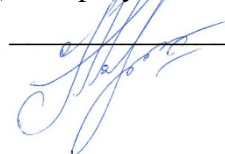


МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Кафедра физиологии человека и животных

УТВЕРЖДАЮ

Декан факультета биологии и экологии



О.А. Маракаев
«20» мая 2021 г.

Рабочая программа
«Методы исследования нуклеиновых кислот»

Направление подготовки
06.06.01 Биологические науки

Направленность (профиль)
«Микробиология»

Форма обучения
очная

Программа одобрена
на заседании кафедры
от «11» мая 2021 года, протокол № 13

Ярославль

1. Цели освоения дисциплины: совершенствование и приобретение аспирантами современных знаний, умений и практических навыков по методам исследования строения и функций нуклеиновых кислот.

2. Место дисциплины в структуре программы аспирантуры

Дисциплина «Методы исследования нуклеиновых кислот» является дисциплиной по выбору вариативной части. Данная дисциплина направлена на подготовку к сдаче зачета при освоении образовательной программы аспирантуры по направлению 06.06.01 Биологические науки (профиль «Микробиология»).

Данная дисциплина имеет логические и содержательно-методические взаимосвязи с другими частями ООП, а именно с дисциплиной «Микробиология», с курсами по выбору «Молекулярная биология прокариот», «Микробные биотехнологии», научно-организационной практикой и научными исследованиями.

Для изучения данной дисциплины необходимы «входные» знания, умения, полученные в процессе обучения по программам бакалавриата – магистратуры, а также при изучении дисциплины «Микробиология» в аспирантуре.

3. Планируемые результаты обучения по дисциплине – знания, умения, навыки и (или) опыт деятельности, характеризующие этапы формирования компетенций и обеспечивающие достижение планируемых результатов освоения программы аспирантуры, и критерии их оценивания

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих компетенций:

Профессиональные компетенции: способностью применять современные представления о функциональной организации микроорганизмов, методах и условиях их выращивания в модельных и природных ситуациях, взаимодействии с другими организмами для решения фундаментальных и прикладных задач микробных биотехнологий (ПК-2).

Код компетенции	Планируемые результаты обучения	Критерии оценивания результатов обучения
		Пороговый уровень
ПК-2	знать: -принципы организации генетического аппарата микроорганизмов; уметь: -применять методы генетической инженерии в области биотехнологии микроорганизмов. владеть: -молекулярно-генетическими методами идентификации бактерий.	1. Воспроизведение основных механизмов хранения, передачи и реализации генетического материала у прокариот. 2. Использование на практике методов генетической инженерии для решения задач в области биотехнологии микроорганизмов. 3. Демонстрация владения методами молекулярно-генетической идентификации бактерий.

4. Объем, структура и содержание дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 5 зачетных единиц, 180 акад. часов.

Дисциплина изучается в течение второго семестра. Формой итоговой промежуточной аттестации по дисциплине является зачет.

№ п/п	Темы (разделы) дисциплины, их содержание	Семестр	Виды учебных занятий и их трудоемкость (в академических часах)					Формы текущего контроля успеваемости
			лекции	практические	лабораторные	консультации	самостоятельная работа	Форма промежуточной аттестации (по семестрам)
1	История развития методов исследования нуклеиновых кислот (НК)	2	2				20	реферат
2.	Выделение НК	2	1				15	реферат
3.	Гель-электрофорез НК	2	1				15	реферат
4.	Рестрикционный анализ НК	2	2				20	реферат
5.	Блоттинг и гибридизация НК	2	2				20	реферат
6.	Основы полимеразной цепной реакции	2	2				20	реферат
7.	Секвенирование НК	2	2				20	реферат
8.	Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей	2	2				20	реферат
						2	14	зачет
	Всего		14			2	164	

Содержание разделов дисциплины:

1. История развития методов исследования нуклеиновых кислот (НК).

1.1. История открытия структуры ДНК. Молекулярные механизмы сохранения, воспроизведения и реализации генетической информации.

1.2. Основные методы молекулярно-генетических исследований. История развития методов молекулярной биологии, генетики и геной инженерии. Перспективы использования молекулярно-генетических методов для фундаментальных и прикладных исследований.

