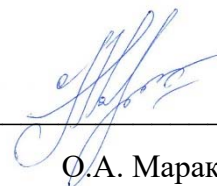


МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова»

Кафедра ботаники и микробиологии

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета
биологии и экологии



О.А. Маракаев

«21» мая 2024 г.

Рабочая программа дисциплины

«Методы исследования нуклеиновых кислот»

программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре
по научной специальности 1.5.11 Микробиология

Форма обучения очная

Программа одобрена на заседании кафедры
ботаники и микробиологии
протокол № 9 от «15» апреля 2024 года

Ярославль

1. Цели освоения дисциплины

Целью освоения дисциплины является 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

Данная дисциплина является дисциплиной по выбору.

3. Планируемые результаты освоения дисциплины:

В результате освоения дисциплины аспирант должен:

Знать:

- механизмы хранения, передачи и реализации генетического материала у прокариот;
- основные биохимические, молекулярно-генетические и иммунологические закономерности, лежащие в основе современных методов исследований нуклеиновых кислот.

Уметь:

- проводить выделение, очистку, физико-химическое исследование и анализ биологических макромолекул для решения научных и прикладных задач.

Владеть:

- навыками работы с базами данных по молекулярной биологии и генетике;
- владеть методами биоинформационного анализа последовательностей нуклеиновых кислот.

4. Объем, структура и содержание дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетные единицы, 108 акад. часов.

№ 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
1	История развития методов исследования нуклеиновых кислот (НК)	2	1				10	Собеседование
2	Выделение НК	2	0,5				10	Собеседование
3	Гель-электрофорез НК	2	0,5				10	Собеседование
4	Рестрикционный анализ НК	2	0,5				10	Собеседование
5	Блоттинг и гибридизация НК	2	0,5				10	Собеседование
6	Основы полимеразной цепной реакции	2	1				10	Собеседование
7	Секвенирование НК	2	1				10	Реферат
8	Биоинформационный	2	1				12	Задания для

№ п/п	Темы (разделы) дисциплины, их содержание	Семестр	Виды учебных занятий и их трудоемкость (в академических часах)					Формы текущего контроля успеваемости
	анализ нуклеотидных последовательностей							самостоятельной работы
9							18	Зачет
10	Всего за 2 семестр 108 час.		6			2	100	

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, в том числе технологии электронного обучения и дистанционные образовательные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине

В процессе обучения используются следующие образовательные технологии:

Вводная лекция – дает первое целостное представление о дисциплине и ориентирует студента в системе изучения данной дисциплины. Дается краткий обзор курса, история развития науки и практики, достижения в этой сфере, имена известных ученых, излагаются перспективные направления исследований. На этой лекции высказываются методические и организационные особенности работы в рамках данной дисциплины, а также дается анализ рекомендуемой литературы.

Академическая лекция с элементами лекции-беседы – последовательное изложение материала, осуществляемое преимущественно в виде монолога преподавателя. Элементы лекции-беседы обеспечивают контакт преподавателя с аудиторией, что позволяет привлекать внимание аспирантов к наиболее важным темам дисциплины, активно вовлекать их в учебный процесс, контролировать темп изложения учебного материала в зависимости от уровня его восприятия.

Проблемная лекция – изложение материала, предполагающее постановку проблемных и дискуссионных вопросов, освещение различных научных подходов, связанные с различными моделями интерпретации изучаемого материала. Проблемная

лекция начинается с вопросов, с постановки проблемы, которую в ходе изложения материала необходимо решить. В лекции сочетаются проблемные и информационные начала. При этом процесс познания аспирантом в сотрудничестве и диалоге с преподавателем приближается к поисковой, исследовательской деятельности.

Консультации – вид учебных занятий, являющийся одной из форм контроля самостоятельной работы аспирантов. На консультациях по просьбе аспирантов рассматриваются наиболее сложные разделы дисциплины, преподаватель отвечает на вопросы аспирантов, которые возникают у них в процессе самостоятельной работы.

