

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ІКБГІ НАН України,
академік НАН України



Микола КУЧУК

28 червня 2023 р.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

**Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та
еукаріотичних організмів**

для здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії

галузь знань 09 «Біологія»

спеціальність 091 «Біологія та біохімія»

профілі підготовки

«Біотехнологія», «Цитологія, клітинна біологія, гістологія», «Радіобіологія»

КИЇВ – 2023

Робоча програма навчальної дисципліни «Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів» для здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» за профілями підготовки «Біотехнологія», «Цитологія, клітинна біологія, гістологія», «Радіобіологія».


27 червня 2023 року – 30 с.

Укладач програми:

Марія БАННИКОВА,

с.н.с. відділу молекулярної генетики

ІКБГІ НАН України, к.б.н.



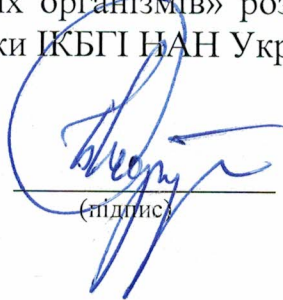
(підпис)

Робоча програма дисципліни «Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів» схвалена на засіданні вченої ради ІКБГІ НАН України (протокол № 5 від 23 травня 2016 року). Внесені зміни затверджено на засіданні вченої ради ІКБГІ НАН України (протокол № 5 від 4 червня 2019 року).

В зв'язку з внесенням змін до переліку галузей знань і спеціальностей, за якими здійснюється підготовка здобувачів вищої освіти (постанова КМУ від 16 грудня 2022 р. № 1392), внесено відповідні зміни до робочої програми дисципліни «Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів», що схвалено на засіданні вченої ради ІКБГІ НАН України (протокол № 2 від 7 березня 2023 року та протокол № 5 від 27 червня 2023 року).

Робоча програма дисципліни «Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів» розглянута та схвалена на засіданні відділу молекулярної генетики ІКБГІ НАН України.

В.о. завідувача відділу д.б.н.



(підпис)

Богдан МОРГУН

26 червня 2023 р.

ВСТУП

Навчальна дисципліна «Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів» є складовою освітньо-наукової програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» за профілями підготовки «Біотехнологія», «Цитологія, клітинна біологія, гістологія» та «Радіобіологія» і є навчальною дисципліною за вибором аспірантів.

Викладається на II курсі аспірантури **в обсязі – 150 годин (5 кредитів ECTS)** зокрема: лекції – 90 годин, семінари – 16 годин, самостійна робота – 44 годин. Курс завершується диференційованим заліком.

Мета дисципліни – надання знань з молекулярно-біологічних основ функціонування про- та еукаріотичних організмів, про загальні універсальні принципи структурної організації біологічних макромолекул, їх функціонування та взаємодію між ними, які лежать в основі здійснення біологічних функцій.

а) вивчення принципів організації ДНК, РНК, білків та їх функціонування у про- та еукаріот:

- спосіб збереження генетичної інформації, механізм її передачі дочірнім клітинам та реалізація генетичної інформації;
- організація генетичного апарату у різних організмів і різних органел клітин;
- механізми реплікації ДНК у про- та еукаріот;
- механізми репарації та рекомбінації ДНК;
- структура і функції різних типів РНК, їх процесінг;
- транскрипція та біосинтез білків і інших біомолекул, регуляція цих процесів;

б) культивування та клонування клітин *in vitro*, вивчення процесів диференціації та дедиференціації клітин:

- структурна організація та функціонування клітин, особливості будови рослинних клітин;
- будова і функціонування ядра;
- молекулярна організація хроматину та його роль у регуляції активності генів;
- просторова організація хромосом в ядрі і регуляція генної активності;
- клітинний цикл, його регуляція, мітоз, особливості мітозу у різних організмів;
- принципи культивування клітин і тканин рослин *in vitro*;
- процеси дедиференціації, вторинної диференціації і морфогенезу *in vitro*;
- напрямки створення нових технологій на основі культивованих тканин і клітин;
- створення на базі клітинних технологій нових організмів з заданими властивостями;
- використання клітинних технологій в теоретичних та практичних цілях.

Завдання –

1. дати уявлення про загальні універсальні принципи структурної організації біологічних макромолекул, їх функціонування та взаємодію між ними, які лежать в основі здійснення біологічних функцій;
2. познайомити з принципами організації ДНК, РНК, білків та їх функціонуванням у про- та еукаріот;
3. надати новітню інформацію стосовно способу збереження генетичної інформації, механізму її передачі дочірнім клітинам та реалізації генетичної інформації – експресії генів;
4. ознайомити з організацією генетичного апарату у різних організмів і різних органел клітин і, відповідно, механізмами реплікації ДНК у про- та еукаріот;
5. познайомити з механізми репарації та рекомбінації ДНК;
6. дати уявлення про структуру і функції різних типів РНК, їх процесінг;
7. надати інформацію стосовно транскрипції та біосинтеза білків і інших біомолекул, регуляції цих процесів;
8. сформувавати уявлення про культивування та клонування клітин *in vitro* та процеси, які відбуваються у клітинах під час культивування;
9. ознайомити із структурною організацією та функціонуванням клітин, особливостями будови рослинних клітин;
10. познайомити з будовою і функціонуванням ядра, молекулярною організацією хроматину та його роллю у регуляції активності генів;
11. дати уявлення про просторову організацію хромосом в ядрі і регуляцію генної активності;
12. надати інформацію стосовно клітинного циклу, його регуляції, мітозу, особливостей мітозу у різних організмів;
13. познайомити з процесами дедиференціації клітин, вторинної диференціації і морфогенезу *in vitro*;
14. сформувавати уявлення про нові технології на основі культивованих тканин і клітин, про створення на базі клітинних технологій нових організмів з заданими властивостями, про використання клітинних технологій в теоретичних та практичних цілях.

В результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен **знати:**

- механізми збереження генетичної інформації;
- принципи комплементарності в молекулярно-біологічних процесах;
- передача інформації від ДНК до РНК, від мРНК до білку, участь малих РНК у молекулярно-біологічних процесах;
- генетичний код, який використовується живими системами для перекладу нуклеотидного тексту в послідовність амінокислот у складі білка та контроль експресії генів;
- молекулярну організацію хроматину;
- застосування клітинних технологій в різних галузях біології, медицини, сільського господарства;

- застосування культивованих клітин для виробництва біологічно активних речовин, використання їх у фармакології, медицині та для збереження зникаючих видів;

вміти:

- планувати досліди з урахуванням отриманих знань;
- передбачати наслідки втручання в генетичні системи про- та еукаріот;
- інтерпретувати отримані результати;

володіти: навичками молекулярно-біологічного аналізу нуклеїнових кислот, білків та процесів, що відбуваються у клітині.

Місце дисципліни (в структурно-логічній схемі підготовки фахівців відповідного напрямку підготовки).

Навчальна дисципліна «**Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів**» є обов'язковою навчальною дисципліною програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «Біотехнологія», «Цитологія, клітинна біологія, гістологія» та «Радіобіологія».

Дисципліна є базовою; висвітлює універсальні принципи структурної організації біологічних макромолекул (ДНК, РНК, білків), їх функціонування у про- та еукаріот та взаємодію між ними; структурну організацію та функціонування клітин, ядра і хроматину (у еукаріот), використання клітинних технологій в теоретичних та практичних цілях.

Зв'язок з іншими дисциплінами.

Навчальна дисципліна «**Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів**» є базовою для засвоєння знань та вмінь у системі професійної підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «Біотехнологія», «Цитологія, клітинна біологія, гістологія», «Радіобіологія», зокрема таких як універсальні принципи структурної організації біологічних макромолекул (ДНК, РНК, білків), їх функціонування у про- та еукаріот та взаємодію між ними; структурну організацію та функціонування клітин, ядра і хроматину (у еукаріот), використання клітинних технологій в теоретичних та практичних цілях та уміння передбачати наслідки втручання в генетичні системи про- та еукаріот.

ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Змістовий модуль 1. Форми існування ДНК та геноми.

