ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

**«ЛЕНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**А.С. ПУШКИНА»**

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебно-методической

работе

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ С.Н. Большаков

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

дисциплины

**Б1.В.ДВ.05.02 РЕКОМБИНАНТНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ**

Направление подготовки **19.03.01 Биотехнология**

Направленность (профиль) **молекулярная биология**

(год начала подготовки – 2022)

Санкт-Петербург

2022

**1. ПЕРЕЧЕНЬ ПЛАНИРУЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ:**

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих компетенций:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Индекс компетенции | Содержание компетенции  (или ее части) | Индикаторы компетенций (код и содержание) |
| ПК-5 | Способен осуществлять научные исследования в области создания биотехнических систем и технологий | ПК-5.1 Осуществляет проведение научных исследований в области создания биотехнических систем и технологий. |

**2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОП:**

Цель дисциплины: систематизация знаний по теоретическим и прикладным (в отношении биотехнологии) вопросам биохимии, молекулярной биологии, молекулярной генетики и экспериментальной геномики, связи этих направлений с другими науками.

Задачи:

* формирование комплексного подхода к методическим вопросам биологических технологий на основе естественнонаучного мировоззрения;
* освоение основных биологических и химических методов, используемых в биотехнологии;
* получение навыков планирования и организации научных исследований;
* формирование умений интерпретации результатов исследований для анализа и обобщения биологических явлений;
* овладение навыками применения методов молекулярной генетики и экспериментальной геномики в биотехнологической науке.

Дисциплина «Рекомбинантные нуклеиновые кислоты» является одной из составляющих профессионального образования при подготовке бакалавров в сфере биотехнологии. Дисциплина входит в состав вариативной части в структуре ОПОП направления 19.03.01. Биотехнология, профиль подготовки Молекулярная биология.

Как учебная дисциплина она взаимосвязана с «Общая генетика», «Молекулярная генетика», «Клеточная инженерия», «Методы работы с культурами клеток».

После изучения дисциплины обучающиеся смогут использовать сформированные компетенции в процессе выполнения выпускной квалификационной работы (ВКР).

**3. ОБЪЕМ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНОЙ РАБОТЫ**

Общая трудоемкость освоения дисциплины составляет 4 зачетных единицы, 144 академических часов (*1 зачетная единица соответствует 36 академическим часам*).

*Очная форма обучения*

|  |  |
| --- | --- |
| Вид учебной работы | Трудоемкость в акад.час |
| **Контактная работа (аудиторные занятия) (всего):** | 62 |
| в том числе: |  |
| Лекции | 24 |
| Лабораторные занятия (в т.ч. зачет с оценкой\*) | 38 |
| **Самостоятельная работа (всего)** | 82 |
| **Вид промежуточной аттестации (зачет с оценкой):** |  |
| **Общая трудоемкость дисциплины (в час. /** **з.е.)** | 144/4 |

\* Зачет проводится на последнем занятии.

**4. СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ**

При проведении учебных занятий обеспечивается развитие у обучающихся навыков командной работы, межличностной коммуникации, принятия решений, лидерских качеств (включая при необходимости проведение интерактивных лекций, групповых дискуссий, ролевых игр, тренингов, анализ ситуаций и имитационных моделей, составленных на основе результатов научных исследований, проводимых организацией, в том числе с учетом региональных особенностей профессиональной деятельности выпускников и потребностей работодателей).

**4.1. СОДЕРЖАНИЕ РАЗДЕЛОВ И ТЕМ**

**Тема 1. Введение. Природные системы генов. Их организация и экспрессия.**

История изучения наследственности и изменчивости. Рождение генетики. Развитие концепции гена. Ядерная теория наследственности. Хромосомная теория наследственности. Гены и хромосомы.

История открытия ДНК. Генетический анализ. История изучения нуклеиновых кислот. Доказательства роли нуклеиновых кислот в передаче наследственной информации. Нуклеиновые кислоты – наследственный материал вирусов.Работы Чаргаффа. Строение ДНК и РНК. Модель Двойной Спирали ДНК. Структура ДНК и механизм наследственности. Центральная догма молекулярной биологии. Современные представления о природе гена.

Понятие о геноме. Особенности организации геномов про- и эукариот. Репликация ДНК у прокариот и эукариот. Уникальные и повторяющиеся последовательности эукариотического генома. Молекулярная организация хромосом. Расшифровка генетической информации: РНК и белок. Строение и функции белков. Экспрессия генов (транскрипционный, посттранскрипционный уровни; трансляция, посттрансляционные модификации белков).

**Тема 2. Выделение и очистка нуклеиновых кислот. Методы работы с нуклеиновыми кислотами.**

Традиционные методы выделения и очистки нуклеиновых кислот. Выбор биологического материала для выделения нуклеиновых кислот. Принципиальная схема выделения ДНК с помощью традиционных методов. Современные киты для выделения ДНК. Особенности выделение РНК. Выделение РНК по Шереру. Метод выделение ДНК по Хомчинскому и его модификации. TRI, TRIzol, Trisure. Выделение ДНК и РНК на твердофазных колонках. Принципы агарозного гель-электрофореза и электрофоретическое разделение нуклеиновых кислот.

