

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

Б1.В.ДВ.02.01 Спецпрактикум "Методы молекулярно-
генетических исследований"

наименование дисциплины (модуля) в соответствии с учебным планом

Направление подготовки / специальность

06.04.01 Биология

Направленность (профиль)

06.04.01.06 Геномика и биоинформатика

Форма обучения

очная

Год набора

2021

Красноярск 2022

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

Программу составили _____

к.б.н, Доцент, Орешкова Наталья Викторовна; к.б.н., Доцент, Труслова

Мария Юрьевна

должность, инициалы, фамилия

1 Цели и задачи изучения дисциплины

1.1 Цель преподавания дисциплины

Целью изучения дисциплины является формирование у магистров практических навыков проведения молекулярно-генетических исследований.

1.2 Задачи изучения дисциплины

- овладеть различными методами выделения ДНК из растительного материала;
- научиться постановке реакции амплификации выделенной ДНК;
- провести электрофорез и овладеть методами визуализации продуктов амплификации и оценки качества полученной ДНК;
- освоить SSR-метод анализа ДНК и научиться выявлять различия между популяциями на популяционно-генетическом уровне;
- освоить методы обработки полученных данных и составления отчетов о проделанной работе.

1.3 Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю), соотнесенных с планируемыми результатами освоения образовательной программы

Код и наименование индикатора достижения компетенции	Запланированные результаты обучения по дисциплине
ПК-1: Способен осуществлять выбор форм и методов научно-исследовательской деятельности в соответствии с профилем научного исследования	
ПК-1.2: Способен: - решать задачи, связанные с проведением исследований с использованием современных методических подходов и специализированного оборудования	
ПК-3: Способен выполнять работы, связанные с исследованием и анализом генома и протеома живых организмов в т. ч. в областях здравоохранения, лесного хозяйства и охраны природы.	
ПК-3.1: Умеет: - в полном объеме планировать и реализовывать проведение лабораторных молекулярно-генетических исследований живых организмов; - планировать и реализовывать проведение работ с биоинформационными ресурсами.	

<p>ПК-3.2: Владеет: - современными методами обработки и интерпретации</p>	
<p>генетической информации при проведении научных исследований; - методами обработки данных геномного секвенирования, полученных с разных платформ; способностью извлекать необходимые данные из банков генетических данных; - знаниями для обработки полученных результатов, анализа и осмысливания их с учетом имеющихся литературных данных.</p>	
<p>ПК-3.3: Способен: - использовать знания геномики и биоинформатики для объяснения важнейших биохимических процессов, протекающих в живых организмах, как в норме, так и при возникновении патологий; ориентироваться в вопросах, связанных с анализом нуклеиновых кислот и белков;</p>	

1.4 Особенности реализации дисциплины

Язык реализации дисциплины: Русский.

Дисциплина (модуль) реализуется без применения ЭО и ДОТ.

2. Объем дисциплины (модуля)

Вид учебной работы	Всего, зачетных единиц (акад.час)	е
		1
Контактная работа с преподавателем:	1,67 (60)	
лабораторные работы	1,67 (60)	
Самостоятельная работа обучающихся:	4,33 (156)	
курсовое проектирование (КП)	Нет	
курсовая работа (КР)	Нет	

3 Содержание дисциплины (модуля)

3.1 Разделы дисциплины и виды занятий (тематический план занятий)

№ п/п		Модули, темы (разделы) дисциплины		Контактная работа, ак. час.							
				Занятия лекционного типа		Занятия семинарского типа				Самостоятельная работа, ак. час.	
						Семинары и/или Практические занятия		Лабораторные работы и/или Практикумы			
				Всего	В том числе в ЭИОС	Всего	В том числе в ЭИОС	Всего	В том числе в ЭИОС	Всего	В том числе в ЭИОС
1.											
		1. Тема 1. Выделение растительной ДНК. Выбор подлежащих анализу растений. Репрезентативность выборки. Правила сбора и фиксирования растительного материала. Предварительная подготовка к выделению ДНК (подготовка лабораторной посуды, взвешивание, гомогенизация образцов). Выделение ДНК с применением цетилтриметиламмонийбромид (СТАВ). Выделение ДНК с помощью стандартных наборов – китов (AxyPrep, Diamond DNA).						10			