Тема 1. Форми існування та конформаційні переходи ДНК. (2 години)

Докази генетичної функції ДНК. Методи молекулярної біології. Фізичні властивості молекули ДНК. Структура і функції нуклеїнових кислот, відмінність РНК від ДНК, нуклеозиди і нуклеотиди. Первинна структура ДНК – полінуклеотидний ланцюг. Особливості структури ланцюга. Нуклеази. Вторинна структура ДНК – подвійна спіраль, комплементарність основ. Кооперативність взаємодії між ланцюгами ДНК, великий та маленький жолобок. Стабілізація подвійної спіралі. Конформаційні параметри подвійної спіралі. Конформаційні форми ДНК: А, В і Z, їх фізичні параметри. Конформація В-ДНК. А- і В-родина форм ДНК. Z-ДНК – ліво-закручена ДНК. Кодуючий ланцюг ДНК. Денатурація і ренатурація ДНК. Нуклеотидні послідовності ДНК, які визначають конформацію ДНК, гнучкість або жорсткість молекули. Конформаційні переходи в ДНК.

Комплементарні пари основ Уотсона - Кріка і Хугстіна, їх властивості. Потрійна спіраль ДНК (триплекси), неканонічна Н-форма ДНК. Квадруплекси (тетраплекси). Теломерна ДНК. Паліндром. Хрестоподібні структури ДНК. Третинна структура ДНК.

Кільцеві молекули ДНК. Топологічні і геометричні характеристики кільцевих замкнених ДНК: порядок (число) зачеплень (Lk), твіст (Tw), райзинг (Wr); щільність надвитків (σ), зв'язок між ними – формула Уайта. Поняття про надспіралізацію ДНК. Параметри надспіралізованої ДНК. Негативна і позитивна надспіралізація. Конформаційні переходи в надспіралізованій молекулі ДНК. Топоізмери ДНК, їх типи. ДНК-топоізомерази, механізми їх дії. ДНК-гіраза бактерій. Катенани. Біологічне значення надспіралізації ДНК.

Тема 2. Реплікація ДНК у бактерій. (2 години)

ДНК-полімерази, що беруть участь в реплікації, їх доменна структура та характеристика їх ферментативної активності. Точність відтворення ДНК. Роль стеричних взаємодій між парами основ ДНК при реплікації. Полімерази I, II і III *E. coli*, їх властивості. Субодиниці полімерази III. Голофермент ДНК-полімерази. Процесивність синтезу ДНК-полімераз. Полімерази ("мутази"), що забезпечують неточне відтворення ДНК. Редагування помилок. Координація синтезу ДНК на комплементарних ланцюгах. Реплісома та інші елементи системи реплікації. Ініціація реплікації в бактерій. Регуляція ініціації реплікації у *E. coli*. Структура ділянки старту реплікації. Праймосома. Стадії елонгаційного циклу. Термінація реплікації у бактерій. Топологічні проблеми, пов'язані з реплікацією.

Тема 3. Реплікація ДНК у еукаріот. (2 години)

Особливості еукаріотичної системи реплікації. Еукаріотичні ДНК-полімерази, їх властивості. Ініціація реплікації в еукаріотів. Пререплікативний комплекс. Праймаза – ДНК-полімераза α . Особливості праймера еукаріот. Переключення полімераз. Роль фосфорилування в ініціації реплікації у еукаріотів. Фрагменти Оказакі та особливості їх "процесінгу". Білки, що приймають участь у реплікації еукаріот. Реплікони еукаріот, мінливість їх розмірів. Поняття про стаціонарні "реплікативні фабрики". Відмінності про- та еукаріотичних принципів та механізмів реплікації. Структурні зміни хроматину під час реплікації. Проблема реплікації лінійного незамкненого фрагмента ДНК. Теломера і теломерні повтори. Теломераза, її РНК-компонент.

Тема 4. Репарація ДНК. (2 години)

Джерела та причини пошкоджень ДНК. Порушення, які виникають в ДНК, їх основні типи. Класифікація типів репарації ДНК: пряма репарація, ексцизійна репарація, репарація некомплементарних пар основ – місметчів, репарація без репарації (SOS- репарація), репарація дволанцюгових розривів.

Пряма репарація тимінових димерів і метильованого гуаніну. Метилтрансферази. Фотореактивація. Ексцизійна репарація (BER та NER). Вирізання основ (BER). Глікозилази. Ексцизія пошкоджених нуклеотидів (NER). Комплекс ферментів, що здійснює ексцизійну репарацію. Механізм репарації неспарених нуклеотидів – некомплементарних пар основ. Вибір ланцюга ДНК, який потрібно репарувати. SOS-репарація (репарація без репарації). Властивості ДНК полімераз, що беруть участь у SOS-репарації (ДНК - мутази), у прокариотів і еукаріотів. Репарація дволанцюгових розривів: гомологічна постреплікативна рекомбінація і об'єднання негомологічних фрагментів молекули ДНК. Сигнали, що забезпечують репарацію дволанцюгових розривів і затримку реплікації ДНК до завершення репарації.

Тема 5. Рекомбінація ДНК. (2 години)

Класифікація типів рекомбінації ДНК: загальна або гомологічна рекомбінація, сайт-специфічна рекомбінація, незаконна рекомбінація, транспозиція мобільних елементів.

а) Загальна або гомологічна рекомбінація. Дволанцюгові розриви ДНК, які ініціюють рекомбінацію. Роль рекомбінації в постреплікативній репарації дволанцюгових розривів. Структура Холлідея в моделі рекомбінації. Міграція гілки, гетеродуплекси, розділення структури Холлідея. Постмейотична сегрегація у дріжджів як доказ виникнення гетеродуплекса при рекомбінації. Ензимологія загальної рекомбінації у *E.coli*. RecBCD комплекс. RecA білок. Пресинаптичний ланцюг, параметри його молекулярної структури. Обмін ланцюгів ДНК при синапсі. Ферменти, що беруть участь у міграції гілки та розділенні структури Холлідея. Роль рекомбінації в забезпеченні синтезу ДНК при пошкодженнях ДНК, які переривають реплікацію. Рекомбінація у еукаріот. Ферменти рекомбінації у еукаріотів. Ортологи RecA білка. Синаптонемний

комплекс. Генна конверсія, асиметричність генної конверсії. Спеціалізовані системи гомологічної рекомбінації. Локус спаровування у дріжджів, перемикання типів спаровування.

б) Сайт-специфічна рекомбінація та незаконна рекомбінація. Відмінності молекулярних механізмів загальної і сайт-специфічної рекомбінації. Класифікація рекомбіназ: інтегрази та інвертази. Типи хромосомних перебудов, здійснюваних при сайт-специфічній рекомбінації. Сайт-специфічна рекомбінація у бактеріофага лямбда (інтегративна рекомбінація). Інвертаза фага мю, її роль у виборі господаря. Регуляторна роль сайт-специфічної рекомбінації у бактерій: система сайт-специфічних інверсій ДНК бактерій (Din). Незаконна рекомбінація. V(D)J-рекомбінація імуноглобулінових генів (поєднання сайт-специфічної та незаконної рекомбінації).

Тема 6. Структурно - функціональна організація геномів. (2 години)

Організація геномів. Генетичний код. Гени. Геноми. Прокаріотичні і вірусні геноми. Гени багатоклітинного організму.

а) Бактеріальний геном. Характеристика геномної ДНК. Компактизація ДНК бактерій. Надспіралізовані петлі нуклеоїда. ДНК-зв'язуючі білки петель, структура і функції. Роль доменної організації у функціонуванні бактеріального генома.

б) Геном еукаріот. Структурні елементи генома: поліпуринові та поліпіримідинові блоки, обернені повтори, сателітна ДНК, помірно повторювані і унікальні послідовності. Типи повторів. Функції структурних елементів геному. Основні властивості геному еукаріот: надмірність, компактність, компартменталізація і нестабільність. Відмінності генома еукаріот від генома прокаріот.

в) Організація геному рослин, суттєва різниця між геномом рослин і тварин. Особливості **ядерного геному рослин.** Еволюція нуклеотидних послідовностей ДНК рослин.