Радиоактивное мечение ДНК. Радиоавтография. ДНК-гибридизация. Саузерн-блоттинг. Нозерн-блоттинг. Современные методы мечения ДНК. In situ гибридизация. Секвенирование ДНК. Химический метод секвенирования ДНК. Метод секвенирования нуклеиновых кислот, основанный на энзиматическом введении нуклеотида, терминирующего цепь. Современные методы секвенирования ДНК.

**Тема 3.** **Ферменты, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот.**

Ферменты рестрикции и модификации нуклеиновых кислот. Типы рестрицирующих эндонуклеаз. Рестрицирующие эндонуклеазы типа II и их применение в генетической инженерии. Специфичность рестрицирующих эндонуклеаз типа II. Нуклеотидные последовательности, распознаваемые ренстрицирующими эндонуклеазами типа II. Рестрикционные карты. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК. ДНК-метилазы и урацил-ДНК-гликозилазы. ДНК- и РНК-лигазы. Ферменты матричного синтеза ДНК и РНК. Другие ферменты, используемые в генной инженерии.

**Тема 4. Векторы, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот.**

Биологические свойства бактериальных плазмид. Сайты инициации репликации плазмид. Копийность плазмид. Группы несовместности. Особенности плазмидных векторов, используемых в генетической инженерии. Карта плазмидного вектора. Плазмиды серии pBR – основа конструирования плазмидных векторов. Векторы серии pUC. Плазмиды серии Bluescript. Векторы для прямого клонирования продуктов ПЦР. Транспозоны и клонирование фрагментов ДНК.

Векторы на основе фага λ. Космиды и фагмиды. Искусственные хромосомы YAC, BAC и PAC. Клонирование протяженных фрагментов ДНК. Искусственные хромосомы млекопитающих. Вирусные вектора. Интегрирующие и челночные векторы. Конструирование экспрессирующих векторов и их функционирование. Факторы, влияющие на эффективность экспрессии рекомбинантных генов. Стабильность рекомбинантных РНК и белков. Векторы для переноса ДНК в клетки животных и растений.

**Тема 5. Основы молекулярного клонирования. Амплификация ДНК и ее значение для генетической инженерии.**

Принципиальная схема молекулярного клонирования. Лигирование по «тупым» и «липким» концам. Введение рекомбинантных ДНК в клетки бактерий. Селекция и скрининг бактериальных клонов.

Полимеразная цепная реакция. Общая схема ПЦР, компоненты реакции. Дизайн праймеров. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Другие критические компоненты и параметры ПЦР (ДНК-матрица, ионы Mg2+, температурный режим, время элонгации, количество циклов и объем реакционной смеси). Проблемы, возникающие при постановке ПЦР (неспецифические продукты, шмир и др.). Амплификация протяженных фрагментов ДНК. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (количественная ПЦР). ПЦР с обратной транскрипцией.

Получение клонотек генов. Клонотеки геномной ДНК. Клонотеки кДНК. Поиск интересующих последовательностей в клонотеках (меченые гомо- и гетерологичные зонды, обратная трансляция). Использование антител для отбора экспрессирующих векторов. Позиционное клонирование. Повторный скрининг и субклонирование.

**Тема 6. Биологические объекты, используемые в генетической инженерии.**

Использование в генетической инженерии микроорганизмов, клеточных линий насекомых, растений и млекопитающих, вирусов. Генно-модифицированные многоклеточные организмы. Основные виды использования микроорганизмов в генетической инженерии: микроорганизмы как источники специфических генов и микроорганизмы, созданные генно-инженерными методами для решения определенных задач. Особенности работы с кишечной палочкой *Escherichia coli и* одноклеточными дрожжами *Saccharomyces cerevisiae.*

Экспрессирующие системы бактерий. Экспрессия рекомбинантных генов в клетках дрожжей. Системы экспрессии культивируемых клеток млекопитающих (линии CHO, SP2/0, MEL, COS) и насекомых, зараженных бакуловирусом. Бесклеточные белоксинтезирующие системы (бактериальные, эукариотические, проточные системы). Введение рекомбинантных ДНК в клетки бактерий, растений и животных.

**Тема 7. Геномные базы данных и биоинформатика в генной инженерии.**

Принципы организации биологических баз данных. NCBI как универсальный глобальный ресурс данных по биотехнологии. Общие и частные базы данных. Поиск литературы в биологических базах данных. Проект Ensembl и обеспечиваемый им интегрированный доступ к базам данных, касающихся строения [геномов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BC). Генетические карты и геномные сиквенсы онлайн. Данные по экспрессии генов. Эпигеномные базы данных. Сравнение сиквенсов и сравнительная геномика. Базы данных по SNP как источник диагностических биотехнологий. Дизайн праймеров для создания диагностических систем. Дизайн праймеров для профилирования экспрессии генов.

