

Міністерство освіти та науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування
Кафедра водопостачання, водовідведення та бурової справи

03-06-191М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання практичних робіт з навчальної дисципліни
«Методи генетичної модифікації»
для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня
за освітньою програмою «Біотехнології, біоробототехніка та
біоенергетика» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
денної форми навчання

Рекомендовано
науково-методичною радою з якості
НП будівництва та архітектури
Протокол № 6 від 17.02.2026 р.

Рівне – 2026

Методичні вказівки до виконання практичних робіт з навчальної дисципліни «Методи генетичної модифікації» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньою програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навчання [Електронне видання] / Буднік З. М. Рівне : НУВГП, 2026. 46 с.

Укладачі: Буднік З. М. – кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Відповідальний за випуск: Мартинов С. Ю., доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Керівник групи забезпечення освітньо-професійної програми першого (освітньо-професійного) рівня за освітньою програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» к.т.н., доцент Грицина О. О.

© З. М. Буднік, 2026

© Національний університет
водного господарства та
природокористування, 2026

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| Вступ | 3 |
| Практична робота №1. Аналіз генетичних конструкцій та векторів..... | 4 |
| Практична робота №2. Ознайомлення з ферментами генної інженерії..... | 7 |
| Практична робота №3. Моделювання створення рекомбінантної ДНК..... | 10 |
| Практична робота №4. Планування експерименту з трансформації бактерій..... | 13 |
| Практична робота №5. Аналіз методів перенесення генів у еукаріотичні клітини..... | 15 |
| Практична робота №6. Використання селективних маркерів у генетичній модифікації..... | 18 |
| Практична робота №7. Ідентифікація генетично модифікованих клітин..... | 22 |
| Практична робота №8. Оцінка експресії транс генів... | 25 |
| Практична робота №9. Моделювання використання CRISPR/Cas для редагування геному..... | 28 |
| Практична робота №10. Аналіз прикладів ГМО у промисловій біотехнології..... | 32 |
| Практична робота №11. Оцінка ризиків та біобезпеки при роботі з ГМО..... | 36 |
| Практична робота №12. Кейс-аналіз нормативного регулювання генетичної модифікації..... | 40 |
| Список використаної літератури | 45 |

ВСТУП

Методичні вказівки до виконання практичних робіт з дисципліни підготовлені відповідно до освітньо-професійної програми підготовки здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія» та спрямовані на формування у студентів фахових компетентностей, необхідних для майбутньої

професійної діяльності у сфері біотехнології та біоінженерії.

Практичні роботи є важливою складовою навчального процесу та забезпечують поєднання теоретичних знань із практичними навичками застосування сучасних біотехнологічних методів. У ході виконання практичних завдань здобувачі вищої освіти набувають умінь працювати з біологічними агентами, аналізувати біотехнологічні процеси, планувати та інтерпретувати результати експериментальних досліджень, а також дотримуватися вимог біобезпеки, біоетики та нормативного регулювання у галузі біотехнології.

Зміст практичних робіт орієнтований на формування здатності застосовувати молекулярно-біологічні, генетичні, біохімічні та мікробіологічні методи для вирішення прикладних завдань біотехнології, зокрема у сфері промислового біосинтезу, екологічної біотехнології, біоенергетики та біоінженерії. Особлива увага приділяється розвитку навичок аналізу, критичного мислення, самостійної роботи та відповідальності за результати професійної діяльності.

Методичні вказівки містять перелік практичних робіт, мету та завдання кожного заняття, короткі теоретичні відомості, рекомендації щодо виконання завдань, вимоги до оформлення результатів та критерії оцінювання. Виконання практичних робіт сприяє закріпленню програмних результатів навчання, підвищенню рівня професійної підготовки здобувачів вищої освіти та формуванню їх готовності до подальшого навчання і практичної діяльності у галузі біотехнології та біоінженерії.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 1

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНИХ КОНСТРУКЦІЙ ТА ВЕКТОРІВ

Мета роботи: ознайомитися з основними типами генетичних векторів, їх будовою та функціональними елементами; сформувати навички аналізу генетичних конструкцій, що застосовуються у

сучасній біотехнології та біоінженерії, а також навчитися визначати їх придатність для перенесення та експресії цільових генів у різних біологічних системах.

Завдання роботи

У процесі виконання практичної роботи студент повинен:

- засвоїти поняття генетичного вектора та генетичної конструкції;
- вивчити класифікацію векторів, що використовуються у генно-інженерних дослідженнях;
- проаналізувати основні структурні елементи генетичних конструкцій;
- навчитися ідентифікувати функціональні ділянки векторів за схемами та описами;
- оцінити можливості застосування різних векторів у біотехнологічних процесах.

Теоретичні відомості

Генетична конструкція — це штучно створена молекула ДНК, що містить цільовий ген та регуляторні елементи, необхідні для його реплікації, стабільного збереження та експресії в клітині-хазяїні. Основою більшості генетичних конструкцій є *генетичні вектори* — носії спадкової інформації, здатні переносити та інтегрувати фрагменти ДНК у клітини реципієнта.

До основних типів генетичних векторів належать:

- **плазмідні вектори**, що широко використовуються у прокаріотичних системах;
- **вірусні та фагові вектори**, які забезпечують ефективне перенесення генів;
- **косміди та фагміди**, що поєднують властивості плазмід і фагів;
- **штучні хромосоми (ВАС, УАС)**, призначені для перенесення великих фрагментів ДНК;
- **експресійні вектори**, спеціалізовані для синтезу рекомбінантних білків.

Типова генетична конструкція включає такі функціональні елементи:

- **origin of replication (ori)** — ділянка початку реплікації;
- **селективний маркер** (ген антибіотикорезистентності або репортерний ген);
- **мультиклонувальний сайт (MCS)** — ділянка з унікальними сайтами рестрикції;
- **промотор** — регуляторна послідовність, що ініціює транскрипцію;
- **термінатор транскрипції**;
- **цільовий ген**, що кодує бажаний продукт.

Правильний вибір вектора визначає ефективність трансформації, рівень експресії гена та стабільність генетичної модифікації, що є критично важливим для біотехнологічних процесів.

Обладнання та матеріали:

- схеми генетичних векторів (друковані або електронні);
- навчальні таблиці з будовою плазмід;
- методичні матеріали з описами векторів;
- комп'ютер (за можливості) для аналізу візуальних схем.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними відомостями щодо генетичних конструкцій і векторів.
2. Розглянути запропоновані схеми генетичних векторів.
3. Визначити та підписати основні структурні елементи кожної генетичної конструкції.
4. Встановити тип вектора та систему-реципієнт (прокаріотична чи еукаріотична).
5. Проаналізувати призначення кожного функціонального елемента.
6. Зробити висновок щодо можливостей практичного застосування аналізованого вектора.

Результати роботи

Результати оформлюються у вигляді таблиці та письмового висновку.

Таблиця аналізу генетичного вектора

| Елемент конструкції | Функціональне призначення |
|---------------------|---------------------------|
| ori | Реплікація вектора |
| Промотор | Ініціація транскрипції |
| MCS | Вставлення цільового гена |
| Маркер селекції | Відбір трансформантів |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити отримані знання про будову генетичних векторів;
- зазначити ключові відмінності між типами векторів;
- оцінити роль генетичних конструкцій у біотехнології та біоінженерії.

Контрольні питання

1. Що таке генетичний вектор і яка його роль у генно-інженерних дослідженнях?
2. Які основні структурні елементи входять до складу генетичної конструкції?
3. Чим відрізняються клонувальні та експресійні вектори?
4. Яке значення мають селективні маркери?
5. Які чинники впливають на вибір вектора для біотехнологічних цілей?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 2 ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ФЕРМЕНТАМИ ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Мета роботи: ознайомитися з основними ферментами, що застосовуються у генно-інженерних дослідженнях, їх властивостями, механізмами дії та роллю у створенні рекомбінантної ДНК; сформулювати уявлення про практичне використання ферментів генної інженерії в біотехнології та біоінженерії.