Тема 7. Геном хлоропластів рослин. (2 години)

Вміст ДНК в хлоропластах. Нуклеоїд. Розмір і нуклеотидний склад хлДНК. Структура хлДНК. Інтрони. Основні зони хлДНК. «Генетичні» і «фотосинтетичні» гени хлДНК. Експресія хлоропластних генів. Особливості транскрипції в хлоропластах. Взаємодія ядерного та хлоропластного геномів. Теорія виникнення хлоропластного геному.

Тема 8. Геном мітохондрій рослин. (2 години)

Особливості структури мтДНК. Великі і малі рекомбінаційні повтори. Мітохондріальні плазмідні. Вміст мтДНК. Гени мітохондріального геному рослин. Інтрони. Експресія мітохондріальних генів. Особливості транскрипції в мітохондріях. Особливості системи репарації в мітохондріях. Редагування РНК.

Змістовий модуль 2. Молекулярні основи клонування рослин.

Тема 1. Будова клітин як об'єктів клонування. (4 години)

Компартменталізація клітин. Будова клітинної оболонки рослинної клітини: клітинна стінка та плазмалема. Компоненти клітинної стінки у вищих рослин. Шари клітинної стінки. Ріст клітинної стінки у рослин. Плазмодесми. Плазмалема (будова і функції). Мембранні структури і мембранний транспорт, ліпіди клітинної мембрани, ліпідний бішар, білки мембран, типи транспорту малих молекул, іонні канали. Передача інформації через клітинну мембрану, білкові канали, транспортери та рецептори. Цитопlasма. Цитоскелет. Актинові філаменти. Мікротрубочки. Вакуолі та тонопласт. Лізосоми. Пластиди: пропластиди, лейкопласти, хлоропласти, хромопласти, амілопласти (будова, функції, перетворення пластид). Мітохондрії. Мікротільця (гліоксісоми, пероксісоми). Рибосоми (2 типа рибосом в рослинній клітині – цитоплазматичні та органельні, їх характеристика). Ендоплазматичний ретикулум, апарат Гольджі – взаємозв'язок та перетворення мембран. Транспорт білків у мітохондрії і хлоропласти. Транспорт з ендоплазматичного ретикулуму до апарату Гольджі, мережа транс-гольджі і лізосоми, ендоцитоз, екзоцитоз. Порівняльна характеристика будови клітин у бактерій, рослин і тварин. Підсумок: особливості будови рослинної клітини.

Тема 2. Ядро клітини. (4 години)

Будова ядерної оболонки (внутрішня та зовнішня мембрана). Ламіна (будова – проміжні філаменти, функції). Ядерні пори (будова, властивості). Ядерно-цитоплазматичний транспорт: дифузія та активний транспорт. Рап-цикл. Механізми імпорту білків у ядро та експорту з ядра. Нуклеопlasма. Ядерце (будова, функції). Синтез рибосом у клітинах еукаріот. Інші включення ядра.

Тема 3. Ядерний матрикс. (2 години)

Упаковка ДНК / хроматина у ядрі. Утворення петель хроматину. Динамічні та конститутивні петлі хроматину. Ядерне гало. SAR/MAR послідовності ДНК. Хромосомні території. Градієнт транскрипційної активності. Випетлювання ДНК. Інтерхроматиновий домен (будова, компартменти інтерхроматинового домену). Переміщення геномних доменів в ядрі. Активні і неактивні зони ядра.

Тема 4. Хроматин. Молекулярна організація хроматину. (2 години)

Гістонові та негістонові білки хроматину. Гістони. Нуклеосома як одиниця структурної організації хроматину. Октамер гістонів у складі нуклеосоми. Лінкер і лінкерні гістони. Гістон H1. Варіанти білків-гістонів, посттрансляційні модифікації гістонових хвостів, хімічні модифікації гістонів: ацетилювання, фосфорилювання, метилування, убіквітинування і ADP-рібозилування. Поняття про "гістоновий код". Збирання нуклеосом при реплікації ДНК, його етапи.

Тема 5. Хроматин і регуляція активності генів. (2 години)

Розташування нуклеосом на молекулі ДНК. Нуклеосомна фібрила 30 нм. Наднуклеосомна упаковка хроматинової фібрили. Моделі організації хроматинової фібрили. Структура і динаміка хроматинової фібрили. Петльові домени хроматину та ядерний матрикс. Комплекси ремоделювання хроматину. АТФ-залежне ремоделювання хроматину. Роль нуклеосомної структури в активації експресії генів. Некодуючі РНК як структурний компонент хроматину. Регуляція структури хроматину, активний і неактивний хроматин, гетерохроматин і еухроматин.

Тема 6. Клітинний цикл. (4 години)

Два періоди клітинного циклу: інтерфаза та клітинне ділення. Інтерфаза: пресинтетична стадія G1, точка рестрикції R, синтетична фаза S, постсинтетична фаза G2. Контрольні точки клітинного циклу. Зупинка клітинного циклу (коли відбувається, фактори, які викликають зупинку клітинного циклу). Тривалість клітинного циклу і різних його фаз (дріжджі, ссавці, рослини). Фаза G0 – фаза проліферативного спокою. Регуляція клітинного циклу. Позитивна (комплекси Cus/CDK і транскрипційні фактори E2F) і негативна (інгібітори циклін-кіназних комплексів - p15, p16, p21 та білки p53, pRB, p107, p130) регуляція клітинного циклу. Зовнішні сигнали, які стимулюють або інгібують проходження клітинного циклу. Циклінзалежні кінази (CDK). Цикліни (Cus). Деградація циклінів, протеасоми. Механізми регуляції активності CDK (зв'язування з цикліном, фосфорилування за допомогою САК, фосфорилування інгібуючого сайту, зв'язування з інгібіторами SKI). Інгібітори клітинного циклу – SKI (сімейство інгібіторів p21 та група інгібіторів INK4). Регуляція початку клітинного циклу та фази G1. Регуляція переходу G1 – S. Регуляція S фази. Регуляція переходу S - G2. Циклін-CDK комплекси в мітозі. Ініціація мітозу, MPF-фактор. APC - комплекс стимуляції анафази.

Тема 7. Період клітинного ділення (фаза М): мітоз та цитокінез. (2 години)

Типи мітозу в залежності від: 1) ступеня деградації ядерної оболонки, 2) локалізації центрів організації мікротрубочок, 3) наявності центріолей, 4) за результатами поділу клітин. Порівняння астрального (тварини) та анастрального (вищі рослини) типу мітозу. Центросома. Склад мітотичного веретена. Центромери та кінетохори. ДНК в районі центромери, особливості структурної організації. Фази мітотичного ділення. Механізм розходження хромосом в анафазі. Цитокінез. Порівняння цитотомії клітин тварин і рослин. Динаміка ядерної оболонки протягом мітозу, роль ламіни в структурних перебудовах ядерної оболонки. Ядерце в мітозі. Особливості мітозу у вищих рослин.

Тема 8. Конденсація і розходження хромосом в мітозі. (2 години)

SMC білки. Когезин. Клейзин. Завантаження когезина на хроматин. Білки, які беруть участь у когезії. CPC-комплекс (комплекс хромосомних пасажирів): локалізації, склад. Конденсація інтерфазного хроматину в мітотичні хромосоми. Конденсин, білки CAP. Перехід метафаза – анафаза. Розділення сестринських хроматид. Сепараза.

