**Казахский национальный университет имени аль-Фараби**

**Факультет биологии и биотехнологии**

**Кафедра биотехнологии**

**Программа итогового экзамена по дисциплине**

**MMBT 7302 «Методы молекулярной биологии»**

8D05105 – «Биотехнология», курс – 1

2022 г.

Программа итогового экзамена дисциплины MMBT 7302 «Методы молекулярной биологии»специальности 8D05105 – «Биотехнология» составлена Ултанбековой Г.Д.,

и.о. доцента кафедры биотехнологии

Рассмотрена и утверждена на заседании кафедры биотехнологии

От «15» февраля 2022 г., протокол № 20

Зав. кафедрой \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Кистаубаева А.С.

Рассмотрена и утверждена на заседании методического совета факультета биологии и биотехнологии

От «18» февраля 2022 г., протокол №9

Председатель методического совета \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Асрандина С.Ш.

**ИТОГОВЫЙ ЭКЗАМЕН ПО ДИСЦИПЛИНЕ**

**«Методы молекулярной биологии» Экзамен – п**исьменный стандартный оффлайн

Проводится в системе ИС **Univer.** Формат экзамена – **п**исьменный стандартный оффлайн экзамен. Количество 10-30 вопросов на применение знаний вне зависимости от количества студентов, вне зависимости кредитов для любого уровня образование. **Длительность экзамена:** 3 часа. Форма ответа, написанного от руки студентом на листе бумаги.

**Темы итогового экзамена по дисциплине «Методы молекулярной биологии»**

Гибридизация нуклеиновых кислот. ДНК-зонды. Блоттинг, его виды. Определение нуклеотидных последовательностей ДНК: метод Максама-Гилберта, метод Сэнгера, их модификации.

Методы количественной детекции нуклеиновых кислот. Полимеразная цепная реакция. ОТПЦР. Количественная ПЦР. Спектрофотометрические и флуорометрические методы определения концентрации нуклеиновых кислот.

Методы выделения фаговой ДНК. Методы выделения плазмидной и геномной ДНК из клеток бактерий. Методы выделения геномной ДНК из эукариотических клеток. Методы выделения РНК.

Дифференциальное центрифугирование. Центрифугирование в градиенте плотности. Методы получения ступенчатых и непрерывных градиентов плотности.

Хроматография при низком давлении. Хроматография при высоком давлении. Гельфильтрация. Адсорбционная хроматография. Ионообменная хроматография. Аффинная хроматография. Электрофорез. Изоэлектрическое фокусирование. Иммунный электрофорез.

Спектр электромагнитного излучения, его основные характеристики и способы их выражения (длина волны, частота, волновое число, поток излучения, интенсивность). Ультрафиолетовая, видимая и инфракрасная области спектра. Классификация спектроскопических методов. Рентгеноструктурный анализ.

Методы генетической инженерии: рекомбинантные ДНК. Ферменты генетической инженерии. Рестриктазы и их виды, свойства и особенности воздействия на ДНК. Клонирование ДНК. Плазмиды. Векторы для молекулярного клонирования. Раздел 8 Методы исследования экспрессии эукариотических генов в клетках бактерий. Стабильность гибридных молекул ДНК в клетках бактерий. Направленный мутагенез молекул ДНК in vitro. Получение генов (кДНК) с использованием обратной транскрипции. Химико-ферментативный синтез генов.

Методы перенесения ДНК в клетки бактерий и эукариот. Трансформация, трансфекция, трансдукция, конъюгация. Перенесение ДНК в клетки эукариот, стабильная и транзиентная экспрессия генов (Са-фосфатная трансфекция, электропорация, баллистическая трансфекция, микроинъекции). Репортерные гены. Векторы для встраивания чужеродной ДНК в геном млекопитающих и дрозофилы. Векторные системы на основе вирусов животных. Вирусы насекомых как векторы высокоэффективной экспрессии чужеродных белков. Векторная система на основе транспозонов эукариот. Противовирусные вакцины.

Нокаут и нокдаун генов в эукариотических клетках. РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК (siRNA). Механизм образования siRNA. Подавление экспрессии генов с помощью РНК-интерференции (нокдаун генов). Векторы для РНК-интерференции. Особенности РНК-интерференции у разных организмов (растения, беспозвоночные, млекопитающие). Методы получения нокаута и нокдауна генов у млекопитающих. CRISPRсистема и ее применение.

Способы разрушения бактериальных и эукариотических клеток. Растворы, используемые для экстракции. Буферные растворы и специальные добавки. Оптимизация и осветление экстракта. Особенности приготовления экстрактов растительных и животных тканей и микроорганизмов.

Принципы выделения, очистки и количественного определения белков. Критерии чистоты ферментных препаратов. Денатурация белков и полипептидов. Специфические методы очистки белков (хроматография, электрофорез белков, иммунопреципитация, выявление и картирование эпитопов с помощью моноклональных антител, ультрафильтрация, 7 избирательное осаждение, обратимая денатурация). Реакционная способность боковых цепей аминокислотных остатков в молекулах нативных и денатурированных белков.

