Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)

Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
(БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ)

УТВЕРЖДАЮ:
Директор Биологического института
_____ Д.С. Воробьев
«04» мая 2022 г.

Рабочая программа дисциплины

Молекулярные методы в биологии

по направлению подготовки

06.04.01 Биология

Направленность (профиль) подготовки:
«Физиология, биохимия, биотехнология, биоинформатика растений и микроорганизмов»

Форма обучения
Очная

Квалификация
Магистр

Год приема
2022

Код дисциплины в учебном плане: Б1.О.05

СОГЛАСОВАНО:
Руководитель ОП
_____ О.В. Карначук

Председатель УМК
_____ А.Л. Борисенко

Томск – 2022

1. Цель и планируемые результаты освоения дисциплины (модуля)

Целью освоения дисциплины является формирование следующих компетенций:

– ОПК-1 – способность использовать и применять фундаментальные биологические представления и современные методологические подходы для постановки и решения новых нестандартных задач в сфере профессиональной деятельности;

– ОПК-2 – способность творчески использовать в профессиональной деятельности знания фундаментальных и прикладных разделов дисциплин (модулей), определяющих направленность программы магистратуры;

– ОПК-6 – способность творчески применять и модифицировать современные компьютерные технологии, работать с профессиональными базами данных, профессионально оформлять и представлять результаты новых разработок;

– ОПК-7 – способность в сфере своей профессиональной деятельности самостоятельно определять стратегию и проблематику исследований, принимать решения, в том числе инновационные, выбирать и модифицировать методы, отвечать за качество работ и внедрение их результатов, обеспечивать меры производственной безопасности при решении конкретной задачи.

Результатами освоения дисциплины являются следующие индикаторы достижения компетенций:

ИОПК-1.2. Анализирует современное состояние и тенденции развития биологических наук;

ИОПК-2.1. Демонстрирует понимание фундаментальных и прикладных представлений дисциплин, определяющих направленность программы магистратуры;

ИОПК-2.2. Демонстрирует понимание методологических основ дисциплин, определяющих направленность программы магистратуры;

ИОПК-6.2. Использует компьютерные технологии и профессиональные базы данных при планировании профессиональной деятельности, обосновывает их выбор;

ИОПК-7.1. Подбирает и анализирует информацию в профессиональной сфере деятельности, применяет принципы оценки достоверности научной информации.

2. Задачи освоения дисциплины

- Освоить предмет, демонстрировать понимание фундаментальных и прикладных направлений программы.
- Анализировать и применять знания о развитии науки.
- Понимать и уметь обосновать применение биологических методов.
- Научиться применять знания для решения практических задач в профессиональной деятельности.

3. Место дисциплины (модуля) в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к обязательной части образовательной программы.

4. Семестр(ы) освоения и форма(ы) промежуточной аттестации по дисциплине

Семестр 1, зачет.

5. Входные требования для освоения дисциплины

Для успешного освоения дисциплины требуются компетенции, сформированные в ходе освоения образовательных программ предшествующего уровня образования.

6. Язык реализации

Русский.

7. Объем дисциплины (модуля)

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 з.е., 108 часов, из которых:
– лекции: 6 ч.;
– семинарские занятия: 16 ч.
– практические занятия: 0 ч.;
– лабораторные работы: 0 ч.
в том числе практическая подготовка: 0 ч.
Объем самостоятельной работы студента определен учебным планом.

8. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам

Тема 1. Выделение ДНК

Источники для выделения ДНК. Основные принципы. Основные методы выделения ДНК, их преимущества и недостатки. Этапы выделения ДНК. Типовые выделения ДНК. Требования к условиям в лаборатории. Направления использования выделенной ДНК. Выделение плазмидной ДНК.

Тема 2. Выделение РНК

Источники для выделения РНК. Многообразие типов молекул РНК в клетке. Основные принципы. Основные методы выделения РНК, их преимущества и недостатки. Этапы выделения РНК. Типовые выделения РНК. Требования к условиям в лаборатории. Направления использования выделенной РНК.