Тема 9. Культура клітин і тканин рослин *in vitro*. (4 години)

Культура клітин вищих рослин. Сфера застосування культур рослинних клітин. Напрямки створення нових технологій на основі культивованих тканин і клітин рослин. Тотіпотентність рослинних клітин. Культивування рослинних клітин та їх особливості. Фітогормони. Дедиференціація і калюсогенез *in vitro*. Початок дедиференціації. Процеси, які відбуваються в клітині під час дедиференціації. Морфологічна характеристика калюсних тканин. Типи калюсних тканин. Цикл вирощування калюсів. Мінливість у вирощуваних *in vitro* клітин (причини, рівень і частота мінливості). Гетерогенність калюсних тканин. Типи клітинних популяцій (стабільні, гетерогенні, стабільно-гетерогенні). Диплоїдизація популяції (автоселекція). Індукована стабілізація популяції клітин. Формування штаму. Схема отримання штаму культивованих клітин рослин. Вторинна диференціація і морфогенез *in vitro*. Наслідки вторинної диференціації – цитодиференціації (утворення гістологічних структур, органогенез, соматичний ембріогенез). Індукція морфогенезу (неоднорідність клітинних популяцій). Типи морфогенезу *in vitro*: а) коренеутворення, б) утворення стеблових та квіткових бруньок. Типи клітин, які властиві калюсній тканині (дрібні, середні, великі). Дрібні клітини - джерело меристематичних осередків, гемогенезу та різогенезу. Середні – джерело утворення ембріодів. Морфогенні та неморфогенні калюси. Фази морфогенезу. Фактори, які впливають на морфогенез *in vitro*. Гормональна теорія регуляції органогенезу. Типи регенерації *in vitro*: пагоноутворення (регенерація з калюсу) та пряма регенерація (безпосередньо з експланта), соматичний ембріогенез.

Тема 10. Суспензійні культури рослинних клітин. (2 години)

Сфери застосування. Отримання, субкультивування та підтримання суспензійних культур. Характеристика ліній, які використовують для отримання суспензійних культур. Системи культивування (закрита та відкрита). Параметри культури клітинних суспензій. Синхронізація, індуктори синхронізації.

Тема 11. Протопласти рослин. (2 години)

Способи отримання та культивування протопластів. Використання протопластів. Виділення протопластів (механічний та ензиматичний методи). Вихідний матеріал для отримання протопластів. Ензиматичний метод виділення протопластів. Ферменти для руйнування клітинної стінки рослин (целюлази, геміцелюлази та пектинази). Етапи виділення протопластів. Умови виділення протопластів. Осмотичні стабілізатори. Протокол виділення протопластів. Культивування протопластів. Середовища та умови культивування протопластів. Метод рідких крапель. Метод платування. Індивідуальне культивування протопластів в мікрокраплях. Збагачені середовища. Культури-няньки. Культивування індивідуальних преселектованих протопластів.

Тема 12. Соматична гібридизація рослинних клітин (4 години)

Отримання трансгеномних рослин. Напрямки досліджень з соматичної гібридизації. Методологічні основи соматичної гібридизації. Хімічні та фізичні методи злиття протопластів. Спектр форм, отриманих при соматичній гібридизації: симетричні гібриди, асиметричні гібриди, цибриди, поліплоїди, мозаїки. Відбір бажаних продуктів злиття протопластів. Доля цитоплазматичного та ядерного геномів після злиття протопластів. Соматична гібридизація віддалених видів рослин: міжвидові, міжродові, міжтрибні та міжродинні гібриди. Характерні особливості соматичних гібридів вищих рослин. Відмінності статевої і соматичної гібридизації.

Тема 13. Генетична інженерія рослин. (4 години)

Задачі, які вирішуються при створенні трансгенних (біотехнологічних) рослин. Вимоги, яким повинні відповідати системи трансформації. Генетичні конструкції (вектори) для генетичної трансформації рослин, їх особливості (селективні та маркерні гени, промотори), створення (генетичні вектори на основі Tі та Rі плазмід *Agrobacterium tumefaciens* та *Agrobacterium rhizogenes*, штучні хромосоми (міні хромосоми) – ВАС, YAC), бінарні та коінтегративні системи, клонування генетичних конструкцій. Методи отримання трансгенних рослин. Отримання трансгенних рослин без маркерних генів (котрансформація, транспозони, CRE-lox система). Отримання транспластомних рослин (трансформація хлоропластної ДНК) – особливості та переваги.

Змістовий модуль 3. Біогенез РНК, транскрипція та синтез білків.

Тема 1. Транскрипція у прокариот. (2 години)

Відмінності транскрипції від реплікації. Загальна характеристика процесу транскрипції. Стартова точка транскрипції. Транскрипція як перша стадія та ключовий рівень регуляції експресії генів. Чотири стадії транскрипції: розпізнавання матриці, ініціація, елонгація та термінація.

РНК-полімерази фагів T3 та T7 як модельні системи. РНК-полімераза *E. coli*: особливості будови, кор-фермент і σ -фактор (його доменна структура,

зв'язування з промотором), голофермент (σ -фактор β - і β' -субодиниці, α -субодиниця, ω -субодиниця). Промотор прокариот, консервативні і консенсусні послідовності. Типові елементи промотора на прикладі промотора *E. coli*. Мутації в промоторних ділянках, їх вплив на ініціацію (на ефективність промотора). ДНК-РНК гібриди. Основні етапи транскрипції. Етапи ініціації, відкриті та закриті комплекси в ініціації. Моделі зв'язування РНК-полімерази з промотором. Суперзкрученість ДНК і транскрипція. Модель подвійного домену. Основний і альтернативні σ -фактори. Типи σ -факторів. Каскади σ -факторів. Абортивна ініціація. Елогація транскрипції. Етапи елонгації транскрипції. Відокремлення σ -фактору. Транслокація РНК-полімерази вздовж матриці, транскрипційний комплекс. Редагування помилок. Термінація транскрипції, типи термінаторів. ρ -незалежна термінація. Структурні особливості ρ -незалежних термінаторів. ρ -фактор. ρ -залежна термінація. Ефект полярності. Антитермінація.

Тема 2. Транскрипція у еукаріот. (4 години)

Три типи РНК-полімераз та гени, які вони транскрибують. Структура РНК-полімераз. Загальні (general) фактори транскрипції. Промотори еукаріот (класи I, II та III). Залежність ініціації транскрипції від «позиціонуючих» факторів, до складу яких входять ТВР і асоційовані з ним білки (TAFs). Преініціаторні комплекси (PIC). Ініціація транскрипції для еукаріотичних РНК-полімераз.

РНК-полімераза I. Структура промотора, CORE (ядро), UCE (UCE) ділянка, Inr (ініціатор). Особливості промотора для РНК-полімерази I (відсутність ТАТА-бокса). Фактори, які зв'язуються з промотором: UBF та SL1 фактори.

Транскрипція білкових генів. Регуляторні послідовності промотора: ТАТА-бокс (блок Хогнеса), СААТ-бокс, GC-бокс, цис-елементи, енхансери, сайленсери. Мінімальний промотор (Ініціатор Inr, ТАТА-бокс, DPE). РНК-полімераза II, особливості структури. Фактори транскрипції (TF_{II}A, TF_{II}B, TF_{II}D, TF_{II}E, TF_{II}F, TF_{II}H) РНК-полімерази II. Послідовність збирання преініціаторного комплексу. Особливості функціонування TF_{II}H, та процеси, в яких він задіяний. Медіатор. Особливості ініціації транскрипції РНК-полімеразою II. Допоміжні фактори транскрипції.

РНК-полімераза III. Три типи промоторів – залежність структури промотора від генів, які транскрибує РНК-полімераза III. Поняття про внутрішні промотори, їх типи. Фактори TF_{III}A, TF_{III}B, TF_{III}C.

Тема 3. Регуляція транскрипції. РНК інтерференція (4 годин)

Загальне уявлення про білки-регулятори транскрипції: активатори, репресори, індуктори (ефектори), коактиватори, корепресори. Механізми дії активаторів: взаємодія з α -субодиницею, з σ -фактором, зміни конформації промотора. РНК-інтерференція (siРНК та microРНК). Метилування ДНК. Енхансери, енхансеросома (енхансосома). Інсулятори. Необхідність регуляції метаболізму, рівні регуляції експресії генів (претранскрипційний, транскрипційний, посттранскрипційний, трансляційний, посттрансляційний).

Механізми активації і репресії транскрипції у про- і еукаріотів. Претранскрипційний і транскрипційний рівні регуляції, ампліфікації, делеції, дуплікації генів, транспозиція генетичних елементів. Трансляційний рівень регуляції експресії генів. Цис-послідовності і транс-продукти. Негативна і позитивна регуляція експресії генів. Активатори і репресори. Явище індукції. Lac-оперон, trp-оперон. Катаболічна репресія. РНК-опосередкована регуляція експресії генів. Альтернативні вторинні структури. Атенуація. Малі регуляторні молекули РНК. Механізми дії регуляторної РНК. РНК-перемикачі (riboswitches). Регуляція експресії генів на рівні дозрівання РНК. Редагування РНК. Неспецифічна регуляція загального рівня транскрипції. Зовнішня регуляція активності транскрипційних факторів.