**4.2. ПРИМЕРНАЯ ТЕМАТИКА КУРСОВЫХ РАБОТ (ПРОЕКТОВ)**

Курсовая работа по дисциплине не предусмотрена учебным планом.

**4.3. ПЕРЕЧЕНЬ ЗАНЯТИЙ, ПРОВОДИМЫХ В АКТИВНОЙ И ИНТЕРАКТИВНОЙ ФОРМАХ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ РАЗВИТИЕ У ОБУЧАЮЩИХСЯ НАВЫКОВ КОНТАКТНОЙ РАБОТЫ, МЕЖЛИЧНОСТНОЙ КОММУНИКАЦИИ, ПРИНЯТИЯ РЕШЕНИЙ, ЛИДЕРСКИХ КАЧЕСТВ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | наименование блока (раздела) дисциплины | Форма проведения занятия |
| 1. | Тема 1. Введение. Природные системы генов. Их организация и экспрессия | Дискуссия |
| 2. | Тема 2. Выделение и очистка нуклеиновых кислот. Методы работы с нуклеиновыми кислотами. | Деловая игра |
| 3 | Тема 3. Ферменты, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот | Работа в группах |
| 4 | Тема 4. Векторы, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот. | Дискуссия |
| 5 | Тема 5. Основы молекулярного клонирования. Амплификация ДНК и ее значение для генетической инженерии. | Эвристическая беседа |
| 5 | Тема 5. Основы молекулярного клонирования. Амплификация ДНК и ее значение для генетической инженерии. | мастер-класс |

**5. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ**

**5.1 ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ:**

**Лабораторная 1.** Изучение особенностей строения и экспрессии генов с помощью инструментария Ensembl

1. История изучения наследственности и изменчивости.
2. Классическая генетика и современные представления о природе гена.
3. Развитие концепции гена. Ядерная теория наследственности. Хромосомная теория наследственности. Гены и хромосомы.
4. История открытия и изучения нуклеиновых кислот.
5. Доказательства роли нуклеиновых кислот в передаче наследственной информации.
6. Центральная догма молекулярной биологии. Современные представления о природе гена.
7. Молекулярная организация хромосом.
8. Расшифровка генетической информации и экспрессия генов.
9. Возможности инструментов проекта Ensembl для анализа строения и особенностей экспресии генов.

**Лабораторная 2.** Выделение геномной ДНК.

1. Строение ДНК и РНК.
2. Модель Двойной Спирали ДНК Уотсона и Крика.
3. Классические методы выделения ДНК.
4. Классические методы выделения РНК.
5. Выделение ДНК и РНК на твердофазных колонках.
6. Принципы работы современных китов для выделения геномной ДНК.

**Лабораторная 3.** Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК в агарозном геле.

1. Строение ДНК и РНК и их состояние в растворе.
2. Принципы электрофоретического разделения биологических макромолекул.
3. Основные типы гель-электрофореза.
4. Агарозный гель-электрофорез.
5. ПААГ-электрофорез.
6. Основные буферные растворы для ДНК агарозного гель-электрфореза.
7. Визуализация ДНК в агарозном геле.

**Лабораторная 4.** Изучение работы рестрицирующих эндонуклеаз.

1. Ферменты рестрикции и модификации нуклеиновых кислот, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот.
2. Типы рестрицирующих эндонуклеаз.
3. Рестрицирующие эндонуклеазы типа II и их применение в генетической инженерии.
4. Специфичность рестрицирующих эндонуклеаз типа II.
5. Рестрикционные карты.
6. Условия работы рестриктаз.
7. Компоненты реакции рестрикции.
8. Подбор условиях для одновременной рестрикции ДНК с помощью 2х рестриктаз.
9. Т4 лигаза и ее использование технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот.

**Лабораторная 5.** Электрофоретическое разделение форм плазмидной ДНК.

1. Генетические вектора.
2. Особенности природных плазмид.
3. Строение плазмидных векторов.
4. Основные поколения плазмидных векторов.
5. Карта плазмидного вектора.
6. Формы плазмидной ДНК.
7. Принципы электрофоретического разделения биологических макромолекул.
8. Агарозный гель-электрофорез. Распределение форм плазмидной ДНК в агарозном гель-электрофорезе.

**Лабораторная 6.** Дизайн праймеров для амплификации фрагментов ДНК.

1. Строение ДНК. Модель двойной спирали Уотсона-Крика.
2. Принцип комплиментарности в молекулярной биологии.
3. История метода Полимеразной Цепной Реакции.
4. Принципиальная схема Полимеразной Цепной Реакции.
5. Особенности дизайна праймеров для амплификации фрагментов ДНК «вручную».
6. Дизайн праймеров для амплификации фрагментов ДНК с помощью современного программного обеспечения.

