

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета МГУ

Академик М.П.Кирпичников

2015 г.



Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): **«Современные методы в генетике»**
2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
3. Направление подготовки – **06.06.01 Биологические науки**. Направленность (профиль) программы – **Генетика**
4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (/**весенний** семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре генетики)
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)
<i>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</i>	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

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

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

6. **Весенний семестр.** Объем дисциплины (модуля) составляет 2 зачетных единицы, всего 72 академических часа, из которых 24 часа составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (24 часа занятий лекционного типа) и 48 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий и написание реферата).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: общую генетику, генетический анализ, теоретические и методологические основы биологических научных исследований

УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах применения современных методов в генетике и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области современных методов генетики, 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
Общие методические подходы, используемые в генетике. Гибридологический метод. Биохимический метод. Цитологический метод. Математические методы: статистическая обработка экспериментальных данных, математическое моделирование генетических процессов. Биоинформатические методы. Молекулярно-генетические методы. Работа с ДНК и РНК. Гибридизация. Полимеразная цепная реакция. Секвенирование.	32	12					12	20		20
Методы выявления изменчивости генов. Методы выявления мутаций с помощью ПЦР и гибридизации. Использование ДНК-маркеров: полиморфизм длин рестриктных	8	2					2	6		6

фрагментов, одно- и олигонуклеотидные повторы. Фингерпринтинг.										
Методы исследования функции гена. Инактивация гена. Методы инактивации генов прокариот. Сайт-направленный мутагенез: введение инсерций и делеций. Методы инактивации генов эукариот: «нокаут» гена, транспозонный мутагенез, РНК-интерференция. Направленное изменение экспрессии гена. Введение мутаций его регуляторные районы. Повышение и снижение экспрессии гена. Введение мутаций в ген с целью влияния на функционирование доменов белка.	12	4					4	8	12	8
Методы введения генетического материала в клетки прокариот. Трансформация клеток бактерий. Методы приготовления компетентных клеток. Методы трансформации бактериальных клеток. Электропорация. Параметры электропорации. Отбор трансформантов. Методы трансформации растений и растительных клеток. Методы трансформации животных. Трансформация клеток: микроинъекция, электропорация, кальций-фосфатный метод. Введение генов в зародышевые клетки и в стволовые клетки. Введение генов в ткани.	6	2					2	4		4

Методы исследования экспрессии гена. Использование транскрипционных и трансляционных слияний. Методы выявления оперонной организации генов у прокариот; продуктов альтернативного сплайсинга у эукариот; дифференциальной экспрессии генов. Методы оценки уровня экспрессии гена в разных условиях, в разных тканях, при различных типах мутациях. Исследование экспрессии большого количества генов на уровне транскрипции методами ПЦР и обратной гибридизации.		4					4	10		10
Промежуточная аттестация - зачет										
Итого:	72	24					24	48		48

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. Нефедова Л.Н. Применение молекулярных методов анализа в генетике (учебное пособие). Москва: изд-во Инфра-М, 2012, 104 с.
2. Green M.R., Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. CHS Laboratory Press. 2012.

Дополнительная литература

1. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Сибирское университетское изд-во. 2004.
2. Геномика – медицине. Под ред. В.И.Иванова и Л.Л.Киселева. М. ИКЦ «Академкнига». 2005.
3. Свердлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома: в 3 т. М.: Наука. 2009.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
<http://www.cshlpress.com/pdf/sample/2013/MC4/MC4FM.pdf>

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

Интернет-браузер, базы данных PubMed (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), Protein Data Bank (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>)

Описание материально-технической базы.

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

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): доцент кафедры **генетики Л.Н.Нефедова**



**Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Современные методы в генетике»
на основе карт компетенций выпускников**

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС					ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
	1, 0	2 1-29	3 30-59	4 60-89	5 90-100	
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:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,

технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)						<i>зачет</i>
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, <i>зачет</i>
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, <i>зачет</i>
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, <i>зачет</i>

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

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

1. Методы выделения плазмидной ДНК.
2. Методы выделения нехромосомной ДНК.
3. Гель-электрофорез в агарозном и полиакриламидном геле.
4. Общие принципы выделения геномной ДНК.
5. Методы разделения высокомолекулярных фрагментов ДНК и хромосом.
6. Методы выделения ДНК из геля.
7. Методы очистки ДНК.
8. Рестрикционный анализ ДНК и его применение в молекулярно-генетическом анализе.
9. Приготовление зонда для гибридизации. Сравнение радиоактивно- и нерадиоактивно меченного зонда.
10. Методы детекции гибридизационного сигнала.
11. Принцип полимеразной цепной реакции. Преимущества и недостатки метода.
12. Особенности проведения ПЦР. Подбор праймеров, концентрация ионов магния, полимеразы.
13. Сравнение методов гибридизации и ПЦР.
14. Количественная и полуколичественная ПЦР.
15. Секвенирование ДНК по Сэнгеру.
16. Методы секвенирования ДНК следующего поколения.
17. Секвенирование геномов.
18. Принцип Саузерн-блот гибридизации.
19. Гибридизация хромосом *in situ*.
20. Гибридизация на микроматрицах. Типы микрочипов.
21. Методы выявления мутаций в генах.
22. Возможности гибридизационного анализа.
23. Методы выделения РНК. Особенности работы с РНК.
24. Очистка эукариотической мРНК.
25. Позиционное картирование генов.
26. Нозерн-блот гибридизация.