Завдання роботи

У процесі виконання практичної роботи студент повинен:

- засвоїти класифікацію ферментів генної інженерії;
- вивчити механізм дії основних ферментів, що працюють з нуклеїновими кислотами;
- навчитися пояснювати роль кожного ферменту у генно-інженерних процесах;
- проаналізувати приклади практичного застосування ферментів у створенні генетичних конструкцій;
- закріпити навички наукового аналізу та узагальнення інформації.

Теоретичні відомості

Ферменти генної інженерії — це біологічні каталізатори, що забезпечують точні та контрольовані маніпуляції з молекулами ДНК і РНК. Саме завдяки ферментам стало можливим виділення, модифікація, з'єднання та копіювання генетичного матеріалу в лабораторних умовах.

До основних груп ферментів генної інженерії належать:

Рестрикційні ендонуклеази — ферменти, що розпізнають специфічні нуклеотидні послідовності та здійснюють розрізання дволанцюгової ДНК. Вони є ключовими інструментами для фрагментації ДНК та створення сумісних кінців для клонування.

ДНК-лігази — ферменти, що каталізують утворення фосфодіестерних зв'язків між фрагментами ДНК. Лігази забезпечують з'єднання цільового гена з векторною молекулою.

ДНК-полімерази — ферменти, що синтезують нові ланцюги ДНК на матриці. Вони відіграють важливу роль у реплікації, ампліфікації (зокрема у полімеразній ланцюговій реакції) та відновленні ДНК.

Зворотна транскриптаза — фермент, що здійснює синтез ДНК на матриці РНК. Застосовується для отримання кДНК з матричної РНК еукаріотичних клітин.

РНК-полімерази — ферменти, які каталізують синтез РНК

на ДНК-матриці та використовуються для транскрипції *in vitro*.

Екзонуклеази та фосфатази — ферменти допоміжної дії, які забезпечують модифікацію кінців нуклеїнових кислот та підвищують ефективність генно-інженерних операцій.

Обладнання та матеріали:

- навчальні таблиці з класифікацією ферментів генної інженерії;
- схеми генно-інженерних процесів;
- методичні матеріали з описом механізмів дії ферментів;
- комп'ютер або мультимедійні засоби (за наявності).

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними відомостями щодо ферментів генної інженерії.
2. Розглянути подані таблиці та схеми, що ілюструють дію ферментів.
3. Визначити роль кожного ферменту у процесі створення рекомбінантної ДНК.
4. Заповнити аналітичну таблицю, зазначивши назву ферменту, субстрат та функцію.
5. Проаналізувати приклади використання ферментів у біотехнологічних процесах.
6. Сформулювати узагальнюючі висновки.

Результати роботи

Результати оформлюються у вигляді таблиці та письмового висновку.

Таблиця аналізу ферментів генної інженерії

| Назва ферменту | Субстрат | Основна функція |
|------------------------|----------|----------------------|
| Рестриктаза | ДНК | Розрізання ДНК |
| ДНК-лігаза | ДНК | З'єднання фрагментів |
| ДНК-полімераза | ДНК | Синтез ланцюга ДНК |
| Зворотна транскриптаза | РНК | Синтез кДНК |

Висновки

У висновках необхідно:

- охарактеризувати значення ферментів генної інженерії;

- узагальнити їх роль у створенні генетичних конструкцій;
- зробити висновок щодо практичного значення ферментів у біотехнології.

Контрольні питання

1. Які ферменти належать до основних інструментів генної інженерії?
2. У чому полягає принцип дії рестрикційних ендонуклеаз?
3. Яку роль відіграє ДНК-лігаза у створенні рекомбінантної ДНК?
4. Для чого використовується зворотна транскриптаза?
5. Яке практичне значення мають ДНК-полімерази в біотехнології?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 3 ***МОДЕЛЮВАННЯ СТВОРЕННЯ РЕКОМБІНАНТНОЇ ДНК***

Мета роботи: сформулювати уявлення про етапи створення рекомбінантної ДНК; навчитися моделювати процес клонування цільового гена з використанням генетичних векторів та ферментів генної інженерії; закріпити знання щодо побудови генетичних конструкцій, які застосовуються у біотехнології та біоінженерії.

Завдання роботи

- У процесі виконання практичної роботи студент повинен:
- засвоїти поняття рекомбінантної ДНК та принципи її отримання;
 - ознайомитися з основними етапами генно-інженерного клонування;
 - навчитися логічно відтворювати послідовність створення рекомбінантної ДНК;
 - проаналізувати роль ферментів генної інженерії у кожному етапі;

- сформувати навички схематичного подання генно-інженерних процесів.

Теоретичні відомості

Рекомбінантна ДНК — це молекула ДНК, створена шляхом штучного поєднання генетичного матеріалу з різних біологічних джерел. Технологія рекомбінантної ДНК є основою сучасної генної інженерії та широко застосовується у промисловій біотехнології, медицині, фармацевтиці, сільському господарстві та екології.

Процес створення рекомбінантної ДНК зазвичай включає такі етапи:

1. Виділення цільового гена з донорського організму або його синтез *in vitro*.
2. Розрізання донорської ДНК і векторної молекули за допомогою рестрикційних ендонуклеаз.
3. З'єднання (лігування) фрагментів ДНК із використанням ДНК-лігази.
4. Отримання рекомбінантного вектора, що містить цільовий ген.
5. Перенесення рекомбінантної ДНК у клітину-реципієнт.
6. Селекція та ідентифікація трансформованих клітин.

Ключову роль у створенні рекомбінантної ДНК відіграють ферменти генної інженерії, які забезпечують точність та відтворюваність процесу. Вибір вектора, ферментів та умов експерименту визначає ефективність клонування та подальшу експресію гена.

Обладнання та матеріали:

- схеми генетичних векторів;
- умовні схеми фрагментів донорської ДНК;
- навчальні таблиці з етапами генної інженерії;
- методичні матеріали для моделювання процесу.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними основами створення рекомбінантної ДНК.
2. Обрати умовний цільовий ген та відповідний

генетичний вектор.

3. Визначити ферменти, необхідні для розрізання донорської та векторної ДНК.

4. Скласти поетапну схему створення рекомбінантної ДНК.

5. Описати процес лігування та отримання рекомбінантного вектора.

6. Запропонувати метод перенесення рекомбінантної ДНК у клітину-реципієнт.

7. Зробити висновок щодо доцільності обраної схеми.

Результати роботи

Результати оформлюються у вигляді схеми, таблиці та письмового висновку.

Таблиця етапів створення рекомбінантної ДНК

| Етап | Опис дії | Задіяні ферменти |
|----------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Виділення гена | Отримання цільового фрагмента ДНК | — |
| Рестрикція | Розрізання ДНК | Рестриктази |
| Лігування | З'єднання фрагментів | ДНК-лігаза |
| Трансформація | Введення ДНК у клітину | — |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити етапи створення рекомбінантної ДНК;
- охарактеризувати значення кожного етапу;
- обґрунтувати роль рекомбінантних технологій у біотехнології та біоінженерії.

Контрольні питання

1. Що таке рекомбінантна ДНК?
2. Які основні етапи створення рекомбінантної ДНК?
3. Яку роль відіграють рестрикційні ендонуклеази та ДНК-лігаза?
4. Чому вибір вектора є критично важливим етапом?
5. Де застосовуються технології рекомбінантної ДНК?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 4 ПЛАНУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТУ З ТРАНСФОРМАЦІЇ БАКТЕРІЙ

Мета роботи: сформувати навички планування генно-інженерного експерименту з трансформації бактерій; навчитися обґрунтовувати вибір методу трансформації, бактеріального штаму, вектора та селективних маркерів; закріпити знання щодо умов проведення експерименту з урахуванням вимог біобезпеки та біоетики.