2. Выделение НК.

2.1. Обзор распространенных физико-химических методов выделения и очистки НК из природных образцов. Выделение ДНК с использованием коммерческих наборов.

2.2. Методы определения концентрации НК. Спектрофотометрическое измерение концентрации НК.

3. Гель-электрофорез НК.

3.1. Практика электрофореза ДНК. Физические принципы метода гель-электрофореза.

3.2. Электрофорез в полиакриламидном геле. Электрофорез в агарозном геле. Проведение и параметры агарозного гель-электрофореза. Подготовка геля и нанесение

образцов. Состав буферного раствора. Разновидности красителей ДНК. Выделение ДНК из агарозного геля. Интерпретация результатов.

4. Рестрикционный анализ НК.

4.1. Основные классы ферментов, используемых в молекулярно-генетических исследованиях. Ферменты рестрикции и модификации: рестриктазы, метилазы. Полимеразы. Нуклеазы. Лигазы. Фосфатазы.

4.2. Принцип рестрикционного анализа. Выбор рестриктаз. Методика проведения рестрикционного анализа. Построение и анализ рестрикционных карт.

5. Блоттинг и гибридизация НК.

5.1. Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). Характеристика и принцип метода. Особенности используемых ДНК-зондов. Процедура гибридизации. Значение метода в молекулярно-генетических исследованиях.

5.2. Нозерн-гибридизация. Характеристика и принцип метода. Процедура гибридизации. Значение метода в молекулярно-генетических исследованиях. Саузерн-гибридизация. Вестерн-гибридизация. Технологии, основанные на ДНК-чипах.

6. Основы полимеразной цепной реакции.

6.1. Методы амплификации нуклеиновых кислот. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). История открытия. Компоненты реакционной смеси ПЦР. Схема проведения ПЦР. Дизайн и синтез праймеров. Особенности работы с амплификатором.

6.2. Методы анализа продуктов амплификации. Возможные ошибки при проведении ПЦР. Устройство ПЦР-лаборатории. Примеры решения конкретных диагностических задач.

6.3. Разновидности ПЦР. ПЦР в режиме реального времени (Real-time PCR). ПЦР с обратной транскрипцией. Вложенная ПЦР. Групп-специфическая ПЦР. Иммуно-ПЦР. Мультилокусная ПЦР.

6.4. Возможности применения ПЦР. Практическое использование ПЦР-анализа для фундаментальных и прикладных исследований. Диагностика инфекционных заболеваний. Диагностика наследственных заболеваний. Молекулярная диагностика в онкологии. Современные тенденции развития ПЦР. Микрочипы.

7. Секвенирование НК.

7.1. Методы расшифровки нуклеотидной последовательности нуклеиновых кислот. Секвенирование ДНК по Сэнгеру. Автоматическое секвенирование ДНК. Секвенирование с помощью капиллярного секвенатора. Секвенаторы нового поколения (Ion, SOLiD, пиросеквенирование, Illumina/Solexa). Полногеномное секвенирование.

7.2. Работа с хроматограммами и сиквенсами. Программы для обработки результатов секвенирования (хроматограммы).

8. Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей.

8.1. Понятие биоинформатики. Роль биоинформатики в современной молекулярной генетике и биотехнологии.

8.2. Биологические системы с точки зрения биоинформатики. Кодирование наследственной информации. Последовательности аминокислот и нуклеотидов как основная информационная составляющая биоинформатики. Международные базы данных по молекулярной биологии и генетике. База данных GenBank. Репозиторные и аналитические функции GenBank. Встроенные инструменты для работы с базами данных в Интернете.

8.3. Биоинформационный анализ последовательностей нуклеиновых кислот и белков. Работа с хроматограммами и сиквенсами. Обзор основных компьютерных программ и Интернет-сервисов для биоинформационного анализа. Трансформация последовательностей. Парное и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей. Анализ нуклеотидных последовательностей: изучение полиморфизма, выявление филогенетических связей. Построение филогенетических деревьев.

5. Образовательные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине

Учебный курс строится на сочетании лекционных занятий и самостоятельной работы аспирантов.