**Лабораторная 7.** Полимеразная Цепная Реакция.

1. Принципы метода Полимеразной Цепной Реакции.
2. Состав реакционной смеси для ПЦР.
3. Наиболее распространенные полимеразы, используемые в ПЦР.
4. Буфер для Полимеразной Цепной Реакции.
5. Значение концентрации ионов Mg2+ для осуществления ПЦР.
6. Разновидности ПЦР.
7. ДНК-затравка в Полимеразной Цепной Реакции.
8. Роль праймеров и dNTPs в Полимеразной Цепной Реакции.
9. Протокол ПЦР и температурные режимы

**Лабораторная 8.** Стерилизация материалов и подготовка сред для работы с микроорганизмами.

1. Устройство современной биотехнологической лаборатории.
2. Биологические объекты, используемые в генетической инженерии.
3. Оборудование и расходные материалы, используемое в современных биотехнологических исследованиях.
4. Жидкие среды, используемые для работы с микроорганизмами.
5. Агаризованные среды, используемые для работы с микрооорганизмами.
6. Стерилизация и дезинфекция в биотехнологических исследованиях.
7. Автоклавирование. Использование автоклава для стерилизации сред и расходных материалов, применяемых в работе с микроорганизмами.

**Лабораторная 9.** Основы лабораторной работы с микроорганизмами.

1. Микроорганизмы, используемые в генно-инженерных исследованиях.
2. История изучения трансформации микроорганизмов.
3. Роль микроорганизмов в доказательстве роли ДНК как носителя наследственной информации.
4. Методы введения молекул ДНК в микроорганизмы.
5. Культивирование микроорганизмов в жидких средах.
6. Культивирование микроорганизмов на агаризованных средах.

**Лабораторная 10.** Изучение возможностей NCBI при разработке стратегии молекулярного клонирования.

1. Современные представления о генах и геномах
2. Свойства генетического кода.
3. Особенности передачи и реализации генетической информации у прокариот и эукариот.
4. Транскрипция и трансляция у эукариот.
5. Кодирующие и некодирующие последовательности ДНК.
6. Методы секвенирования ДНК.
7. Проект «Геном человека»
8. NCBI как универсальный глобальный ресурс данных по биотехнологии.
9. Поиск литературы в NCBI.
10. Поиск данных по структуре и экспрессии генов в NCBI.
11. Алгоритм BLAST и сравнение нуклеотидных последовательностей.

**Лабораторная 11.** Использование NEB cutter при разработке стратегии молекулярного клонирования.

1. Типы рестрицирующих эндонуклеаз.
2. Особенности рестрицирующих нуклеаз типа II.
3. Использование рестрицирующих эндонуклеаз в генетической инженерии.
4. Специфические сайты рестрикции.
5. Коммерческие рестриктазы, производимые компание New England Biolabs.
6. Возможности программы NEB Cutter.

**5.2 ТЕМЫ КОНСПЕКТОВ:**

1. Генетическая инженерия - предмет, сущность, методы.
2. Практическое значение технологий рекомбинантных нуклеиновых кислот.
3. История изучения нуклеиновых кислот.
4. Формирование представлений о биологической наследственности.
5. Понятие о гене в классической генетике.
6. Эволюция представлений о гене.
7. Гены и хромосомы.
8. Строение и свойства ДНК и РНК.
9. Модель Двойной Спирали ДНК Уотсона-Крика.
10. Предпосылки возникновения модели Двойной Спирали ДНК Уотсона-Крика.
11. Основные типы РНК в клетках эукариот.
12. Открытие генетической трансформации бактерий.
13. Доказательства роли ДНК в передаче наследственной информации.
14. Центральная догма молекулярной биологии.
15. Организация наследственного материала у прокариот и у эукариот.

**5.3 ТЕМЫ ДОКЛАДОВ:**

1. Кодирующие и некодирующие последовательности ДНК.
2. Молекулярная биология и предпосылки возникновения технологий рекомбинантных нуклеиновых кислот.
3. Принципиальная схема молекулярного клонирования.
4. Ферменты, используемые в молекулярном клонировании.
5. Использование рестриктаз в молекулярном клонировании.
6. Классические методы выделения нуклеиновых кислот.
7. Выделения ДНК и РНК на твердофазных колонках.
8. Плазмидные вектора и их роль в генетической инженерии.
9. Генетические вектора.
10. Методы введения рекомбинантных нуклеиновых кислот в клетки.
11. Селекция и анализ рекомбинантных штаммов микроорганизмов.
12. Создание генно-модифицированных организмов.
13. Полимеразная Цепная Реакция.
14. Методы секвенирования ДНК.
15. Геномика и биоинформатика.