Завдання роботи

У процесі виконання практичної роботи студент повинен:

- засвоїти поняття бактеріальної трансформації та її значення у біотехнології;
- ознайомитися з основними методами трансформації бактерій;
- навчитися планувати послідовність експериментальних етапів;
- обґрунтовувати вибір біологічного об'єкта та генетичного вектора;
- аналізувати чинники, що впливають на ефективність трансформації.

Теоретичні відомості

Трансформація бактерій — це процес введення екзогенної ДНК у бактеріальну клітину з подальшим її збереженням та, у разі використання експресійних векторів, експресією цільового гена. Трансформація є ключовим етапом генної інженерії та використовується для отримання рекомбінантних мікроорганізмів — продуцентів білків, ферментів та інших біологічно активних сполук.

Найпоширенішими методами трансформації бактерій є:

- **хімічна трансформація** (обробка клітин солями кальцію);
- **електропорація** (створення тимчасових пор у мембрані електричним імпульсом);

- **кон'югація** (перенесення ДНК між клітинами).
- Ефективність трансформації залежить від:
- фізіологічного стану клітин;
 - властивостей плазмідного вектора;
 - методу введення ДНК;
 - умов культивування та селекції трансформантів.

Грамотно спланований експеримент дозволяє мінімізувати втрати матеріалу та забезпечити надійне отримання трансформованих клітин.

Обладнання та матеріали

- схеми плазмідних векторів;
- умовні характеристики бактеріальних штамів;
- навчальні матеріали з методів трансформації;
- таблиці для планування експерименту.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними основами трансформації бактерій.
2. Обрати бактеріальний штам для трансформації (умовно).
3. Визначити тип генетичного вектора та селективний маркер.
4. Обґрунтувати вибір методу трансформації.
5. Скласти поетапний план експерименту з трансформації бактерій.
6. Запропонувати умови селекції та ідентифікації трансформантів.
7. Проаналізувати можливі джерела помилок та шляхи їх мінімізації.

Результати роботи

Результати оформлюються у вигляді плану експерименту, таблиці та письмового висновку.

Таблиця планування експерименту

| Етап | Опис дії | Очікуваний результат |
|-------------------|--|--------------------------------|
| Підготовка клітин | Отримання компетентних клітин | Підвищена проникність мембрани |
| Введення ДНК | Обраний метод трансформації | Надходження плазміди в клітину |
| Селекція | Вирощування на селективному середовищі | Відбір трансформантів |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити етапи планування трансформації бактерій;
- обґрунтувати вибір методу трансформації;
- оцінити значення трансформації для біотехнологічних процесів.

Контрольні питання

1. Що таке бактеріальна трансформація?
2. Які основні методи трансформації бактерій?
3. Від чого залежить ефективність трансформації?
4. Яку роль відіграють селективні маркери?
5. Які вимоги біобезпеки необхідно враховувати при плануванні експерименту?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 5 АНАЛІЗ МЕТОДІВ ПЕРЕНЕСЕННЯ ГЕНІВ У ЕУКАРІОТИЧНІ КЛІТИНИ

Мета роботи: ознайомитися з основними методами перенесення генетичного матеріалу в еукаріотичні клітини; сформувати здатність аналізувати та порівнювати фізичні, хімічні та біологічні методи трансфекції; навчитися обґрунтовувати вибір методу перенесення генів залежно від типу клітин і поставлених біотехнологічних завдань.

Завдання роботи

У процесі виконання практичної роботи студент повинен:

- засвоїти поняття трансфекції та трансдукції еукаріотичних клітин;
- ознайомитися з класифікацією методів перенесення генів;
- проаналізувати механізм дії основних методів трансфекції;
- порівняти переваги та недоліки різних підходів;
- сформуванати навички вибору оптимального методу для конкретного експерименту.

Теоретичні відомості

Перенесення генів у еукаріотичні клітини є ключовим етапом генної інженерії, клітинної біотехнології та біомедицини. На відміну від прокариотів, еукаріотичні клітини мають складну мембранну організацію та ядерну оболонку, що ускладнює доставку екзогенної ДНК.

Основні методи перенесення генів у еукаріотичні клітини поділяють на такі групи:

Фізичні методи — базуються на тимчасовому порушенні цілісності клітинних мембран:

- електропорація;
- мікроін'єкція;
- біолістика (генна гармата).

Хімічні методи — передбачають використання реагентів, що полегшують проникнення ДНК у клітину:

- кальцій-фосфатна трансфекція;
- ліпофекція;
- використання полімерів (PEI).

Біологічні методи — ґрунтуються на використанні природних механізмів перенесення генів:

- вірусні вектори (аденовірусні, ретровірусні, лентивірусні);
- агробактеріальна трансформація рослин.

Вибір методу залежить від типу клітин, мети експерименту, необхідності стабільної або тимчасової експресії гена, а також

вимог біобезпеки.

Обладнання та матеріали:

- навчальні таблиці з класифікацією методів трансфекції;
- схеми механізмів перенесення ДНК;
- опис клітинних ліній та векторних систем;
- методичні матеріали для аналізу.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними основами перенесення генів у еукаріотичні клітини.
2. Розглянути класифікацію методів трансфекції та трансдукції.
3. Проаналізувати механізм дії кожного методу.
4. Заповнити порівняльну таблицю методів перенесення генів.
5. Обґрунтувати вибір методу для заданого типу клітин (умовно).
6. Сформулювати висновки щодо ефективності та безпечності методів.

Результати роботи

Результати оформлюються у вигляді порівняльної таблиці та письмового висновку.

Таблиця

| Метод | Тип клітин | Переваги | Недоліки |
|-----------------|--------------------|---------------------|---------------------------|
| Електропорація | Тваринні, рослинні | Висока ефективність | Пошкодження клітин |
| Ліпофекція | Клітинні лінії | Простота виконання | Обмеження за типом клітин |
| Вірусні вектори | Тваринні | Стабільна експресія | Біобезпека |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити основні методи перенесення генів у еукаріотичні клітини;
- порівняти їх ефективність і безпечність;

- зробити висновок щодо практичного застосування методів у біотехнології та біоінженерії.

Контрольні питання

1. Що таке трансфекція еукаріотичних клітин?
2. Які групи методів перенесення генів існують?
3. У чому полягають переваги вірусних векторів?
4. Які фактори впливають на вибір методу трансфекції?
5. Які біоетичні та біобезпекові аспекти слід враховувати?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 6 ***ВИКОРИСТАННЯ СЕЛЕКТИВНИХ МАРКЕРІВ У*** ***ГЕНЕТИЧНІЙ МОДИФІКАЦІЇ***

Мета роботи: поглибити знання про селективні маркери, що застосовуються у процесах генетичної модифікації; сформувані уявлення про їх класифікацію, механізми дії та роль у відборі трансформованих і трансфікованих клітин; навчитися аналізувати доцільність використання різних типів маркерів у біотехнологічних і біоінженерних дослідженнях.

Завдання роботи

- У процесі виконання практичної роботи студент повинен:
- засвоїти поняття селективних та репортерних маркерів;
 - ознайомитися з основними типами маркерних генів;
 - вивчити механізми селекції генетично модифікованих клітин;
 - навчитися аналізувати переваги й обмеження різних маркерних систем;
 - сформувані навички вибору маркерів залежно від об'єкта та мети експерименту.

Теоретичні відомості

Селективні маркери — це гени або генетичні елементи, які дозволяють ідентифікувати та відібрати клітини, що успішно інтегрували рекомбінантну ДНК. Їх використання є невід'ємною частиною більшості методів генетичної модифікації, оскільки ефективність перенесення генів

зазвичай є низькою, і без селекції ідентифікація трансформованих клітин була б ускладненою.

