«УТВЕРЖДАЮ»
Декан биологического факультета МГУ

Академик _____ М.П.Кирпичников
«___» _____ 2015 г.

Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): **«Молекулярные методы в биологии развития с элементами биоинформатики»**

2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.

3. Направление подготовки – **06.06.01 Биологические науки**. Направленность (профиль) программы – **Биология развития, эмбриология**.

4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (весенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре эмбриологии)

5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции ***(код компетенции)***	**Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)**
УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях	***Владеть:*** навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код **В1 (УК-1)** ***Владеть:*** навыками критического анализа и оценки современных научных

	достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код **В2 (УК-1)**
УК-2 *Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.*	***Знать:*** методы научно-исследовательской деятельности Код **З1 (УК-2)**
УК-3: *Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач*	***Владеть:*** технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код **В2 (УК-3)**
УК-4: *Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке*	***Владеть:*** навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код **В1 (УК-4)** ***Знать:*** стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код **З2 (УК-4)**
ОПК-1 *Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий*	***Уметь:*** собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет 2 зачетных единицы, всего 72 академических часа, из которых 28 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (26 часов занятий лекционного типа) и 44 часа составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий и написание реферата).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:
ЗНАТЬ: основы общей и органической химии, биохимии, общей эмбриологии, клеточной биологии, молекулярной биологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований.
УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах описательной, сравнительной и экспериментальной эмбриологии и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области биологии развития с применением молекулярно-биологических методов исследования, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.
ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), **форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)**	**Всего (часы)**	В том числе								
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них						**Самостоятельная работа обучающегося, часы** из них		
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	**Всего**	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	**Всего**
ОСНОВЫ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОИНФОРМАТИКИ. Центральная догма молекулярной биологии. Генетический код. Структура генома, гена, матричной РНК, сплайсинг РНК, структура белка, консервативные домены. Базы данных нуклеотидных и белковых последовательностей, выравнивание последовательностей, BLAST, построение филогенетических деревьев.		6					**6**	12		**12**
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ. Полимеразная цепная реакция, история и принцип		10				2	**12**	20		**20**

метода. Подбор специфических олигонуклеотидов для ПЦР. ОТ-ПЦР как базовый метод анализа экспрессии генов. Методы выделения РНК. Обратная транскрипция. Агарозный гель-электрофорез. Nested PCR, RACE. Секвенирование. Количественный анализ экспрессии методом ПЦР в реальном времени. Гибридизационные методы исследования экспрессии генов – Нозерн-блот, гибридизация in situ.										
МЕТОДЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ. Молекулярное клонирование и экспрессия в искусственных генетических системах. Трансформация бактерий, методы селекции. Гибридные белки, флуоресцентные белки, генетически-кодируемые биосенсоры. Методы подавления экспрессии генов. Методики получения трансгенных организмов.		10					**10**		12	**12**
Промежуточная аттестация - зачет										
Итого:	**72**	**26**				**2**	**28**	**32**	**12**	**44**

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

1. Патрушев, Л. И. (2004). Искусственные генетические системы. Том1: Генная и белковая инженерия. Москва: Наука.
2. Brown, T. A. (2010). Gene cloning and DNA analysis: an introduction. Wiley-Blackwell.
3. Маниатис, Т., Фрич, Э., & Сэмбрук, Д. (1984). Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. (А. А. Баев & К. Г. Скрябин, Eds.). Москва: Мир.
4. Леск, А. (2013). Введение в биоинформатику. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний.

Дополнительная литература

Основные догмы молекулярной биологии. ДНК-РНК-белок. Генетический код. Структура генома, гена. Структура РНК, сплайсинг. Структура белка, консервативные домены.

Базы данных нуклеотидных и белковых последовательностей.

Выравнивание последовательностей, BLAST. Филогенетические деревья.

Полимеразная цепная реакция. История метода. Принципы метода. Подбор праймеров для ПЦР.

5. Дэйвис, К. (Ed.). (1990). Анализ генома. Методы. Москва: Мир
6. Pelt-Verkuil, E. van, Belkum, A. van, & Hays, J. P. (2008). Principles and Technical Aspects of PCR Amplification. Springer Science & Business Media.