Лекции читаются с использованием мультимедийных презентаций. Они предполагают последовательное изложение материала, осуществляемое преимущественно в виде монолога преподавателя. Требования к лекции: современный научный уровень и насыщенная информативность, убедительная аргументация, доступная и понятная речь, четкая структура и логика, наличие ярких примеров, научных доказательств, обоснований, фактов.

Самостоятельная работа студентов включает использование библиотечного фонда и электронно-библиотечной системы, подготовку рефератов по темам с использованием журналов «Генетика», «Микробиология», «Молекулярная биология» и др. Предусмотрено проведение собеседований по темам; обсуждение научных данных по итогам освоения каждой темы; обсуждение рефератов. В период самостоятельной подготовки студенты имеют возможность обсудить заданные вопросы с преподавателем.

6. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине, включая перечень лицензионного программного обеспечения и информационных справочных систем (при необходимости).

В процессе осуществления образовательного процесса используются:

- для формирования текстов материалов для промежуточной и текущей аттестации – программы Microsoft Office;
- для поиска учебной литературы библиотеки ЯрГУ – Автоматизированная библиотечная информационная система «БУКИ-NEXT» (АБИС «Буки-Next»).

7. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины

а) основная литература

1. Коничев, А.С. Молекулярная биология: Учебник для вузов / А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова. - М.: Академия, 2003. - 397с.

б) дополнительная литература

1. Альбертс, Б. Молекулярная биология клетки: в 3-х т. / Б. Альбертс, Д.Брей, Дж.Льюис - М.: Мир, 1995. - 1554 с.
2. Жимулев, И.Ф. Общая и молекулярная генетика / И. Ф. Жимулев. – Новосибирск: Сибирское ун-ое изд-во, 2006. – 479 с.
3. Щелкунов, С.Н. Генетическая инженерия: учеб. пособие для вузов. / С.Н. Щелкунов. - Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. - 496 с.

8. Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине

Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине включает в свой состав специальные помещения:

- учебные аудитории для проведения занятий лекционного типа;
- учебные аудитории для проведения групповых и индивидуальных консультаций,
- учебные аудитории для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации;
- помещения для самостоятельной работы;

- помещения для хранения и профилактического обслуживания оборудования.

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду организации.

Число посадочных мест в лекционной аудитории больше либо равно списочному составу потока.

Автор(ы) :

Доцент кафедры ботаники и микробиологии, к.б.н.



Ю.В. Зайцева

**Приложение №1 к рабочей программе дисциплины
«Методы исследования нуклеиновых кислот»**

**Оценочные средства
для проведения текущей и/или промежуточной аттестации аспирантов
по дисциплине**

**1. Типовые контрольные задания или иные материалы,
необходимые для оценки знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности,
характеризующих этапы формирования компетенций**

1.1 Список вопросов и (или) заданий для проведения промежуточной аттестации

Список вопросов к зачету:

1. История развития методов молекулярной биологии и основные достижения на современном этапе.
2. История открытия структуры ДНК.
3. Центральная догма молекулярной биологии.
4. Принципы регуляции процесса транскрипции у прокариот.
5. Принципы регуляции процесса трансляции у прокариот.
6. Перспективы использования молекулярно-генетических методов для фундаментальных и прикладных исследований.
7. Методы выделения и очистки НК из природных образцов.
8. Методы определения концентрации НК.
9. Физические принципы метода гель-электрофореза.
10. Проведение и параметры агарозного гель-электрофореза.
11. Основные классы ферментов, используемых в молекулярно-генетических исследованиях.
12. Принцип рестрикционного анализа.
13. Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH).
14. Характеристика и принцип метода нозерн-гибридизации.
15. Характеристика и принцип метода саузерн-гибридизации.
16. Характеристика и принцип метода вестерн-гибридизации.
17. Технологии, основанные на ДНК-чипах.
18. Компоненты и схема проведения ПЦР.
19. Разновидности ПЦР.
20. Практическое использование ПЦР-анализа для фундаментальных и прикладных исследований.
21. Требования к организации помещений для ПЦР-лаборатории. Проблема контаминации.
22. Секвенирование ДНК по Сэнгеру.
23. Секвенирование с помощью капиллярного секвенатора.
24. Секвенаторы нового поколения (Ion, SOLiD, пиросеквенирование, Illumina/Solexa). Полногеномное секвенирование.
25. Роль биоинформатики в современной молекулярной генетике и биотехнологии.
26. Международные базы данных по молекулярной биологии и генетике. База данных GenBank. Репозиторные и аналитические функции GenBank.