Призначення селективних маркерів

Основними функціями селективних маркерів є:

- відбір клітин, що містять рекомбінантний вектор;
- підтвердження стабільної інтеграції гена;
- зниження кількості хибнопозитивних результатів;
- спрощення аналізу результатів експерименту.

Селективні маркери широко застосовуються у бактеріальних, дріжджових, рослинних і тваринних клітинах.

Класифікація селективних маркерів

Антибіотикорезистентні маркери

Ці маркери забезпечують стійкість клітин до певних антибіотиків. Клітини, що не містять маркерного гена, гинуть на селективному середовищі.

Приклади:

- **bla** — стійкість до ампіциліну;
- **kan** — стійкість до канаміцину;
- **tet** — стійкість до тетрацикліну.

Такі маркери широко застосовуються у бактеріальній генній інженерії завдяки простоті використання та високій надійності.

Метаболічні маркери

Базуються на відновленні здатності клітини синтезувати необхідну сполуку або використовувати певний субстрат.

Приклади:

- гени синтезу амінокислот;
- гени утилізації цукрів.

Використовуються переважно у дріжджах і деяких еукаріотичних клітинних системах.

Селективні маркери для еукаріотичних клітин

Для клітин тварин і рослин застосовуються маркери, що забезпечують стійкість до токсичних речовин або гербіцидів.

Приклади:

- **neo** — стійкість до неоміцину;

- **hpt** — стійкість до гігromіцину;
- **bar** — стійкість до фосфінотрицину (у рослин).

Репортерні гени

Репортерні гени не забезпечують селекцію, але дозволяють візуалізувати або кількісно оцінити експресію цільового гена.

Найпоширеніші репортери:

- **GFP** — зелений флуоресцентний білок;
- **lacZ** — β -галактозидаза;
- **luc** — люцифераза.

Репортерні гени часто поєднують із селективними маркерами в одній генетичній конструкції.

Переваги та обмеження використання селективних маркерів

Переваги:

- підвищення ефективності відбору;
- скорочення часу експерименту;
- надійність результатів.

Обмеження:

- можливі біобезпекові ризики (антибіотикорезистентність);
- регуляторні обмеження при створенні ГМО;
- необхідність подальшого видалення маркерів у деяких системах.

Біоетичні та біобезпекові аспекти

Використання селективних маркерів, особливо антибіотикорезистентних, потребує дотримання принципів біобезпеки та чинного законодавства. У сучасній біотехнології активно розвиваються **маркер-безвільні технології**, що мінімізують ризики для довкілля та здоров'я людини.

Обладнання та матеріали

- навчальні таблиці з видами селективних маркерів;
- схеми генетичних конструкцій;
- методичні матеріали для аналізу маркерних систем.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними відомостями щодо

селективних маркерів.

2. Проаналізувати класифікацію маркерних генів.
3. Заповнити таблицю порівняльного аналізу маркерів.
4. Обґрунтувати вибір селективного маркера для заданої системи.
5. Зробити висновки щодо доцільності використання маркерів.

Результати роботи

Таблиця аналізу селективних маркерів

| Тип маркера | Приклад гена | Область застосування |
|-------------------------|---------------------|-----------------------------|
| Антибіотикорезистентний | bla | Бактерії |
| Метаболічний | HIS3 | Дріжджі |
| Еукаріотичний | neo | Клітини тварин |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити значення селективних маркерів у генетичній модифікації;
- порівняти різні типи маркерів;
- оцінити перспективи маркер-безвільних технологій.

Контрольні питання

1. Що таке селективні маркери?
2. Які основні типи селективних маркерів існують?
3. Чим селективні маркери відрізняються від репортерних генів?
4. Які ризики пов'язані з використанням антибіотикорезистентних маркерів?
5. Які альтернативи селективним маркерам застосовують у сучасній біотехнології?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 7

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ КЛІТИН

Мета роботи: поглибити знання про методи ідентифікації генетично модифікованих клітин; сформуванати уявлення про молекулярно-біологічні, біохімічні та фенотипові підходи до підтвердження наявності та експресії рекомбінантної ДНК; навчитися аналізувати доцільність вибору методів ідентифікації залежно від типу клітин і мети біотехнологічного експерименту.

Завдання роботи

У процесі виконання практичної роботи студент повинен:

- засвоїти поняття ідентифікації та верифікації генетичних модифікацій;
- ознайомитися з основними підходами до виявлення рекомбінантної ДНК;
- вивчити принципи підтвердження експресії цільового гена;
- навчитися аналізувати переваги та обмеження різних методів;
- сформуванати навички інтерпретації результатів ідентифікації.

Теоретичні відомості

Ідентифікація генетично модифікованих клітин — це комплекс методів, спрямованих на підтвердження факту інтеграції, збереження та експресії рекомбінантного генетичного матеріалу в клітинах-реципієнтах. Оскільки трансформація або трансфекція зазвичай охоплює лише частину клітинної популяції, ідентифікація є критично важливим етапом генно-інженерних і біотехнологічних досліджень.

Рівні ідентифікації генетичних модифікацій

Ідентифікація генетично модифікованих клітин може здійснюватися на кількох рівнях:

- **Геномному рівні** — підтвердження наявності

рекомбінантної ДНК;

- **Транскрипційному рівні** — виявлення синтезу мРНК;
- **Трансляційному рівні** — підтвердження синтезу білка;
- **Фенотиповому рівні** — аналіз змін властивостей клітини.

Комплексне застосування цих підходів підвищує достовірність результатів.

Молекулярно-біологічні методи

До найпоширеніших методів належать:

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Дозволяє специфічно виявляти фрагменти рекомбінантної ДНК. Метод відзначається високою чутливістю та швидкістю виконання.

Гібридизаційні методи (Southern-blot). Використовуються для підтвердження інтеграції гена в геном і визначення кількості копій.

RT-ПЛР. Застосовується для підтвердження транскрипції цільового гена.

Біохімічні та імунологічні методи

Вестерн-блотинг. Дозволяє ідентифікувати рекомбінантний білок за допомогою специфічних антитіл.

Імуноферментний аналіз (ELISA). Використовується для кількісного визначення білкових продуктів експресії.

Ферментативні тести. Застосовуються у разі використання ферментних репортерних генів.

Фенотипові та візуалізаційні методи

Флуоресцентна мікроскопія. Використовується при застосуванні флуоресцентних репортерів (наприклад, GFP).

Аналіз росту на селективних середовищах. Дозволяє підтвердити наявність селективного маркера.

Морфологічні та функціональні зміни. Оцінюються залежно від експресії цільового гена.

Переваги та обмеження методів ідентифікації

Переваги:

- висока специфічність;

- можливість кількісної оцінки;
- підтвердження різних рівнів експресії.

Обмеження:

- складність виконання;
- потреба у спеціальному обладнанні;
- можливість хибнопозитивних або хибнонегативних результатів.

Біобезпекові та регуляторні аспекти

Ідентифікація генетично модифікованих клітин є важливою складовою контролю біобезпеки та дотримання нормативних вимог при роботі з ГМО. Результати ідентифікації використовуються для документування експериментів та оцінки ризиків.

Обладнання та матеріали:

- схеми методів ідентифікації ГМ-клітин;
- навчальні таблиці та діаграми;
- методичні матеріали для аналізу результатів.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними відомостями щодо ідентифікації ГМ-клітин.
2. Проаналізувати основні рівні ідентифікації.
3. Заповнити порівняльну таблицю методів.
4. Обґрунтувати вибір методу ідентифікації для заданого об'єкта.
5. Зробити узагальнюючі висновки.

Результати роботи

Таблиця аналізу методів ідентифікації

| Метод | Рівень ідентифікації | Інформація |
|--------------|-----------------------------|-------------------|
| ПЛР | Геномний | Наявність гена |
| RT-ПЛР | Транскрипційний | Експресія мРНК |
| Вестерн-блот | Трансляційний | Синтез білка |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити значення ідентифікації ГМ-клітин;
- охарактеризувати доцільність комплексного підходу;

- оцінити роль методів ідентифікації у біотехнології.

