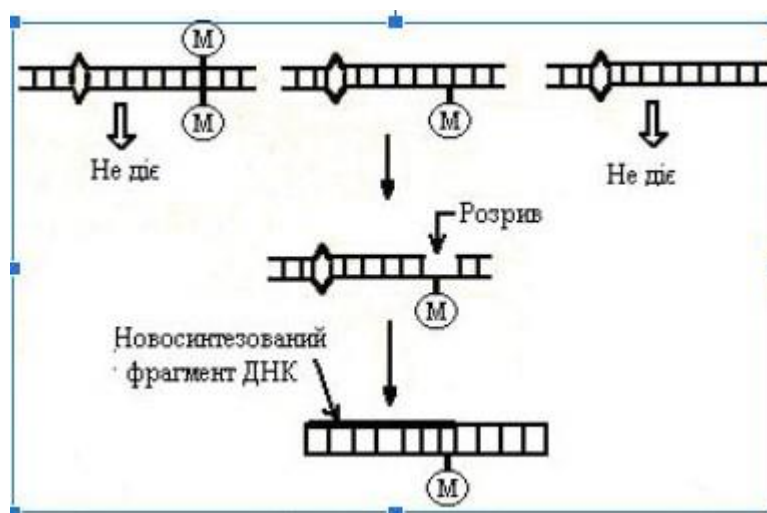
1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:
 - 2.1. Назвіть пошкодження ДНК, наведені на схемі:



2.2. Назвіть і поясніть механізми репарації ДНК, наведені на рисунках:



а)



б)

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. В процесі реплікації ДНК аденін може замінюватися своїм аналогом – 2-амінопурином (2-AP), який утворює пару з цитозином. Тимін може замінюватися на 5-бромурацил (5-BU), який утворює пару з гуаніном. Прослідкуйте заміну у подвійній спіралі ДНК, упродовж трьох циклів реплікації, якщо обидва аналоги вбудовуються в ДНК у першому циклі, а в другому та третьому циклах видаляються при репарації. Якою є структура послідовності, наведеної нижче, після цих змін?

2. Порівняйте різні механізми репарації пошкоджень ДНК, спричинені УФ-випромінюванням.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 6

Тема: Реалізація генетичної інформації: транскрипція.

Мета: сформувані знання про транскрипцію та трансляцію як процеси матричного синтезу, що забезпечують реалізацію генетичної інформації на молекулярному рівні.

Програмні теоретичні питання

1. Загальні характеристики процесу транскрипції.
2. Структура прокариотичної РНК-полімерази.
3. Робочий цикл прокариотичної РНК-полімерази (ініціація, елонгація та термінація транскрипції).
4. Редагування помилок транскрипції.
5. Регуляція транскрипції у прокариотів на прикладі лактозного та триптофанового оперонів.
6. Типи еукаріотичних РНК-полімераз.
7. Організація промотора РНК-полімерази II.
8. Базальні фактори транскрипції РНК-полімерази II.
9. Ініціація транскрипції в еукаріотів.
10. Елонгація та термінація транскрипції в еукаріотів.
11. Механізми активації транскрипції.
12. Репресія транскрипції.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Як називається ділянка первинного зв'язування РНК-полімерази з ДНК при ініціації транскрипції?
2. В якому напрямі здійснюється зчитування інформації з ДНК в ході транскрипції?
3. В якому напрямі здійснюється синтез мРНК?
4. Як називається (змістовний чи антизмістовний) ланцюг ДНК, послідовність якого співпадає з послідовністю мРНК?
5. Скільки консенсусних послідовностей містить стандартний промотор *E. coli*?
6. Яка субодиниця бактеріальної РНК-полімерази є необхідною для ініціації транскрипції?
7. Які субодиниці входять до складу кор-ферменту бактеріальної РНК-полімерази?
8. Зростає, знижується чи не змінюється загальна спорідненість до ДНК бактеріальної РНК-полімерази при наявності σ -фактора в складі ферменту?
9. Як називається кластер бактеріальних генів, який є єдиною одиницею транскрипції?
10. Білок – транскрипційний фактор називається транс- чи цис-регулятором?

11. Спорідненість певного білка до ДНК залежить від того, чи зв'язана на сусідньому сайті інша молекула цього чи іншого білка. Як називається такий феномен?
12. Певний промотор є сильним. Слід очікувати, що транскрипція з цього промотору знаходиться під контролем активатора чи репресора?
13. Скільки молекул РНК синтезується з оперону, що містить 5 структурних генів?
14. Що є сигналом термінації транскрипції у прокаріотів?
15. Вкажіть групи генів, які транскрибуються еукаріотичними РНК-полімеразами різних типів.
16. Який транскрипційний фактор РНК-полімерази II має кілька ферментативних активностей?
17. Який транскрипційний фактор РНК-полімерази II відповідає за точну орієнтацію полімерази на промоторі?
18. Яку функцію виконує С-кінцевий домен РНК-полімерази II?
19. Як називається регуляторна ділянка ДНК, що підсилює ефективність транскрипції, знаходячись на деякій, часто значній, відстані від промотору?

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:
 - 2.1. Генетик виділив ген, що містить 5 екзонів. Потім він виділив зрілу мРНК, що транскрибована з цього гену. Потім він зробив ДНК одноланцюговою і змішав ДНК та мРНК. Деякі ділянки одноланцюгової ДНК були комплементарними мРНК. Намалюйте (схематично), як би виглядали гібриди ДНК-мРНК під мікроскопом.
 - 2.2. У систему синтезу РНК доданий кополімер, що містить повтор UUAC. Скільки різних триплетів містить синтезована РНК?
 - 2.3. Ген має 5 екзонів. Напишіть продукт сплайсингу мРНК за умов, що відбулася делеція трьох нуклеотидів на 5' кінці четвертого інтрону.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Розв'яжіть задачі:
 - 1.1 Суспензія мікроорганізмів культивувалася у середовищі, яке містило [3H]- мічений уридин. З цих клітин були ізольовані клітинні компоненти і проводилося вимірювання радіоактивності фракції мРНК. Розрахуйте, скільки молей міченого уридину включилося в 1 млн. клітин за умови, що в кожній клітині синтезується 1500 молекул РНК середньою довжиною 3000 нуклеотидів (вважайте, що число Авогадро: 6×10^{23}).
 - 1.2. Прокаріотичний білок складається із 100 амінокислот. Визначити, яку довжину має відповідна мРНК, з якої транлюється даний білок, якщо на кодуєчу частину припадає 90% нуклеотидної послідовності гена (припустити, що відстань між основами в молекулі мРНК складає 0,34 нм).