1.2 Контрольные задания и иные материалы, используемые в процессе текущей аттестации

В качестве средств текущего контроля используется собеседование, а также написание в течение семестра одного реферата на выбранную тему.

Вопросы для собеседования

1. Опишите структуру нуклеиновых кислот.
2. Опишите процесс репликации ДНК у прокариот.
3. Опишите процесс транскрипции у прокариот.
4. Опишите процесс трансляции у прокариот.
5. Перечислите основные методы молекулярно-генетических исследований.
6. Опишите основные требования к организации работы в лаборатории молекулярной биологии.
7. На чем основаны методы выделения и очистки НК?
8. Какие методы определения концентрации НК вы знаете?
9. На чем основан принцип метода гель-электрофореза?
10. Какие компоненты входят в состав буферного раствора?
11. Какие красители ДНК вы знаете?
12. Назовите основные классы ферментов, использующихся в молекулярно-генетических исследованиях.
13. Что такое эндонуклеазы рестрикции?
14. Что такое полимеразы?
15. Что такое лигазы?
16. Что такое фосфатазы?
17. Опишите принцип и методику проведения рестрикционного анализа.
18. На чем основаны методы гибридизации НК?
19. Опишите схему метода флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).
20. Что такое ДНК-зонд?
21. Опишите принцип технологии ДНК-чипов.
22. Какой процесс лежит в основе полимеразной цепной реакции?
23. Перечислите возможные ошибки при проведении ПЦР.
24. Какие разновидности ПЦР вы знаете?
25. Опишите схему проведения ПЦР.
26. Перечислите компоненты реакционной смеси ПЦР.
27. Опишите основные требования к организации помещений для ПЦР-лаборатории.
28. Что такое контаминация?
29. Опишите схему секвенирования ДНК по Сэнгеру.
30. Какие секвенаторы нового поколения вы знаете?
31. Что такое полногеномное секвенирование?
32. Чем занимается биоинформатика?
33. Какие международные базы данных по молекулярной биологии и генетике вы знаете?
34. Что такое BLAST?

Темы рефератов:

1. Молекулярные методы для диагностики инфекционных болезней.
2. Особенности мутагенеза микроорганизмов.
3. Новые методы прочтения ДНК – Oxford Nanopore.
4. Исследование структуры РНК. Рибосомальный профайлинг.

Приложение № 2 к рабочей программе дисциплины «Методы исследования нуклеиновых кислот»

Методические указания для аспирантов по освоению дисциплины

Основной формой изложения учебного материала по дисциплине «Методы исследования нуклеиновых кислот» являются лекции. Для успешного освоения дисциплины очень важно самостоятельное изучение большого количества теоретического материала. Основной материал разбирается на лекциях, при необходимости по наиболее трудным темам проводятся дополнительные консультации. Для решения научных задач при выполнении экспериментальных работ необходимо знать и понимать лекционный материал. Поэтому в процессе изучения дисциплины рекомендуется регулярное повторение пройденного лекционного материала. Материал, законспектированный на лекциях, необходимо дома еще раз прорабатывать и при необходимости дополнять информацией, полученной на консультациях или из учебной литературы.

Большое внимание должно быть уделено выполнению домашней работы. В качестве заданий для самостоятельной работы дома аспирантам предлагается подготовить реферат на выбранную тему.

Для проверки и контроля усвоения теоретического материала, приобретенных практических навыков экспериментальной работы, в течение обучения проводятся мероприятия текущей аттестации в виде собеседования. Также проводятся консультации по разбору наиболее трудных вопросов рассматриваемых разделов.

В конце изучения дисциплины аспиранты сдают зачет. Он проходит в форме собеседования и включает обсуждение трех теоретических вопросов. Посещение всех аудиторных занятий является совершенно необходимым. Без упорных и регулярных занятий в течение семестра сдать зачет по итогам изучения дисциплины аспиранту практически невозможно.