Контрольні питання

1. Що таке ідентифікація генетично модифікованих клітин?
2. Які рівні ідентифікації ГМ-клітин існують?
3. У чому переваги ПЛР-методів?
4. Яку роль відіграють репортерні гени?
5. Чому важливо поєднувати кілька методів ідентифікації?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 8 ***ОЦІНКА ЕКСПРЕСІЇ ТРАНСГЕНІВ***

Мета роботи: поглибити знання про механізми експресії трансгенів у клітинах-реципієнтах; сформувані уявлення про методи якісної та кількісної оцінки експресії рекомбінантних генів на різних рівнях реалізації генетичної інформації; навчитися аналізувати результати експресії трансгенів і оцінювати ефективність генетичної модифікації в біотехнологічних та біоінженерних системах.

Завдання роботи

У процесі виконання практичної роботи студент повинен:

- засвоїти поняття трансгену та експресії трансгенів;
- ознайомитися з основними рівнями контролю експресії генів;
- вивчити методи оцінки експресії на транскрипційному, трансляційному та функціональному рівнях;
- навчитися порівнювати методи якісного й кількісного аналізу;
- сформувані навички інтерпретації експериментальних результатів.

Теоретичні відомості

Експресія трансгенів — це процес реалізації інформації, закладеної у рекомбінантному гені, що включає транскрипцію, трансляцію та формування функціонального продукту (РНК

або білка). Оцінка експресії є завершальним і водночас критично важливим етапом генетичної модифікації, оскільки саме вона визначає практичну цінність створеної генетичної конструкції.

Рівні експресії трансгенів

Експресія трансгенів може аналізуватися на кількох взаємопов'язаних рівнях:

- **Транскрипційний рівень** — синтез мРНК трансгену;
- **Трансляційний рівень** — синтез рекомбінантного білка;
- **Функціональний рівень** — прояв біологічної активності продукту гена.

Кожен рівень потребує застосування специфічних методів аналізу.

Методи оцінки експресії на рівні мРНК

RT-ПЛР та кількісна ПЛР (qPCR). Дозволяють виявляти та кількісно оцінювати рівень транскрипції трансгену. Методи характеризуються високою чутливістю та специфічністю.

Нортерн-блотинг. Застосовується для підтвердження розміру та кількості транскриптів, хоча використовується рідше через трудомісткість.

Методи оцінки експресії на білковому рівні

Вестерн-блотинг. Забезпечує специфічне виявлення рекомбінантного білка та дозволяє оцінити його відносну кількість.

Імуноферментний аналіз (ELISA). Використовується для кількісного визначення рівня білкової експресії.

Флуоресцентні та люмінесцентні методи. Застосовуються при використанні репортерних білків (GFP, люцифераза).

Оцінка функціональної активності трансгенів

Функціональна оцінка дозволяє визначити біологічну активність продукту експресії трансгену:

- ферментативна активність;
- фізіологічні зміни клітин;
- фенотипові прояви.

Саме функціональний рівень часто є визначальним у прикладних біотехнологічних розробках.

Фактори, що впливають на рівень експресії трансгенів

Рівень експресії залежить від:

- структури вектора та регуляторних елементів;
- місця інтеграції трансгену;
- типу клітин-реципієнтів;
- стабільності мРНК та білка;
- умов культивування клітин.

Оптимізація цих факторів є важливим завданням біоінженерії.

Переваги та обмеження методів оцінки експресії

Переваги:

- висока точність;
- можливість кількісного аналізу;
- застосування для різних об'єктів.

Обмеження:

- потреба у спеціальному обладнанні;
- висока вартість реагентів;
- складність інтерпретації результатів.

Біобезпекові та етичні аспекти

Оцінка експресії трансгенів є необхідною для контролю безпечності генетично модифікованих організмів та відповідності нормативним вимогам. Дані експресії використовуються для оцінки стабільності та передбачуваності властивостей ГМО.

Обладнання та матеріали:

- навчальні схеми експресії трансгенів;
- таблиці методів аналізу;
- методичні матеріали для інтерпретації результатів.

Порядок виконання роботи

1. Ознайомитися з теоретичними відомостями щодо експресії трансгенів.
2. Проаналізувати рівні контролю експресії.
3. Заповнити порівняльну таблицю методів оцінки.

4. Обґрунтувати вибір методів для заданої експериментальної моделі.

5. Сформулювати узагальнюючі висновки.

Результати роботи

Таблиця аналізу методів оцінки експресії

| Рівень | Метод | Інформація |
|---------|-----------------|-----------------------|
| мРНК | qPCR | Рівень транскрипції |
| Білок | ELISA | Кількість білка |
| Функція | Ферментний тест | Біологічна активність |

Висновки

У висновках необхідно:

- узагальнити значення оцінки експресії трансгенів;
- порівняти методи аналізу;
- оцінити роль експресійного аналізу у біотехнології та біоінженерії.

Контрольні питання

1. Що таке експресія трансгенів?
2. Які рівні експресії генів аналізують у біоінженерії?
3. Чим відрізняється якісна та кількісна оцінка експресії?
4. Які фактори впливають на рівень експресії трансгенів?
5. Чому функціональна оцінка є особливо важливою?

ПРАКТИЧНА РОБОТА №9

МОДЕЛЮВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ CRISPR/CAS ДЛЯ РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ

Мета роботи: Ознайомитися з молекулярно-біологічними засадами функціонування системи CRISPR/Cas, вивчити механізми цілеспрямованого редагування геному та опанувати методи біоінформатичного моделювання процесу внесення генетичних змін із прогнозуванням їхніх наслідків.

Завдання роботи:

1. Розглянути теоретичні основи редагування геному та місце CRISPR/Cas у сучасній біотехнології.
2. Охарактеризувати будову та принцип дії системи

CRISPR/Cas.

3. Проаналізувати механізми клітинної репарації ДНК після індукованого розрізу.

4. Ознайомитися з принципами біоінформатичного моделювання редагування геному.

5. Навчитися оцінювати ефективність та специфічність направляючих РНК.

Теоретичні відомості

Загальні поняття редагування геному.

Редагування геному — це сукупність методів молекулярної біології та біотехнології, спрямованих на внесення точних, заздалегідь запланованих змін до нуклеотидної послідовності ДНК організмів. На відміну від класичної генетичної інженерії, що базувалася на випадковій інтеграції генів, сучасні технології редагування дозволяють здійснювати контрольований вплив на конкретні ділянки геному.

Редагування геному використовується для:

- дослідження функцій генів;
- створення модельних організмів;
- лікування спадкових і онкологічних захворювань;
- удосконалення властивостей сільськогосподарських культур;
- оптимізації мікроорганізмів для промислових процесів.

Серед наявних методів редагування (ZFN, TALEN, CRISPR/Cas) саме CRISPR/Cas отримала найбільше поширення завдяки простоті проектування та високій ефективності.

Походження та біологічна роль системи CRISPR/Cas

Система CRISPR/Cas є елементом природного імунітету прокариотів. Вона забезпечує захист бактерій та архей від вірусів і плазмід шляхом розпізнавання та руйнування чужорідної ДНК.

CRISPR-локуси складаються з повторюваних паліндромних послідовностей, між якими розташовані

унікальні фрагменти — спейсери, що походять від геномів вірусів. Cas-білки забезпечують обробку CRISPR-РНК та розріз цільових нуклеїнових кислот.

Адаптація цієї системи для еукаріотичних клітин стала проривом у молекулярній біології та започаткувала нову еру геномної інженерії.

Основні компоненти системи CRISPR/Cas

Cas-білки. Cas-білки є ферментами з нуклеазною активністю. Найпоширенішим є Cas9, який здійснює дволанцюговий розріз ДНК. Альтернативні Cas-системи (Cas12, Cas13) розширюють можливості технології та дозволяють редагувати різні типи нуклеїнових кислот.