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 7

Тема: Реалізація генетичної інформації: трансляція.

Мета: сформувати знання про трансляцію як процес матричного синтезу, що забезпечує реалізацію генетичної інформації на молекулярному рівні.

Програмні теоретичні питання

1. Поняття про трансляцію як матричний синтез білка.
2. Генетичний код. Властивості генетичного коду.
3. Характеристика компонентів білоксинтезуючої системи. Рекогніція (пізнавання).
4. Основні етапи трансляції: ініціація, елонгація, термінація.

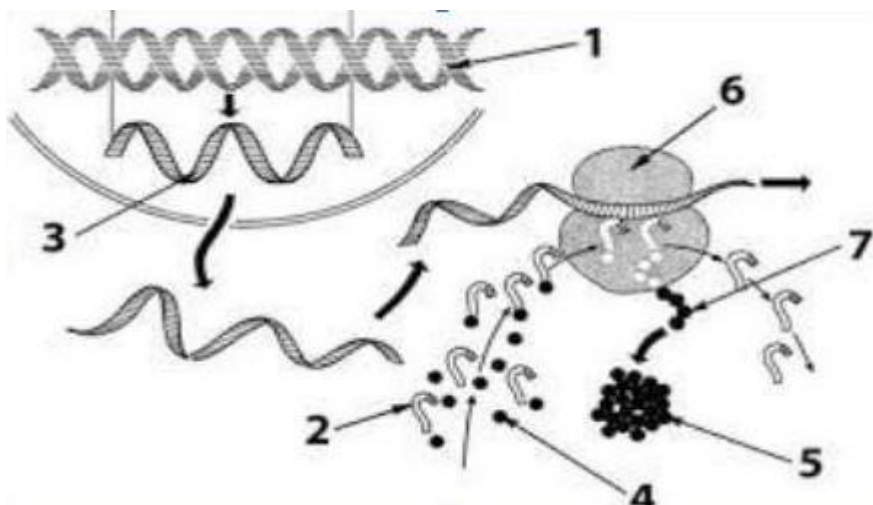
Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Дайте визначення поняттю трансляція.
2. Що таке генетичний код? Назвіть і поясніть властивості генетичного коду.
3. Назвіть компоненти трансляційного комплексу.
4. Назвіть основні структурні елементи будови тРНК? Як саме вони розташовані у просторі? Які взаємодії стабілізують просторову структуру тРНК?
5. Якою хімічною групою тРНК акцептується амінокислота? Назвіть групу амінокислоти, що задіяна в цьому зв'язку.
6. Які хімічні реакції каталізує АРСаза? Що таке активування амінокислоти?
7. Яким чином реалізується специфічність АРСаз щодо тРНК та амінокислот?
8. Що таке рибосома? З чого вона складається? Опишіть основні риси просторової будови рибосоми.
9. Які функціональні сайти має рибосома? Їхнє розташування відносно один одного та щодо субодиниць рибосоми?
10. Як розподілені функції рибосоми між двома субодиницями?
11. Порівняйте структурні та функціональні особливості рибосомних РНК і білків.
12. З яких етапів складається елонгаційний цикл рибосоми?
13. Опишіть структуру та функціональне значення факторів елонгації EF1 і EF2.
14. У чому полягає роль гідролізу GTP при елонгації трансляції?
15. Як рибосома здійснює свою декодуючу функцію?
16. Що таке акомодация aa-тРНК на рибосомі та як саме вона відбувається?
17. У чому полягає реакція подовження поліпептидного ланцюга на одну амінокислоту? Як відбувається каталіз цієї реакції?
18. Яким чином відбувається транслокація рибосоми вздовж мРНК?

19. Яка стадія елонгаційного циклу є найшвидшою?
20. Порівняйте системи ініціації трансляції у про- та еукаріотів.
21. Опишіть основні стадії термінації трансляції.

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:
 - 2.1. Поясніть, що зображено на рисунку. Назвіть структури, що позначені цифрами. Поясніть їх функції.



2.2. Поясніть процеси, що зображено на рис. 1 та 2:

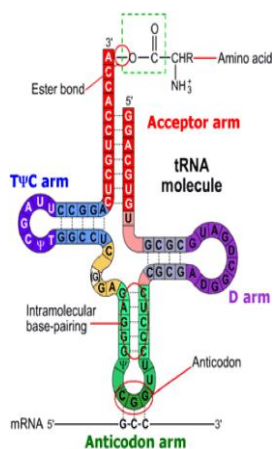


Рис. 1.

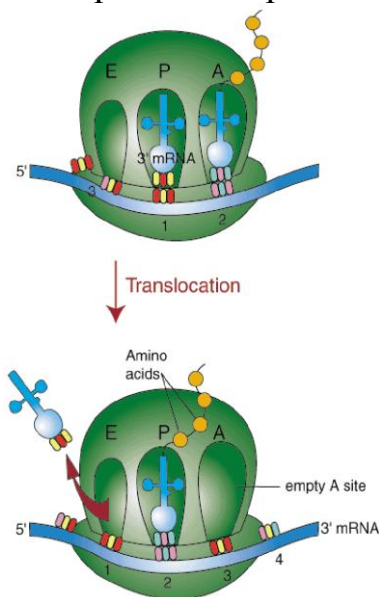


Рис. 2.