**6. ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ УСПЕВАЕМОСТИ**

* 1. **Текущий контроль**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | наименование блока (раздела) дисциплины | Форма текущего контроля |
| 1. | Тема 1. Введение. Природные системы генов. Их организация и экспрессия | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий.  Презентация доклада. |
| 2. | Тема 2. Выделение и очистка нуклеиновых кислот. Методы работы с нуклеиновыми кислотами. | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий. |
| 3. | Тема 3. Ферменты, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий. |
| 4. | Тема 4. Векторы, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот. | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий.  Презентация доклада. |
| 5. | Тема 5. Основы молекулярного клонирования. Амплификация ДНК и ее значение для генетической инженерии. | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий.  Презентация доклада. |
| 6. | Тема 6. Биологические объекты, используемые в генетической инженерии. | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий.  Презентация доклада. |
| 7. | Тема 7. Геномные базы данных и биоинформатика в генной инженерии. | Составление конспекта.  Защита отчета по результатам выполнения лабораторных занятий. |

**6.2. ПРИМЕРЫ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ**

***Примеры тестовых заданий.***

**Темы 1-3.**

Вопрос 1. На каком объекте были поставлены классические эксперименты по изучению наследования морфологических признаков Грегором Менделем.

Варианты ответов:

1. Курица
2. Горох.

3. Плодовая мушка.

4. Могильный червь.

Вопрос 2. Кем была предложена модель Двойной Спитали ДНК?

Варианты ответов:

1. Г. Менделем.
2. Т. Морганом
3. Дж. Уотсоном и Ф. Криком.
4. Я. Вильмутом.

Вопрос 3. Что такое секвенирование ДНК?

Варианты ответов:

1. Метод определения нуклеотидных последовательностей участка ДНК.
2. Метод регуляции экспрессии генов.
3. Метод трансформации клеточных культур.
4. Метод создания генно-модифицированных растений.

Вопрос 4. Какую основную функцию выполняют ферменты рестриктазы.

Варианты ответов:

1. Фосфорилирование белков.
2. Дефосфорилирование белков.
3. Амплификация участков ДНК.
4. Внесение разрезов в молекулу ДНК в специфических сайтах.

Вопрос 5. Каким образом используется фермент T4 лигаза в молекулярном клонировании?

Варианты ответов:

1. Для фосфорилирования РНК.
2. Для осуществления ПЦР
3. Для сшивания нитей ДНК.
4. Для осуществления реакции обратной транскрипции.

Вопрос 6. Что такое транскрипция?

Варианты ответов:

1. Процесс метилирования ДНК.
2. Процесс ацетилирования белковых молекул.
3. Процесс синтеза мРНК на основе ДНК.
4. Заражение клетки вирусом.

Вопрос 7. Что такое трансляция?

Варианты ответов:

1. Процесс синтеза белка, в котом принимают участие мРНК и рибосомы.
2. Процесс удвоения ДНК.
3. Процесс метилирования ДНК.
4. Процесс ацетилирования белковых молекул.

**Темы 4-6.**

Вопрос 1. Что такое плазмида?

Варианты ответов:

1. Участок хромосомы эукариот.
2. Небольшая кольцевая молекула ДНК, способная к репликации в бактериальных клетках.
3. Возбудитель малярии.
4. Фермент, модифицирующий ДНК.

Вопрос 2. Что такое Полимеразная Цепная Реакция?

Варианты ответов:

1. Реакция, в ходе которой происходит ацетилирование белков
2. Реакция, в ходе которой происходит амплификация определенного участка ДНК.
3. Реакция, в ходе которой происходит фосфорилирование РНК.
4. Реакция, в ходе которой синтезируется АТФ.

Вопрос 3. Каким образом в молекулярно-биологических исследованиях используется Taq-полимераза?

Варианты ответов:

1. В Полимеразной Цепной Реакции.

2. Для лизиса бактериальных клеток.

3. Для разрушения оболочек растительных клеток.

4. В реакции фосфорилирования белков.

Вопрос 4 . Что такое праймер?

Варианты ответов:

1. Фермент, метилирующий ДНК.
2. Олигонуклетид, комплиментарный определенному участку ДНК
3. Название буфера, используемого для ДНК гель-электрофореза.
4. Фермент, фосфорилирющий белки.

Вопрос 5. Для чего небходимы ионы Mg2+ в реакционной смеси для проведения ПЦР?

Варианты ответов:

1. Для энергетического балланса.
2. Для работы Taq-полимеразы.
3. Для нагревания реакционной смеси.
4. Для ацетилирования белков.

Вопрос 6. Что такое *Escherichia coli?*

Варианты ответов:

1. Плодовая мушка.
2. Бактерия кишечная палочка.
3. Могильный червь.
4. Растение из семейства крестоцветных.

Вопрос 7. Для чего применяют автоклавирование сред?

Варианты ответов:

1. Для стерилизации.
2. Для насыщения среды ионами Ca2+.
3. Для фосфорилирования белков, входящих в состав среды.
4. Для синтеза АТФ.

***Задания для лабораторных занятий.***

**Лабораторная 1. Изучение особенностей строения и экспрессии генов с помощью инструментария Ensembl.**

1. Пользуясь инструментарием Ensembl, задайти параметры для поиска информации по названнному преподавателем гену.