В процессе обучения используются следующие технологии электронного обучения и дистанционные образовательные технологии:

Электронный учебный курс «Методы исследования нуклеиновых кислот» в LMS Электронный университет Moodle ЯрГУ, в котором:

- представлены задания для самостоятельной работы аспирантов по темам дисциплины;
- представлен список литературы, рекомендуемой для освоения дисциплины;
- представлена информация о форме и времени проведения консультаций по дисциплине в случае их проведения в дистанционном формате в режиме онлайн.

6. Перечень основной и дополнительной литературы, ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» (при необходимости), рекомендуемых для освоения дисциплины

а) основная литература

1. Коничев А.С., Севастьянова Г.А. Молекулярная биология: учебник для вузов. М.: Академия, 2003. 397 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=307761&cat_cd=YARSU
2. Молекулярная биология. Практикум: учебное пособие для вузов / Под ред. А.С. Коничева. М.: Юрайт, 2020. 169 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=2456118&cat_cd=URAIT

б) дополнительная литература

1. Молекулярная биология клетки: с задачами Джона Уилсона и Тима Ханта: в 3 т / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. Т. 1. М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013. 773 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=1592379&cat_cd=YARSU
2. Молекулярная биология клетки: с задачами Джона Уилсона и Тима Ханта: в 3 т / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. Т. 2. М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013. 963 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=1592383&cat_cd=YARSU
3. Молекулярная биология клетки: с задачами Джона Уилсона и Тима Ханта: в 3 т / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. Т. 3. М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013. 1029 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=1592399&cat_cd=YARSU
4. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: Сибирское ун-ое изд-во, 2006. 479 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=307058&cat_cd=YARSU
5. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: учеб. пособие для вузов. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. 496 с.
http://www.lib.uniylar.ac.ru/opac/bk_cat_card.php?rec_id=312751&cat_cd=YARSU

в) ресурсы сети «Интернет» (при необходимости)

Автоматизированная библиотечно-информационная система «БУКИ-NEXT»
http://www.lib.uniyar.ac.ru/opac/bk_cat_find.php

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

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

- учебные аудитории для проведения лекций;
- учебные аудитории для проведения групповых и индивидуальных консультаций;
- учебные аудитории для проведения промежуточной аттестации;
- помещения для самостоятельной работы.

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

Автор:

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

Ю.В. Зайцева

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

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

**1. Контрольные задания и (или) иные материалы,
используемые в процессе текущего контроля успеваемости**

В качестве средств текущего контроля используется собеседование, выполнение заданий для самостоятельной работы, 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?

Задания для самостоятельной работы:

1. Поиск в NCBI группы последовательностей для множественного выравнивания. Повторите поиск с использованием BLAST.
2. Используйте ClustalW для множественного выравнивания двух наборов по 5 последовательностей – близкородственных и далеких.

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.

2. 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.

2.1 Описание процедуры выставления оценки

По итогам зачета выставляется одна из оценок: «зачтено», «незачтено».

Правила выставления оценки на зачете:

Устный ответ студента на зачете оценивается по 2-х балльной системе.

Отметка «зачтено» ставится, если:

- знания отличаются глубиной и содержательностью, дается полный исчерпывающий ответ, как на основные вопросы к зачету, так и на дополнительные;
- аспирант свободно владеет научной терминологией;
- ответ аспиранта структурирован, содержит анализ существующих теорий, научных школ, направлений и их авторов;
- ответ аспиранта логично и доказательно раскрывает проблему, предложенную для решения;
- ответ аспиранта характеризуется глубиной, полнотой и не содержит фактических ошибок;
- ответ аспиранта иллюстрируется примерами, в том числе из собственной научно-исследовательской деятельности;
- аспирант демонстрирует умение аргументировано вести диалог и научную дискуссию;
- аспирант демонстрирует навыки поиска и обработки научной информации и экспериментальных данных.

Отметка «незачтено» ставится, если:

- ответ аспиранта обнаружил незнание или непонимание сущностной части дисциплины;
- содержание вопросов не раскрыто, допускаются существенные фактические ошибки, которые аспирант не может исправить самостоятельно;
- на большую часть дополнительных вопросов по содержанию зачета аспирант затрудняется дать ответ или не дает верных ответов;
- аспирант не демонстрирует навыки поиска и обработки научной информации и экспериментальных данных.