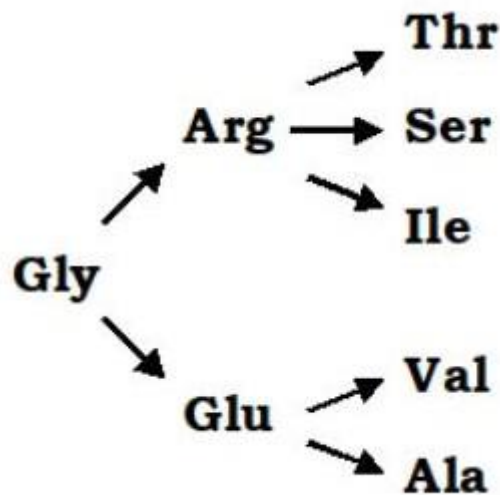
2.3. Зі скількох амінокислот буде складатися N-кінцевий фрагмент поліпептиду, що утвориться при трансляції послідовності мРНК (вказана також

5' нетрансльована ділянка) ACACAUGUUCGGACACAUA AAAAUUACUG?
Користуючись генетичним кодом вкажіть послідовність амінокислот в поліпептиді.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

Розв'яжіть задачу:

1. На рисунку представлено амінокислотні заміни, які можна спостерігати при порівнянні амінокислотних послідовностей певного нормального білка та його мутантних форм. Використовуючи таблицю генетичного коду, визначте триплети, які відповідають даним амінокислотам у даних білках (за умови, що кожна амінокислотна заміна відбулась в результаті заміни одного нуклеотида в кодоні).



2. Визначити молекулярну масу прокаріотичного гена, що контролює утворення білка, який складається із 400 амінокислот, та довжину гену, що його кодує. Середня молекулярна маса нуклеотиду дорівнює 330, амінокислоти – 110, відстань між двома парами основ в молекулі ДНК складає 0,34 нм.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 8

Тема: Регуляція експресії генів у про- та еукаріотів.

Мета: сформувати знання про види контролю експресії генів та особливості їх реалізації у про- та еукаріотів.

Програмні теоретичні питання

1. Регуляція експресії генів у прокариот. Катаболічні та анаболічні оперони бактерій.
2. Контроль експресії генів у еукаріот.
 - 2.1. Регуляція на рівні процесів транскрипції.
 - 2.2. Контроль на рівні трансляції і посттрансляційних процесів.
 - 2.3. Поняття про епігенетичну регуляцію експресії генів. Метилування ДНК, імпринтинг генома.
 - 2.4. Гормональна регуляція експресії генів.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Яка різниця між цис- і транс-елементами системи регуляції транскрипції?
2. Опишіть систему регуляції лактозного оперона. Яку роль у регуляції відіграють Іас-репресор і білок CAP?
3. Що таке антитермінація?
4. Опишіть систему регуляції триптофаного оперона. Як здійснюється атенуація в триптофановому опероні?
5. За якими механізмами здійснюється регуляція загального рівня транскрипції в бактеріальній клітині?
6. За якими механізмами здійснюється регуляція білкового синтезу в бактеріальній клітині?
7. Які фактори визначають більш складну порівняно з прокариотами регуляцію експресії генів у еукаріотів?
8. Які регуляторні елементи та фактори задіяні у транскрипції еукаріотичних генів?
9. На якому рівні і як здійснюється регуляція експресії генів стероїдними та білковими гормонами?
10. Як відбувається пост транскрипційна регуляція експресії генів у еукаріотів?
11. Як здійснюється регуляція інтенсивності трансляції у клітинах про- і еукаріотів?

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:

2.1. Поясніть, як відмінності у транскрипції та трансляції у про- та еукаріотів (рис. 1), визначають їхні особливості регуляції експресії генів.

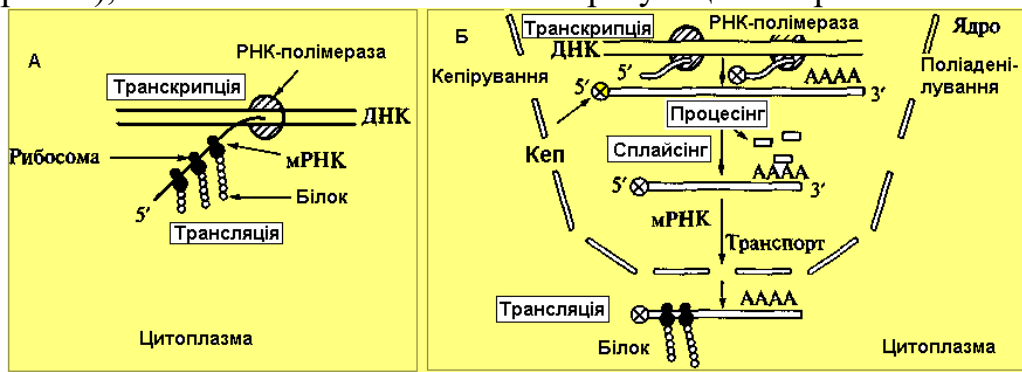


Рис. 1. Відмінності в транскрипції і трансляції у прокаріот (А) і еукаріот (Б).

2.2. Поясніть, що зображено на рис. 1–4.

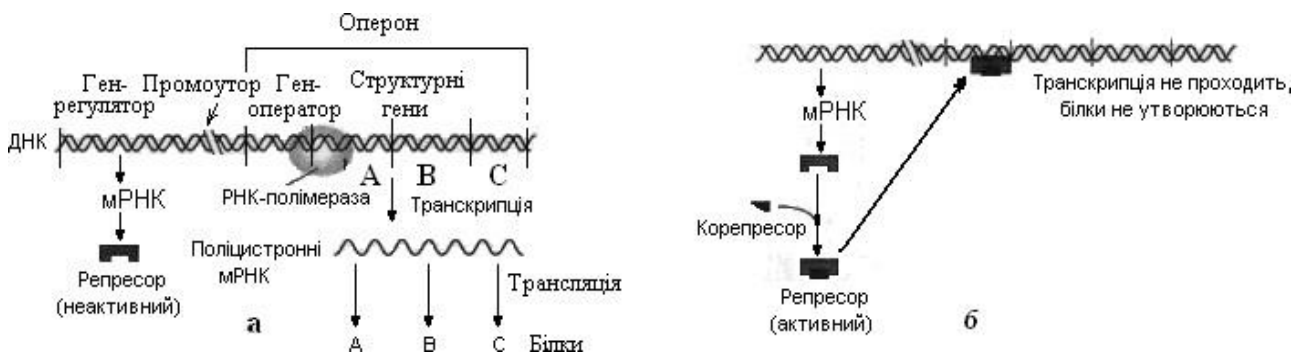


Рис. 1.