Тема 4. Структура і функції різних типів РНК. (2 години)

Кодуючі та некодуючі РНК. Структура, властивості і функції РНК, первинна та вторинна структури, особливість вторинної структури. Кодуючі – інформаційні (матричні) РНК. Некодуючі, які приймають участь у трансляції, – рРНК и тРНК. Рибосомні РНК. Транспортні РНК. Малі інтерферуючі РНК – регуляція процесів, що відбуваються у клітині.

Інформаційні (матричні) РНК та мяРНК.

Моноцистронні та поліцистронні мРНК. мРНК прокариот: цистрони, міжцистронні ділянки, лідерна послідовність, послідовність Шайна-Дальгарно, трейлер. мРНК еукаріот: кеп, лідер – 5'-UTR, трейлер – 3'-UTR, поліА-послідовність. Ініціюючі та термінуючі кодони. Процесинг, функції, пре-мРНК. Процесинг мРНК прокариот (Випадки процесингу мРНК прокариот). Процесинг мРНК еукаріот: кепування, видалення інтронів (сплайсинг), поліаденілювання, редагування. Роль С-кінця РНК-полімерази II у дозріванні мРНК. Кепування, кеп зв'язуючий комплекс (СВС). Поліаденілювання і термінація транскрипції. Структура еукаріотичних генів і сплайсинг. Акцепторні і донорні сайти, бранч-сайт. Етапи видалення інтронів. Рибозим. Сплайсосома – комплекс з 5 малих ядерних РНП. Малі ядерні РНК (мяРНК, snRNA). Етапи сплайсингу. Енхансери сплайсингу. Розпізнавання інтронів та екзонів. Альтернативний сплайсинг. Незвичайні форми дозрівання мРНК. Транс-сплайсинг. Дозрівання мРНК гістонів. Рибозими I та II груп. Аутосплайсинг. Редагування мРНК. Гідова РНК. Інформасоми (мРНП-частинки). Ядерно-цитоплазматичний транспорт мРНК та малих РНК. Стабільність та деградація мРНК.

Тема 5. Транспортні РНК (тРНК). (2 години)

Функції тРНК (акцепторна та адапторна). Первинна структура тРНК. Вторинна структура тРНК («лист конюшини»). Структура антикодонової петлі. Модифіковані нуклеозиди антикодону. Третинна структура тРНК (L-форма). Процесинг тРНК. Особливості процесингу тРНК у прокариот. РНКаза Р та екзонуклеаза (РНКаза D). Етапи процесингу тРНК у еукаріот. Аміноацил-тРНК-синтетази (АРСази). Класифікація аміноацил-тРНК-синтетаз. Комплекси АРСаз з тРНК. Аміноацилювання тРНК: активація амінокислоти, перенос активованого

аміноацильного залишку на гідроксильну групу кінцевого аденозину. Специфічність аміноацильовання тРНК. Модифікації аміноацильних залишків після аміноацильовання.

Тема 6. Рибосомні РНК (рРНК) та рибосома. Малі ядерцеві РНК (2 години)

Рибосома, велика і маленька субодиниці. Структура та морфологія рибосом про- та еукаріот (цитоплазматичні та органельні). Типи рибосомної РНК та їх первинна структура. РНК малої та великої рибосомних субодиниць. Модифіковані нуклеозиди рРНК. Синтез рРНК. Процесинг рРНК прокариот. Процесинг рРНК еукаріот. Дозрівання 28S рРНК. Малі ядерцеві РНК (мяоРНК, snoRNA). Вторинна, доменна та третинна структура рРНК. Третинна структура 16S рРНК. Третинна структура 23S рРНК. 5S рибосомна РНК. Рибосомні білки і четвертинна структура рибосоми. Збирання рибосомних білків на рРНК. Збирання малої та великої рибосомних субодиниць. Асоціація субодиниць у повну рибосому. Функціональні центри рибосоми. Структурні кишені для функціональних центрів рибосоми. Розділення функцій між рибосомними субодиницями: генетична функція малої субодиниці, каталітична – великої.

Тема 7. Синтез білків. Трансляція, загальні поняття, робочий цикл рибосоми (4 години)

Основні учасники процесу трансляції. Етапи трансляції. Основні зони рибосоми. Робочий цикл рибосоми: трансляція мРНК та утримання пептидил-тРНК – подовження (елонгація) пептида. Стадії робочого циклу рибосоми. Кодон-залежне зв'язування аміноацил-тРНК. Фактор елонгації 1 (EF-Tu, eEF1A). Пептидил-тРНК, аміноацил-тРНК. Реакція транспептидації. Функції рибосоми. Дуалістична природа трансляції. мРНК-зв'язуюча ділянка на малій субодиниці – зв'язування, утримання та ковзання мРНК. Пептидил-трансферазний центр на великій субодиниці – каталіз утворення пептидного зв'язку. а і р субстрат-зв'язуючі центри. ГТФ-залежне зв'язування білкових факторів на великій субодиниці – ділянка зв'язування білкових факторів на великій субодиниці. Зв'язування аміноацил-тРНК та утримання пептидил-тРНК – тРНК-зв'язуючі центри в міжсубодиничному просторі. А і Р ділянки. Е-ділянка: місце виходу деацильованої тРНК. Проміжні («гібридні») положення тРНК в рибосомі, яка транслює. Транслокація.

Тема 8. Елонгаційний цикл (2 години)

Стадія I елонгаційного циклу: зв'язування тРНК, кодон-антикодонова взаємодія. Адапторна гіпотеза. Концепція комплементарного антикодона. Wobble-гіпотеза. Уточнення правил нечіткої відповідності. Стереохімія кодон-антикодонового спаровування. Змикання структурних блоків малої рибосомної субодиниці при кодон-антикодоновій взаємодії. Участь фактора елонгації 1 (EF-Tu або eEF1A) у зв'язуванні аміноацил-тРНК. Доменна будова фактора елонгації 1. Фактор EF1A та його взаємодії. Взаємодії бактеріального EF-Tu. Дві форми eEF1A (eEF1L та eEF1H). Утворення потрійного комплексу, його

зв'язування з рибосоною. Роль ГТФ та його гідроліза в каталізі зв'язування аміноацил-тРНК. Етапи процесу зв'язування аміноацил-тРНК з рибосоною: сканування тРНК, упізнання антикодону, гідроліз ГТФ, вивільнення фактору EF-Tu (EF1A), корекція вибору аміноацил-тРНК.

Стадія II: транспептидація (утворення пептидного зв'язку). Орієнтаційний ефект. Структурні основи каталіза транспептидації. Послідовність подій під час транспептидації.

Стадія III: транслокація. Перед-транслокаційний та пост-транслокаційний стан рибосоми. Дві стадії транслокації. Участь фактора елонгації 2 (EF-G або eEF2) у транслокації. Доменна структура білка EF2 та його взаємодії. Транслокаційні інтермедіати. Роль ГТФ та його гідроліза в каталізі транслокації. Пересування матриці при транслокації. Триплетна транслокація. Нетриплетна транслокація (транслокаційні помилки). Зсув рамки на стадії зв'язування аміноацил-тРНК. Зсув рамки на стадії транслокації. Запрограмований фреймшифтінг у прокариот. Рибосомні «стрибки». Механіка та енергетика транслокації.

Тема 9. Термінація трансляції. (2 години)

Термінація білкового синтезу, кодони термінації, дисоціація рибосомних субодиниць. Супресорні тРНК. Наскрізне читання (read-through). Білкові фактори термінації, їх доменна структура. Фактори термінації 1 та 2 класу; фактори «повторного використання рибосом». Зв'язування факторів термінації з рибосоною. Гідроліз пептидил-тРНК. Евакуація деацильованої тРНК. Етапи термінації. Особливості термінації трансляції у прокариот.

