

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Железнов Лев Михайлович
Должность: ректор
Дата подписания: 23.03.2024 09:01
Уникальный программный ключ:
7f036de85c233e341493b4c0e48bb3a18c939f51

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Кировский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

Специальность 30.05.01 Медицинская биохимия

Направленность ОПОП Медицинская биохимия

Форма обучения очная

Срок освоения ОПОП: 6 лет

Кафедра Биологии

Рабочая программа дисциплины (модуля) разработана на основе:

- 1) ФГОС ВО по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия», утвержденного Министерством образования и науки РФ «13» августа 2020г. приказ № 998
- 2) Учебного плана по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия», одобренного ученым советом ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России 30.04.2021 г. протокол №4
- 3) Профессионального стандарта «Врач-биохимик», утвержденного Министерством труда и социальной защиты РФ «04» августа 2017г., приказ № 613н.

Рабочая программа дисциплины (модуля) одобрена:

кафедрой биологии «11» мая 2021 г. (протокол № 11/1)

Заведующий кафедрой Коледаева Е.В.

ученым советом педиатрического факультета «19» мая 2021 г. (протокол № 3/1)

Председатель совета педиатрического факультета Е.С. Прокопьев

Центральным методическим советом «20» мая 2021 г. (протокол № 6)

Председатель ЦМС Е.Н. Касаткин

Разработчики:

Зав. кафедрой биологии, к.б.н., доцент

Е.В. Коледаева

Доцент кафедры биологии, к.м.н.

В.А. Козвонин

ОГЛАВЛЕНИЕ

Раздел 1. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю), соотнесенных с планируемыми результатами освоения ОПОП	4
1.1. Цель изучения дисциплины (модуля)	4
1.2. Задачи изучения дисциплины (модуля)	4
1.3. Место дисциплины (модуля) в структуре ОПОП	4
1.4. Объекты профессиональной деятельности	4
1.5. Типы задач профессиональной деятельности	4
1.6. Планируемые результаты освоения программы - компетенции выпускников, планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), обеспечивающие достижение планируемых результатов освоения программы	5
Раздел 2. Объем дисциплины (модуля) и виды учебной работы	6
Раздел 3. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам)	7
3.1. Содержание разделов дисциплины (модуля)	7
3.2. Разделы дисциплины (модуля) и междисциплинарные связи с обеспечиваемыми (последующими) дисциплинами	8
3.3. Разделы дисциплины (модуля) и виды занятий	8
3.4. Тематический план лекций	8
3.5. Тематический план практических занятий (семинаров)	12
3.6. Самостоятельная работа обучающегося	14
3.7. Лабораторный практикум	15
3.8. Примерная тематика курсовых проектов (работ), контрольных работ	15
Раздел 4. Перечень учебно-методического и материально-технического обеспечения дисциплины (модуля)	15
4.1. Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля)	15
4.1.1. Основная литература	15
4.1.2. Дополнительная литература	15
4.2. Нормативная база	15
4.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины (модуля)	15
4.4. Перечень информационных технологий, используемых для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю), программного обеспечения и информационно-справочных систем	16
4.5. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)	16
Раздел 5. Методические рекомендации по организации изучения дисциплины (модуля)	17
5.1. Методика применения электронного обучения и дистанционных образовательных технологий при проведении занятий и на этапах текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине	19
Раздел 6. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины (модуля)	22
Раздел 7. Оценочные средства для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине (модулю)	22
Раздел 8. Особенности учебно-методического обеспечения образовательного процесса по дисциплине для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья	22

Раздел 1. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю), соотнесенных с планируемыми результатами освоения ОПОП

1.1. Цель изучения дисциплины (модуля)

Цель освоения учебной дисциплины «Молекулярная биология» состоит в овладении общетеоретическими знаниями о механизмах функционирования организма на молекулярном уровне и в формировании способности у студентов применять знания о молекулярных механизмах функционирования клетки в диагностических и лечебных мероприятиях.

1.2. Задачи изучения дисциплины (модуля)

- Ознакомить студентов с формированием у населения, пациентов и членов их семей мотивации, направленной на сохранение и укрепление своего здоровья и здоровья окружающих;
- Сформировать у студентов знания о структуре нуклеиновых кислот и белков, структуре геномов у различных организмов.
- Способствовать приобретению студентами знаний о механизмах реализации генетической информации у различных групп организмов, а также об их регуляции;
- Ознакомить студентов с механизмами перестройки генетического материала;
- Выработать у студентов навыки выделения и анализа нуклеиновых кислот;
- Способствовать приобретению студентами навыков работы с базами данных о структуре генов;
- Сформировать навыки изучения систематизации научной литературы с помощью информационных систем.
- Сформировать навыки диагностики заболеваний и патологических состояний пациентов

1.3. Место дисциплины (модуля) в структуре ОПОП:

Дисциплина «Молекулярная биология» относится к блоку Б1. Дисциплины (модули) обязательной части.

Основные знания, необходимые для изучения дисциплины формируются при изучении дисциплин: «Органическая химия», «Биология», «Общая и медицинская генетика», «Микробиология, вирусология», «Общая биохимия», «Общая и клиническая иммунология», «Молекулярные основы патологии».

Является предшествующей для изучения дисциплин: «Медицинские биотехнологии», «Клиническая лабораторная диагностика. Лабораторная аналитика. Клиническая диагностика (модуль)», «Иммунологическая и молекулярно-генетическая диагностика».

1.4. Объекты профессиональной деятельности

Объектами профессиональной деятельности выпускников, освоивших программу специалитета, являются:

- физические лица (далее - пациенты);
- население;
- совокупность средств и технологий, предусмотренных при оказании диагностической помощи и направленных на создание условий для охраны здоровья граждан.

1.5. Типы задач профессиональной деятельности

Изучение данной дисциплины (модуля) направлено на подготовку к решению задач профессиональной деятельности следующих типов:

- *Медицинский.*

1.6. Планируемые результаты освоения программы - компетенции выпускников, планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), обеспечивающие достижение планируемых результатов освоения программы

Процесс изучения дисциплины (модуля) направлен на формирование у выпускника следующих

компетенций:

№ п/п	Результаты освоения ОПОП (индекс и содержание компетенции)	Индикатор достижения компетенции	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю)			Оценочные средства		№ раздела дисциплины, № семестра, в которых формируется компетенция
			Знать	Уметь	Владеть	для текущего контроля	для промежуточной аттестации	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	ОПК-1. Способен использовать и применять фундаментальные и прикладные медицинские, естественнонаучные знания для постановки и решения стандартных и инновационных задач профессиональной деятельности	ИД ОПК 1.1. Использует естественнонаучные знания для постановки и решения стандартных и инновационных задач профессиональной деятельности	Строение, физико-химические свойства и функции различных видов нуклеиновых кислот, белков, понимать взаимосвязь между репликацией, репарацией, транскрипцией и трансляцией в клетке у про- и эукариот; химико-биологическую сущность процессов, происходящих на молекулярном и клеточном уровнях в организме человека.	Применять научные знания в области молекулярной биологии в учебной и профессиональной деятельности, осуществлять поиск и анализ научной информации по актуальным вопросам молекулярной биологии.	Молекулярно-биологическим понятийным аппаратом	Тестирование, собеседование, реферат/доклад, решение ситуационных задач, практические навыки	Тестирование, собеседование, ситуационные задачи, практические навыки	Раздел № 1,2 Семестр № А

2	ОПК-5. Способен к организации и осуществлению прикладных и практически х проектов и иных мероприятий по изучению биохимических и физиологических процессов и явлений, происходящих в клетке человека	ИД ОПК 5.1. Организует и осуществляет прикладные и практические проекты и иные мероприятия по изучению биохимических и физиологических процессов и явлений, происходящих в клетке человека	Теоретические основы современных компьютерных и информационно-коммуникационных технологий для организации и практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	Пользоваться современными компьютерными и информационно-коммуникационными технологиями для организации и практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	Навыками использования современных компьютерных и информационно-коммуникационных технологий для организации и практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	Тестирование, собеседование, реферат /доклад, решение ситуационных задач, практические навыки	Тестирование, собеседование, ситуационные задачи, практические навыки	Раздел № 1,2 Семестр № А
3	ПК-1 Способен выполнять клинические лабораторные исследования	ИД ПК 1.4 Оценивает результаты контроля качества клинических лабораторных исследований	Физико-химические принципы, сущность, методологию и порядок выполнения современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Оценивает результаты и качество современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Навыками постановки биохимического и молекулярно-генетического эксперимента, методами изучения биологических объектов, анализом результатов лабораторных исследований.	Тестирование, собеседование, реферат /доклад, решение ситуационных задач, практические навыки	Тестирование, собеседование, ситуационные задачи, практические навыки	Раздел № 1,2 Семестр № А

Раздел 2. Объем дисциплины (модуля) и виды учебной работы

Общая трудоемкость дисциплины составляет **6** зачетных единиц, **216** час.