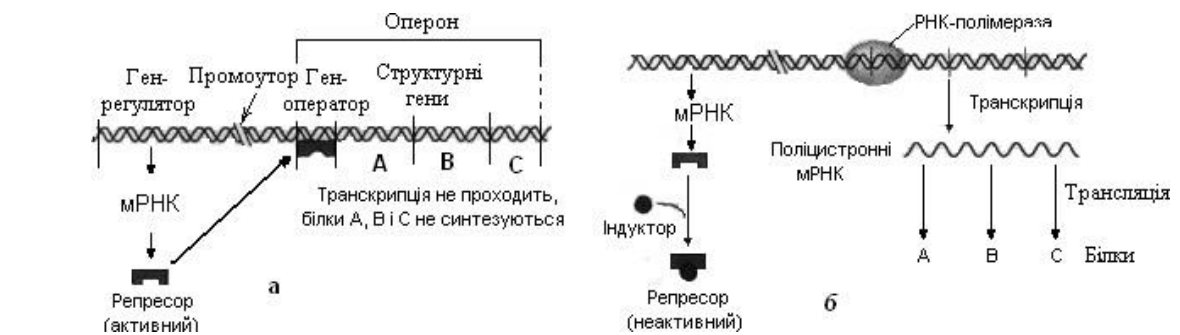


Рис. 2.

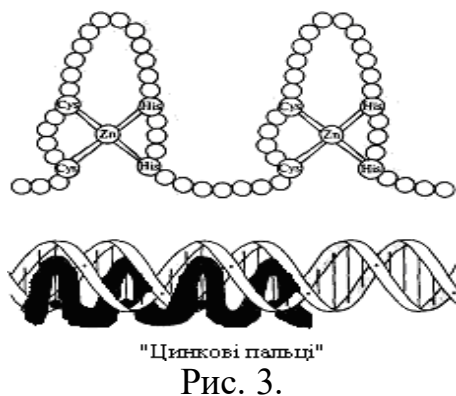


Рис. 3.

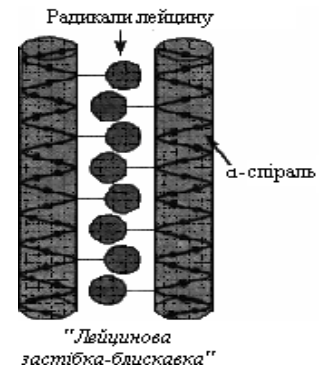


Рис. 4.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Актиноміцин D інгібує ДНК-залежний синтез РНК. Цей антибіотик додали в культуру бактерій, що синтезують специфічний білок, та порівняли її з контролем, куди антибіотик не додавали. Синтез білка у дослідній культурі знижувався протягом 20 хв., і потім зовсім зупинився. Поясніть ці результати.

2. Гіпотетичний оперон (*theo*) *E. coli* містить декілька структурних генів, що кодують ферменти, які задіяні у біосинтезі амінокислоти. На відміну від *lac*-оперону, в якому репресор відокремлений від оперону, в *theo*-опероні репресор, що кодує регуляторну молекулу, локалізований всередині оперона. Генний продукт (амінокислота) утворює комплекс з молекулою регулятора, який зв'язується з оператором та репресує оперон. Якщо амінокислота відсутня, регуляторні молекули не зв'язуються з оператором і транскрипція продовжується.

Припустимо, оперон містить мутації. Припустимо, мутація зачіпає регуляцію *theo*-оперону. Визначте активність *theo*-оперону та порівняйте її з еквівалентним станом *lac*-оперону, якщо: а) мутація в операторі; б) мутація в промоторі; с) мутація в репресорі.

3. Оперон (сукупність оператора і структурних генів) містить 10800 п.н. У ньому закодовано чотири поліпептидні ланцюги, кожен з яких складається з 420-ти амінокислотних залишка. Визначте відносну молекулярну масу оператора.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 9

Тема: Методи молекулярної біології.

Мета: сформувати знання про різноманітність та сутність молекулярно-біологічних методів, що застосовуються для отримання та характеристики індивідуальних фрагментів ДНК.

Програмні теоретичні питання

1. Методи виділення нуклеїнових кислот з біоматеріалу.
2. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Види ПЛР.
3. Електрофорез продуктів ПЛР в градієнтному гелі з денатурацією (DGGE).
4. Типи блот-гібридизації.
5. Рестрикційний аналіз.
6. Пряме сиквенування продуктів ПЛР. Методи сиквенування.
7. ДНК-біочіпи.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

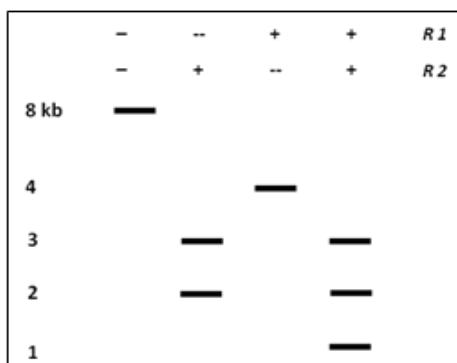
1. Які пріоритетні вимоги повинні забезпечувати методи виділення нуклеїнових кислот?
2. Назвіть відмінності рідкофазних і твердофазних методів виділення Нуклеїнових кислот.
3. Як захистити нуклеїнових кислот від дії нуклеаз?
5. Який із рідкофазних методів виділення ДНК є більш швидким та таким, що не вимагає використання токсичних речовин?
6. Преципітація (осадження) нуклеїнових кислот спиртами.
7. Як отримати препарати, що містять тільки ДНК або РНК?
8. Переваги та недоліки методу магнітної сепарації.
9. Які основні вимоги та особливості роботи з РНК під час її виділення?
10. Назвіть методи виділення нуклеїнових кислот, які можуть бути автоматизовані в лабораторії.
11. Назвіть та охарактеризуйте 5 головних параметрів, які впливають на швидкість міграції нуклеїнових кислот в агарозному гелі.
12. Поясніть призначення складових буферних розчинів для нанесення проб нуклеїнових кислот і буферних розчинів для проведення горизонтального електрофорезу.
13. Як можна візуалізувати НК в агарозному гелі після гель-електрофорезу?
14. Назвіть та охарактеризуйте види електрофорезу НК.
15. Що таке нативний електрофорез в поліакриламідному гелі? Надайте коротку характеристику.
16. Поясніть принцип ПЛР.
17. Охарактеризуйте температурні цикли та кроки класичної ПЛР.
18. Перелічіть алгоритми підбору праймерів для ПЛР.