Направляюча РНК. Направляюча РНК (gRNA) забезпечує специфічність системи CRISPR/Cas. Вона містить послідовність, комплементарну до цільової ДНК, що дозволяє Cas-білку здійснювати розріз у строго визначеній точці геному.

РАМ-послідовність. Для ефективного розпізнавання цілі необхідна наявність РАМ-послідовності, що розташована поруч із цільовою ділянкою. Відсутність РАМ унеможливило зв'язування комплексу CRISPR/Cas з ДНК.

Механізм дії CRISPR/Cas. Після формування комплексу Cas-білка з направляючою РНК відбувається його транспортування до ядра клітини. Комплекс сканує геном, розпізнає РАМ-послідовність і перевіряє комплементарність gRNA до ДНК. У разі відповідності Cas-білок здійснює дволанцюговий розріз ДНК, ініціюючи процеси клітинної репарації.

Механізми репарації ДНК

Негомологічне з'єднання кінців. NHEJ є основним шляхом репарації та характеризується високою швидкістю, але низькою точністю. Унаслідок цього виникають випадкові мутації, що часто призводять до інактивації гена.

Гомологічна рекомбінація. HDR забезпечує точне

внесення змін за наявності донорної матриці ДНК. Цей механізм дозволяє здійснювати заміну або вставку конкретних нуклеотидних послідовностей.

Off-target ефекти та їх значення. Off-target ефекти виникають у разі часткової комплементарності gRNA до нецільових ділянок геному. Вони можуть спричиняти небажані мутації, що становить серйозну проблему для медичного застосування CRISPR/Cas. Тому попереднє моделювання є обов'язковим етапом планування експериментів.

Біоінформатичне моделювання CRISPR/Cas

Моделювання процесу редагування геному здійснюється з використанням спеціалізованих програмних засобів, які дозволяють:

- аналізувати геномні послідовності;
- проектувати направляючі РНК;
- прогнозувати ефективність редагування;
- оцінювати ризик off-target мутацій.

Біоінформатичне моделювання є безпечним та економічно доцільним способом попередньої оцінки експериментальних підходів.

Хід роботи

1. Обрати цільовий ген для моделювання редагування.
2. Проаналізувати нуклеотидну послідовність гена та визначити потенційні PAM-ділянки.
3. Спроекувати декілька варіантів направляючих РНК.
4. Здійснити моделювання процесу розрізу ДНК та подальшої репарації.
5. Проаналізувати можливі типи мутацій та їхній вплив на функцію гена.

Висновки. У ході виконання практичної роботи було встановлено, що система CRISPR/Cas є високоєфективним інструментом редагування геному. Попереднє біоінформатичне моделювання дозволяє прогнозувати

результати генетичних змін, мінімізувати ризик нецільових мутацій та підвищити безпеку експериментів. Отримані знання є важливими для подальшого застосування технологій геномної інженерії у наукових та прикладних дослідженнях.

Контрольні питання

1. У чому полягає принцип дії системи CRISPR/Cas?
2. Яку роль відіграє направляюча РНК у редагуванні геному?
3. Що таке PAM-послідовність і чому вона необхідна?
4. Чим відрізняються механізми NHEJ та HDR?
5. У чому полягає значення біоінформатичного моделювання CRISPR/Cas?

ПРАКТИЧНА РОБОТА №10

АНАЛІЗ ПРИКЛАДІВ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ ОРГАНІЗМІВ У ПРОМИСЛОВІЙ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Мета роботи: ознайомитися з роллю генетично модифікованих організмів у промисловій біотехнології, проаналізувати основні напрями їх застосування, вивчити приклади використання ГМО для отримання біологічно активних речовин, ферментів, лікарських препаратів та інших продуктів промислового значення.

Завдання роботи:

1. Розкрити поняття генетично модифікованих організмів та їх значення у промисловій біотехнології.
2. Охарактеризувати основні типи ГМО, що використовуються у біотехнологічних виробництвах.
3. Проаналізувати приклади застосування генетично модифікованих мікроорганізмів, рослин і клітин тварин.
4. Визначити переваги та обмеження використання ГМО в промисловості.
5. Сформулювати уявлення про біобезпеку та регуляторні аспекти застосування ГМО.

Теоретичні відомості

Поняття генетично модифікованих організмів

Генетично модифіковані організми (ГМО) — це організми, генетичний матеріал яких було цілеспрямовано змінено за допомогою методів генної інженерії. Такі зміни передбачають введення, видалення або модифікацію певних генів з метою надання організму нових або покращених властивостей.

На відміну від традиційної селекції, генетична модифікація дозволяє:

- переносити гени між біологічно далекими видами;
- досягати прогнозованих результатів;
- значно скорочувати час отримання бажаного фенотипу.

У промисловій біотехнології ГМО є ключовими продуцентами цінних біологічних речовин.

Роль ГМО у промисловій біотехнології

Промислова біотехнологія використовує живі організми або їхні компоненти для масштабного виробництва продуктів, необхідних для медицини, харчової промисловості, енергетики, сільського господарства та охорони довкілля.

Застосування ГМО дозволяє:

- підвищити продуктивність біотехнологічних процесів;
- знизити собівартість виробництва;
- забезпечити стабільну якість продукції;
- оптимізувати біохімічні шляхи синтезу речовин.

Найчастіше в промисловості використовують генетично модифіковані мікроорганізми, рідше — рослини та клітинні культури тварин.

Генетично модифіковані мікроорганізми

Бактерії як продуценти біотехнологічної продукції

Генетично модифіковані бактерії широко застосовуються для синтезу:

- рекомбінантних білків;
- ферментів;
- амінокислот;

- антибіотиків.

Класичним прикладом є **Escherichia coli**, у геном якої вбудовують гени людини або інших організмів. Такі штами використовуються для промислового отримання інсуліну, гормону росту, інтерферонів.

Перевагами ГМ-бактерій є швидкий ріст, простота культивування та висока продуктивність.

Генетично модифіковані дріжджі

Дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*) є важливими продуцентами у промисловій біотехнології. Генетична модифікація дозволяє:

- підвищувати синтез етанолу;
- отримувати вакцинні антигени;
- продукувати ферменти та вітаміни.

ГМ-дріжджі поєднують переваги еукаріотичних клітин із технологічною зручністю.

Генетично модифіковані рослини у промисловості

Генетично модифіковані рослини застосовують не лише у сільському господарстві, але й у промисловій біотехнології як **біореактори** для синтезу білків та інших сполук.

Прикладами є:

- рослини, що продукують вакцинні антигени;
- культури, збагачені біологічно активними речовинами;
- рослини з підвищеним вмістом ферментів для біопалива.

Перевагою такого підходу є масштабованість і відносно низька вартість виробництва.

Клітинні культури тварин

У фармацевтичній промисловості важливу роль відіграють генетично модифіковані клітини тварин, які використовують для отримання:

- моноклональних антитіл;
- складних терапевтичних білків;
- вакцин.

Клітини тварин забезпечують правильне згортання білків і посттрансляційні модифікації, що є критично важливим для

медичного застосування.

Переваги використання ГМО у промисловій біотехнології

Основними перевагами застосування ГМО є:

- висока специфічність синтезу продукту;
- можливість оптимізації метаболічних шляхів;
- зменшення залежності від природних ресурсів;
- екологічна безпечність за умови дотримання регламентів.

Використання ГМО сприяє розвитку «зеленої» біотехнології та сталого виробництва.

Обмеження та біобезпека

Попри численні переваги, застосування ГМО потребує суворого контролю. Основні ризики пов'язані з:

- можливим виходом ГМО за межі виробничих систем;
- горизонтальним переносом генів;
- етичними та соціальними аспектами.