ОТ-ПЦР как основной метод анализа экспрессии генов. Методы выделения РНК. Обратная транскрипция. Анализ результата – электрофорез.

7. Chomczynski, P., & Sacchi, N. (2006). The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. Nature Protocols, 1(2), 581–5.
8. Matz, M. V. (2002). Amplification of representative cDNA samples from microscopic amounts of invertebrate tissue to search for new genes. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 183, 3–18.
9. Лукьянов, К. А., Гурская, Н. Г., Богданова, Е. А., & Лукьянов, С. А. (1999). Селективная супрессия полимеразной цепной реакции. Биоорганическая Химия, 25(3), 163–170.
10. Жулидов, П. А., Богданова, Е. А., Щеглов, А. С., Шагина, И. А., Вагнер, Л. Л., Хазпеков, Г. Л., … Шагин, Д. А. (2005). Метод создания нормализованных библиотек кДНК, обогащенных полноразмерными последовательностями. Биоорганическая Химия, 31(2), 186–194.

Модификации метода ПЦР. Nested PCR. RACE PCR. Секвенирование. SNP анализ.

11. Shendure, J., & Ji, H. (2008). Next-generation DNA sequencing. Nat Biotechnol, 26, 1135–1145.
12. Rizzo, J. M., & Buck, M. J. (2012). Key Principles and Clinical Applications of “Next-Generation” DNA Sequencing. Cancer Prevention Research, 5(7), 887–900.

Количественный анализ экспрессии - ПЦР в реальном времени.

13. ПЦР в реальном времени
14. Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., … Zoric, N. (2006). The real-time polymerase chain reaction. Molecular Aspects of Medicine, 27(2-3), 95–125.
15. Bustin, S. A. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. Journal of Molecular Endocrinology, 25(2), 169–93.

Гибридизационные методы. Блоты. Гибридизация in situ.

16. Jones, C., Simpson, P., Mackay, A., & Lakhani, S. R. (2006). Expression profiling using cDNA microarrays. Methods in Molecular Medicine, 120(january), 403–14.

Молекулярное клонирование. Векторы. Рестрикция, лигирование. Трансформация бактерий, методы селекции.

17. Гловер, Д. (Ed.). (1988). Клонирование ДНК. Методы. Москва: Мир.

Экспрессия в искусственных генетических системах. Методики доставки – химическая трансфекция, электропорация, микроинъекция, вирусы.

Fusion-белки. Флуоресцентные белки. Генетически-кодируемые биосенсоры.

18. Frommer, W. B., Davidson, M. W., & Campbell, R. E. (2009). Genetically encoded biosensors based on engineered fluorescent proteins. Chemical Society Reviews, 38(10), 2833–41.
19. Суслова, Е. А., & Чудаков, Д. М. (2007). Генетически кодируемые внутриклеточные сенсоры на основе флуоресцентных белков. Биохимия, 72(7), 837–855.

Методы даунрегуляции экспрессии генов. Морфолино. РНК-интерференция.

20. Ekker, S. C., & Larson, J. D. (2001). Morphant technology in model developmental systems. Genesis (New York, N.Y. : 2000), 30(3), 89–93.
21. Moulton, J. D., & Yan, Y.-L. (2008). Using Morpholinos to control gene expression. Current Protocols in Molecular Biology / Edited by Frederick M. Ausubel ... [et Al.], Chapter 26, Unit 26.8.
22. Moore, C. B., Guthrie, E. H., Huang, M. T.-H., & Taxman, D. J. (2010). Short hairpin RNA (shRNA): design, delivery, and assessment of gene knockdown. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 629, 141–58.
23. Wianny, F., & Zernicka-Goetz, M. (2000). Specific interference with gene function by double-stranded RNA in early mouse development. Nature Cell Biology, 2(2), 70–5.

24. Fuchs, U., Damm-Welk, C., & Borkhardt, A. (2004). Silencing of disease-related genes by small interfering RNAs. Current Molecular Medicine, 4(5), 507–17.

Методики получения трансгенных организмов.