Вид учебной работы	Всего часов	Семестры
		№ А
1	2	3
Контактная работа (всего), в том числе:	120	120
Лекции (Л)	40	40

Практические занятия (ПЗ),			80	80
Самостоятельная работа студента (СРС), в том числе:			60	60
Реферат/доклад (Реф)			5	5
Подготовка к занятиям (ПЗ)			15	15
Подготовка к текущему контролю (ПТК)			15	15
Подготовка к промежуточному контролю (ППК)			15	15
Решение ситуационных задач			10	10
Вид промежуточной аттестации	экзамен	контактная работа	3	3
		самостоятельная работа	33	33
Общая трудоемкость (часы)			216	216
Зачетные единицы			6	6

Раздел 3. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам)

3.1. Содержание разделов дисциплины (модуля)

№ п/п	Код компетенции	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Содержание раздела
1	2	3	4
1.	ОПК-1 ОПК-5 ПК-1	Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов.	<u>Лекции:</u> «Молекулярная биология как интегративная дисциплина», «Организация молекулярно-генетической лаборатории», «Основы молекулярного строения клеточных компонентов - ДНК и РНК», «Организация генома и механизмы регуляции экспрессии генов», «Репликация как механизм передачи наследственной информации. Процессы репарации ДНК», «Транскрипция. Механизмы. Особенности у про- и эукариот», «Трансляция. Механизмы. Особенности у про- и эукариот», «Основы молекулярного строения клеточных компонентов – белки», «Основы молекулярного строения клеточных компонентов – липиды и углеводы, внеклеточный матрикс», «Основы генетической инженерии» <u>Практические занятия:</u> «Особенности организации лаборатории молекулярной биологии», «Теоретический и прикладной анализ генома», «Итоговое занятие по разделу «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов»»
2.	ОПК-1 ОПК-5 ПК-1	Методы молекулярной биологии	<u>Лекции:</u> «Методы молекулярной биологии – выделение ДНК и РНК», «Методы молекулярной биологии – полимеразная цепная реакция», «Методы молекулярной биологии – гель-электрофорез», «Методы молекулярной биологии - аллель-специфичная ПЦР, гетеродуплексный анализ, SSCP», «Методы молекулярной биологии - блот-гибридизация, секвенирование, ДНК чипы», «Основы цитологии, ИГХ и клеточных технологий», «Цитогенетика», «Применение молекулярно-генетического анализа в филогенезе», «Прикладные компьютерные программы для молекулярной биологии – MEGA», «Прикладные компьютерные программы для молекулярной биологии – конструирование праймеров». <u>Практические занятия:</u> «Выделение ДНК из клеток бактерий», «Выделение ДНК из клеток эукариот», «ПЦР», «Гель-электрофорез», «Выделение РНК», «ОТ-ПЦР»,

			«Цитогенетический анализ», «Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1»», «Построение филогенетических деревьев», «Элементы генетической инженерии (постановка реакций рестрикции и лигирования)», «Построение и анализ рестрикционных карт», «Дизайн праймеров», «Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2»
--	--	--	--

3.2. Разделы дисциплины (модуля) и междисциплинарные связи с обеспечиваемыми (последующими) дисциплинами

№ п/п	Наименование обеспечиваемых (последующих) дисциплин	№ разделов данной дисциплины, необходимых для изучения обеспечиваемых (последующих) дисциплин	
		1	2
1	Клиническая лабораторная диагностика. Лабораторная аналитика. Клиническая диагностика (модуль)	+	+
2	Иммунологическая и молекулярно-генетическая диагностика	+	+
3	Медицинские биотехнологии	+	+

3.3. Разделы дисциплины (модуля) и виды занятий

№ п/п	Наименование раздела дисциплины (модуля)			Л	ПЗ	ЛЗ	Сем	СРС	Всего часов
1	2			3	4	5	6	7	8
1	Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов.			20	15			20	55
2	Методы молекулярной биологии			20	65			40	125
	Вид промежуточной аттестации:	Экзамен	контактная работа						3
			самостоятельная работа						33
	Итого:			40	80			60	216

3.4. Тематический план лекций

№ п/п	№ раздела дисциплины	Тематика лекций	Содержание лекций	Трудовоемкость (час)
				№ А
1	2	3	4	5
1	1	Молекулярная биология как интегративная дисциплина	Центральная догма молекулярной биологии. Уровни организации биообъектов. Положение молекулярной биологии в системе биологических дисциплин. Объекты молекулярной биологии. Организация эукариотической клетки.	2
2	1	Организация молекулярно-генетической лаборатории	Перечень проводимых исследований. Приборы, используемые в молекулярной биологии. Правила техники безопасности при работе в молекулярно-биологической лаборатории. Организация рабочего места. Документы, регламентирующие работу молекулярно-генетической лаборатории.	2

3	1	Основы молекулярного строения клеточных компонентов - ДНК и РНК	Структура первичной структуры нуклеиновой кислоты. Структурно-функциональные различия структуры РНК и ДНК. Структура и типы вторичной структуры ДНК. Особенности вторичной структуры РНК. Особенности третичной структуры РНК. Типы процессинга РНК. Сравнительная характеристика сплайсинга мРНК в различных живых системах (у разных видов в разных органеллах). Особенности механизмов редактирования РНК. Структура и функции разных видов мРНК. Свойства генетического кода. Структура и функции тРНК.	2
4	1	Организация генома и механизмы регуляции экспрессии генов	Структурная организация генома. Молекулярная организация генома. Представление о многоуровневой регуляции экспрессии генов эукариот. Структурная организация геномов прокариот. Строение открытых рамок считывания и транскриптонов прокариот. Определение понятия — оперон. Особенности распределения транскриптонов в хромосоме прокариот. Особенности строения функциональной, но некодирующей части генома прокариот (промоторы, ориджины-репликации, терминаторы и регуляторные элементы). Структура некодирующей и не несущей явных функций молекул ДНК прокариот. Типы и механизмы рекомбинации. Механизмы и ферменты гомологичной рекомбинации. Структура и функции процесса генной конверсии. Механизмы и ферменты сайт-специфической рекомбинации. Структура и механизмы перемещения мобильных генетических элементов. Описание функционирования мобильных генетических элементов у генома различных групп организмов.	2
5	1	Репликация как механизм передачи наследственной информации. Процессы репарации ДНК	Определение репликации. Экспериментальные доказательства механизма репликации. Правила и механизмы репликации. Структура и функции ферментов репликации, сравнительная характеристика ферментов репликации у разных групп организмов. Этапы репликации, структура ориджина репликации, структура и сборка репликативного комплекса. Механизмы инициации репликации. Механизмы и особенности элонгации репликации. Особенности терминации репликации у разных групп организмов. Определение репарации. Типы и функции репарации. Механизмы точечной репарации. Механизмы репарации ДНК с участием гомологичной рекомбинации. SOS-	2

			репарация, особенности механизма. Связь нарушений репарации с заболеваниями.	
6	1	Транскрипция. Механизмы. Особенности у про- и эукариот	Этапы реализации генома. Этапы и механизмы транскрипции. Структура и функции ферментов транскрипции у различных групп организмов. Структура и функции промоторов и промоторных областей. Определение силы промотора. Особенности инициации транскрипции у разных групп организмов. Механизмы терминации транскрипции. Механизмы регуляции транскрипции у разных групп организмов. Особенности строения открытых рамок считывания и транскриптов в ядерном геноме эукариот. Особенности распределения кодирующей ДНК в эукариотическом геноме. Особенности строения функциональной, но не кодирующей части генома прокариот (промоторные области, ориджины-репликации, терминаторы и регуляторные элементы) эукариотического генома. Особенности строения сателлитной ДНК. Функции сателлитной ДНК. Типы и классификация повторов в ядерном геноме. Структура и функции центромеров. Структура и функции теломеров. Понятие о барьере Хейфлика и его влиянии на жизненный цикл клетки.	2
7	1	Трансляция. Механизмы. Особенности у про- и эукариот	Определение и этапы трансляции. Структура и функции рибосомы. Структура структуры и функции рРНК и рибосомных белков. Механизмы инициации трансляции. Механизмы элонгации трансляции. Механизмы терминации трансляции.	2
8	1	Основы молекулярного строения клеточных компонентов - белки	Структура и уровни организации молекулы белка. Типы вторичной структуры белка. Общие принципы организации третичной и четвертичной структуры белка. Этапы топогенеза белков. Типы механизмы модификации аминокислот белков. Особенности гликозилирования, фосфорилирования белков. Функции и примеры ограниченного протеолиза. Механизмы транспорта белков в органеллы. Механизмы сворачивания белков и действия шаперонов. Структура и функции протеосомы.	2
9	1	Основы молекулярного строения клеточных компонентов – липиды и углеводы, внеклеточный матрикс	Основные компоненты цитоскелета: микротрубочки, микрофиламенты, промежуточные филаменты. Межклеточное узнавание и адгезия клеток. Клеточные соединения. Внеклеточный матрикс: структурные белки, адгезивные белки, протеогликаны, гиалуроновая кислота.	2

10	1	Основы генетической инженерии.	Генная терапия. Классификация методов. Перспективы использования. Векторы для доставки ДНК.	2
11	2	Методы молекулярной биологии – выделение ДНК и РНК	Методы выделения и очистки нуклеиновых кислот. Экстракция НК с помощью органических растворителей. Твердофазные методы выделения НК. Выделение ДНК из парафиновых блоков. Определение количественных и качественных характеристик нуклеиновых кислот. Измерение концентрации ДНК и РНК. Оценка чистоты препарата НК. Электрофорез НК.	2
12	2	Методы молекулярной биологии – полимеразная цепная реакция	Метод ПЦР, суть условия. Особенности постановки реакции ПЦР. Классификация и определение методов, базирующихся на реакции ПЦР (ОТ-ПЦР, VNTR, ПЦР-ПДРФ и др.) Особенности применения.	2
13	2	Методы молекулярной биологии – гель-электрофорез	Общая характеристика и классификация метода гель-электрофореза. Основные принципы электрофоретического разделения.	2
14	2	Методы молекулярной биологии - аллель-специфичная ПЦР, гетеродуплексный анализ, SSCP	Метод ПЦР для детекции точечных мутаций. Метод выявления мутаций, основанный на образовании гетеродуплексов в процессе амплификации Метод анализа конформационного полиморфизма однонитевой ДНК.	2
15	2	Методы молекулярной биологии - блот-гибридизация, секвенирование, ДНК чипы	Методы определения нуклеотидной последовательности нуклеиновых кислот. Особенности метода Сенгера, автоматическое определение нуклеотидной последовательности ДНК и его применение. Возможности применения нанотехнологий в молекулярной биологии. Определение и суть метода чипов и области их применения в молекулярной биологии	2
16	2	Основы цитологии, ИГХ и клеточных технологий	Задачи цитологической диагностики. Методы современной цитологии. Области применения цитологии. История появления и развития клеточных технологий. Методы иммуногистохимии (ИГХ). Распространение культивирования клеток и тканей. Основные задачи клеточных технологий.	2
17	2	Цитогенетика	Особенности физического картирования эукариот: метод FISH и его применение, методы трансформации, геномные библиотеки. Методы прогулки по хромосоме и вычитающей гибридизации.	2
18	2	Применение молекулярно-генетического анализа в филогенезе.	Принципы определения филогенетического родства и эволюционных взаимоотношений. Филогенетические деревья. Элементы филогенетического дерева. Алгоритмы построения филогенетических деревьев. Топология деревьев.	2