Тому виробництво з використанням ГМО регулюється міжнародними та національними нормативними документами з біобезпеки.

Хід роботи

1. Ознайомитися з поняттям генетично модифікованих організмів та їх класифікацією.
2. Проаналізувати приклади використання ГМО у різних галузях промислової біотехнології.
3. Визначити тип організму та цільову продукцію для кожного прикладу.
4. Оцінити переваги використання ГМО порівняно з немодифікованими організмами.
5. Зробити узагальнюючі висновки щодо ефективності та безпечності застосування ГМО.

Приклади для аналізу

| Тип ГМО | Організм | Продукт | Галузь застосування |
|----------------|----------------------|--------------------|-----------------------------|
| Бактерії | <i>E. coli</i> | Інсулін | Фармацевтика |
| Дріжджі | <i>S. cerevisiae</i> | Етанол, вакцини | Біоенергетика, медичина |
| Рослини | Кукурудза, тютюн | Ферменти, білки | Промислова біотехнологія |
| Клітини тварин | СНО-клітини | Антитіла | Біофармація |

Контрольні питання

1. Що таке генетично модифіковані організми?
2. Чому мікроорганізми є основними об'єктами промислової біотехнології?
3. Які переваги мають генетично модифіковані дріжджі?
4. У чому полягають ризики використання ГМО?
5. Яке значення мають нормативні документи з біобезпеки?

Висновки. У результаті виконання практичної роботи було встановлено, що генетично модифіковані організми відіграють ключову роль у сучасній промисловій біотехнології. Їх використання забезпечує ефективне та економічно доцільне виробництво біологічно активних речовин, ферментів і лікарських препаратів. Дотримання принципів біобезпеки та нормативних вимог є необхідною умовою широкого застосування ГМО у промислових масштабах.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 11

ОЦІНКА РИЗИКІВ ТА БІОБЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ З ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИМИ ОРГАНІЗМАМИ (ГМО)

Мета роботи: Ознайомитися з основними принципами біобезпеки при роботі з генетично модифікованими організмами, проаналізувати потенційні ризики їх використання, вивчити методи оцінки біологічних ризиків та

нормативні підходи до забезпечення безпечного застосування ГМО у науковій та промисловій біотехнології.

Завдання роботи:

1. Розкрити поняття біобезпеки та біологічного ризику у контексті використання ГМО.
2. Проаналізувати основні типи ризиків, пов'язаних з роботою з генетично модифікованими організмами.
3. Охарактеризувати рівні біобезпеки лабораторій та виробництв.
4. Ознайомитися з принципами оцінки ризиків при створенні та використанні ГМО.
5. Вивчити заходи контролю та мінімізації біологічних ризиків.

Теоретичні відомості

Поняття біобезпеки у біотехнології

Біобезпека — це система організаційних, технічних та правових заходів, спрямованих на запобігання негативному впливу біологічних агентів, у тому числі генетично модифікованих організмів, на здоров'я людини та навколишнє середовище.

У біотехнології біобезпека має особливе значення, оскільки робота з ГМО передбачає цілеспрямоване втручання у генетичний матеріал живих організмів, що потенційно може призводити до непередбачуваних наслідків.

Поняття ризику при роботі з ГМО

Біологічний ризик — це ймовірність виникнення небажаних наслідків у результаті використання або поширення ГМО. Ризик визначається як поєднання двох складових:

- імовірності виникнення події;
- тяжкості можливих наслідків.

Оцінка ризиків є ключовим етапом при плануванні будь-яких робіт з генетично модифікованими організмами.

Основні типи ризиків, пов'язаних з ГМО

До потенційних ризиків належать:

- алергенні властивості рекомбінантних білків;
- токсичність новосинтезованих сполук;
- можливість патогенних ефектів у разі контакту з ГМО.

Особливої уваги потребують роботи з генетично модифікованими мікроорганізмами, здатними до розмноження поза контрольованими умовами.

Екологічні ризики включають:

- неконтрольоване поширення ГМО у природному середовищі;
- горизонтальний перенос генів до диких або культурних організмів;
- порушення природних екосистем та біорізноманіття.

Оцінка екологічних ризиків є обов'язковою складовою біобезпечних процедур.

Генетичні ризики пов'язані з:

- нестабільністю інтегрованих генетичних конструкцій;
- можливими мутаціями внаслідок рекомбінацій;
- появою непередбачуваних фенотипових ефектів.

Такі ризики вимагають ретельного молекулярного контролю створених ГМО.

Рівні біобезпеки при роботі з ГМО

Для забезпечення безпеки використовують систему рівнів біобезпеки, що визначає вимоги до лабораторних умов і персоналу:

- **BSL-1** — роботи з ГМО низького ризику, що не становлять загрози для людини та довкілля.
- **BSL-2** — робота з організмами середнього ризику, що потребує додаткових заходів контролю.
- **BSL-3** — високий рівень біобезпеки, застосовується для потенційно небезпечних агентів.
- **BSL-4** — максимальний рівень захисту, використовується у виняткових випадках.

Принципи оцінки ризиків при роботі з ГМО

Оцінка ризиків базується на поетапному аналізі:

1. Ідентифікації небезпек.
2. Аналізу шляхів можливого впливу.
3. Оцінки ймовірності негативних наслідків.
4. Визначення ступеня ризику.
5. Розробки заходів з управління ризиками.

Такий підхід дозволяє мінімізувати можливі негативні наслідки ще на етапі планування робіт.

Заходи біобезпеки при роботі з ГМО

Основними заходами біобезпеки є:

- використання спеціального лабораторного обладнання;
- дотримання правил особистого захисту персоналу;
- фізична та біологічна ізоляція ГМО;
- утилізація біологічних відходів відповідно до нормативних вимог;
- постійний моніторинг та документування процесів.

Нормативно-правове регулювання

Робота з ГМО регламентується міжнародними конвенціями та національним законодавством, що визначає вимоги до досліджень, виробництва та використання генетично модифікованих організмів. Дотримання нормативних вимог є обов'язковою умовою біобезпечної діяльності у сфері біотехнології.

Хід роботи

1. Ознайомитися з основними поняттями біобезпеки та ризику при роботі з ГМО.
2. Проаналізувати можливі ризики, пов'язані з використанням різних типів ГМО.
3. Визначити рівень біобезпеки для конкретних прикладів робіт з ГМО.
4. Запропонувати заходи мінімізації ризиків.
5. Сформулювати узагальнюючі висновки щодо безпечності використання ГМО.

Приклад таблиці оцінки ризиків

| Тип ГМО | Потенційний ризик | Рівень ризику | Заходи біобезпеки |
|----------------|------------------------------|----------------------|--------------------------|
| ГМ-бактерії | Горизонтальний перенос генів | Середній | Фізична ізоляція |
| ГМ-рослини | Поширення в екосистемах | Низький | Контроль вирощування |
| Клітини тварин | Контакт персоналу | Низький | ЗІЗ, стерильність |

Висновки. У ході виконання практичної роботи було встановлено, що оцінка ризиків та дотримання принципів біобезпеки є невід’ємною складовою роботи з генетично модифікованими організмами. Системний підхід до аналізу потенційних небезпек дозволяє мінімізувати негативний вплив ГМО на людину та довкілля, забезпечуючи безпечне та відповідальне використання біотехнологічних досягнень.

Контрольні питання

1. Що розуміють під біобезпекою при роботі з ГМО?
2. Які основні типи ризиків пов’язані з використанням ГМО?
3. У чому полягає значення оцінки ризиків?
4. Які рівні біобезпеки застосовують у біотехнології?
5. Чому важливо дотримуватися нормативних вимог при роботі з ГМО?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 12 КЕЙС-АНАЛІЗ НОРМАТИВНОГО РЕГУЛЮВАННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ МОДИФІКАЦІЇ

Мета роботи: Ознайомитися з системою нормативно-правового регулювання генетичної модифікації, проаналізувати міжнародні та національні документи у сфері використання генетично модифікованих організмів, сформувати навички кейс-аналізу правових ситуацій, пов’язаних із застосуванням технологій генної інженерії та ГМО.