25. Houdebine, L.-M. (2009). Methods to Generate Transgenic Animals. In M. Engelhard, K. Hagen, & M. Boysen (Eds.), Genetic Engineering in Livestock (Vol. 34, pp. 31–48). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
26. Немудрый, А. А., Валетдинова, К. Р., Медведев, С. П., & Закиян, С. М. (2014). Системы редактирования геномов TALEN и CRISPR/Cas – инструменты открытий. Actae Naturae, 3(22), 20–42.
27. Araki, M., & Ishii, T. (2014). International regulatory landscape and integration of corrective genome editing into in vitro fertilization. Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E, 12, 108.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

1. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/
2. http://www.thermofisher.com/ - qPCR education resources
3.

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

1. Интернет-браузер
2. MEGA
3. Primer design
4. базы данных NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) - PubMed, Nucleotide, EST
5. RCSB Protein Data Bank (http://www.rcsb.org/pdb/)
6. http://topcons.cbr.su.se/ - Consensus prediction of membrane protein topology and signal peptides

Описание материально-технической базы.

Кафедра эмбриологии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

1. Интернет-браузер
2. MEGA
3. Primer3
4. базы данных NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) - PubMed, Nucleotide, EST
5. RCSB Protein Data Bank (http://www.rcsb.org/pdb/)
6. http://topcons.cbr.su.se/

Описание материально-технической базы.

Кафедра эмбриологии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): научный сотрудник кафедры эмбриологии С.В. Кремнёв, ведущий инженер кафедры эмбриологии Д.А. Никишин

Кремнёв С.В

Никишин Д.А

Приложение

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ В БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ С ЭЛЕМЕНТАМИ БИОИНФОРМАТИКИ»
на основе карт компетенций выпускников

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	**КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС**					**ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА**
	1,	2	3	4	5	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- - *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код З1(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*

Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код З2(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

1. Основные догмы молекулярной биологии. ДНК-РНК-белок. Генетический код. Структура генома, гена. Структура РНК, сплайсинг. Структура белка, консервативные домены.
2. Базы данных нуклеотидных и белковых последовательностей.
3. Выравнивание последовательностей, BLAST. Филогенетические деревья.
4. Полимеразная цепная реакция. История метода. Принципы метода. Подбор праймеров для ПЦР.
5. ОТ-ПЦР как основной метод анализа экспрессии генов. Методы выделения РНК. Обратная транскрипция. Анализ результата – электрофорез.
6. Модификации метода ПЦР. Nested PCR. RACE PCR. Секвенирование. SNP анализ.
7. Количественный анализ экспрессии - ПЦР в реальном времени.
8. Гибридизационные методы. Блоты. Гибридизация in situ.
9. Молекулярное клонирование. Векторы. Рестрикция, лигирование. Трансформация бактерий, методы селекции.
10. Экспрессия в искусственных генетических системах. Методики доставки – химическая трансфекция, электропорация, микроинъекция, вирусы.
11. Fusion-белки. Флуоресцентные белки. Генетически-кодируемые биосенсоры.
12. Методы подавления экспрессии генов. Морфолино. РНК-интерференция.
13. Методики получения трансгенных организмов.

ПРОГРАММА
зачета по спецкурсу «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ В БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ С ЭЛЕМЕНТАМИ БИОИНФОРМАТИКИ»

ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОИНФОРМАТИКИ.

Центральная догма молекулярной биологии. Генетический код. Понятия генотипа и фенотипа. Современные представления о гене.

Структура гена. Транскрибируемая и кодирующая области. Кодоны, инициирующие и терминирующие синтез белка. Нетранслируемые области. Экзоны и интроны. Сигнальные последовательности терминации транскрипции, полиаденилирования. Промоторы. Регуляторные последовательности (энхансеры, инсуляторы, сайленсеры, сайты связывания транскрипционных факторов).

Структура матричной РНК. Созревание эукариотической мРНК. Сплайсинг, альтернативный сплайсинг. Транспорт мРНК, сигнальные последовательности локализации. Информосомы.

Структура белка, консервативные домены.

Геном, структура генома. Размеры геномов, корелляция с количеством генов и сложностью организма. Подходы к изучению генов и геномов in vivo, in vitro и in silico. Генная инженерия.

Базы данных нуклеотидных и белковых последовательностей. Предсказание элементов вторичной структуры и консервативных доменов по аминокислотной последовательности.

Выравнивание последовательностей, BLAST. Филогенетические деревья.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ.