2. Тема 2. Электрофорез в агарозном геле. Определение качества и концентрации ДНК. Приготовление агарозного геля. Окрашивание этидиумбромидом, визуализация в ультрафиолетовых лучах и документация. Определение качества ДНК с помощью электрофореза. Определение концентрации ДНК с помощью спектрофотометра и флуориметра.					10			
3. Тема 3. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее практическое использование. Общая характеристика полимеразной цепной реакции (ПЦР). Понятие праймера. Последовательность стадий ПЦР-реакции: денатурация ДНК, связывание праймеров (annealing), синтез ДНК. Состав реакционной смеси. Подбор условий для различных стадий ПЦР-реакции.					5			
4. Тема 4. Методы фрагментного анализа ДНК в популяционных исследованиях: SSR (Simple Sequence Repeats). Области применения метода микросателлитов (SSR). Строение и подбор праймеров. Приготовление ПЦР-раствора. Подбор программы амплификации.					15			
5. Тема 5. Электрофорез в полиакриламидном геле. Сборка камеры для вертикального электрофореза. Приготовление растворов для полиакриламидного геля (ПААГ) и заливка геля в камеры. Непосредственное проведение электрофореза в вертикальных камерах (типа VE-20 Хеликон). Окрашивание этидиумбромидом, визуализация в ультрафиолетовых лучах и документация.					20			
2.								
1. Выделение растительной ДНК.							32	

2. Электрофорез в агарозном геле. Определение качества и концентрации ДНК.							31	
3. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее практическое использование.							31	
4. Методы фрагментного анализа ДНК в популяционных исследованиях: SSR (Simple Sequence Repeats).							31	
5. Электрофорез в полиакриламидном геле.							31	
Всего					60		156	

4 Учебно-методическое обеспечение дисциплины

4.1 Печатные и электронные издания:

1. Кузнецов Вл. В., Кузнецов В. В., Романов Г. А. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений(Москва: БИНОМ, Лаборатория знаний).
2. Попов В. В. Геномика с молекулярно-генетическими основами(Москва: URSS).
3. Кребс Д., Голдштейн Э., Килпатрик С. Гены по Льюину: научное издание(Москва: Издательство "Лаборатория знаний").
4. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера: Т. 2. Биоэнергетика и метаболизм(Москва: Издательство "Лаборатория знаний").
5. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера: Т. 1. Основы биохимии, строение и катализ(Москва: Издательство "Лаборатория знаний").
6. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера: Т. 3. Пути передачи информации(Москва: Издательство "Лаборатория знаний").
7. Фаллер Д. М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки: руководство для врачей(Москва: БИНОМ-Пресс).
8. Кайданов Л. З., Инге-Вечтомов С. Г., Хромов-Борисов Н. Н. Генетика популяций: учебник для студентов вузов, обучающихся по направлению "Биология" и специальности "Биология" и "Генетика"(Москва: Высшая школа).
9. Алтухов Ю. П., Животовский Л. А. Генетические процессы в популяциях: учебное пособие для вузов по направлению 510600 "Биология" и специальности 012100 "Генетика"(Москва: Академкнига).
10. Хедрик Ф. Генетика популяций: перевод с английского(Москва: Техносфера).
11. Милютин И. Л. Генетика и эволюция: генетика с основами селекции: учеб.-метод. пособие для самостоят. работы(Красноярск: СФУ).
12. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции: учебник для студентов вузов(Санкт-Петербург: Изд-во Н-Л).
13. Браун Т. А., Светлов А. А., Миронов А. А. Геномы(Москва: Институт компьютерных исследований).
14. Сетков Н. А. Молекулярная биология клетки: учеб.-метод. пособие для самостоят. работы для студентов спец. 010708.65 «Биохимическая физика»(Красноярск: СФУ).