- 27.Функциональная комплементация.
- 28.Направленное изменение экспрессии гена.
- 29.Методы выявления полиморфизма ДНК.
30. Методы введения ДНК в клетки бактерий.
- 31.Методы клонирования фрагментов ДНК.
- 32.Методы введения ДНК в клетки растений.
- 33.Методы инактивации генов прокариот. Сайт-направленный и ненаправленный мутагенез.
- 34.Методы введения ДНК в клетки животных.
- 35.Методы инактивации генов эукариот. Нокаут и нокдаун гена.
- 36.Структурный анализ гена. Биоинформатические и молекулярные методы.
- 37.Метод обратной транскрипции - полимеразной цепной реакции. Принцип и возможности метода.
- 38.Методы анализа экспрессии генов на уровне транскрипции.
- 39.Методы введения мутаций в гены.
- 40.Исследование экспрессии генов на посттранскрипционном уровне.
- 41.Серийный анализ экспрессии генов.
- 42.Дифференциальный дисплей и вычитающая гибридизация.
- 43.RNA-seq. Преимущества и недостатки метода по сравнению с гибридизацией на микроматрицах.
- 44.Анализ метилирования генов и их регуляторных районов.
- 45.Методы исследования экспрессии генов на уровне белка.
- 46.Гены-репортеры. Использование для анализа функции генов и их регуляторных районов.
- 47.Методы исследования взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами.

ПРОГРАММА

зачета по спецкурсу «Современные методы в генетике»

Анализ экспериментального материала. Построение логических гипотез и схем. Выбор методов проверки гипотез. Уровни исследования экспериментального материала: молекулярный, клеточный, организменный, популяционный.

Стратегии анализа экспериментального материала: от признака к гену и от гена к признаку.

Выбор объекта исследования, подходящего для реализации поставленных целей исследования.

Модельные объекты, используемые для исследования генетических процессов. Преимущества модельных объектов: простое культивирование, короткое время генерации, многочисленное потомство, небольшой геном.

Биологические процессы (молекулярные клеточные процессы, индивидуальное развитие, болезни человека и др.), которые изучают с использованием конкретных моделей.

Культивирование микроорганизмов, растений, животных, культур клеток и тканей. Генетические коллекции (штаммов, линий и т.п.).

Гибридологический метод: исследование на уровне организма и популяции. Суть метода. Генеалогический и близнецовый методы как аналоги гибридологического метода, применяемые для исследования закономерностей наследственности и изменчивости у человека.

Цитологический метод. Суть метода. Применение метода для количественного и качественного анализа хромосомного набора индивидуума.

Цитогенетический метод как модификация цитологического метода. Возможности цитогенетического метода.

Биохимический метод. Исследование продуктов генов и их функций.

Математические методы. Статистическая обработка экспериментальных данных. Математическое моделирование генетического контроля биологических процессов (развития, функционирования органов и систем органов и др.) внутри индивидуального организма и в популяции.

Биоинформатические методы. Возможности методов: локализация генов в секвенированной последовательности ДНК, выявление регуляторных районов, поиск гомологичных последовательностей ДНК и белка в базах данных, определение консервативных доменов в последовательности продукта гена (ДНК-связывающих, белок-связывающих и др.).

Выделение хромосомной ДНК из клеток про- и эукариот. Общие подходы, применяемые для выделения хромосомной ДНК.

Плазмидная ДНК. Использование плазмидной ДНК в молекулярно-генетических и биоинженерных исследованиях. Знакомство с методами выделения плазмидной ДНК из клеток бактерий. Подготовка бактериальной культуры для выделения ДНК плазмид. Лизис клеток. Факторы, влияющие на выбор метода лизиса бактериальных клеток. Методы очистки ДНК.

Разделение двуцепочечных и одноцепочечных молекул ДНК с помощью ультразвукового центрифугирования в градиенте хлористого цезия.

Разделение низкомолекулярной и высокомолекулярной ДНК в градиенте сахарозы.

Хроматография как высокоэффективный метод выделения и очистки ДНК. Колоночная хроматография: принцип метода.

Электрофорез ДНК в агарозном и полиакриламидном гелях. Параметры и условия проведения электрофореза. Выбор состава и концентрации геля.