2. Представьте информацию по размеру данного гена и его положению в геноме.

3. Представьте информацию о кодирующих и некодирующих последовательностях в структуре данного гена.

**Лабораторная 2. Выделение геномной ДНК.**

1. Расскажите о принципах работы кита для выделения ДНК компании Fermentas.

2. Подготовьте лабораторное оборудование к работе.

3. Выделите геномную ДНК изобразца с помощью кита компании Fermentas.

**Лабораторная 3. Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК в агарозном геле.**

1. Приготовьте агарозный гель для проведения гель-электрофореза.

2. Проведите гель-электрофорез геномной ДНК.

3. Визуализируйте распределение распределение фрагментов ДНК.

**Лабораторная 4. Изучение работы рестрицирующих эндонуклеаз.**

1. Проанализировав карту плазмидного вектора, подберите пару рестриктазу для двойного дайджеста.

2. Подберите условия работы рестриктаз.

3. Проведите реакцию двойного дайджеста плазмидного вектра.

4. Проведите гель-электрофорез результатов двойного дайджеста.

5. Проведите анализ полученных результатов.

**Лабораторная 5. Электрофоретическое разделение форм плазмидной ДНК.**

1. Проведите расчеты количества данного плазмидного вектора, необходимого для проведения гель-электрофореза.

2. Проведите гель-электрофорез плазмидного вектора.

3. Визуализируйте распределение плазмидной ДНК в геле.

4. Проанализируйте результаты распределения основных форм плазмидной ДНК (суперскрученной, кольцевой, линейной) в геле.

**Лабораторная 6. Дизайн праймеров для амплификации фрагментов ДНК.**

1. Пользуясь возможностями Ensembl, найдите сиквенс заданного преподавателем гена.

2. Подберите вручную праймеры для амплификации заданного преподавателем участка этого гена.

3. С помощью программ OligoCalc, проанализируйте базовые характеристики данной пары праймеров.

4. Используйте возможности программы Primer3 для автоматического подбора прймеров для амплификации заданного участка.

**Лабораторная 7. Полимеразная Цепная Реакция.**

1. Подготовьте к работе ПЦР-амплификатор.

2.Проведите расчеты и рассчитайте состав ПЦР-смеси.

3. Разработайте температурный режим и протокол ПЦР-реакции.

4. Приготовьте пробирки с ПЦР-смесью для проведения реакции.

5. Проведите ПЦР-реакцию.

6. Проведите агарозный гель-электрофорез результатов ПЦР-реакции.

**Лабораторная 8. Стерилизация материалов и подготовка сред для работы с микроорганизмами.**

1. Подготовьте автоклав к работе.

2.Приготовьте емкость с жидкой средой для стерилизации.

3. Подготовьте емкость с агаризованной средой для стерилизации.

4. Проведите стерилизацию сред.

5. Распределите агаризованную среду по Чашкам Петри.

**Лабораторная 9. Основы лабораторной работы с микроорганизмами.**

1. Разлейте в стерильных условиях жидкую среду по пробиркам.

2.Подготовьте Чашки Петри с агаризованной среди.

3.Посейте бактерий в жидкой среде с помощью петли в стерильных условиях.

4. Посейте бактерий на Чашке Петри с агаризованной средой с помощью петли в стерильных условиях.

**Лабораторная 10. Изучение возможностей NCBI при разработке стратегии молекулярного клонирования.**

1. Используя возможности NCBI, найдите научные публикации по заданной теме.

2. Используя возможности NCBI, найдите научные публикации заданных авторов.

3. Используя возможности NCBI, найдите сиквенс и положение заданного гена. Охарактеризуйте его экзон-интронную структуру.

4. Используя возможности алгоритма BLAST, определите положение в геноме заданного сиквенса ДНК.

**Лабораторная 11. Использование NEB cutter при разработке стратегии молекулярного клонирования.**

1. Используя возможности Ensembl, найдите сиквенс заданного участка заданного гена.

2. Используя возможности NEB Cutter, определите список рестриктаз, не имеющих сайтов рестрикции в данном участке ДНК.

3. Используя возможности NEB Cutter, определите список рестриктаз, имеющих 1 сайт рестрикции в данном участке ДНК.

4. Используя возможности NEB Cutter, определите список рестриктаз, имеющих 2 и более сайтов рестрикции в данном участке ДНК.

5. Разработайте стратегию клонирования данного участка ДНК в вектор pJet1.2/blunt

***Темы конспектов.***

Представлены в разделе 5.2.

***Темы докладов.***

Представлены в разделе 5.3.