4.2 Лицензионное и свободно распространяемое программное обеспечение, в том числе отечественного производства (программное обеспечение, на которое университет имеет лицензию, а также свободно распространяемое программное обеспечение):

1. Работа осуществляется при помощи широкого спектра лицензионных программных продуктов, закупленных по программе развития СФУ, а также современных информационных технологий (электронные базы данных, Internet).

2. Современные биоинформатические исследования требуют умения решать поставленные задачи с использованием самого разнообразного программного обеспечения, от пользовательских скриптов, размещенных в репозиториях, до дорогостоящего проприетарного ПО, такого как CLC Genomics Workbench. Философия современного биоинформатического сообщества заключается в том, что любую задачу можно решить несколькими способами: с использованием бесплатно распространяемого ПО, при помощи онлайн-сервисов и проприетарного ПО, или самостоятельно создать новый программный продукт для решения конкретной пользовательской задачи. В рамках данного курса используется только свободно распространяемое ПО: BLAST, UGENE, MEGA, BioEdit, SeaView, PhyML, RaxML, MrBayes, PartitionFinder, jModelTest, IQTREE, FigTree, signalP, TargetP, TopPred2.

4.3 Интернет-ресурсы, включая профессиональные базы данных и информационные справочные системы:

1. Одной из крупнейших информационных систем в области биологии медицины, биофизики является Национальный центр биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information (NCBI), США (www.NCBI.nlm.nih.gov). БД NCBI являются достаточно сложным инструментарием с разнообразным функционалом.
2. Ниже приведено краткое описание основных БД NCBI, которые могут быть полезны при освоении тем дисциплины.
3. БД Nucleotide (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/sites/Entrez?db=nucleotide>) объединяет данные последовательностей нуклеиновых кислот из нескольких исходных БД, в том числе GenBank, RefSeq и др. Данные могут быть найдены по регистрационному номеру, имени автора, наименованию организма, генома/белка, а также ряду других параметров.
4. БД Protein (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/sites/Entrez?db=protein>) является коллекцией аминокислотных последовательностей из нескольких источников, в том числе из GenBank, RefSeq и TrEMBL, а также SwissProt, PIR, PRF и PDB.
5. БД Structure (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/Structure/index.shtml>) организуют доступ к результатам молекулярного моделирования макромолекул и связанным с ними БД: трехмерных биомолекулярных структур полученных с помощью рентгеновской кристаллографии и ЯМР-спектроскопии; БД химических структур небольших органических молекул; к информации об их биологической активности и т. д.
6. БД Gene (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/sites/Entrez?db=gene>) представляет собой инструмент для просмотра данных из широкого спектра геномов. Каждая запись – это один из генов определенного организма. Минимальный набор данных в гене запись включает уникальный идентификатор, т. н. Gene-ID.