Тема 10. Ініціація трансляції. Ініціація трансляції у прокариот. (2 години)

Загальні принципи. Значення стадії ініціації. Типи ініціації трансляції: 5'-термінальна ініціація та внутрішня ініціація. Основні учасники механізму ініціації. Ініціаторна аміноацил-тРНК. Ділянки зв'язування рибосоми на мРНК (RBS) та кодон ініціації. Фактори ініціації трансляції еукаріот, прокариот та архей. Етапи ініціації. Дисоціація рибосом. Особливості ініціації трансляції у прокариот. Послідовність Шайна-Дальгарно. Прокаріотична ініціаторна тРНК (F-Met-тРНК). Фактори ініціації трансляції прокариот та їх взаємодія з рибосоною. Ініціація трансляції у прокариот, послідовність подій, утворення потрійного комплексу, елементи потрійного комплексу. Альтернативні шляхи процесу ініціації.

Тема 11. Ініціація трансляції у еукаріот. (4 години)

Особливості ініціації трансляції у еукаріот. Особливості еукаріотичної мРНК. Дві форми мРНК еукаріот: нетрансльовані мРНК-частинки та полірибосоми, що транслюють. «Циркуляризація» полірибосом. Кеп-залежна та кеп-незалежна ініціація трансляції у еукаріот. Кеп-структура та ініціаторні кодони. 43S ініціаторний комплекс – рибосомна частинка, що сканує мРНК. Послідовність Козак. Ініціація трансляції у еукаріотів на внутрішніх старт-

кодонах. Внутрішні ділянки ініціації трансляції (IRES). Еукаріотична ініціаторна тРНК. Три групи факторів ініціації трансляції у еукаріот: 1) рибосомні фактори ініціації; фактори, що зв'язують мРНК; 2) комплекс, що зв'язує кеп, РНК хеліказний комплекс; 3) білки, що беруть участь у формуванні 80S рибосоми. Додаткові фактори, що зв'язують IRES та фактор-незалежні IRES'и. 3'-кінцеві підсилювачі ініціації. Полі(А)-хвіст. Реініціація трансляції в еукаріот. 3'-кінцева шпилька гістонової мРНК. Послідовність подій канонічної ініціації трансляції.

Тема 12. Регуляція трансляції у прокариот. (2 години)

Загальні уявлення про регуляцію трансляції. Рівні регуляції трансляції. Регуляція трансляції прокариот: дискримінація РНК; трансляційне спряження; ініціація індуквана трансляцією попереднього цистрона; послідовна трансляція поліцистронних матриць шляхом реініціації; трансляційна репресія, рибоперемікачі, антисенсове блокування. Регуляція трансляції мРНК рибосомних білків.

Тема 13. Регуляція трансляції в еукаріот. (2 години)

Значення регуляції трансляції в еукаріот. Регуляція трансляції в еукаріот: тотальна регуляція шляхом фосфорилування білкових факторів (фосфорилування eIF2, eIF4E та EF-VP); дискримінація мРНК (дискримінація мРНК через спорідненість до рибосомної частинки, дискримінація мРНК мРНК-зв'язуючими факторами ініціації, модуляція трансляційної дискримінації); короткі відкриті рамки зчитування; трансляційна репресія; маскування мРНК (маскування мРНК в ооцитах та сперматоцитах, демаскування мРНК у ранньому ембіогенезі, участь мікроРНК у маскуванні мРНК), еволюція основних механізмів трансляції.

Тема 14. Фолдінг білків (2 години).

Формування функціонально активної білкової молекули – білковий процесинг. Котрансляційне скручування та транспорт білкових молекул.

**СТРУКТУРА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ЛЕКЦІЙ, СЕМІНАРІВ,
ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ, САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ**

№ з/п	Назва	Кількість годин			
		лекції	семінари	практичні	самостійна робота
Змістовий модуль 1 Форми існування ДНК та геноми.					
1	Тема 1. Форми існування та конформаційні переходи ДНК.	2	0	0	1
2	Тема 2. Реплікація ДНК у бактерій.	2	0	0	1
3	Тема 3. Реплікація ДНК у еукаріот.	2	0	0	2
4	Тема 4. Репарація ДНК.	2	0	0	2
5	Тема 5. Рекомбінація ДНК.	2	2	0	2
6	Тема 6. Структурно - функціональна організація геномів.	2	0	0	2
7	Тема 7. Геном хлоропластів	2	0	0	2
8	Тема 8. Геном мітохондрій рослин.	2	2	0	2
Разом за змістовим модулем 1		16	4	0	14
Змістовий модуль 2 Молекулярні основи клонування рослин.					
9	Тема 1. Будова клітин як об'єктів клонування.	4	0	0	1
10	Тема 2. Ядро клітини.	4	0	0	1
11	Тема 3. Ядерний матрикс.	2	0	0	1
12	Тема 4. Хроматин. Молекулярна організація хроматину.	2	0	0	1
13	Тема 5. Хроматин і регуляція активності генів.	2	2	0	3
14	Тема 6. Клітинний цикл.	4	0	0	1
15	Тема 7. Період клітинного ділення (фаза М): мітоз та цитокінез.	2	0	0	2
16	Тема 8. Конденсація і розходження хромосом в мітозі.	2	2	0	1
17	Тема 9. Культура клітин і тканин рослин <i>in vitro</i> .	4	0	0	4
18	Тема 10. Суспензійні культури рослинних клітин.	2	0	0	1
19	Тема 11. Протопласти рослин.	2	0	0	1
20	Тема 12. Соматична гібридизація рослинних клітин.	4	2	0	0
21	Тема 13. Генетична інженерія рослин.	4	0	0	3
Разом за змістовим модулем 2		38	6	0	20

Змістовий модуль 3 Біогенез РНК, транскрипція та синтез білків.					
22	Тема 1. Транскрипція у прокаріот.	2	0	0	2
23	Тема 2. Транскрипція у еукаріот.	4	0	0	0
24	Тема 3. Регуляція транскрипції.	4	0	0	0
25	Тема 4. Структура і функції різних типів РНК. Інформаційні (матричні) РНК та мяРНК.	2	0	0	2
26	Тема 5. Транспортні РНК (тРНК).	2	0	0	0
27	Тема 6. Рибосомні РНК (рРНК) та рибосома.	2	2	0	0
28	Тема 7. Синтез білків. Трансляція, загальні поняття, робочий цикл рибосоми.	4	0	0	0
29	Тема 8. Елонгаційний цикл.	2	0	0	0
30	Тема 9. Термінація трансляції.	2	0	0	0
31	Тема 10. Ініціація трансляції. Ініціація трансляції у прокаріот.	2	0	0	0
32	Тема 11. Ініціація трансляції у еукаріот.	4	0	0	0
33	Тема 12. Регуляція трансляції у прокаріот.	2	0	0	2
34	Тема 13. Регуляція трансляції у еукаріот.	2	2	0	2
35	Тема 14. Фолдінг білків.	2	0	0	2
Разом за змістовим модулем 3		36	6	0	10
ВСЬОГО		90	16	0	44

Загальний обсяг – **150** годин (**5 кредитів ECTS**), у тому числі:

Лекцій – **90** годин

Семінари – **16** годин

Практичні заняття – **0** годин

Самостійна робота – **44** години

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1

Форми існування ДНК та геноми.

ТЕМА 1. Форми існування та конформаційні переходи ДНК. (2 години)

Лекція 1. Форми існування та конформаційні переходи ДНК. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Рестрикція ДНК.

Рекомендована література: [1- 4, 12, 13]

ТЕМА 2. Реплікація ДНК у бактерій. (2 години)

Лекція 2. Реплікація ДНК у бактерій. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

ДНК-полімерази низької точності синтезу (про- та еукаріотичні).

Рекомендована література: [1 - 4]

ТЕМА 3. Реплікація ДНК у еукаріот. (2 години)

Лекція 3. Реплікація ДНК у еукаріот. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Старт реплікації (ori) у дріжджів, їх структурно-функціональна організація. Метилування ДНК. Метилування ДНК у рослин. Роль метилування ДНК в регуляції реплікації.