19	2	Прикладные компьютерные программы для молекулярной биологии – MEGA	MEGA – программа для филогенетического анализа последовательностей.	2
20	2	Прикладные компьютерные программы для молекулярной биологии – конструирование праймеров.	Программа по поиску гомологичных последовательностей ДНК – BLAST. Банк праймерных последовательностей PrimerBank. Разработка и анализ праймеров - PrimerBlast от NCBI.	2
Итого:				40

3.5. Тематический план практических занятий (семинаров)

№ п/п	№ раздела дисциплины	Тематика практических занятий (семинаров)	Содержание практических (семинарских) занятий	Трудоемкость (час)
				Семестр № А
1	2	3	4	5
1	1	Особенности организации лаборатории молекулярной биологии	Обсуждение особенностей организации лаборатории молекулярной биологии. Приборы, используемые в молекулярной биологии. Правила техники безопасности при работе в молекулярно-биологической лаборатории. <u>Практическая подготовка:</u> Приготовление растворов. Расчет количества веществ при приготовлении растворов	2 3
2	2	Выделение ДНК из клеток бактерий	Особенности ДНК микроорганизмов. Изучение особенностей выделения ДНК из клеток прокариот. <u>Практическая подготовка:</u> Отработка метода выделения плазмидной ДНК из клеток бактерий.	1 4
3	2	Выделение ДНК из клеток эукариот	Особенности ДНК эукариот. Определение различий методов выделения ДНК из разных объектов. <u>Практическая подготовка:</u> Выделение ДНК из клеток грибов и животных. Отработка метода выделения ДНК из клеток эукариот.	1 4
4	2	ПЦР	Практическое применения метода ПЦР. Изучение различий постановки реакции ПЦР с применением готовых наборов и отдельных реагентов. <u>Практическая подготовка:</u> Постановка реакции ПЦР различными методами (с использованием готовых наборов и из отдельных компонентов).	1 4
5	2	Гель-электрофорез	Виды гель электрофореза. Сравнительная характеристика гель-электрофореза в разных типах гелей.	1

			<u>Практическая подготовка:</u> Постановка агарозного гель-электрофореза образцов ДНК, выделенных из разных объектов. Анализ полученных результатов. Выявление разных форм плазмидной ДНК с помощью электрофореза. Визуализация продуктов амплификации с помощью гель-электрофореза в полиакриламидном геле.	4
6	1	Теоретический и прикладной анализ генома	<u>Практическая подготовка:</u> Подготовка и выступление с докладами/рефератами по темам: генная терапия, особенности митохондриального генома, методы генетического и физического картирования, повторяющиеся элементы генома.	5
7	1	Итоговое занятие по разделу «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов»	Собеседование по теоретическим и практическим вопросам раздела «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов». Тестирование по разделу. <u>Практическая подготовка.</u> Решение ситуационных задач.	3 2
8	2	Выделение РНК	Особенности работы с РНК. Сравнительная характеристика методов выделения РНК и ДНК. <u>Практическая подготовка:</u> Отработка метода выделения РНК.	1 4
9	2	ОТ-ПЦР	Отличия ОТ-ПЦР от классической. Сравнительная характеристика методов ПЦР и ОТ-ПЦР. Рассмотрение практического применения метода ОТ-ПЦР <u>Практическая подготовка:</u> Постановка реакции ОТ-ПЦР и визуализация результатов.	1 4
10	2	Цитогенетический анализ	Варианты применения цитогенетического метода в клинике. <u>Практическая подготовка:</u> Выполнение практической работы с набором. Лимфокар. Культивация клеток крови на среде с ФГА. Остановка деления клеток в митозе колхицином. Проведение гипотонизации, фиксации, окраска препарата. Микроскопирование.	1 4
11	2	Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1»	Собеседование по теоретическим и практическим вопросам по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1» Тестирование по разделу. <u>Практическая подготовка:</u> Решение ситуационных задач.	2 3

12	2	Построение филогенетических деревьев	Виды программ выравнивания последовательностей и построения древ <u>Практическая подготовка:</u> Поиск нуклеотидных последовательностей для анализа с использованием база данных нуклеотидных последовательностей (www.ncbi.nlm.nih.gov). Построение филогенетических деревьев с помощью разных алгоритмов. Анализ полученных деревьев, определение генетической дистанции. Анализ маркеров и алгоритмов, использованных при построении филогенетического дерева.	1 4
13	2	Элементы генетической инженерии (постановка реакций рестрикции и лигирования)	Возможности применения методов генетической инженерии. <u>Практическая подготовка:</u> Постановка реакции рестрикции с эндонуклеазой EcoRI, получение рекомбинантной ДНК при помощи лигирования. Оценка полученных результатов на гель-электрофореze.	1 4
14	2	Построение и анализ рестрикционных карт	Возможности применения метода построения рестрикционных карт. <u>Практическая подготовка:</u> Построение рестрикционных карт известной последовательности с использованием программы Webcutter2 и прогнозирование гель-электрофореграммы продуктов рестрикции исследуемой последовательности. Построение рестрикционной карты по готовой гель-электрофореграмме.	1 4
15	2	Дизайн праймеров	Виды программ для дизайна праймеров. <u>Практическая подготовка:</u> Подбор праймеров к определенной последовательности ДНК. Предсказание условий реакции ПЦР. Предсказание результатов реакции ПЦР.	1 4
16	2	Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2»	Собеседование по теоретическим и практическим вопросам по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2» Тестирование по разделу. <u>Практическая подготовка:</u> Решение ситуационных задач.	2 3
Итого:				80

3.6. Самостоятельная работа обучающегося

№ п/п	№ семестра	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Виды СРС	Всего часов
1	2	3	4	5

1	№ А	Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов.	Подготовка к занятиям, подготовка к текущему и промежуточному контролю, подготовка доклада/реферата.	20
2		Методы молекулярной биологии	Подготовка к занятиям, подготовка к текущему и промежуточному контролю, решение ситуационных задач, подготовка доклада/реферата.	40
Итого часов в семестре:				60
Всего часов на самостоятельную работу:				60

3.7. Лабораторный практикум

Не предусмотрен учебным планом

3.8. Примерная тематика курсовых проектов (работ), контрольных работ

Не предусмотрены учебным планом

Раздел 4. Перечень учебно-методического и материально-технического обеспечения дисциплины (модуля)

4.1. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля)

4.1.1. Основная литература

№ п/п	Наименование	Автор (ы)	Год, место издания	Кол-во экземпляров в библиотеке	Наличие в ЭБС
1	2	3	4	5	6
1	Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие	Н. Н. Мушкамбаров С. Л. Кузнецов	М.: МИА, 2016	23	-
2	Генетика с основами селекции: учеб. Для студентов вузов	С. Г. Инге-Вечтомов	СПб.: Изд-во Н - Л, 2015	15	-

4.1.2. Дополнительная литература

№ п/п	Наименование	Автор (ы)	Год, место издания	Кол-во экземпляров в библиотеке	Наличие в ЭБС
1	2	3	4	5	6
1	Биохимия: учебник для медицинских вузов	Е.С. Северина	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, 2007.	5	ЭБС «Консультант студента»
2	Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник	Ершов Ю. А.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016	1	ЭБС Консультант студента
3	Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие	Курчанов Н.А.	СПб.: СпецЛит, 2009.	15	ЭБС «Университетская библиотека онлайн»

4.2. Нормативная база – не имеется

4.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины (модуля)

www.molbiol.kirov.ru

www.ncbi.nlm.nih.gov

www.genebee.msu.ru

База знаний по биологии человека - <http://humbio.ru> Биохимия для обучающихся медицинских специальностей - <http://tulpar.kpfu.ru/enrol/index.php?id=948> Википедия - свободная энциклопедия - <http://ru.wikipedia.org/> Издательство BioMedCentral - <http://www.biomedcentral.com> Сайт о химии - <http://www.xumuk.ru/encyklopedia/>

4.4. Перечень информационных технологий, используемых для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю), программного обеспечения и информационно-справочных систем

В учебном процессе используется лицензионное программное обеспечение:

1. Договор Microsoft Office (версия 2003) №0340100010912000035_45106 от 12.09.2012г. (срок действия договора - бессрочный),
2. Договор Microsoft Office (версия 2007) №0340100010913000043_45106 от 02.09.2013г. (срок действия договора - бессрочный),
3. Договор Microsoft Office (версия 2010) № 340100010914000246_45106 от 23.12.2014г. (срок действия договора - бессрочный).
4. Договор Windows (версия 2003) №0340100010912000035_45106 от 12.09.2012г. (срок действия договора - бессрочный)
5. Договор Windows (версия 2007) №0340100010913000043_45106 от 02.09.2013г. (срок действия договора - бессрочный),
6. Договор Windows (версия 2010) № 340100010914000246_45106 от 23.12.2014г. (срок действия договора - бессрочный),
7. Договор Антивирус Kaspersky Endpoint Security для бизнеса – Стандартный Russian Edition. 150-249 Node 1 year Educational Renewal License, срок использования с 29.04.2021 до 24.08.2022 г., номер лицензии 280E-210429-102703-540-3202,
8. Медицинская информационная система (КМИС) (срок действия договора - бессрочный),
9. Автоматизированная система тестирования Indigo Договор № Д53783/2 от 02.11.2015 (срок действия бессрочный, 1 год технической поддержки),
10. ПО FoxitPhantomPDF Стандарт, 1 лицензия, бессрочная, дата приобретения 05.05.2016 г.