Полимеразная цепная реакция. История метода. Принципы метода. Термостабильные ДНК полимеразы. Компоненты ПЦР-смеси. Параметры амплификации. Факторы, влияющие на эффективность и специфичность ПЦР. ПЦР с горячим стартом. Nested PCR Подбор праймеров для ПЦР. ОТ-ПЦР как базовый метод для анализа экспрессии генов. Исследование однонуклеотидных замен (SNP) методом ПЦР. ПЦР с вырожденными праймерами. Метод селективной супрессии ПЦР.

Выделение нуклеиновых кислот. Гуанидин-изотиоцианатный метод выделения РНК. Фенольная экстракция ДНК и РНК. Выделение геномной ДНК. Использование ДНКазы при выделении РНК. Спектрофотометрическое определение концентрации и качества РНК.

Обратная транскрипция. Ревертазы (обратные транскриптазы). Праймеры, используемые для обратной транскрипции. Методы приготовления библиотек кДНК. Амплификация кДНК, методы SMART, RACE. Анализ дифференциальной экспрессии генов методом дифференциального дисплея.

Анализ результата. Гель-электрофорез нуклеиновых кислот. Агарозные и полиакриламидные гели. Факторы и параметры, влияющие на подвижность нуклеиновых кислот в геле. Визуализация нуклеиновых кислот интеркалирующими красителями (бромистый этидий, SYBR Green). Визуализация тотальной РНК на агарозном гель-электрофорезе. Капиллярный электрофорез. Фрагментный анализ. Электрофорез в импульсном электрическом поле.

Визуализация тотальной РНК на агарозном гель-электрофорезе. Капиллярный электрофорез. Фрагментный анализ. Электрофорез в импульсном электрическом поле.

Количественный анализ экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени. Выявление абсолютного количества мРНК и относительной экспрессии генов. Использование красителя SYBR-Green и системы TaqMan в ПЦР в реальном времени. Нормирование сигнала по референсному красителю ROX. Факторы, влияющие на точность получаемых результатов. Выбор оптимальных референсных генов для исследования экспрессии генов в развитии.

Секвенирование ДНК. Метод Сэнгера. Секвенирование геномов. Прогулка по хромосоме. Секвенирование транскриптомов. Нормализация библиотек кДНК. Метод серийного анализа экспрессии генов (SAGE). Базы данных EST. Методы секвенирования нового поколения (NGS).

Гибридизационные методы исследования. Денатурация и реассоциация нуклеиновых кислот, гибридизация. Факторы, влияющие на скорость гибридизации. Анализ кривой плавления продукта ПЦР. ДНК и РНК зонды. Способы мечения зондов. Саузерн-блот. Нозерн-блот. Анализ дифференциальной экспрессии генов микрочиповыми методами (microarray). Метод вычитающей гибридизации. Гибридизация in situ. Исследование паттернов экспрессии генов в развитии методом WISH. Области применения метода FISH.

МЕТОДЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ.

Молекулярное клонирование. Плазмидная ДНК, ее структурные и функциональные свойства. Визуализация плазмидной ДНК в агарозном геле. Векторы на основе бактериальных плазмид. Репортерные гены, полилинкерные сайты. Эндонуклеазы рестрикции. Сайты рестрикции, липкие и тупые концы. Рестрикционный анализ ДНК. ДНК-лигазы, лигирование по липким и тупым концам. Использование щелочной фосфатазы для клонирования. Использование линкеров и адапторов для создания липких концов. Клонирование продуктов ПЦР. Методы генной инженерии с использованием хромосом бактериофагов и искусственных хромосом.

Трансформация бактерий. Химическая трансформация, электропорация. Методы получения компетентных клеток E. coli. Методы селекции клонов. Использование генов резистентности к антибиотикам для селекции клонов. Метод бело-голубой селекции. Создание и использование бактериальных геномных библиотек.

Эктопическая экспрессия рекомбинантных генов в эукариотических клетках. Методики доставки ДНК в клетку: химическая трансфекция, электропорация, микроинъекция, вирусные частицы.

Методы подавления экспрессии генов. Морфолино. РНК-интерференция.

Получение и применение гибридных белков. Флуоресцентные белки. Генетически-кодируемые биосенсоры. Мутагенез. Случайный и направленный мутагенез. Методы редактирования генома – системы TALEN и CRISPR/Cas9. Методики получения трансгенных организмов.