19. Поясніть призначення кожного з основних компонентів реакційної суміші.
20. Інші компоненти, додавання яких впливає на ПЛР.
21. Як проаналізувати специфічність утвореного продукту ампліфікації. Хибнопозитивні та хибнонегативні результати ПЛР.
22. Детекція результатів класичної ПЛР.
23. Вкажіть різновиди ПЛР та її переваги як методу діагностики інфекційних захворювань.
24. Переваги та недоліки ПЛР.
25. Опишіть умови проведення рестрикційного аналізу для певної рестриктази.
26. Загальна характеристика рестриктаз, що використовуються в біотехнологічному процесі.
27. В яких галузях застосовують аналіз поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів ДНК?
28. Що таке методи секвенування нового покоління (NGS, HTS)?
29. Яке програмне забезпечення використовується для порівняльного аналізу секвенованих продуктів?
30. Вкажіть алгоритм порівняння секвенсу виявленої гіпотетичної унікальної мутації з уже існуючими в базах послідовностями, зокрема у базах для SNP (однонуклеотидний поліморфізм).
31. У чому суть поєднання методів біоінформатики з методами молекулярної діагностики?
32. Що таке ДНК-фінгерпринтинг? Поясніть принцип методу геномної дактилоскопії.

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:

2.1. Фрагмент ДНК розміром 8 kb (тисяч пар основ) має сайти рестрикції двох рестриктаз – *рестриктази 1 (R1)* та *рестриктази 2 (R2)*. Нижче наведено результати електрофорезу (електрофореграма) цього фрагменту, обробленого (+) чи не обробленого (–) даними рестриктазами. На основі електрофореграми визначте, скільки сайтів рестрикції *R1* та *R2* має даний фрагмент та побудуйте рестриктну карту.



- 2.2. Знайдено тіло мамонта, замороженого у кризі сибірської тайги.

Потрібно визначити, наскільки близька ДНК мамонта до ДНК сучасних індійських слонів. Відповідь можна отримати за допомогою двох способів ДНК-діагностики: шляхом сиквенування (колонка 1) та гібридизації (колонка 2).

Колонка 1	Колонка 2
А. 4,2,3,6,11	А. 1,7,4,5,8
Б. 4,3,7,2,6	Б. 4,9,8,5
В. 4,9,2,6,11	В. 4,7,10,8
Г. 4,3,7,6,11	Г. 4,2,5
Д. 1,2,3,11	Д. 4,3,8,5

Що необхідно зробити, і у якій послідовності, щоб отримати відповідь на запитання?

1. Проаналізувати каріотип мамонта.
 2. Провести гідроліз ДНК мамонта і слона кислотою або лугом.
 3. Провести ПЛР ДНК мамонта.
 4. Виділити із клітин мамонта і слона ДНК.
 5. Визначити значення T_m (температури, за якої відбувається плавлення 50% молекул ДНК для ДНК мамонта, слона, гібридної ДНК і порівняти їх.
 6. Здійснити секвенування певних ділянок ДНК мамонта і слона.
 7. Обробити ДНК мамонта і слона рестриктазами.
 8. Здійснити гібридизацію ДНК мамонта і слона.
 9. Здійснити трансформацію ДНК мамонта у клітини слона.
 10. Здійснити трансформацію ДНК слона у клітини мамонта.
 11. Порівняти нуклеотидні послідовності ДНК мамонта і ДНК слона.
- Знайдіть правильні відповіді в колонці 1 і в колонці 2.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Ученим з використанням зворотної транскриптази вдалося отримати кДНК гену *Adh* щура. Для подальших експериментів знадобилася велика кількість кДНК цього гена. Якими способами учені можуть клонувати кДНК гену *Adh* щура для отримання достатньої кількості?

2. Виділений інтегрований у плазмиду ДНК-фрагмент довжиною 1300 п.н. Щоб його охарактеризувати, потрібно створити карту рестрикції. ДНК-фрагмент обробили рестриктазою I, рестриктазою II та їх сумішшю. Після розділення фрагментів рестрикції у гелі отримали такі результати:

Ферменти	Розміри рестрикційних фрагментів
I	350 п.н. та 950 п.н.
II	200 п.н. та 1100 п.н.
I і II	150 п.н., 200 п.н. та 950 п.н.

На основі цих результатів створіть карту рестрикції ДНК-фрагменту. Вкажіть позиції сайтів рестрикції обох рестриктаз відносно один одного та відстань між ними у п.н.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 10

Тема: Технологія рекомбінантної ДНК.

Мета: сформувати знання про рекомбінантну ДНК, методи її створення та введення в клітину.

Програмні теоретичні питання

1. Ферменти, що використовуються для отримання рекомбінантних ДНК.
2. Джерела генів.
3. Вектори.
4. Введення рекомбінантних ДНК до клітини-реципієнта.
5. Ідентифікація клонованих ДНК.
6. Трансформація рослин за допомогою Ті-плазмід.
7. Біолістика.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Що таке вектор і які існують типи векторів?
2. Охарактеризуйте плазмід *pUC18/19* в якості вектору.
3. Чому використовують саме лужний лізіс для відокремлення геномної ДНК бактерій від плазмідної ДНК?
4. Наведіть приклади ендонуклеаз рестрикції.
5. Що таке ендонуклеази рестрикції II типу, і чому вони так важливі для технології рекомбінантних ДНК?
6. Що таке тупі та липкі кінці рестриктів?
7. Як можна об'єднати фрагменти з різними кінцями?
8. Як можна перевірити наявність вставки?
9. Чому при перевірці наявності вставки потрібно використовувати, наприклад, рестриктазу *HincII*?
10. Що таке компетентні клітини? Як зробити клітини компетентними?
11. Які два базові методи трансформації бактерій?
12. Принцип біло-блакитної селекції на основі лак оперону *E. coli*.
13. Які можуть бути подальші маніпуляції з рекомбінантною плазмідною?
14. В чому полягають переваги і недоліки клонування у фагах?
15. Які існують способи введення рекомбінантних плазмід в бактеріальну клітину?