Рекомендована література: [1 - 4]

ТЕМА 4. Репарація ДНК. (2 години)

Лекція 4. Репарація ДНК. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Репараційні процеси у людини. Хвороби, обумовлені дефектами різних систем репарації .

Рекомендована література: [1 - 4]

ТЕМА 5. Рекомбінація ДНК. (2 години)

Лекція 5. Рекомбінація ДНК. (2 години)

Семінар 1 (2 години)

Реплікація, Репарація та Рекомбінація ДНК у про- та еукаріотів

Репарація ДНК та її важливість для зберігання генотипів. Рекомбінація ДНК – джерело різноманіття.

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Мобільні дисперговані елементи. Транспозони та транспозиції. Топоізомерази та їх участь у молекулярно-біологічних процесах.

Рекомендована література: [1 – 5, 8]

ТЕМА 6. Структурно-функціональна організація геномів. (2 години)

Лекція 6. Структурно-функціональна організація геномів. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Пріони. Плазмідні (прокаріотичні, еукаріотичні, органельні). Геном фагів (ДНК та РНК вмісних).

Поліморфізм ДНК та методи його детектування. ДНК поліморфізм та методи його виявлення у рослин. Механізм утворення коротких повторів. Мікросателіти і мінісателіти. Короткі тандемні повтори, що визначають геномний рестрикційний поліморфізм.

Рекомендована література: [1- 5, 12 - 14]

ТЕМА 7. Геном хлоропластів (2 години)

Лекція 7. Геном хлоропластів (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Методи досліджень ДНК, геномів, еволюція методології. Методи молекулярних досліджень рослин. Секвенування. Саузерн-блот гібридизація. ПЛР, ЗТ-ПЛР (зворотня транскрипція), РТ-ПЛР (real time – у реальному часі). Основні критичні параметри процесів, вплив забруднюючих речовин, методи підвищення специфічності реакції. Блот гібридизація: - Нозерн гібридизація, Вестерн гібридизація.

Рекомендована література: [4, 20]

ТЕМА 8. Геном мітохондрій рослин. (2 години)

Лекція 8. Геном мітохондрій рослин. (2 години)

Семінар 2 (2 години)

Геноми, їх будова.

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Порівняльна характеристика мітохондріальних геномів у різних організмів (савців, рослин та грибів).

Рекомендована література: [4, 22-25]

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2

Молекулярні основи клонування рослин.

ТЕМА 1. Будова клітин як об'єктів клонування. (4 години)

Лекція 1. Будова клітин як об'єктів клонування. (4 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Мембрани клітин, їх будова та взаємоперетворення.

Транспорт білків у мітохондрії і хлоропласти.

Рекомендована література: [19, 20, 22, 23]

ТЕМА 2. Ядро клітини. (4 години)

Лекція 2. Ядро клітини. (4 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Штучні хромосоми еукаріот.

Рекомендована література: [4, 7, 19, 20]

ТЕМА 3. Ядерний матрикс. (2 години)

Лекція 3. Ядерний матрикс. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Клонування ДНК, методи отримання фрагментів ДНК.

Клонування генів.

Рекомендована література: [4, 7]

ТЕМА 4. Хроматин. Молекулярна організація хроматину. (2 години)

Лекція 4. Хроматин. Молекулярна організація хроматину. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

кДНК бібліотеки. Їх створення і застосування.

Рекомендована література: [1, 2, 4, 6, 7, 15]

ТЕМА 5. Хроматин і регуляція активності генів. (2 години)

Лекція 5. Хроматин і регуляція активності генів. (2 години)

Семінар 1 (2 години)

Будова ядра та хроматин.

Завдання для самостійної роботи (3 години)

Теломерази та старіння клітин. Теорія старіння в зв'язку з динамікою структури теломери. Структура ДНК (теломерна петля) і специфічні білки в районі теломерних послідовностей. Регуляція довжини теломери. Подовження кінців еукаріотичної хромосоми.

Рекомендована література: [1- 4, 6, 7]

ТЕМА 6. Клітинний цикл. (4 години)

Лекція 6. Клітинний цикл. (4 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Апоптоз та некроз: молекулярні та клітинні механізми.

Рекомендована література: [6]

ТЕМА 7. Період клітинного ділення (фаза М): мітоз та цитокінез. (2 години)

Лекція 7. Період клітинного ділення (фаза М): мітоз та цитокінез. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Експериментальна гаплоїдія. Кріопрезервація клітин і клітинні банки. Кріоконсервація і збереження генофонда.

Рекомендована література: [6, 7]

ТЕМА 8. Конденсація і розходження хромосом в мітозі. (2 години)

Лекція 8. Конденсація і розходження хромосом в мітозі. (2 години)

Семінар 2 (2 години)

Клітинний цикл, його регуляція.

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Конденсація і розходження хромосом в мейозі.

Рекомендована література: [6, 7]

ТЕМА 9. Культура клітин і тканин рослин *in vitro*. (4 години)

Лекція 9. Культура клітин і тканин рослин *in vitro*. (4 години)

Завдання для самостійної роботи (4 години)

Клонування людини. Чи це можливо? Клонування тварин. Культивування клітин людини і ссавців. Стовбурові клітини. Терапевтичне клонування. Ракові стовбурові клітини. Регулятори росту. Фітогормони. Сомаклональна мінливість.

Отримання, культивування і характеристика спеціалізованих типів клітин. Індукований мутагенез і клітинна селекція *in vitro*. Клональне мікророзмноження рослин.

Рекомендована література: [9 – 11, 16 – 18, 21]

ТЕМА 10. Суспензійні культури рослинних клітин. (2 години)

Лекція 10. Суспензійні культури рослинних клітин. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Біореактори (промислові) – отримання фармацевтичних сполук з рослинної сировини. Культури тканин рослин - продуценти вторинних метаболітів. Збереження природних популяцій лікарських рослин.

Рекомендована література: [10, 11, 17, 21]

ТЕМА 11. Протопласти рослин. (2 години)

Лекція 11. Протопласти рослин. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (1 година)

Методи отримання фармацевтичних білків з використанням культур бактерій, рослин і тварин.

Рекомендована література: [11, 17, 20]

ТЕМА 12. Соматична гібридизація рослинних клітин. (4 години)

Лекція 12. Соматична гібридизація рослинних клітин. (4 години)

Семінар 3 (2 години)

Використання культур *in vitro*. Перспективи роботи з протопластами та соматичними гібридами.

Рекомендована література: [11, 17]

ТЕМА 13. Генетична інженерія рослин. (4 години)

Лекція 13. Генетична інженерія рослин. (4 години)

Завдання для самостійної роботи (3 години)

Агробактерії, їх використання в генетичній трансформації рослин. Отримання рекомбінантних білків в рослинах (транз'єнтна експресія). Рослини – біореактори (інтактні та трансгенні).

Рекомендована література: [8, 11, 17, 18]

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3

Біогенез РНК, транскрипція та синтез білків.

ТЕМА 1. Транскрипція у прокаріот. (2 години)

Лекція 1. Транскрипція у прокаріот. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Гіпотеза про первинне виникнення світу РНК. Елонгація і компар્ટменталізація РНК; колонії РНК. Цикли ампліфікації та селекції РНК.

Рекомендована література: [1- 4, 15]

ТЕМА 2. Транскрипція у еукаріот. (4 години)

Лекція 2. Транскрипція у еукаріот. (4 години)

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 3. Регуляція транскрипції. (4 години)

Лекція 3. Регуляція транскрипції. (4 години)

ТЕМА 4. Структура і функції різних типів РНК. Інформаційні (матричні) РНК та мяРНК. (2 години)

Лекція 4. Структура і функції різних типів РНК. Інформаційні (матричні) РНК та мяРНК. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Інтрони (в тому числі хлоропластні та мітохондріальні).

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 5. Транспортні РНК (тРНК) (2 години)

Лекція 5. Транспортні РНК (тРНК) (2 години)

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 6. Рибосомні РНК (рРНК) та рибосома (2 години)

Лекція 6. Рибосомні РНК (рРНК) та рибосома (2 години)

Семінар 1 (2 години)

Транскрипція у про- та еукаріот. Різні види РНК, їх взаємодія.