Обучающиеся обеспечены доступом (удаленным доступом) к современным профессиональным базам данных и информационно-справочным системам:

- 1) Научная электронная библиотека e-LIBRARY. Режим доступа: <http://www.e-library.ru/>.
- 2) Справочно-поисковая система Консультант Плюс – ООО «КонсультантКиров».
- 3) «Электронно-библиотечная система Кировского ГМУ». Режим доступа: <http://elib.kirovgma.ru/>.
- 4) ЭБС «Консультант студента» - ООО «ИПУЗ». Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru>.
- 5) ЭБС «Университетская библиотека онлайн» - ООО «НексМедиа». Режим доступа: <http://www.biblioclub.ru>.
- 6) ЭБС «Консультант врача» - ООО ГК «ГЭОТАР». Режим доступа: <http://www.rosmedlib.ru/>
- 7) ЭБС «Айбукс» - ООО «Айбукс». Режим доступа: <http://ibooks.ru>.

4.5. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

В процессе преподавания дисциплины (модуля) используются следующие специальные помещения:

Наименование специализированных помещений	Номер кабинета, адрес	Оборудование, технические средства обучения, размещенные в специализированных помещениях
учебные аудитории для	№ 114,702 г. Киров, ул.	Специальные помещения укомплектованы специализированной мебелью и техническими

проведения занятий лекционного типа	К.Маркса, 112 (3 корпус)	средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории.
учебные аудитории для проведения занятий семинарского типа	№ 602,604,608 г. Киров, ул. К.Маркса, 112 (3 корпус)	Специализированная учебная мебель в учебных аудиториях: 602, 604, 608 (стол и стул преподавателя, столы со скамейками (20шт.) в каждой аудитории), информационно-меловая доска, шкаф для хранения микроскопов, микроскопы МБР-1 (15 шт.)
	№626 г. Киров, ул. К.Маркса, 112 (3 корпус)	Лаборатория для проведения практических занятий, оборудованная лабораторной мебелью, вытяжным шкафом, центрифугами, магнитными мешалками, сухожаровым шкафом, дистиллятором, амплификатором, вортексами, ПЦР-блоками, ламинарными шкафами, автоклавом, холодильниками с морозильной камерой, спектрофотометром, рН-метром, и другими лабораторными приборами (дозаторы переменного объема, вортексы, шейкеры, термостат с функциями охлаждения и нагрева, весы, камеры для электрофореза, расходные материалы и др.)
учебные аудитории для проведения групповых и индивидуальных консультаций	№ 602,604,608 г. Киров, ул. К.Маркса, 112 (3 корпус)	Специализированная учебная мебель в учебных аудиториях: 602, 604, 608 (стол и стул преподавателя, столы со скамейками (20шт.) в каждой аудитории)), информационно-меловая доска, шкаф для хранения микроскопов, микроскопы МБР-1 (15 шт.)
учебные аудитории для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации	№ 604 г. Киров, ул. К.Маркса, 112 (3 корпус)	Специализированная учебная мебель в учебных аудиториях: 604 (стол и стул преподавателя, столы со скамейками (20шт.) в каждой аудитории)), информационно-меловая доска, шкаф для хранения микроскопов, микроскопы МБР-1 (15 шт.)
помещения для самостоятельной работы	№ 601 г. Киров, ул. К.Маркса, 112 (3 корпус) Читальный зал библиотеки г. Киров, ул. К.Маркса 137 (1 корпус)	Микроскопы: «Микмед-1» с подсветкой 20 шт., 1 доска, 8 столов, 12 стульев Компьютер с выходом в Интернет

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети "Интернет" и обеспечены доступом в электронную информационно-образовательную среду университета.

Раздел 5. Методические рекомендации по организации изучения дисциплины (модуля)

Процесс изучения дисциплины предусматривает: контактную (работа на лекциях и практических занятиях) и самостоятельную работу.

Основное учебное время выделяется на самостоятельную работу.

В качестве основных форм организации учебного процесса по дисциплине выступают классические лекционные и практические занятия (с использованием интерактивных технологий обучения), а также самостоятельная работа обучающихся.

При изучении учебной дисциплины (модуля) обучающимся необходимо освоить практические умения по работе с учебно-методическими материалами, научной литературой, Интернет-ресурсами, решению ситуационных задач.

При проведении учебных занятий кафедра обеспечивает развитие у обучающихся навыков командной работы, межличностной коммуникации, принятия решений, лидерских качеств (путем проведения интерактивных лекций, групповых дискуссий, ролевых игр, тренингов, анализа ситуаций и имитационных моделей, преподавания дисциплины (модуля) в форме курса,

составленного на основе результатов научных исследований, проводимых Университетом, в том числе с учетом региональных особенностей профессиональной деятельности выпускников и потребностей работодателей).

Лекции:

Классическая лекция. Рекомендуются при изучении тем: «Молекулярная биология как интегративная дисциплина», «Организация молекулярно-генетической лаборатории», «Основы молекулярного строения клеточных компонентов - ДНК и РНК», «Организация генома и механизмы регуляции экспрессии генов», «Репликация как механизм передачи наследственной информации. Процессы репарации ДНК», «Транскрипция. Механизмы. Особенности у про- и эукариот», «Трансляция. Механизмы. Особенности у про- и эукариот», «Основы молекулярного строения клеточных компонентов – белки», «Основы молекулярного строения клеточных компонентов – липиды и углеводы, внеклеточный матрикс», «Основы генетической инженерии», «Методы молекулярной биологии – выделение ДНК и РНК», «Методы молекулярной биологии – полимеразная цепная реакция», «Методы молекулярной биологии – гель-электрофорез», «Методы молекулярной биологии - аллель-специфичная ПЦР, гетеродуплексный анализ, SSCP», «Методы молекулярной биологии - блот-гибридизация, секвенирование, ДНК чипы», «Основы цитологии, ИГХ и клеточных технологий», «Цитогенетика», «Применение молекулярно-генетического анализа в филогенезе», «Прикладные компьютерные программы для молекулярной биологии – MEGA», «Прикладные компьютерные программы для молекулярной биологии – конструирование праймеров».

На лекциях излагаются темы дисциплины, предусмотренные рабочей программой, акцентируется внимание на наиболее принципиальных и сложных вопросах дисциплины, устанавливаются вопросы для самостоятельной проработки. Конспект лекций является базой при подготовке к практическим занятиям, к экзамену, а также для самостоятельной работы.

Изложение лекционного материала рекомендуется проводить в мультимедийной форме. Смысловая нагрузка лекции смещается в сторону от изложения теоретического материала к формированию мотивации самостоятельного обучения через постановку проблем обучения и показ путей решения профессиональных проблем в рамках той или иной темы. При этом основным методом ведения лекции является метод проблемного изложения материала.

Практические занятия:

Практические занятия по дисциплине проводятся с целью приобретения практических навыков в области анализа нуклеиновых кислот и геномов.

Практические занятия проводятся в виде собеседований, обсуждений, дискуссий в микрогруппах, отработки практических навыков исследований ДНК и РНК, решения ситуационных задач, тестовых заданий.

Выполнение практической работы обучающиеся производят как в устном, так и в письменном виде, в виде презентаций и докладов.

Практическое занятие способствует более глубокому пониманию теоретического материала учебной дисциплины, а также развитию, формированию и становлению различных уровней составляющих профессиональной компетентности обучающихся.

При изучении дисциплины используются следующие формы практических занятий:

- семинар традиционный по темам: «Особенности организации лаборатории молекулярной биологии», «Теоретический и прикладной анализ генома»
- семинар-дискуссия по теме «Построение филогенетических деревьев».
- практические занятия по темам: «Выделение ДНК из клеток бактерий», «Выделение ДНК из клеток эукариот», «ПЦР», «Гель-электрофорез», «Выделение РНК», «ОТ-ПЦР», «Цитогенетический анализ», «Элементы генетической инженерии (постановка реакций рестрикции и лигирования)», «Построение и анализ рестрикционных карт», «Дизайн праймеров».
- контрольные занятия по темам: Итоговое занятие по разделу «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов», Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1», «Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2».

Самостоятельная работа:

Самостоятельная работа студентов подразумевает подготовку по всем разделам дисциплины «Молекулярная биология» и включает подготовку к занятиям, подготовку к текущему контролю и промежуточному контролю, написание рефератов и защиту докладов-презентаций, решение ситуационных задач.