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:
 - 2.1. Наявна послідовність з 27 п.н.:
5'-TCAGAATGCTGGCCAAGTACTTAC-3'
3'-AGTCTTACGACCGGTTTCATGAATC-5'
У який спосіб і на скільки частин можна порізати даний фрагмент ДНК?
 - 2.2. Дві молекули ДНК, що мають послідовності

GATCCTGGATCCCCGATGGCTTAG та
GGCTATCAAGTGAATCCCCGGATCCTAGCTA

обробляють рестриктазою *Bam*HI, отримані продукти рестрикції змішують та інкубують з лігазою. Напишіть послідовності всіх рекомбінантних молекул ДНК, що утворюються після такої процедури. Сайт рестриктази *Bam*HI, має вигляд G↓GATCC (стрілки вказують місця рестрикції, послідовності нуклеотидів наведені у напрямку 5'→3').

2.3. Намалюйте схему клонування гену у бактеріальній клітині *E. coli* за допомогою плазмідного та фагового вектора.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Чи можна вбудувати наведений нижче фрагмент ДНК у плазміду *pSC101*?

5'-AGGCCTGAATTAAGGCAATAGTGTGAATCA-3'
3'-TCCGGACTTAATTCGTTATCACACTTAGT-5'

2. Для створення бібліотеки кДНК можна вбудувати у вектор і клонувати. Аналізуючи потім кДНК в отриманих клонах, часто важко знайти клони, що містять повнорозмірні кДНК (ті, в яких би був 5'-кінець мРНК). Чому?

3. Намалюйте схему створення рекомбінантної ДНК методом липких кінців, коннекторним та лінкерним методами.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 11

Тема: Методи клітинної інженерії.

Мета: сформувати знання про різномітність методів клітинної інженерії та їх практичне застосування.

Програмні теоретичні питання

1. Клітинна інженерія як метод біотехнології.
2. Поняття про культуру еукаріотичних клітин.
3. Біотехнологічні методи гібридизації соматичних клітин.
4. Біотехнологія трансплантації ядер.
5. Біотехнологія перенесення генів у соматичні клітини за допомогою метафазних хромосом.
6. Біотехнологія перенесення генів у еукаріотичні клітини за допомогою ДНК.
7. Біотехнологія трансформації статевих ембріональних клітин чужорідними генами.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Назвіть і поясніть проблеми культивування еукаріотичних клітин.
2. Які завдання можна вирішувати за допомогою методу культивування клітин *in vitro*?
3. Як отримують клітинні лінії, які необхідні умови для культивування клітин?
4. Як здійснюється соматична гібридизація та яка роль фізіогенних факторів?
5. Яке прикладне значення має соматична гібридизація?
6. Як здійснюється трансплантація ядер та що таке протопласти, каріопласти, міні-клітини?
7. Як отримують клони клітин і організмів?
8. В чому полягають проблеми клонування людини?
9. Як переносять гени за допомогою метафазних хромосом та яке прикладне значення має цей метод?

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.
2. Виконайте практичні завдання:
 - 2.1. Була здійснена соматична гібридизація клітин людини з клітинами миші. Через кілька клітинних поділів утворилися клони, що містили усі хромосоми миші і деякі хромосоми людини. Для встановлення, в якій хромосомі людини локалізований ген резус-фактора проаналізуйте такі результати і дайте відповідь з поясненням.

Номер клону	Хромосоми людини	Резус-фактор
1	2,7,10,15,21	немає

2	4,8,11,13,16	немає
3	1,2,21	є
4	18,20,4,5	немає
5	21,1,4,5,11,15	є

2.2. Перевірка кореляції наявності чи відсутності певної хромосоми з наявністю чи відсутністю відповідного генного продукту має назву *тестування синтенії*.

У таблиці наведений приклад такого тестування: чотири генні продукти (А, В, С, D) перевіряють по відношенню до восьми людських хромосом.

Проаналізуйте приклад гіпотетичного ситенного тестування хромосом людини. Встановіть локалізацію генів, що контролюють продукти А, В, С, D.

Гібридні клітинні лінії	Наявність хромосом людини								Експресія генних продуктів			
	1	2	3	4	5	6	7	8	A	B	C	D
23	+	+	+	+					-	+	-	+
34	+	+			+	+			+	-	-	+
41	+		+		+		+		+	+	-	+

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. При злитті соматичних клітин різного походження утворюються гібридні клітини, що звичайно зберігають лише деякі з хромосом, привнесені кожним партнером під час злиття, і є різними в кожній гібридній клітині. Клітини, в яких відсутній фермент гіпоксантин-гуанін-фосфорибозилтрансфераза (HGPRT), резистентні до 8-азагуаніну (8-azaG), у той час як клітини, що містять тимідин-кіназу (TK), резистентні до 5-бромодезоксиуридину (BudR). Ні HGPRT, ні TK не є необхідними ферментами для клітинного росту за звичайних умов. Для визначення положення генів людини вчена хотіла злити клітини людини, здатні кодувати синтез HGPRT, але не TK, з клітинами миші, що не здатні кодувати HGPRT, але здатні кодувати TK.

- 1.1. Що їй потрібно додати у середовище росту для відбору гібридних клітин, не здатних до утворення ні HGPRT, на TK?
 _____ A. 8- azaG. _____ B. BudR. _____ C. 8- azaG і BudR.
 _____ D. Ні 8- azaG, ні BudR. _____ E. HGPRT. _____ F. TK.
 _____ G. HGPRT і TK. _____ H. Ні HGPRT, ні TK.

Відповідь поясніть. 1.2. Після злиття клітин вона проаналізувала наявність (+) або відсутність (-) п'яти людських ензимів у п'яти різних лініях гібридних

клітин, а також перевірила у цих лініях наявність або відсутність чотирьох специфічних людських хромосом. Результати наведено в таблиці.

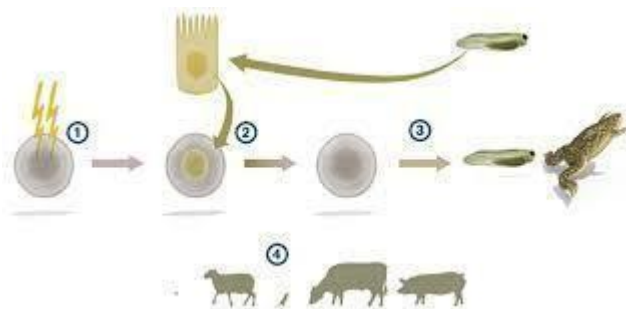
		Лінії гібридних клітин				
		A	B	C	D	E
Людські ензими	I	-	+	-	+	-
	II	-	-	-	-	-
	III	+	-	-	+	-
	IV	+	+	+	+	+
	V	+	-	-	+	-
Людські хромосоми	1	-	+	-	+	-
	3	+	-	-	+	-
	8	-	-	-	+	+
	17	+	+	+	+	+

Впишіть на лінії хромосоми номер ензиму, що кодується відповідним геном, локалізованим у цій хромосомі.