Завдання роботи:

1. Розкрити поняття нормативного регулювання у сфері генетичної модифікації.
2. Охарактеризувати основні міжнародні документи щодо біобезпеки та ГМО.
3. Проаналізувати національні підходи до регулювання генетично модифікованих організмів.
4. Розглянути практичні кейси застосування нормативних вимог.
5. Сформувати висновки щодо значення правового регулювання для безпечного розвитку біотехнологій.

Теоретичні відомості

Необхідність нормативного регулювання генетичної модифікації.

Розвиток технологій генетичної модифікації супроводжується значними науковими та прикладними досягненнями, однак одночасно породжує низку потенційних ризиків для здоров'я людини, довкілля та біологічного різноманіття. У зв'язку з цим виникає потреба у чіткому нормативно-правовому регулюванні діяльності, пов'язаної зі створенням, випробуванням, використанням та поширенням генетично модифікованих організмів.

Нормативне регулювання покликане забезпечити баланс між науковим прогресом і принципом обережності, а також гарантувати дотримання вимог біобезпеки та біоетики.

Основні принципи правового регулювання ГМО

Регулювання генетичної модифікації ґрунтується на таких принципах:

- принцип пріоритету безпеки людини та довкілля;
- принцип наукової обґрунтованості рішень;
- принцип прозорості та інформування суспільства;
- принцип відповідальності виробника та користувача;
- принцип попередньої оцінки ризиків.

Зазначені принципи є спільними для більшості міжнародних та національних правових систем.

Міжнародне нормативне регулювання генетичної модифікації

Картахенський протокол про біобезпеку

Картахенський протокол є ключовим міжнародним документом, що регулює транскордонне переміщення генетично модифікованих організмів. Основна мета протоколу — запобігання можливому негативному впливу ГМО на біологічне різноманіття та здоров'я людини.

Документ передбачає:

- обов'язкову оцінку ризиків;
- процедуру попередньої обґрунтованої згоди;
- механізми обміну інформацією між державами.

Міжнародні рекомендації та стандарти

Крім Картахенського протоколу, важливу роль відіграють рекомендації Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН (FAO), Всесвітньої організації охорони здоров'я (WHO), а також документи Організації економічного співробітництва та розвитку (OECD).

Регулювання генетичної модифікації в Європейському Союзі

Європейський Союз застосовує один із найсуворіших підходів до регулювання ГМО. Основними елементами є:

- обов'язкова державна реєстрація ГМО;
- оцінка ризиків для довкілля та здоров'я людини;
- маркування продукції, що містить ГМО;
- контроль за вирощуванням та обігом ГМО.

Такий підхід базується на принципі обережності.

Нормативне регулювання генетичної модифікації в Україні

В Україні правове регулювання у сфері ГМО здійснюється через систему законів та підзаконних актів, що визначають правила поведінки з генетично модифікованими організмами на всіх етапах їх життєвого циклу.

Основними напрямками регулювання є:

- державна реєстрація ГМО;
- контроль за використанням у наукових дослідженнях;
- регламентація ввезення та обігу продукції з ГМО;
- забезпечення біобезпеки.

Кейс-аналіз як метод навчання

Кейс-аналіз передбачає розгляд реальної або умовно змодельованої ситуації, що вимагає застосування нормативних положень до конкретних обставин. Цей метод дозволяє:

- поєднати теоретичні знання з практикою;
- сформулювати правове мислення;
- навчитися аргументувати рішення на основі нормативних документів.

Кейс-аналіз

Кейс 1. Використання ГМ-мікроорганізмів у лабораторних дослідженнях

Науково-дослідна лабораторія планує використання генетично модифікованих бактерій для синтезу рекомбінантного білка.

Питання для аналізу:

1. Які нормативні вимоги повинні бути дотримані?
2. Який рівень біобезпеки необхідний?
3. Які дозволи слід отримати перед початком робіт?

Кейс 2. Виведення ГМ-рослини у промислове виробництво

Біотехнологічна компанія розробила генетично модифіковану рослину з підвищеною стійкістю до шкідників і планує її комерційне вирощування.

Питання для аналізу:

1. Які етапи державної реєстрації необхідні?
2. Які екологічні ризики мають бути оцінені?
3. Які вимоги до маркування продукції?

Хід роботи

1. Ознайомитися з основними нормативними документами у сфері генетичної модифікації.
2. Проаналізувати подані кейси з урахуванням

міжнародних та національних вимог.

3. Визначити правові наслідки недотримання нормативних положень.

4. Запропонувати обґрунтовані рішення для кожного кейсу.

5. Сформулювати узагальнюючі висновки.

Таблиця узагальнення кейс-аналізу

| Кейс | Тип ГМО | Основні нормативні вимоги | Рівень ризику |
|-------------|----------------|----------------------------------|----------------------|
| 1 | ГМ-бактерії | Біобезпека, дозвіл | Середній |
| 2 | ГМ-рослини | Реєстрація, контроль | Високий |

Висновки. У ході виконання практичної роботи було встановлено, що нормативне регулювання генетичної модифікації є необхідною умовою безпечного та відповідального розвитку біотехнологій. Кейс-аналіз дозволяє застосувати теоретичні положення до практичних ситуацій, оцінити правові ризики та сформувати навички дотримання нормативних вимог у професійній діяльності.

Контрольні питання

1. Чому необхідне нормативне регулювання генетичної модифікації?

2. Які міжнародні документи регулюють використання ГМО?

3. У чому полягає принцип обережності?

4. Яке значення має кейс-аналіз у вивченні біобезпеки?

5. Які наслідки можливі у разі порушення нормативних вимог?

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андрієнко О. В., Кузнєцова Л. В. Біобезпека та біоетика : навч. посіб. Київ : НУБіП України, 2018.
2. Балабан П. М. Основи біотехнології : підручник. Київ : Либідь, 2019.
3. Бровко Л. Ю., Ковальчук М. В. Генетично модифіковані організми: наукові основи та безпека використання : навч. посіб. Київ : Академія, 2017.
4. Бургу Ю., Бірта Г. Генно-модифіковані організми: за і проти. Київ : Центр учбової літератури, 2020. 128 с.
5. Гродзинський Д. М. Генетика : підручник. Київ : Академперіодика, 2016.
6. Дяченко О. В. Біотехнологія та біобезпека : навч. посіб. Харків : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2020.
7. Картахенський протокол про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття : ратифіковано Законом України від 12.09.2002 № 152-IV. *Офіційний вісник України*. 2002.
8. Кунах В. А. Клітинна та генетична інженерія рослин : монографія. Київ : Наукова думка, 2018.
9. Мельничук М. Д., Моргун В. В. Сучасні проблеми молекулярної біології та генетики : навч. посіб. Київ : Аграрна освіта, 2019.
10. Методичні рекомендації щодо оцінки ризиків при використанні генетично модифікованих організмів / МОЗ України. Київ : Офіц. вид.
11. Моргун В. В., Логінов О. М. Генетично модифіковані рослини: перспективи і ризики. *Вісник НАН України*. 2016. № 2. С. 34-40.
12. Патица В. П., Тараріко Ю. О. Біотехнологія та екологічна безпека : навч. посіб. Київ : Урожай, 2017.
13. Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів : Закон України від 31.05.2007 № 1103-V. *Відомості Верховної Ради України*.
14. Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення : Закон України від 24.02.1994 № 4004-XII. *Відомості Верховної Ради України*.

15. Про охорону навколишнього природного середовища : Закон України від 25.06.1991 № 1264-ХІІ. *Відомості Верховної Ради України.*
16. Ситник К. М. Біологія ХХІ століття: виклики та ризики. *Біополітика і екобезпека.* Київ, 2018.