Работа с учебной литературой рассматривается как вид учебной работы по дисциплине «Молекулярная биология» и выполняется в пределах часов, отводимых на её изучение (в разделе СРС). Каждый обучающийся обеспечен доступом к библиотечным фондам университета и кафедры. Во время изучения дисциплины обучающиеся (под контролем преподавателя) самостоятельно готовят рефераты и представляют их на занятиях. Написание реферата способствуют формированию навыков использования учебной и научной литературы, глобальных информационных ресурсов, способствует формированию клинического мышления. Работа обучающегося в группе формирует чувство коллективизма и коммуникабельность. Обучение способствует воспитанию у обучающихся навыков лабораторного анализа нуклеиновых кислот, обобщения полученных результатов, анализа их достоверности. Самостоятельная работа с лабораторным материалом и новыми экспериментальными результатами способствует аккуратности, дисциплинированности и развитию критического анализа результатов лабораторной диагностики.

Исходный уровень знаний обучающихся определяется тестированием, собеседованием.

Текущий контроль освоения дисциплины проводится в форме устного опроса в ходе занятий, решения типовых ситуационных задач, тестового контроля, написания и защиты докладов/рефератов, оценки практических навыков.

В конце изучения дисциплины (модуля) проводится промежуточная аттестация с использованием собеседования, тестового контроля, проверки практических умений, решения ситуационных задач. Для текущего контроля освоения дисциплины используется тестовый контроль.

Вопросы по дисциплине включены в государственную итоговую аттестацию выпускников.

5.1. Методика применения электронного обучения и дистанционных образовательных технологий при проведении занятий и на этапах текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине

Применение электронного обучения и дистанционных образовательных технологий по дисциплине осуществляется в соответствии с «Порядком реализации электронного обучения и дистанционных образовательных технологий в ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России», введенным в действие 01.11.2017, приказ № 476-ОД.

Дистанционное обучение реализуется в электронно-информационной образовательной среде Университета, включающей электронные информационные и образовательные ресурсы, информационные и телекоммуникационные технологии, технологические средства, и обеспечивающей освоение обучающимися программы в полном объеме независимо от места нахождения.

Электронное обучение (ЭО) – организация образовательной деятельности с применением содержащейся в базах данных и используемой при реализации образовательных программ информации и обеспечивающих ее обработку информационных технологий, технических средств, а также информационно-телекоммуникационных сетей, обеспечивающих передачу по линиям связи указанной информации, взаимодействие обучающихся и преподавателя.

Дистанционные образовательные технологии (ДОТ) – образовательные технологии, реализуемые в основном с применением информационно-телекоммуникационных сетей при опосредованном (на расстоянии) взаимодействии обучающихся и преподавателя. Дистанционное обучение – это одна из форм обучения.

При использовании ЭО и ДОТ каждый обучающийся обеспечивается доступом к средствам электронного обучения и основному информационному ресурсу в объеме часов учебного плана, необходимых для освоения программы.

В практике применения дистанционного обучения по дисциплине используются методики синхронного и асинхронного обучения.

Методика синхронного дистанционного обучения предусматривает общение обучающегося и преподавателя в режиме реального времени – on-line общение. Используются следующие технологии on-line: вебинары (или видеоконференции), аудиоконференции, чаты.

Методика асинхронного дистанционного обучения применяется, когда невозможно общение между преподавателем и обучающимся в реальном времени – так называемое off-line общение, общение в режиме с отложенным ответом. Используются следующие технологии off-line: электронная почта, рассылки, форумы.

Наибольшая эффективность при дистанционном обучении достигается при использовании смешанных методик дистанционного обучения, при этом подразумевается, что программа обучения строится как из элементов синхронной, так и из элементов асинхронной методики обучения.

Учебный процесс с использованием дистанционных образовательных технологий осуществляется посредством:

- размещения учебного материала на образовательном сайте Университета;
- сопровождения электронного обучения;
- организации и проведения консультаций в режиме «on-line» и «off-line»;
- организации обратной связи с обучающимися в режиме «on-line» и «off-line»;
- обеспечения методической помощи обучающимся через взаимодействие участников учебного процесса с использованием всех доступных современных телекоммуникационных средств, одобренных локальными нормативными актами;
- организации самостоятельной работы обучающихся путем обеспечения удаленного доступа к образовательным ресурсам (ЭБС, материалам, размещенным на образовательном сайте);
- контроля достижения запланированных результатов обучения по дисциплине обучающимися в режиме «on-line» и «off-line»;
- идентификации личности обучающегося.

Реализация программы в электронной форме начинается с проведения организационной встречи с обучающимися посредством видеоконференции (вебинара).

При этом преподаватель информирует обучающихся о технических требованиях к оборудованию и каналам связи, осуществляет предварительную проверку связи с обучающимися, создание и настройку вебинара. Преподаватель также сверяет предварительный список обучающихся с фактически присутствующими, информирует их о режиме занятий, особенностях образовательного процесса, правилах внутреннего распорядка, графике учебного процесса.

После проведения установочного вебинара учебный процесс может быть реализован асинхронно (обучающийся осваивает учебный материал в любое удобное для него время и общается с преподавателем с использованием средств телекоммуникаций в режиме отложенного времени) или синхронно (проведение учебных мероприятий и общение обучающегося с преподавателем в режиме реального времени).

Преподаватель самостоятельно определяет порядок оказания учебно-методической помощи обучающимся, в том числе в форме индивидуальных консультаций, оказываемых дистанционно с использованием информационных и телекоммуникационных технологий.

При дистанционном обучении важным аспектом является общение между участниками учебного процесса, обязательные консультации преподавателя. При этом общение между обучающимися и преподавателем происходит удаленно, посредством средств телекоммуникаций.

В содержание консультаций входят:

- разъяснение обучающимся общей технологии применения элементов ЭО и ДОТ, приемов и способов работы с предоставленными им учебно-методическими материалами, принципов самоорганизации учебного процесса;
- советы и рекомендации по изучению программы дисциплины и подготовке к промежуточной аттестации;

- анализ поступивших вопросов, ответы на вопросы обучающихся;
- разработка отдельных рекомендаций по изучению частей (разделов, тем) дисциплины, по подготовке к текущей и промежуточной аттестации.

Также осуществляются индивидуальные консультации обучающихся в ходе выполнения ими письменных работ.

Обязательным компонентом системы дистанционного обучения по дисциплине является электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК), который включает электронные аналоги печатных учебных изданий (учебников), самостоятельные электронные учебные издания (учебники), дидактические материалы для подготовки к занятиям, текущему контролю и промежуточной аттестации, аудио- и видеоматериалы, другие специализированные компоненты (текстовые, звуковые, мультимедийные). ЭУМК обеспечивает в соответствии с программой организацию обучения, самостоятельной работы обучающихся, тренинги путем предоставления обучающимся необходимых учебных материалов, специально разработанных для реализации электронного обучения, контроль знаний. ЭУМК размещается в электронно-библиотечных системах и на образовательном сайте Университета.

Используемые виды учебной работы по дисциплине при применении ЭО и ДОТ:

№ п/п	Виды занятий/работ	Виды учебной работы обучающихся	
		Контактная работа (on-line и off-line)	Самостоятельная работа
1	Лекции	- веб-лекции (вебинары) - видеолекции - лекции-презентации	- работа с архивами проведенных занятий - работа с опорными конспектами лекций - выполнение контрольных заданий
2	Практические, семинарские занятия	- видеоконференции - вебинары - семинары в чате - видеодоклады - семинары-форумы - веб-тренинги - видеозащита работ	- работа с архивами проведенных занятий - самостоятельное изучение учебных и методических материалов - решение тестовых заданий и ситуационных задач - работа по планам занятий - самостоятельное выполнение заданий и отправка их на проверку преподавателю - выполнение тематических рефератов
3	Консультации (групповые и индивидуальные)	- видеоконсультации - веб-консультации - консультации в чате	- консультации-форумы (или консультации в чате) - консультации посредством образовательного сайта
4	Контрольные, проверочные, самостоятельные работы.	- видеозащиты выполненных работ (групповые и индивидуальные) - тестирование	- работа с архивами проведенных занятий - самостоятельное изучение учебных и методических материалов - решение тестовых заданий и ситуационных задач - выполнение контрольных / проверочных / самостоятельных работ

При реализации программы или ее частей с применением электронного обучения и дистанционных технологий кафедра ведет учет и хранение результатов освоения обучающимися дисциплины на бумажном носителе и (или) в электронно-цифровой форме (на образовательном сайте, в системе INDIGO).

Текущий контроль успеваемости и промежуточная аттестация обучающихся по учебной дисциплине с применением ЭО и ДОТ осуществляется посредством собеседования (on-line), компьютерного тестирования или выполнения письменных работ (on-line или off-line).

Раздел 6. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины (модуля) (приложение А)

Изучение дисциплины следует начинать с проработки данной рабочей программы, методических указаний, прописанных в программе, особое внимание уделяется целям, задачам, структуре и содержанию дисциплины.

Успешное изучение дисциплины требует от обучающихся посещения лекций, активной работы на практических занятиях, выполнения всех учебных заданий преподавателя, ознакомления с базовыми учебниками, основной и дополнительной литературой. Лекции имеют в основном обзорный характер и нацелены на освещение наиболее трудных вопросов, а также призваны способствовать формированию навыков работы с научной литературой. Предполагается, что обучающиеся приходят на лекции, предварительно проработав соответствующий учебный материал по источникам, рекомендуемым программой.

Основным методом обучения является самостоятельная работа студентов с учебно-методическими материалами, научной литературой, Интернет-ресурсами.

Правильная организация самостоятельных учебных занятий, их систематичность, целесообразное планирование рабочего времени позволяют обучающимся развивать умения и навыки в усвоении и систематизации приобретаемых знаний, обеспечивать высокий уровень успеваемости в период обучения, получить навыки повышения профессионального уровня.

Основной формой промежуточного контроля и оценки результатов обучения по дисциплине является экзамен. На экзамене обучающиеся должны продемонстрировать не только теоретические знания, но и практические навыки, полученные на практических занятиях.