7. БД dbMHC (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/gv/mhc/main.cgi?cmd=init>) предоставляет открытую платформу, где научное сообщество может размещать, просматривать и редактировать данные MajorHistocompatibilityComplex (МНС) для человека. БД dbMHC полностью интегрирована с другими ресурсами NCBI, а также с Международной рабочей группой гистосовместимости (IHWG).
8. DbSNP (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/SNP/>) – БД одиночных нуклеотидных полиморфизмов, полиморфных повторяющихся элементов, включающая как гибридные данные, так и полученные только экспериментальным путем.
9. БД ReferenceSequence (RefSeq) (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/RefSeq/>), содержащая последовательности, в том числе геномных ДНК, белков и т. д., является основой для проведения функциональных исследований, геной идентификации, сравнительного анализа и т. п. В частности, релиз от 11.07.2012 включал в себя описания 16 393 342 белков и 17 605 организмов.
10. БД Genomic Biology представляет собой объединение нескольких ресурсов и инструментов геномной биологии, в том числе геномных карт для Fruitfly, Human, Malariaparasite, Mouse, Rat, Retroviruses, Zebrafish и т. д., которые дополнительно содержат ссылки на интернет-ресурсы и БД, касающиеся рассматриваемых видов.
11. В БД UniGene (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/unigene/>) полноразмерные mRNA последовательности организованы в уникальные кластеры, представляющие известные или предполагаемые гены. Для кластеров доступна информация по картированию, экспрессии и другие ресурсы.
12. HomoloGene (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/homologene>) – инструмент для автоматизированного выявления гомологов среди аннотированных генов, который сравнивает нуклеотидные последовательности между парами организмов в целях выявления предполагаемых ортологов.
13. Basic Local Alignment Search Tool (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/BLAST/>) - основной метод поиска гомологичных последовательностей на основе локального выравнивания.
14. Public repository Gene Expression Omnibus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) - публичная электронная библиотека данных экспрессии генов «Омнибус Экспрессии Генов»
15. GenBank (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/genbank/index.html>) – БД, содержащая доступные последовательности нуклеотидов для более чем 260 000 организмов, вся информация в генетическом банке данных сопровождается библиографическими ссылками и биологическими аннотациями. GenBank автоматически интегрирует информацию о геноме и БД белковых последовательностей для изучения, учитывая таксономию, геном, белковую структуру и другую информацию.
16. Для представления последовательностей в GenBank предложено два инструмента:

17. • BankIt – интернет-представление одной или нескольких последовательностей;
18. • Sequin – интернет-представление для длинных последовательностей, полных геномов, результатов популяционных и филогенетических исследований.
19. Объединяющим фактором и при этом крайне удобным инструментом поиска в NCBI является поисковая система Search NCBI databases (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/sites/gquery>). Она обеспечивает одновременный доступ как к нуклеотидным и белковым последовательностям (GenBank, EMBL, DDBJ, PIR-International, PRF, Swiss-Prot и PDB, GenPept, RPF), 3-мерным структурам и популяционным данным, так и к библиографическим БД (PubMed, PubMed Central и т. д.). Доступ к поисковой системе Search NCBI databases может быть легко получен с помощью прямого интернет-адреса (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/gquery/>) либо посредством использования стартовой страницы NCBI (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/>). На этой странице приведен полный перечень инструментария и БД NCBI и существует возможность получить доступ к любой из перечисленных БД.
20. Крайне полезным инструментом, который сохраняет информацию о пользователе, используется для более точной настройки поисковых запросов в NCBI (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/index.html>) и т. д., является сервис «My NCBI» (<http://www.NCBI.nlm.nih.gov/sites/MyNCBI/>). Этот инструмент позволяет сохранять результаты поиска, выбирать форматы отображения, фильтрации, настраивать автоматический поиск и отправлять его результаты по электронной почте. Пользователи «My NCBI» могут сохранять свои БД, построенные на основе поисковых запросов в NCBI, и управлять политикой общественного доступа.

5 Фонд оценочных средств

Оценочные средства находятся в приложении к рабочим программам дисциплин.

6 Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

Лабораторный и аудиторный классы, наличие проектора для демонстрации наглядных пособий и экрана. Компьютерный класс, лицензионное программное обеспечение, Internet.

Оборудование для лаборатории:

- вытяжной шкаф ЛАБ-1500 ШВ-Н, LOIP, Россия
- ламинарный бокс, В1Х407, ДНК-Технология, Россия
- ламинарный бокс с вертикальным потоком ВЛ, Сампо.
- ламинарный бокс BiosanDNA/RNAUV-cleaner, UVC/T-M-AR, Латвия.