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 7. Синтез білків. Трансляція, загальні поняття, робочий цикл рибосоми (4 години)

Лекція 7. Синтез білків. Трансляція, загальні поняття, робочий цикл рибосоми (4 години)

Рекомендована література: [1- 4, 8]

ТЕМА 8. Елонгаційний цикл (2 години)

Лекція 8. Елонгаційний цикл (2 години)

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 9. Термінація трансляції. (2 години)

Лекція 9. Термінація трансляції. (2 години)

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 10. Ініціація трансляції. Ініціація трансляції у прокариот. (2 години)

Лекція 10. Ініціація трансляції. Ініціація трансляції у прокариот. (2 години)

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 11. Ініціація трансляції у еукаріот. (4 години)

Лекція 11. Ініціація трансляції у еукаріот. (4 години)

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 12. Регуляція трансляції у прокариот. (2 години)

Лекція 12. Регуляція трансляції у прокариот. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Інгібітори зв'язування аміноацил-тРНК. Інгібітори пептидилтрансферазної реакції.

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 13. Регуляція трансляції у еукаріот. (2 години)

Лекція 13. Регуляція трансляції у еукаріот. (2 години)

Семінар 2 (2 години)

Трансляція у про- та еукаріот.

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Хибне кодування. Білкові токсини, що впливають на елонгацію.

Рекомендована література: [1- 4]

ТЕМА 14. Фолдінг білків. (2 години)

Лекція 14. Фолдінг білків. (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години)

Енергетика молекулярно-біологічних процесів.

Рекомендована література: [1- 4]

КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ І РОЗПОДІЛ БАЛІВ, ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ЗДОБУВАЧІ

Контроль здійснюється за модульно-рейтинговою системою. У змістовий модуль 1 входять теми 1-8, у змістовий модуль 2 – теми 9 - 21, у змістовий модуль 3 – теми 22-36. Види контролю – поточний і підсумковий. Поточний контроль здійснюється під час проведення навчальних занять і має на меті регулярну перевірку засвоєння слухачами навчального матеріалу. Форми проведення поточного контролю під час навчальних занять: усне опитування, тестовий контроль, самооцінювання.

Оцінювання за формами поточного контролю:

	Змістовий модуль 1		Змістовий модуль 2		Змістовий модуль 3		Залік	Підсумкова оцінка
	Поточний контроль	Тест 1	Поточний контроль	Тест 2	Поточний контроль	Тест 3		
Максимальна кількість балів	5	15	5	15	5	15	40	100
Сума	20		20		20		40	100

Для аспірантів, які набрали за результатами поточного контролю у трьох змістових модулях сумарно меншу кількість балів, ніж критичний мінімум **50** балів, проходження додаткового тестування є обов'язковим для допуску до заліку.

Підсумковий контроль проводиться на останньому семінарському занятті і складається із суми балів усіх змістових модулів.

Загальна оцінка за вивчення курсу складається із суми оцінок, отриманих при підсумковому контролі, та оцінки, отриманої на заліку.

Шкала оцінювання академічної успішності аспіранта

Рівень досягнень (бали за освітню діяльність)	Оцінка ЄКТС/ECTS	Оцінка за національною шкалою (National grade)
90 – 100	A	відмінно (Excellent)
75 – 89	B	добре (Good)
60 – 74	C	задовільно (Satisfactory)
1 – 59	D	незадовільно (Fail)

Методи навчання

Пояснювально-ілюстративні, проблемного викладання матеріалу.

Технічні засоби навчання

Проектор мультимедійний; ноутбук.

Матеріальне забезпечення дисципліни

Аудиторії, лабораторні приміщення відділу молекулярної генетики.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник, друге видання– К.: ВПЦ «Київський університет», 2023.- 318 с.
2. Lewin's Genes XII by Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick. - Jones & Bartlett Learning, 2018. – 3194 p.
3. Molecular biology by David Clark, Nan Pazdernik. – 2nd ed. -Academic Press is an imprint of Elsevier, 2013. – 1056 p.
4. Molecular Cell Biology by Lodish Harvey, Berk Arnold, Kaiser Chris A., Krieger Monty, Bretscher Anthony, Ploegh Hidde, Amon Angelika, Martin Kelsey C., 9th edition, 2021. – 1264 p.
5. Кунах В.А. Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. – К. Логос, 2013. – 288 с.
6. The Cell Cycle Principles of Control by David Morgan, New Science Press Ltd, Oxford University press, 2007. – 315 p.
7. Сиволоб А.В., Афанасьева К.С. Молекулярна організація хромосом/
<https://biology.univ.kiev.ua>
8. Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA by B.R. Glick, J.J. Pasternak, C.L. Patten. - ASM Press, 4th Edition, 2009. - 850 p.
9. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика. - К. : Наук. думка, 2005. - 272 с.

10. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – К.: Логос, 2005. – 730 с.
11. Біотехнологія рослин: підручник / М.Д. Мельничук, Т.В. Новак, В.А. Кунах. — К.: Вища освіта, 2003. — 520 с
12. Molecular Cloning: A laboratory manual by Joseph Sambrook & David W. Russell, third edition. - Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001. – 2272 p.
13. Molecular cloning: A laboratory manual by Tom Maniatis, fourth edition. Volume 1, 2 & 3 - Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2012. – 545 p.
14. Основи молекулярної біології-1. Молекулярна біологія ДНК. Лабораторний практикум [Електронний ресурс]: навчальний посібник для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» / А. І. Степаненко, О. Р. Лахнеко, Л.В. Маринченко, М. О. Банникова // КПІ ім. Ігоря Сікорського, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021. – 70 с. <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/39933>
15. Основи молекулярної біології-2. Молекулярна біологія РНК та синтезу білків: Лабораторний практикум [Електронний ресурс]: навч. посіб. для студ. спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»/ Степаненко А.І., Лахнеко О.Р., Маринченко Л.В., Банникова М.О.// КПІ ім. Ігоря Сікорського, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021.– 71 с. <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/39930>
16. Молекулярні основи клонування багатоклітинних організмів. Диференціація та вторинна диференціація в культурі *in vitro*. Лабораторний практикум [Електронний ресурс] : навчальний посібник для здобувачів ступеня магістра за освітньою програмою «Біотехнології» спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія / І. С. Гнатюк, Л. В. Маринченко, М. О. Банникова; КПІ ім. Ігоря Сікорського, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. – 79 с. <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/47707>
17. Біотехнологія рослин: навчальний посібник / Т.М.Сатарова, О.Є.Абраїмова, А.І.Вінніков, А.В.Черенков. – Дніпропетровськ: Адверта, 2016. – 136 с.
18. Манушкіна Т.М. Основи біотехнології рослин. Методичні рекомендації. – Миколаїв, 2017. – 48 с.
19. Загальна цитологія і гістологія : підручник / М. Е. Держинський, Н. В. Скрипник, Г. В. Островська та ін.; за ред. М. Е. Держинського ; упорядкування Н. В. Скрипник – К.: ВПЦ "Київський університет", 2010. – 575 с.
20. Dobrogojski, J., Adamiec, M. & Luciński, R. The chloroplast genome: a review. *Acta Physiologiae Plantarum* (2020) 42:98. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03089-x>

21. Біотехнологія рослин: навчальний посібник / Мусієнко М.М., Панюта О.О. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. – 114 с.
22. Taanman Jan-Willem The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication/*Biochimica et Biophysica Acta.*- 1999. -1410. - p. 103 -123.
23. Morley SA, Nielsen BL. Plant mitochondrial DNA./ *Front Biosci (Landmark Ed).*- 2017.-22(6):1023-1032. doi: 10.2741/4531.
24. Gualberto JM, Mileshina D, Wallet C, Niazi AK, Weber-Lotfi F, Dietrich A. The plant mitochondrial genome: dynamics and maintenance. /*Biochimie.* - 2014.- 100:107-20. doi: 10.1016/j.biochi.2013.09.016.
25. Chevigny N, Schatz-Daas D, Lotfi F, Gualberto JM. DNA Repair and the Stability of the Plant Mitochondrial Genome. /*Int J Mol Sci.* - 2020.- 21(1):328. doi: 10.3390/ijms21010328.