Постоянная активность на занятиях, готовность ставить и обсуждать актуальные проблемы дисциплины - залог успешной работы и положительной оценки.

Подробные методические указания к практическим занятиям и внеаудиторной самостоятельной работе по каждой теме дисциплины представлены в приложении А.

Раздел 7. Оценочные средства для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине (модулю) (приложение Б)

Оценочные средства – комплект методических материалов, нормирующих процедуры оценивания результатов обучения, т.е. установления соответствия учебных достижений запланированным результатам обучения и требованиям образовательной программы, рабочей программы дисциплины.

ОС как система оценивания состоит из следующих частей:

1. Перечня компетенций с указанием этапов их формирования в процессе освоения образовательной программы.
2. Показателей и критериев оценивания компетенций на различных этапах их формирования, описание шкал оценивания.
3. Типовых контрольных заданий и иных материалов.
4. Методических материалов, определяющих процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта профессиональной деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций.

Оценочные средства для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине представлены в приложении Б.

Раздел 8. Особенности учебно-методического обеспечения образовательного процесса по дисциплине для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья

8.1. Выбор методов обучения

Выбор методов обучения осуществляется, исходя из их доступности для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья.

Выбор методов обучения определяется содержанием обучения, уровнем профессиональной подготовки педагогов, методического и материально-технического обеспечения, особенностями восприятия учебной информации обучающимися-инвалидами и обучающимися с ограниченными возможностями здоровья. В образовательном процессе используются социально-активные и

рефлексивные методы обучения, технологии социокультурной реабилитации с целью оказания помощи в установлении полноценных межличностных отношений с другими обучающимися, создании комфортного психологического климата в группе.

В освоении дисциплины инвалидами и лицами с ограниченными возможностями здоровья большое значение имеет индивидуальная работа. Под индивидуальной работой подразумеваются две формы взаимодействия с преподавателем: индивидуальная учебная работа (консультации), т.е. дополнительное разъяснение учебного материала и углубленное изучение материала с теми обучающимися, которые в этом заинтересованы, и индивидуальная воспитательная работа. Индивидуальные консультации по предмету являются важным фактором, способствующим индивидуализации обучения и установлению воспитательного контакта между преподавателем и обучающимся инвалидом или обучающимся с ограниченными возможностями здоровья.

8.2. Обеспечение обучающихся инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья печатными и электронными образовательными ресурсами в формах, адаптированных к ограничениям их здоровья

Подбор и разработка учебных материалов производятся с учетом того, чтобы предоставлять этот материал в различных формах так, чтобы инвалиды с нарушениями слуха получали информацию визуально, с нарушениями зрения – аудиально (например, с использованием программ-синтезаторов речи) или с помощью тифлоинформационных устройств.

Учебно-методические материалы, в том числе для самостоятельной работы обучающихся из числа инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья, предоставляются в формах, адаптированных к ограничениям их здоровья и восприятия информации:

<i>Категории обучающихся</i>	<i>Формы</i>
С нарушением слуха	- в печатной форме - в форме электронного документа
С нарушением зрения	- в печатной форме увеличенным шрифтом - в форме электронного документа - в форме аудиофайла
С ограничением двигательных функций	- в печатной форме - в форме электронного документа - в форме аудиофайла

Данный перечень может быть конкретизирован в зависимости от контингента обучающихся.

8.3. Проведение текущего контроля и промежуточной аттестации с учетом особенностей нозологий инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья

Для осуществления процедур текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся созданы оценочные средства, адаптированные для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья и позволяющие оценить достижение ими запланированных результатов обучения и уровень сформированности компетенций, предусмотренных рабочей программой дисциплины.

Форма проведения текущего контроля и промежуточной аттестации для обучающихся - инвалидов устанавливается с учетом индивидуальных психофизических особенностей (устно, письменно на бумаге, письменно на компьютере, в форме тестирования и т.п.). При необходимости обучающемуся-инвалиду предоставляется дополнительное время для подготовки ответа на этапе промежуточной аттестации.

Для обучающихся с ограниченными возможностями здоровья предусмотрены следующие оценочные средства:

<i>Категории обучающихся</i>	<i>Виды оценочных средств</i>	<i>Формы контроля и оценки результатов обучения</i>
С нарушением слуха	Тест	преимущественно письменная проверка
С нарушением зрения	Собеседование	преимущественно устная проверка (индивидуально)

С ограничением двигательных функций	решение дистанционных тестов, контрольные вопросы	организация контроля с помощью электронной оболочки MOODLE, письменная проверка
-------------------------------------	---	---

8.4. Материально-техническое обеспечение образовательного процесса для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья

1) для инвалидов и лиц с ОВЗ по зрению:

- обеспечение доступа обучающегося, являющегося слепым и использующего собаку-поводыря, к зданию Университета;
- присутствие ассистента, оказывающего обучающемуся необходимую помощь;
- наличие альтернативной версии официального сайта Университета в сети «Интернет» для обучающихся, являющихся слепыми или слабовидящими;
- размещение аудиторных занятий преимущественно в аудиториях, расположенных на первых этажах корпусов Университета;
- размещение в доступных для обучающихся, являющихся слепыми или слабовидящими, местах и в адаптированной форме (с учетом их особых потребностей) справочной информации о расписании учебных занятий, которая выполняется крупным рельефно-контрастным шрифтом на белом или желтом фоне и дублируется шрифтом Брайля;
- предоставление доступа к учебно-методическим материалам, выполненным в альтернативных форматах печатных материалов или аудиофайлов;
- наличие электронных луп, видеоувеличителей, программ невидимого доступа к информации, программ-синтезаторов речи и других технических средств приема-передачи учебной информации в доступных для обучающихся с нарушениями зрения формах;
- предоставление возможности прохождения промежуточной аттестации с применением специальных средств.

2) для инвалидов и лиц с ОВЗ по слуху:

- присутствие сурдопереводчика (при необходимости), оказывающего обучающемуся необходимую помощь при проведении аудиторных занятий, прохождении промежуточной аттестации;
- дублирование звуковой справочной информации о расписании учебных занятий визуальной (установка мониторов с возможностью трансляции субтитров);
- наличие звукоусиливающей аппаратуры, мультимедийных средств, компьютерной техники, аудиотехники (акустические усилители и колонки), видеотехники (мультимедийный проектор, телевизор), электронная доска, документ-камера, мультимедийная система, видеоматериалы.

3) для инвалидов и лиц с ОВЗ, имеющих ограничения двигательных функций:

- обеспечение доступа обучающегося, имеющего нарушения опорно-двигательного аппарата, в здание Университета;
- организация проведения аудиторных занятий в аудиториях, расположенных только на первых этажах корпусов Университета;
- размещение в доступных для обучающихся, имеющих нарушения опорно-двигательного аппарата, местах и в адаптированной форме (с учетом их особых потребностей) справочной информации о расписании учебных занятий, которая располагается на уровне, удобном для восприятия такого обучающегося;
- присутствие ассистента, оказывающего обучающемуся необходимую помощь при проведении аудиторных занятий, прохождении промежуточной аттестации;
- наличие компьютерной техники, адаптированной для инвалидов со специальным программным обеспечением, альтернативных устройств ввода информации и других технических средств приема-передачи учебной информации в доступных для обучающихся с нарушениями опорно-двигательного аппарата формах;

4) для инвалидов и лиц с ОВЗ с другими нарушениями или со сложными дефектами - определяется индивидуально, с учетом медицинских показаний и ИПРА.

Дополнения и изменения в рабочей программе учебной дисциплины

«Молекулярная биология»

Специальность 30.05.01 Медицинская биохимия (ФГОС 3++)

Направленность (профиль) Медицинская биохимия

Форма обучения очная

Кафедра Биологии

Автор (ы) Коледаева Е.В.

На 2025 / 2026 учебный год в рабочую программу вносятся следующие дополнения и изменения:

1. Пункт 4.1 «Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля)» изменить и читать в следующей редакции:

4.1.1. Основная литература

№ п/п	Наименование	Автор (ы)	Год, место издания	Кол-во экземпляров в библиотеке	Наличие в ЭБС
1	2	3	4	5	6
1	Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие для студентов мед. вузов	Н. Н. Мушкетаров С. Л. Кузнецов	М.: МИА, 2016	25	-
2	Генетика с основами селекции: учеб. Для студентов вузов	С. Г. Инге-Вечтомов	СПб.: Изд-во Н - Л, 2015	15	-

4.1.2. Дополнительная литература

№ п/п	Наименование	Автор (ы)	Год, место издания	Кол-во экземпляров в библиотеке	Наличие в ЭБС
1	2	3	4	5	6
1	Биохимия [Электронный учебник] : учебник	ред. Е.С. Северин	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019	1	ЭБС «Консультант студента»
2	Основы молекулярной диагностики. [Электронный учебник] : учебник	Ершов Ю. А.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016	1	ЭБС Консультант студента
3	Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие	Курчанов Н.А.	СПб.: СпецЛит, 2009.	15	-

2. В пункте 4.4. «Перечень информационных технологий, используемых для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю), программного обеспечения и информационно-справочных систем»:

п. 7. изменить и читать в следующей редакции:

7. Договор Антивирус Kaspersky Endpoint Security для бизнеса – Стандартный Russian Edition. 150-249 Node 1 year Educational Renewal License, срок использования с 11.08.2025 до 09.09.2026 г., номер лицензии 2B1E-250808-154818-2-497-4841

3. Пункт 4.5. «Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)» изменить и читать в следующей редакции:

В процессе преподавания дисциплины (модуля) используются следующие специальные помещения:

Наименование специализированных помещений	Номер кабинета, адрес	Оборудование, технические средства обучения, размещенные в специализированных помещениях
---	-----------------------	--

учебные аудитории для проведения занятий лекционного типа	№ 803,819 г. Киров, ул. Владимирская, 112 (3 корпус)	Специальные помещения укомплектованы специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации большой аудитории.
учебные аудитории для проведения занятий семинарского типа	№ 602,604,608 г. Киров, ул. Владимирская, 112 (3 корпус)	Специализированная учебная мебель в учебной аудитории: 602, 604, 608 (стол и стул преподавателя, столы со скамейками (20шт.) в каждой аудитории), информационно-меловая доска, шкаф для хранения микроскопов, микроскопы МБР-1 (15 шт.) Компьютер с выходом в Интернет.
учебные аудитории для проведения групповых и индивидуальных консультаций	№ 602,604,608 г. Киров, ул. Владимирская, 112 (3 корпус)	Специализированная учебная мебель в учебных аудиториях: 602, 604, 608 (стол и стул преподавателя, столы со скамейками (20шт.) в каждой аудитории)), информационно-меловая доска, шкаф для хранения микроскопов, микроскопы МБР-1 (15 шт.) Компьютер с выходом в Интернет.
учебные аудитории для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации	№ 604 г. Киров, ул. Владимирская, 112 (3 корпус)	Специализированная учебная мебель в учебных аудиториях: 604 (стол и стул преподавателя, столы со скамейками (20шт.) в каждой аудитории)), информационно-меловая доска, шкаф для хранения микроскопов, микроскопы МБР-1 (15 шт.) Компьютер с выходом в Интернет.
помещения для самостоятельной работы	№ 601 г. Киров, ул. Владимирская, 112 (3 корпус) Читальный зал библиотеки г. Киров, ул. Владимирская, 137 (1 корпус)	Микроскопы: «Микмед-1» с подсветкой 20 шт., 1 доска, 8 столов, 12 стульев Компьютер с выходом в Интернет.

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети "Интернет" и обеспечены доступом в электронную информационно-образовательную среду университета.

Дополнения и изменения в рабочей программе рассмотрены на заседании кафедры

“ 8 ” сентября 2025 г. Протокол № 2

Зав. кафедрой Коледаева Е.В.

Внесенные изменения и дополнения утверждаю:

И.о. проректора по учебной работе М.П. Разин

18 сентября 2025 г., протокол №1

Дополнения и изменения в рабочей программе учебной дисциплины

«Молекулярная биология»

Специальность 30.05.01 Медицинская биохимия (ФГОС 3++)

Направленность (профиль) Медицинская биохимия

Форма обучения очная

Кафедра Биологии

Автор (ы) Коледаева Е.В., Козвонин В.А.

С 2025 / 2026 учебного года в рабочую программу вносятся следующие дополнения и изменения:

1. Пункт **3.5. Тематический план практических занятий (семинаров)** дополнить и читать в следующей редакции:

3.5. Тематический план практических занятий (семинаров)

№ п/п	№ раздела дисциплины	Тематика практических занятий (семинаров)	Содержание практических (семинарских) занятий	Трудоемкость (час)
				Семестр № А
1	2	3	4	5
1	1	Особенности организации лаборатории молекулярной биологии	Обсуждение особенностей организации лаборатории молекулярной биологии. Приборы, используемые в молекулярной биологии. Правила техники безопасности при работе в молекулярно-биологической лаборатории. <u>Практическая подготовка:</u> Приготовление растворов. Расчет количества веществ при приготовлении растворов	2 3
2	2	Выделение ДНК из клеток бактерий	Особенности ДНК микроорганизмов. Изучение особенностей выделения ДНК из клеток прокариот. <u>Практическая подготовка:</u> Отработка метода выделения плазмидной ДНК из клеток бактерий.	1 4
3	2	Выделение ДНК из клеток эукариот	Особенности ДНК эукариот. Определение различий методов выделения ДНК из разных объектов. <u>Практическая подготовка:</u> Выделение ДНК из клеток грибов и животных. Отработка метода выделения ДНК из клеток эукариот.	1 4
4	2	ПЦР	Практическое применения метода ПЦР. Изучение различий постановки реакции ПЦР с применением готовых наборов и отдельных реагентов. <u>Практическая подготовка:</u> Постановка реакции ПЦР различными методами (с использованием готовых наборов и из отдельных компонентов).	1 4
5	2	Гель-электрофорез	Виды гель электрофореза. Сравнительная характеристика гель-электрофореза в разных типах гелей. <u>Практическая подготовка:</u> Постановка агарозного гель-электрофореза образцов ДНК, выделенных из разных объектов. Анализ полученных результатов. Выявление разных форм плазмидной ДНК с помощью электрофореза. Визуализация продуктов амплификации с помощью гель-электрофореза в полиакриламидном геле.	1 4

6	1	Теоретический и прикладной анализ генома	<u>Практическая подготовка:</u> Подготовка и выступление с докладами/рефератами по темам: генная терапия, особенности митохондриального генома, методы генетического и физического картирования, повторяющиеся элементы генома.	5
7	1	Итоговое занятие по разделу «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов»	Собеседование по теоретическим и практическим вопросам раздела «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов». Тестирование по разделу. <u>Практическая подготовка.</u> Решение ситуационных задач.	3 2
8	2	Выделение РНК	Особенности работы с РНК. Сравнительная характеристика методов выделения РНК и ДНК. <u>Практическая подготовка:</u> Отработка метода выделения РНК.	1 4
9	2	ОТ-ПЦР	Отличия ОТ-ПЦР от классической. Сравнительная характеристика методов ПЦР и ОТ-ПЦР. Рассмотрение практического применения метода ОТ-ПЦР <u>Практическая подготовка:</u> Постановка реакции ОТ-ПЦР и визуализация результатов.	1 4
10	2	Цитогенетический анализ	Варианты применения цитогенетического метода в клинике. <u>Практическая подготовка:</u> Выполнение практической работы с набором. Лимфокар. Культивация клеток крови на среде с ФГА. Остановка деления клеток в митозе колхицином. Проведение гипотонизации, фиксации, окраска препарата. Микроскопирование. Анализ кариотипа с использованием ИИ.	1 4
11	2	Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1»	Собеседование по теоретическим и практическим вопросам по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1» Тестирование по разделу. <u>Практическая подготовка:</u> Решение ситуационных задач.	2 3
12	2	Построение филогенетических деревьев	Виды программ выравнивания последовательностей и построения древ <u>Практическая подготовка:</u> Поиск нуклеотидных последовательностей для анализа с использованием база данных нуклеотидных последовательностей (www.ncbi.nlm.nih.gov). Построение филогенетических деревьев с помощью разных алгоритмов. Анализ полученных деревьев, определение генетической дистанции. Анализ маркеров и алгоритмов, использованных при построении филогенетического древа, в том числе с использованием ИИ.	1 4
13	2	Элементы генетической инженерии (постановка реакций рестрикции и лигирования)	Возможности применения методов генетической инженерии. <u>Практическая подготовка:</u> Постановка реакции рестрикции с эндонуклеазой EcoRI, получение рекомбинантной ДНК при помощи лигирования. Оценка полученных результатов на гель-электрофорезе.	1 4
14	2	Построение и анализ	Возможности применения метода построения	1

		рестрикционных карт	рестрикционных карт. <u>Практическая подготовка:</u> Построение рестрикционных карт известной последовательности с использованием программы Webcutter2 и иных средств ИИ , прогнозирование гель-электрофореграммы продуктов рестрикции исследуемой последовательности. Построение рестрикционной карты по готовой гель-электрофореграмме.	4
15	2	Дизайн праймеров	Виды программ для дизайна праймеров, в том числе с использованием ИИ. <u>Практическая подготовка:</u> Подбор праймеров к определенной последовательности ДНК. Предсказание условий реакции ПЦР. Предсказание результатов реакции ПЦР.	1 4
16	2	Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2»	Собеседование по теоретическим и практическим вопросам по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2» Тестирование по разделу. <u>Практическая подготовка:</u> Решение ситуационных задач.	2 3
Итого:				80

Дополнения и изменения в рабочей программе рассмотрены на заседании кафедры
 «10» февраля 2026 г. Протокол № 2
 Зав. кафедрой Коледаева Е.В.

Внесенные изменения и дополнения утверждаю:
 Проректор по учебной работе Е.Н. Касаткин
 «19» февраля 2026 г., протокол № 3

Кафедра Биологии

Приложение А к рабочей программе дисциплины

Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины
«Молекулярная биология»

Специальность 30.05.01 Медицинская биохимия
Направленность ОПОП Медицинская биохимия
Форма обучения очная

Раздел 1. Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов.

Тема 1.1: Особенности организации лаборатории молекулярной биологии.

Цель: Изучить особенности организации молекулярно-биологической лаборатории

Задачи:

1. Изучить организацию помещений молекулярно-биологической лаборатории
2. Рассмотреть оборудование молекулярно-биологической лаборатории
3. Освоить методы работы с оборудованием.
4. Изучить основные методы расчетов для реактивов.

Обучающийся должен знать: Организацию помещений молекулярно-биологической лаборатории.

Обучающийся должен уметь: Работать с оборудованием молекулярно-биологической лаборатории.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Основными методами расчетов для реактивов.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Особенности организации лаборатории молекулярной биологии.
2. Приборы, используемые в молекулярной биологии.
3. Правила техники безопасности при работе в молекулярно-биологической лаборатории.
4. Приготовление растворов. Расчет количества веществ при приготовлении растворов.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Изучить организацию молекулярно-биологической лаборатории. Записать основные части лаборатории и их взаимодействие.