**7. ПЕРЕЧЕНЬ ОСНОВНОЙ И ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ УЧЕБНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:**

**7.1. Основная литература**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Наименование | Авторы | Место издания | Год издания | Наличие | |
| в научно-техническойбиблиотеке, экз | в ЭБС, адрес в сети Интернет |
| 1. | Практический курс общей генетики: учебное пособие | Нахаева В. И. | М.: Флинта | 2011 |  | [http://biblioclub.ru](http://biblioclub.ru/index.php?page=book_red&id=83544&sr=1) |

* 1. **Дополнительная литература**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Наименование | Авторы | Место издания | Год издания | Наличие | |
| в научно-техническойбиблиотеке, экз | в ЭБС, адрес в сети Интернет |
| 1. | Молекулярная Биология Клетки, в 3х томах | Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон | М: Мир | 1994 |  | [http://biblioclub.ru](http://biblioclub.ru/index.php?page=book_red&id=40085&sr=1) |
| 2. | Применение современных молекулярно-биологических методов для поиска и клонирования полноразмерных нуклеотидных последовательностей к ДНК: учебное пособие | Ребриков Д. В. , Коростин Д. О. , Ушаков В. Л. , Барсова Е. В. , Лукьянов С. А. | М.: МИФИ | 2011 |  | [http://biblioclub.ru](http://biblioclub.ru/index.php?page=book_red&id=232434&sr=1) |
| 3. | Нуклеиновые кислоты: учебное пособие | Грищенкова Т. Н. , Чуйкова Т. В. , Щербакова Е. А. | Кемерово: Кемеровский государственный университет | 2009 |  | [http://biblioclub.ru](http://biblioclub.ru/index.php?page=book_red&id=232492&sr=1) |

**8. РЕСУРСЫ ИНФОРМАЦИОННО-ТЕЛЕКОММУНИКАЦИОННОЙ СЕТИ «ИНТЕРНЕТ»**

***Информационно-справочные ресурсы сети интернет:***

* 1. NCBI (National Center for Biotechnology Information, Национальный Центр Биотехнологической Информации (США), крупнейшая база данных по биотехнологической информации) http://www.ncbi.nlm.nih.gov.
  2. NEB (NewEnglandBiolabs, ферменты для биотехнологических исследований) https://www.neb.com/
  3. ThermoScientificFisher (оборудование и реактивы для биоттехнологических исследований) <http://www.thermofisher.com/ru/ru/home.html>
  4. OligoCalc (программа, позволяющая анализировать основные свойства олигонуклеотидов) <http://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html>
  5. Primer3Plus (программа, позволяющая осуществить автоматический подбор праймеров для ПЦР) <http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi/>

***Электронные библиотеки:***

Электронная библиотечная система «Университетская библиотека онлайн». – Режим доступа: https://biblioclub.ru.

**9. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ:**

Важнейшим условием успешного освоения материала является планомерная работа обучающегося в течение всего периода изучения дисциплины, поэтому подготовку к итоговому зачету или экзамену по дисциплине следует начинать с первого занятия. Обучающемуся следует ознакомиться со следующей учебно-методической документацией: программой дисциплины; перечнем знаний и умений, которыми обучающийся должен владеть; тематическими планами лекций, занятий семинарского типа; видами текущего контроля; учебником, учебными пособиями по дисциплине; электронными ресурсами по дисциплине; перечнем экзаменационных вопросов /вопросов к зачету.

***Подготовка к лекционным занятиям***

В ходе лекций преподаватель излагает и разъясняет основные и наиболее сложные понятия темы, а также связанные с ней теоретические и практические проблемы, дает рекомендации по подготовке к занятиям семинарского типа и самостоятельной работе. В ходе лекционных занятий обучающемуся следует вести конспектирование учебного материала.

С целью обеспечения успешного обучения обучающийся должен готовиться к лекции, она является важнейшей формой организации учебного процесса, поскольку:

− знакомит с новым учебным материалом;

− разъясняет учебные элементы, трудные для понимания;

− систематизирует учебный материал;

− ориентирует в учебном процессе.

При подготовке к лекции необходимо:

− внимательно прочитать материал предыдущей лекции;

− узнать тему предстоящей лекции (по тематическому плану, по рабочей программе дисциплины);

− ознакомиться с учебным материалом лекции по рекомендованному учебнику и учебным пособиям;

− уяснить место изучаемой темы в своей профессиональной подготовке;

− записать возможные вопросы, которые обучающийся предполагает задать преподавателю.

***Подготовка к занятиям семинарского типа***

Этот вид самостоятельной работы состоит из нескольких этапов:

1) повторение изученного материала. Для этого используются конспекты лекций, рекомендованная основная и дополнительная литература;

2) углубление знаний по теме. Необходимо имеющийся материал в конспектах лекций, учебных пособиях дифференцировать в соответствии с пунктами плана занятия семинарского типа. Отдельно выписать неясные вопросы, термины. Лучше это делать на полях конспекта лекции;

3) выполнение практических заданий, упражнений, проверочных тестов, составление словаря терминов, развернутого плана сообщения и т.д.