Методы исследования посттрансляционных модификаций аминокислотных остатков в молекулах белков (фосфорилирование, гликозилирование, гидроксилирование, сумаилирование, и др.).

Реакции на чужеродные антигены, механизмы этих реакций, их проявление, течение в норме и при патологии. Методы исследования, основанные на этих реакциях. Иммуноферментный анализ. Получение антител с требуемой специфичностью. Пришивание фермента к антителам. Варианты методик ИФА.

Методы исследования ДНК-белковых взаимодействий. Методы футпринтинга. Методы исследования белок-белковых взаимодействий. Вестерн-блоттинг. Коиммунопреципитация. Дрожжевая двугибридная система.

Микроскопические методы изучения живой клетки. Флуоресцентная микроскопия. Источники света. Флуоресцентные фильтры. Детекторы. Конфокальный микроскоп. Цифровое изображение. Обработка и анализ изображения.

Технология микрочипов. Принципы организации. ДНК-микрочипы, белковые микрочипы.

Современные методы геномики: иммунопреципитация хроматина (X-ChIP), DamID, chromosome conformation capture (3C, Hi-C), RIP, CLIP, ChIA-PET, анализ в единичных клетках.

Современные методы массированного определения нуклеотидной последовательности ДНК (NextGenerationSequencing): преимущества и недостатки разных технологических платформ.

Современные методы протеомики. Хроматография, двумерный электрофорез. Методы массспектрометрии.

**Критерии оценивания**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Оценка  по буквен-ной системе | Цифро-вой эквивалент | Баллы (%-ное содержание) | Оценка  по традиционной системе |
| А | 4,0 | 95-100 | **Отлично-** студент владеет знаниями предмета в полном объеме учебной программы, достаточно глубоко осмысливает дисциплину; самостоятельно, в логической последовательности и исчерпывающе отвечает на все вопросы билета, подчеркивал при этом самое существенное, умеет анализировать, сравнивать, классифицировать, обобщать, конкретизировать и систематизировать изученный материал, выделять в нем главное: устанавливать причинно-следственные связи; четко формирует ответы, свободно читает результаты анализов и других исследований и решает ситуационные задачи повышенной сложности; хорошо знаком с основной литературой |
| А- | 3,67 | 90-94 |
| В+ | 3,33 | 85-89 | **Хорошо** - студент владеет знаниями дисциплины почти в полном объеме программы (имеются пробелы знаний только в некоторых, особенно сложных разделах); не всегда выделяет наиболее существенное, не допускает вместе с тем серьезных ошибок в ответах; умеет решать легкие и средней тяжести ситуационные задачи; умеет трактовать лабораторные и инструментальные исследования в объеме, превышающем обязательный минимум. |
| В | 3,0 | 80-84 |
| В- | 2,67 | 75-79 |
| С+ | 2,33 | 70-74 |
| С | 2,0 | 65-69 | **Удовлетворительно** студент владеет основным объемом знаний по дисциплине; проявляет затруднения в самостоятельных ответах, оперирует неточными формулировками; в процессе ответов допускаются ошибки по существу вопросов. Студент способен решать лишь наиболее легкие задачи, владеет только обязательным минимумом методов исследований. |
| С- | 1,67 | 60-64 |
| D+ | 1,33 | 55-59 |
| D- | 1,0 | 50-54 |
| FX | 0,5 | 25-49 | **Неудовлетворительно**  студент не освоил обязательного минимума знаний предмета |

**Рекомендуемые источники литературы для подготовки к экзамену**

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М., Мир, 2002. – 589 с.

2. Уилсон К., Уолкер ДЖ. Принципы и методы молекулярной биологии. Бином, 2013. – 848 с.

3. Шмид Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия. М., Бином, 2014. – 324 с.

4. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. БЕН РАН, 2004. - 526 с.

5. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. С-Петербург. Гос. Техн. Ун-т, 1999 – 521 с.

6. Тихов Г.Л. Основы биотехнологии: методические рекомендации. Альтаир: МГВАТ, 2009. – 133 с.

7. Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия. М., Бином, 2011.

Интернет ресурсы:

1. https://elibrery.kaznu.kz/ru

2. <http://znanium.com/catalog/product>

3. [https://urait.ru/book/processy-i-apparaty-biotehnologii-fermentacionnye-apparaty](https://urait.ru/book/processy-i-apparaty-biotehnologii-fermentacionnye-apparaty-431495)

4. [https://urait.ru/book/processy](https://urait.ru/book/processy-i-apparaty-zaschity-okruzhayuschey-sredy-v-2-ch-chast-1-434568)

5. [http://znanium.com/catalog/product](http://znanium.com/catalog/product/519990)

**Лектор \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Ултанбекова Г.Д.**