Тема 3. Анализ количества и качества нуклеиновых кислот

Гель-электрофорез: агарозный, полиакриламидный, капиллярный. Преимущества и недостатки различных методов гель-электрофореза. Оцениваемые параметры нуклеиновых кислот. Требования к качеству нуклеиновых кислот. Анализ ДНК. Анализ РНК. Спектрофотометрия. Флуорометрия. Типовые протоколы анализа количества и качества нуклеиновых кислот. Преимущества и недостатки различных методов.

Тема 4. Полимеразная цепная реакция

Трудности работы с малыми количествами нуклеиновых кислот в биологических объектах и необходимость их амплификации. Принцип полимеразной цепной реакции (ПЦР). Основные компоненты ПЦР. Температурный профиль реакции. Оборудование для проведения ПЦР. ПЦР с горячим стартом. Различные типы ДНК-полимераз. Принцип детекции по конечной точке. Мультиплексная ПЦР. Вложенная (гнездовая) ПЦР. ПЦР длинных фрагментов. Аллель-специфичная ПЦР. Применение ПЦР. Примеры использования ПЦР.

Тема 5. Подбор олигонуклеотидных праймеров для полимеразной цепной реакции

Использование баз данных и геномных браузеров. Формат представления данных о последовательности ДНК (FASTA). Этапы подбора праймеров. Получение последовательности ДНК конкретного участка генома. Требования к праймерам. Анализ возможности неспецифического связывания праймеров с помощью алгоритма BLAST. Проверка термодинамических свойств праймеров in silico. Проверка работоспособности праймеров в реакции ПЦР.

Тема 6. Количественная полимеразная цепная реакция

Принцип детекции результатов ПЦР в реальном времени. Кинетика накопления продукта в реакции ПЦР. Эффективность ПЦР. Пороговый метод сравнения графиков накопления ДНК (Ct). Флуоресценция и флуорофоры. Интеркалирующие красители и специфичные методы детекции. Особенности температурного профиля реакции ПЦР в реальном времени. Применение количественной ПЦР. Оценка экспрессии генов. Обратная транскрипция. Особенности подбора праймеров для ПЦР в реальном времени для оценки экспрессии генов. Определение эффективности ПЦР по последовательным разбавлениям образца. Относительное определение уровня представленности транскриптов.

Тема 7. Секвенирование ДНК

Актуальность и применение секвенирования ДНК. Секвенирование по Сэнгеру (Метод обрыва цепи): принцип метода. Секвенирование по Сэнгеру: классический и современный варианты. Протокол секвенирования по Сэнгеру. Преимущества и недостатки секвенирования по Сэнгеру. Применение секвенирования по Сэнгеру: идентификация личности, анализ мутаций, идентификация микроорганизмов по гену 16S рРНК. Общее представление о секвенировании полных геномов.

Тема 8. Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH)

Исследование генома на хромосомном уровне. Уровни разрешения методов классической и молекулярной цитогенетики. Принцип флуоресцентной in situ гибридизации (FISH). Этапы FISH. Способы создания ДНК-зондов. Типы ДНК-зондов. Модицикации FISH: обратное окрашивание хромосом, mFISH, SKY, сравнительная геномная гибридизация (CGH), РНК-FISH. Пример использования РНК-FISH для детекции микроорганизмов.

Тема 9. Анализ белков

Многообразие молекул белков в клетке. Основные методы работы с белками. Методы выделения белков. Методы анализа концентрации белков: спектрофотометрия, флуорометрия, колориметрические методы. Электрофорез белков в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-PAGE). Иммунологические методы. Иммуноферментный анализ. Иммуноокрашивание. Проточная цитофлуориметрия. Вестерн-блот. Иммунопреципитация.

9. Текущий контроль по дисциплине

Текущий контроль по дисциплине проводится путем контроля посещаемости, проведения контрольных работ, выполнения домашних заданий, и фиксируется в форме контрольной точки не менее одного раза в семестр.

10. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации

Зачет в первом семестре проводится в устной форме по билетам. Билет содержит два вопроса. Продолжительность зачета 1,5 часа.

Примерный перечень теоретических вопросов:

1. Методы выделения ДНК.
2. Методы выделения РНК.
3. Принцип выделения ДНК с помощью фенол-хлороформной экстракции.
4. Принцип выделения РНК с помощью фенол-хлороформной экстракции.
5. Требования к выделению РНК, связанные с ее стабильностью.
6. Методы оценки качества и количества ДНК.
7. Методы оценки качества и количества РНК.
8. Принцип полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ее применение.
9. Модификации ПЦР и их применение.
10. Количественная ПЦР в реальном времени и ее применение.
11. Подбор олигонуклеотидных праймеров для ПЦР.
12. Принцип и применение метода секвенирования по Сэнгеру.
13. Принцип флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Результаты зачета определяются оценками «зачтено», «не зачтено».

11. Учебно-методическое обеспечение

а) Электронный учебный курс по дисциплине в электронном университете «Moodle» - https://moodle.tsu.ru/course/view.php?id=19087

б) Оценочные материалы текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине размещены в курсе Moodle.

в) Методические указания по организации самостоятельной работы студентов. Самостоятельная работа студентов предполагается в форме углубленного изучения теоретических вопросов, представленных в пункте 8, теоретической подготовки к семинарским занятиям.

12. Перечень учебной литературы и ресурсов сети Интернет

а) основная литература:

– Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Маниатис Т., Фрич Э. Сэмбрук Дж. - М.: Мир, 1984. - 480 с.

б) дополнительная литература:

– ПЦР в реальном времени / [Д. В. Ребриков и др.] ; под ред. Д. В. Ребрикова. - М. : Лаб. знаний, 2019. - 223 с

в) ресурсы сети Интернет:

– Курс «Биотехнологии: генная инженерия» на платформе Stepik. https://stepik.org/course/94/promo

– Сайт «Биомолекула», раздел «12 биологических методов в картинках». https://biomolecula.ru/specials/metody

13. Перечень информационных технологий

а) лицензионное и свободно распространяемое программное обеспечение:

– Microsoft Office Standart 2013 Russian: пакет программ. Включает приложения: MS Office Word, MS Office Excel, MS Office PowerPoint, MS Office On-eNote, MS Office Publisher, MS Outlook, MS Office Web Apps (Word Excel MS PowerPoint Outlook);

– публично доступные облачные технологии (Google Docs, Яндекс диск и т.п.).

б) информационные справочные системы:

– Электронный каталог Научной библиотеки ТГУ – http://chamo.lib.tsu.ru/search/query?locale=ru&theme=system

– Электронная библиотека (репозиторий) ТГУ – http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Index

– ЭБС Лань – http://e.lanbook.com/

– ЭБС Консультант студента – http://www.studentlibrary.ru/

– Образовательная платформа Юрайт – https://urait.ru/

– ЭБС ZNANIUM.com – https://znanium.com/

– ЭБС IPRbooks – http://www.iprbookshop.ru/

в) профессиональные базы данных:

– Геномный браузер Университета Калифорнии в Санта-Круз (UCSC) - https://genome.ucsc.edu/

– Геномный браузер ENSEMBL - http://www.ensembl.org

– База данных полных геномов организмов Национального центра биотехнологической информации (NCBI) - https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome

14. Материально-техническое обеспечение

Аудитории для проведения занятий лекционного типа.

Аудитории для проведения занятий семинарского типа, индивидуальных и групповых консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации.

Помещения для самостоятельной работы, оснащенные компьютерной техникой и доступом к сети Интернет, в электронную информационно-образовательную среду и к информационным справочным системам.

Аудитории для проведения занятий лекционного и семинарского типа индивидуальных и групповых консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации в смешенном формате («Актру»).

15. Информация о разработчиках

Васильев Станислав Анатольевич, доктор биологических наук, кафедра физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета, профессор.