При подготовке к занятию семинарского типа рекомендуется с целью повышения их эффективности:

-уделять внимание разбору теоретических задач, обсуждаемых на лекциях;

-уделять внимание краткому повторению теоретического материала, который используется при выполнении практических заданий;

-осуществлять регулярную сверку домашних заданий;

-ставить проблемные вопросы, по возможности использовать примеры и задачи с практическим содержанием;

-включаться в используемые при проведении занятий семинарского типа активные и интерактивные методы обучения;

-развивать предметную интуицию.

При разборе примеров в аудитории или при выполнении домашних заданий целесообразно каждый шаг обосновывать теми или иными теоретическими положениями.

Для обеспечения систематической и регулярной работы по изучению дисциплины и успешного прохождения промежуточных и итоговых контрольных испытаний обучающемуся рекомендуется придерживаться следующего порядка обучения:

1) определить объем времени, необходимого для проработки каждой темы, ориентируясь на распределение часов, приведенное в основной части настоящей рабочей программы;

2) регулярно изучать каждую тему дисциплины, используя различные формы индивидуальной работы;

3) согласовывать с преподавателем виды работы по изучению дисциплины;

4) по завершении отдельных тем своевременно передавать выполненные индивидуальные работы преподавателю.

***Организация самостоятельной работы***

Для теоретического и практического усвоения дисциплины большое значение имеет самостоятельная работа обучающихся, которая может осуществляться индивидуально и под руководством преподавателя. Самостоятельная работа обучающегося является основным средством овладения учебным материалом во время, свободное от обязательных учебных занятий, что предполагает самостоятельное изучение отдельных тем, дополнительную подготовку к каждому занятию семинарского типа. Самостоятельная работа обучающихся является важной формой образовательного процесса. Она реализуется непосредственно в ходе аудиторных занятий, в контактной работе с преподавателем вне рамок расписания, а также в библиотеке, при выполнении обучающимся учебных заданий.

Цель самостоятельной работы обучающихся состоит в научении осмысленно и самостоятельно работать сначала с учебным материалом, затем с научной информацией. Правильно организованная самостоятельная работа позволяет заложить основы самоорганизации и самовоспитания с тем, чтобы привить умение в дальнейшем непрерывно повышать свою квалификацию, что будет способствовать формированию профессиональных компетенций на достаточно высоком уровне. При изучении дисциплины организация самостоятельной работы обучающихся представляет собой единство трех взаимосвязанных форм:

1) внеаудиторная самостоятельная работа;

2) аудиторная самостоятельная работа, которая осуществляется под непосредственным руководством преподавателя при проведении занятий семинарского типа и во время чтения лекций;

3) творческая, в том числе научно-исследовательская работа. Это вид работы предполагает самостоятельную подготовку отчетов по выполнению практических заданий, подготовку презентаций, эссе, сообщений и т.д.

На занятиях семинарского типа необходимо выполнять различные виды самостоятельной работы (в том числе в малых группах), что позволяет ускорить формирование профессиональных умений и навыков.

***Подготовка к экзамену (зачету)***

Завершающим этапом изучения дисциплины является сдача зачета или экзамена в соответствии с учебным планом, при этом выясняется усвоение основных теоретических и прикладных вопросов программы и умение применять полученные знания к решению практических задач. При подготовке к экзамену учебный материал рекомендуется повторять по учебнику и конспекту. Зачет или экзамен проводится в назначенный день, по окончании изучения дисциплины. Во время контрольного мероприятия преподаватель учитывает активность работы обучающегося на аудиторных занятиях, качество самостоятельной работы, результативность контрольных работ, тестовых заданий и т.д.

**10. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПО ДИСЦИПЛИНЕ**

**10.1. Требования к программному обеспечению учебного процесса**

Для успешного освоения дисциплины, обучающийся использует следующие программные средства:

* **Microsoft Office 2016**

Лицензионный договор №159 на передачу не исключительных прав на программы для ЭВМ от 27 июля 2018 г.

* **Windows 7 x64**

Подписка: Microsoft Imagine Premium

Идентификатор подписки: 61b01ca9-5847-4b61-9246-e77916134874

Акт предоставления прав №Tr043209 от 06.09.2016

**10.2. Информационно-справочные системы**

Электронно-библиотечная система «Университетская библиотека online».

**11. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ:**

Для проведения занятий лекционного типа предлагаются наборы демонстрационного оборудования и учебно-наглядных пособий, обеспечивающие тематические иллюстрации, соответствующие примерным программам дисциплин (модулей), рабочим учебным программам дисциплин (модулей).

Перечень необходимых материально-технических средств обучения, используемых в учебном процессе преподавателем на занятиях для освоения обучающимися дисциплины:

* компьютер преподавателя;
* компьютеры для обучающихся с подключением к сети "Интернет" и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду;
* экран,;
* маркерная доска;
* меловая доска;
* столы и стулья обучающихся;
* стол и стул преподавателя;
* наборы демонстрационного оборудования и учебно-наглядных пособий.