- ламинарный бокс биологической безопасности 2 класса защиты типа A LamSistems, Польша
- центрифуга с охлаждением 5415R, Eppendorf, Германия
- центрифуга с охлаждением 5417R Eppendorf, с роторами для микропробирок FA-45-24-11 и ПЦР-стрипов F-45-48-PCR в комплекте, Германия.
- центрифуга Вортекс Microspin FV 2400, BIOSAN, EU, Латвия
- центрифуга MiniSpin на 12 микропробирок, Eppendorf, Германия.
- система гель-документирования и анализа изображений Bio-RadGelDocXR с компьютером, США.
- трансиллюминатор ЕСХ-15.М, Франция
- видеосистема для документации результатов электрофореза GL-2 KPC -850 ВН, Биоклон, Россия
- камера для горизонтального ДНК гель-электрофореза, Bio-Rad Sub-cellGT, США.
- источник питания BioRadPowerPacUniversal(1-400 Вт, 0.01-500 мА, 20-5000 В), США.
- камеры для горизонтального и вертикального электрофореза Хеликон, Россия
- мешалка магнитная MR HEI-MIX-S, Германия
- ДНК-амплификатор Master Cycler 530BR, BIO-RAD, США
- многоканальный амплификатор "Терцик", ДНК-Технология, Россия
- амплификатор с функцией температурного градиента MAXYGENE Gradient Axygen, Axygen Scientific Inc., США
- амплификатор BioRad, C1000 thermal cycler, США.
- вертикальный низкотемпературный морозильник Sanyo Ultralow.
- морозильная камера Indesit SFR 167NF, Россия
- холодильник INDESIT 138 NF, Италия.
- холодильник Sanyo Biomedical freezer.
- весы аналитические AGN 200, AXIS, Польша
- весы лабораторные AG-500, AXIS, Польша
- лабораторные весы OHAUS«Adventurer»
- pH-метр лабораторный SevenEasy pH, AG1229265862, Mettler-Tolledo, Китай
- водонагреватель накопительный "Thermex" (80 л.), 50/V, Италия
- комплекты пипеток автоматических (0,1-2,5 мкл; 10-50 мкл; 10-200 мкл; 100-1000 мкл), Германия
- система очистки воды для изучения ДНК GFL-2008, Германия
- термостат твердотельный "Гном", ДНК-Технология, Россия

- термостат твердотельный TDB-120, термоблок А-53, 21x0,5 мл + 32x1,5 мл, Biosan, Латвия
- термошейкер TS-100, BIOSAN, EU, Латвия
- ротационный перемешиватель Multi RS-60 для перемешивания и экстракции в различных типах пробирок, 48 мест, Biosan, Латвия
- водяная баня-термостат Water thermostat-bath, Biosan, Латвия.
- спектрофотометр кюветный Bio-RadSmartSpecplus с кварцевыми кюветами на 0.1, 0.7, 1.4 и 3.5 мл, США.
- спектрофотометр NanoPhotometr P-330 P-Class, Германия
- флуориметр настольный Qubit 2.0 Invitrogen/Life Technologies, США
- флуорометр для количественного определения ДНК, РНК и содержания белка MaxLife, Россия.
- портативный флуориметр Quantus, Promega, США
- термомиксер Eppendorf Thermomixer Comfort с термоблоком для 0.5 мл пробирок, Германия.
- термостат для микропробирок и микропланшет Eppendorf ThermoStatplus с термоблоками для планшет и пробирок на 0.2, 0.5 и 1.5/2 мл, диапазон температур от +5°C до +99°C, Германия.
- вортекс Vortex-Gene 2, Scientific Industries, США.
- пипетки автоматические Gilson Pipetman (комплект из 5 штук: P-10, P-20, P-100, P-200, P-1000), США.
- выпариватель Labconco CentriVap Concentrator, США.
- компрессор Labconco CentriVap Cold Trap, США.
- система облучения Bio-Link/BLX, 254 нм, Vilber Lourmat, Польша
- дизельный генератор FG Wilson P14-6S, обеспечивающий бесперебойную работу всей геномной лаборатории, Китай
- стеклянная посуда (колбы, стаканы), Россия
- микроволновая печь Samsung.