Хромосома 1 _____. Хромосома 3 _____. Хромосома 8 _____. Хромосома 17 _____.

Відповідь поясніть.

2. Визначте, технологія якого методу клітинної інженерії показана на рисунку. Підпишіть, що позначено цифрами 1-4. Коротко опишіть цей метод, наведіть конкретні приклади його практичного застосування.



ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 12

Тема: Клітинні технології у рослинництві.

Мета: навчитися отримувати і культивувати калусні тканини рослин отримання калусної тканини рослин.

Програмні теоретичні питання

1. Культура рослинних тканин і клітин.
2. Калусні та суспензійні культури клітин вищих рослин, методи їх отримання і галузі застосування.
3. Протопласти рослинних клітин, їх отримання, методи регенерації та культивування.
4. Методи гібридизації рослинних клітин.

Питання для обговорення на лабораторному занятті

1. Що таке мікроклональне розмноження рослин?
2. Яка роль фітогормонів у клональному мікророзмноженні рослин?
3. Що називається калусом? Які функції виконує калусна тканина у рослин в умовах *in vivo*?
4. Назвіть напрями використання культури калусної тканини в біотехнології.
5. Які структурні та функціональні зміни характерні для клітин, переходять до дефиренціації і проліферації?
6. Від яких факторів залежить ефективність одержання калусної тканини?
7. В чому суть методики введення експлантів у культуру *in vitro*?
8. Як отримують і використовують клітинні суспензійні культури?
9. Які особливості отримання і культивування протопластів?

Завдання для аудиторної роботи

1. Виконайте тест.

2. Виконайте лабораторну роботу:

Тема: Отримання і культивування калусної тканини рослин.

Мета: навчитися вводити експланти в культуру *in vitro* для отримання калусної тканини рослин.

Завдання:

1. Ознайомитися зі способами стерилізації рослинного матеріалу.
2. Навчитися застосовувати методичні прийоми введення експлантів в культуру *in vitro*.
3. Вивчити особливості культивування рослинних тканин в умовах *in vitro*.

Матеріали і обладнання: молоді пагони культурних рослин, пробірки з живильним середовищем, чашки Петрі, скальпель, пінцет, спиртівка, етанол, 50% розчин препарату «Брадофен», хімічні стакани на 200 мл.

Хід роботи:

1. Підготувати рослинний матеріал. Пагони дослідної рослини витримати в мильному розчині 20 хв, потім промити проточною водою 8 разів, нарізати на сегменти довжиною 3–5 мм. Нарізані пагони загорнути в марлю.

2. Провести стерилізацію рослинного матеріалу за схемою:

- 1) 70 %-ний етанол – 40 секунд;
- 2) промити стерильною дистильованою водою;
- 3) 50 %-ний розчин препарату «Брадофен» – 12 хв;
- 4) промити стерильною дистильованою водою – 3 рази по 5 хв.

3. Стерильний рослинний матеріал покласти в стерильну чашку Петрі.

4. Підготувати робоче місце – ламінарний бокс або стіл в операційній кімнаті. Робочу поверхню обробити етанолом. Інструменти помістити в посуд з 96 %-ним етанолом. Запалити спиртівку.

5. Провести введення експланту в культуру *in vitro*. Краї пробірки та інструменти обпалити в полум'ї спиртівки. Від рослинного матеріалу за допомогою скальпеля відрізати сегмент розміром 0,5x0,5 см і помістити його на поверхню живильного середовища, злегка вдавлюючи. Обпалити краї пробірки та закрити її ватно-марлевою пробкою.

6. Пробірки з експлантами розмістити в культуральній кімнаті за температури 25–28 °С, відносної вологості повітря 60-70 % і 16-годинного фотоперіоду.

7. Провести культивування експлантів впродовж 2 тижнів. Через 7–10 днів вибракувати інфіковані експланти, виявляти ознаки калусогенезу.

8. Здійснити аналіз результатів і зробити висновки згідно мети та завдань лабораторної роботи.

Завдання для самостійної позааудиторної роботи

1. Підготуйте повідомлення про оздоровлення рослин при введенні в культуру *in vitro*.

Рекомендована література

1. Bernard R. Glick, Jack J. Pasternak, Cheryl L. Patten/ Molekular biotechnology. Principles and aplications of recombinant DNA. ASM Press, 2010. 1020 p.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: підручник /за ред. Член-кор НАМН України Ю. І. Губського, професора І. В. Ніженковської. К.: ВСВ «Медицина, 2021. 544 с.
3. Біотехнологія з основами екології: навчальний посібник / І. М. Трохимчук, Н. В. Плюта, І. П. Логвиненко, Р. М. Сачук. Київ: Видавничий дім «Кондор», 2019. 304 с.
4. Біотехнологія: навч. посіб. / О. О. Воронкова та ін. Дніпро: Ліра, 2018. Т.1. 200 с.
5. Біотехнологія рослин: [навчальний посібник] / Т. М. Сатарова, О. Є. Абраїмова, А. І. Вінніков, А. В. Черенков. Дніпропетровськ: Адверта, 2016. 136 с.
6. Дубінін С. І., Пілюгін В. О., Ваценко А. В., Улановська-Циба Н. А., Передерій Н. О., Капрельянц Л. В. Теоретичні основи біотехнології: навчальний посібник. Харків, ФАКТ: 2020. 296 с.
7. Загальна (промислова) біотехнологія: навчальний посібник / М. Д. Мельничук, О. Л. Кляченко, В. В. Бородай, Ю. В. Коломієць. Київ: ФОП Корзун Д. Ю., 2014. 252 с.
8. Задерей Н. С. Біотехнологія рослин: навч.-метод. посібн. / Н. С. Задерей. Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2015. 84 с.
10. Карпов О. В., Демидов С. В., Киряченко С. С. Клітинна та генна інженерія: Підручник. К.: Фітосоціоцентр, 2010. 208 с.
11. Методичні рекомендації до розв'язування типових задач з генної інженерії (для самостійної роботи здобувачів вищої освіти за ОПП 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), 091 Біологія) / укладач Торяник В. М. Суми: ФОП Цьома С. П., 2022. 18 с.
12. Методичні рекомендації до розв'язування типових задач з «Молекулярної біології» (для самостійної роботи здобувачів вищої освіти за ОПП 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), 091 Біологія) / укладач Торяник В. М. Суми: ФОП Цьома С. П., 2022. 32 с.
13. Молекулярна генетика та технології дослідження геному: навч. посіб. / [М. І. Гиль, О. Ю. Сметана, О. І. Юлевич та ін.]; за ред. професора М. І. Гиль. Миколаїв: МНАУ, 2014. 280 с.
14. Новосад Н. В. Молекулярна біологія: навчально-наочний посібник для студентів напряму підготовки «Біологія» денного та заочного відділень. Запоріжжя: ЗНУ, 2012. 120 с.