Разделение больших фрагментов ДНК - пульсирующий гель-электрофорез.

Методы разделения хромосом. Способы визуализации результатов электрофореза. Спектрофотометрический метод оценки концентрации выделенной ДНК.

Методы выделения ДНК из геля. Методы электроэлюции ДНК: применение ионно-обменной бумаги, диализа и хроматографии.

Молекулярная гибридизация. Задачи, решаемые с помощью гибридизации ДНК-ДНК, ДНК-РНК. Знакомство с возможностями гибридизационного анализа: картирование последовательностей ДНК, выявление полиморфизма ДНК и мутаций в генах, поиск определенных последовательностей ДНК в геномах разных видов, исследование экспрессии генов, анализ структурной организации генома. Понятие зонда для гибридизации. Приготовление зонда. Радиоактивное и нерадиоактивное мечение зонда.

Принцип Саузерн-блот гибридизации.

Гибридизация хромосом *in situ*. Принцип метода. Гибридизация *in situ* с применением флуоресцентных меток (FISH). Применение метода для метафазных и интерфазных хромосом.

Методы выделения РНК из прокариотических и эукариотических клеток. Общий принцип. Выделение матричной РНК из клеток эукариот: хроматография на олиго (дТ) целлюлозе или на магнитных частицах, покрытых стрептавидином.

Электрофоретический анализ РНК в агарозном геле.

Принцип Нозерн-блот гибридизации.

Возможности метода: анализ активности гена (транскрибируется ли данный ген), определение количества мРНК данного гена в клетке, характер экспрессии гена (в каких тканях транскрибируется ген, как транскрибируется ген на разных стадиях развития организма, как изменяется экспрессия гена при воздействии на организм различных стрессовых факторов). Обратная гибридизация: гибридизация меченой геномной ДНК (РНК) с немеченым зондом. Принцип и возможности метода. Сравнительная геномная гибридизация: метод выявления хромосомных аббераций.

Гибридизация на микроматрицах (Microarray). Генные чипы. Возможности метода Microarray: анализ экспрессии целого генома на уровне транскрипции.

Полимеразная цепная реакция. Принцип метода. Основные преимущества и ограничения метода. Параметры реакции. Подбор праймеров для ПЦР. Расчет температуры плавления и отжига праймеров. Термостабильные ДНК-полимеразы, используемые для проведения реакции. Возможности метода ПЦР: выявление и введение мутаций, исследование экспрессии генов. ПЦР в реальном времени. Знакомство с методом. Возможности метода.

Синтез олигонуклеотидов и генов.

Секвенирование. Секвенирование с применением радиоактивной и флуоресцентных меток.

Секвенирование геномов. Секвенирование прокариотического генома методом "shotgun". Проблемы секвенирования эукариотического генома.

Организмы с секвенированными геномами. Значение расшифровки геномов про- и эукариот.

Методы трансформации бактериальных клеток. Приготовление компетентных клеток. «Кальциевый» метод приготовления компетентных клеток и трансформация. Приготовление сферопластов и протопластов. Электропорация. Сегрегация трансформантов.

Методы трансформации растений и животных. Трансформация клеток: микроинъекция, электропорация, кальций-фосфатный метод, липосомный метод, биолистический метод. Использование ретротранспозонов для трансформации насекомых. Трансфекция. Применение ретровирусов для трансформации.

Введение генов в зародышевые клетки и в стволовые клетки.

Введение генов в ткани.

Анализ изменчивости геномов. Молекулярные маркеры ДНК.

Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). ПДРФ-анализ как метод картирования генома и метод выявления точечных мутаций в генах.

Однонуклеотидные повторы.

Микросателлитные и минисателлитные маркеры. Фингерпринтинг.

RAPD-анализ - случайно амплифицируемая полиморфная ДНК.

Методы выявления полиморфизма ДНК с помощью ПЦР и Саузерн-гибридизации.

Методы инактивации генов прокариот. Сайт-направленный мутагенез у прокариот: методы введения инсерций и делеций в гены.

Методы инактивации генов эукариот: «нокаут» гена, транспозонный мутагенез. Инактивация гена на посттранскрипционном уровне: РНК-интерференция.

Направленное изменение экспрессии гена: введение мутаций в регуляторные районы гена.

Использование методов биоинформатики для поиска гомологов в компьютерных базах данных.

Оценка уровня экспрессии генов на уровне транскрипции методами ПЦР и обратной гибридизации.

Методы выявления оперонной организации генов у прокариот.

Анализ альтернативного сплайсинга у эукариот; дифференциальная экспрессия генов. Исследование экспрессии гена на посттрансляционном уровне.

Использование генов-репортеров.

Методы исследования регуляции экспрессии гена: поиск регуляторных областей гена, выявление области связывания регуляторного белка с ДНК (футпринтинг).