15. Огурцов А. Н., Близнюк О. Н., Масалитина Н. Ю. Основы генной инженерии и биоинженерии : учеб. пособие : в 2-х ч. Ч. 1. : Молекулярные основы генных технологий. Харьков : НТУ«ХПИ», 2018. 288 с.
16. Остапченко Л. І., Гребіник Д. М. Біохімія нуклеїнових кислот. Навчальний посібник. К.: КНУ ім. Т. Шевченка, 2013. 290 с.
17. Рудишин С. Д. Біотехнологія рослин : навч. посіб. Суми : «Корпункт», 2024. 200 с.
18. Сиволоб А. В. Молекулярна біологія: підручник К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 384 с.
19. Сидорович М. М., Солоня Ю. О. Цитологія з основами молекулярної біології: навчальний посібник для студентів педагогічних і біологічних спеціальностей. ФОП Вишимирський В.С., 2020. 89 с.
20. Столяр О. Б. Молекулярна біологія. К.: Центр навчальної літератури, 2019. 226 с.
21. Чебан Л. М. Загальна біотехнологія: навч.-метод. посібник. Модуль 1. Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2017. 116 с.
22. Шапран Ю. П. Біотехнологія, генна інженерія: навч.-метод. посіб. Переяслав-Хмельницький (Київ.обл.): Домбровська Я., 2019. 132 с.

Інформаційні ресурси

Молекулярна біологія. Новини молекулярної біології. URL: <http://scilib.com/molecular-biology>

EMBL (European Molecular Biology Laboratory) – база даних усіх розшифрованих нуклеотидних послідовностей (ДНК і РНК) Європейської молекулярнобіологічної лабораторії, яка працює при Європейському інституті біоінформатики (the European Bioinformatics Institute (EBI)). URL: <https://www.embl.org/>

Основний інструмент пошуку нуклеотидних послідовностей та поліпептидних послідовностей BLAST. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

База даних аналізу поліпептидних послідовностей ExPASy (Expert Protein Analysis System) Translation Tool – Swiss Institute of Bioinformatics. URL: <http://web.expasy.org/translate/>

База даних аналізу поліпептидних послідовностей EMBOSS Transeq from EBI. URL: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/st/>

UniProt – найбільша якісна база даних, яка містить амінокислотні послідовності білків (консорціум UniProt утворюють Європейський Інститут Біоінформатики (EBI), Швейцарський Інститут Біоінформатики (SIB) та Ресурс Інформації про Протеїни (PIR)). URL: <https://www.ebi.ac.uk/uniprot/index>

База DNA to Protein Translation. URL: <http://bio.lundberg.gu.se/edu/translat.html>

Київська енциклопедія генів і геномів – Kyoto ENCYCLOPEDIA of Genes and genomes. Pathway Database. URL: www.genome.jp/kegg/KEGG

ChEMBL або ChEMBLdb – база хімічних молекул з біоактивними властивостями, що підтримується Європейським Інститутом Біоінформатики (EBI), Європейською Лабораторією Молекулярної Біології (EMBL), розташовується у Wellcome Trust Genome Campus, Хінкстон, Велика Британія. URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/>

URL: <https://www.genome.gov/genetics-glossary>

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

URL: <https://www.genome.gov/human-genome-project>

URL: https://www.sciencedaily.com/terms/molecular_biology.htm

URL: <https://di.uq.edu.au/community-and-alumni/sparq-ed/cell-and-molecularbiologyexperiences/dna-restriction-and-electrophoresis/introduction-molecularbiology>

MERLOT – Multimedia Educational Resource for Learning and Online Teaching. URL: <http://www.merlot.org/merlot/index.htm>. Розділ «Biology». URL: <http://www.merlot.org/merlot/materials.htm?category=2608&soft.hroperty=overallRating>

iLumina–digital library of educational resources for science and mathematics. URL: <http://www.ilumine-dlib.org/index.asp>. Розділ «Biology». URL: <http://www.ilumine-dlib.org/browse.asp?taxon1=Biology>

ben-BioSciEdNet-National for Science Digital Library (NSDL) portal for teaching and learning in the biological sciences. URL: <http://www.bioscienet.org/portal/index.php>. Розділ «Bioinformatics, Genomics and Proteomics». URL: <http://www.bioscienet.org/portal/search/browse.php?step=2&nav=main&by=subject&filter=&value=Bioinformatics+Genomics+Proteomics&freeResourcesOnly=yes>

Офіційний веб-сайт Нобелівської премії. URL: <https://www.nobelprize.org/>

Офіційний сайт онлайн-бібліотеки освітньої та наукової літератури. URL: <https://eduknigi.com> Сайт електронної бібліотеки підручників. URL: <http://studentam.kiev.ua>

Сайт наукової бібліотеки СумДПУ імені А. С. Макаренка. URL: <https://library.sspu.edu.ua/>

Електронне навчальне видання

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних занять
з «**МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ З ОСНОВАМИ**
БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ»
(для студентів спеціальності 014 Середня освіта
(Біологія та здоров'я людини))

Укладач:
ТОРЯНИК Валентина Миколаївна

Комп'ютерний набір і комп'ютерне верстання – *В. М. Торяник*

Суми: СумДПУ імені А.С. Макаренка, 2024 р.
Свідоцтво: ДК №231 від 02.11.2000 р.

СумДПУ імені А. С. Макаренка 40002,
м. Суми, вул. Роменська, 87