Работа 2. Изучить основное оборудование молекулярно-биологической лаборатории. Записать полученные данные.

Работа 3. Изучить методы работы с автоматической пипеткой и записать последовательность действий с ней.

Работа 4. Изучить последовательность действий с материалом в молекулярно-биологической лаборатории. Записать полученные данные.

Работа 5. Изучить методики расчетов для реактивов в молекулярно-биологической лаборатории.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Особенности организации лаборатории молекулярной биологии.
2. Приборы, используемые в молекулярной биологии.
3. Правила техники безопасности при работе в молекулярно-биологической лаборатории.
4. Приготовление растворов. Расчет количества веществ при приготовлении растворов.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2. Методы молекулярной биологии

Тема 2.1: Выделение ДНК из клеток бактерий

Цель: Освоить методы выделения плазмидной ДНК.

Задачи:

1. Изучить структуру ДНК
2. Изучить физико-химические свойства ДНК
3. Изучить особенности ДНК прокариот.
4. Освоить методы выделения плазмидной ДНК.

Обучающийся должен знать: Структуру и физико-химические свойства ДНК.

Обучающийся должен уметь: Работать с оборудованием молекулярно-биологической лаборатории.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами выделения плазмидной ДНК.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Физические свойства веществ с системой сопряженных двойных связей в молекуле.
2. Растворимость азотистых оснований в зависимости от pH раствора.
3. Функции азотистых оснований.
4. Номенклатура нуклеотидов.
5. Параметры В-формы ДНК.
6. Особенности физико-химических свойств ДНК.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика выделения плазмидной ДНК.

1. Одну бактериальную колонию (полученную в результате эксперимента по трансформации, или ранее расштрихованную из хранящейся в глицерине бактериальной культуры) вносят в неплотно закрытую пробирку на 15 мл с 2 мл LB-среды, содержащей соответствующий антибиотик. Растят бактериальную культуру при интенсивном встряхивании (200 об/мин) при 37 С в течение ночи до $OD_{600}=1Д$

2. Переносят 1,5 мл культуры в микроцентрифужную пробирку и собирают клетки центрифугированием при 12 000 g в течение 1 мин. Оставшуюся культуру хранят при 4 С.
3. Отсасывают супернатант и при интенсивном встряхивании ресуспендируют осадок бактериальных клеток в 100 мкл холодного раствора I. Инкубируют во льду 15 мин.
4. Добавляют 200 мкл раствора II и перемешивают смесь быстрым пятикратным переворачиванием закрытой пробирки без встряхивания. Инкубируют пробирку во льду 5 мин.
5. Добавляют 150 мкл буфера 111, закрывают пробирку и перемешивают содержимое осторожным встряхиванием в течение 10 с. Инкубируют во льду 10 мин.
6. Центрифугируют на микроцентрифуге при 12 000 g в течение 5 мин при 4 С и отбирают супернатант в новую пробирку.
7. Для осаждения двухцепочечной ДНК добавляют 1 мл холодного этанола, перемешивают встряхиванием и на 30 мин помещают на —20 С.
8. Центрифугируют на микроцентрифуге при 12 000 g в течение 5 мин при 4 С.
9. Осторожно отбирают супернатант и ресуспендируют осадок в 100 мкл раствора IV.
10. Добавляют 200 мкл этанола, перемешивают и на 10 мин помещают на —20 °С. Центрифугируют на микроцентрифуге при 12 000 g в течение 2 мин при 4 °С.
11. Отбирают супернатант, добавляют к осадку 1 мл этанола, центрифугируют на микроцентрифуге при 12 000 g в течение 2 мин при 4°С. 12. Отбирают супернатант, осадок нуклеиновых кислот подсушивают на воздухе в течение 10 мин. Растворяют нуклеиновые кислоты в 50 мкл ТЭ и хранят при -20 С. Обычно метод, описанный в протоколе, дает при выделении многокопийных плазмид типа pUC выход 3-5 мкг ДНК на 1 мл исходной бактериальной культуры. Если полученные таким способом мини-препараты ДНК не удается рестрицировать, то для удаления загрязнений можно провести экстракцию фенолом/хлороформом. Пропорционально увеличив количество всех необходимых реактивов, можно использовать данный метод для выделения ДНК из культур объемом до 10 мл.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

- 1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*
- 2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*
 1. Физические свойства веществ с системой сопряженных двойных связей в молекуле.
 2. Растворимость азотистых оснований в зависимости от pH раствора.
 3. Функции азотистых оснований.
 4. Номенклатура нуклеотидов.
 5. Параметры В-формы ДНК.
 6. Особенности физико-химических свойств ДНК.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2. Методы молекулярной биологии

Тема 2.2: Выделение ДНК из клеток эукариот

Цель: Освоить методы выделения геномной ДНК эукариот.

Задачи:

1. Изучить структуру ДНК эукариот

2. Изучить физико-химические свойства ДНК эукариот
3. Изучить особенности ДНК эукариот.
4. Освоить методы выделения геномной ДНК.

Обучающийся должен знать: Структуру и физико-химические свойства ДНК эукариот.

Обучающийся должен уметь: Работать с оборудованием молекулярно-биологической лаборатории.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами выделения геномной ДНК.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Физические свойства веществ с системой сопряженных двойных связей в молекуле.
2. Растворимость азотистых оснований в зависимости от pH раствора.
3. Функции азотистых оснований.
4. Номенклатура нуклеотидов.
5. Параметры В-формы ДНК.
6. Особенности физико-химических свойств ДНК.
7. Особенности других форм вторичной структуры ДНК.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика выделения геномной ДНК.

1. Мицелий, выращенный на сусло-агаре, аккуратно при помощи скальпеля снимают с поверхности плотной питательной среды и помещают в фарфоровую ступку.
2. В ступке мицелий растирают с кварцевым песком при помощи пестика до получения однородной массы.
3. К полученной массе добавляют буферный раствор NET 100 и все тщательно перемешивают.
4. После оседания песка на дно ступки, отбирают 500 мкл надосадочной жидкости и переносят в пробирку Eppendorf.
5. В пробирку добавляют 50 мкл 10% раствора SDS. Добавляемое количество SDS зависит от объема раствора, содержащего нуклеиновую кислоту, и должно составлять 1% от объема раствора.
6. Полученный раствор тщательно перемешивают. Пробирку помещают на 30 минут в термостат при температуре 65°C. Раствор необходимо периодически перемешивать встряхиванием.
7. Далее в раствор образца добавляют 500 мкл хлороформа. Полученный раствор интенсивно перемешивают встряхиванием в течение 10 минут, после чего центрифугируют в течение 5 минут при частоте 13300 мин⁻¹.
8. После центрифугирования отбирают водную часть раствора и повторяют пункт 7.
9. Затем снова отбирают водную часть раствора и вносят ее в 500 мкл хлороформа. Полученный раствор интенсивно перемешивают встряхиванием и центрифугируют в течение 5 минут при частоте 13300 мин⁻¹.
10. После центрифугирования раствора образца нуклеиновой кислоты с хлороформом аккуратно отбирают водную часть раствора так, чтобы не задеть границу раздела фаз, и переносят раствор в чистую пробирку Eppendorf. К 1V раствора добавляют 1/10V ацетата натрия (50 мкл) и 2V 96% спирта (1 мл). Пробирку с раствором помещают в морозилку не менее чем на 30 минут.
11. Осадок ДНК, образующийся при низкой температуре (-20°C или ниже) в присутствии умеренной концентрации моновалентных катионов, собирают центрифугированием раствора в течение 15 минут при частоте 13300 мин⁻¹.
12. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают и добавляют 400 мкл 70% спирта и центрифугируют в течение 10 секунд при частоте 13300 мин⁻¹.
13. Надосадочную жидкость снова сливают, добавляют 400 мкл 96% спирта и центрифугируют в течение 10 секунд при частоте 13300 мин⁻¹.
14. Надосадочную жидкость сливают и помещают Eppendorf с нуклеиновой кислотой в термостат при t = 65°C на 30 минут на высушивание для полного удаления спирта.

15. Затем осадок растворяют в 50 мкл буферного раствора ТЕ.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Физические свойства веществ с системой сопряженных двойных связей в молекуле.
2. Растворимость азотистых оснований в зависимости от pH раствора.
3. Функции азотистых оснований.
4. Номенклатура нуклеотидов.
5. Параметры В-формы ДНК.
6. Особенности физико-химических свойств ДНК.
7. Особенности других форм вторичной структуры ДНК.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкетаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2. Методы молекулярной биологии

Тема 2.3: ПЦР

Цель: Освоить метод ПЦР.

Задачи:

1. Изучить структуру ДНК эукариот
2. Изучить принцип метода ПЦР
3. Изучить параметры постановки ПЦР.
4. Освоить методы увеличения специфичности ПЦР.

Обучающийся должен знать: Принципы ПЦР.

Обучающийся должен уметь: Рассчитывать условия ПЦР.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами увеличения специфичности метода ПЦР.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Принципы ПЦР.
2. Особенности VNTR-ПЦР
3. Проведение и условия ПЦР.
4. Правила подбора праймеров.
5. Расчет температуры отжига.
6. Проведение гель-электрофореза ДНК в нативном геле.
7. Определение длин фрагментов по электрофореграмме
8. Правила работы с маркерами ДНК.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика постановки ПЦР

Объектом исследования является ДНК 5 штаммов *Staphylococcus aureus*, которые можно проанализировать методом ПЦР-VNTR гена *sra*, кодирующего белок клеточной стенки или капсулы, связывающий IgG, блокируя их иммунологическое действие. Изменение количества повторов в данном гене увеличивает вариабельность белка, а, следовательно, возможность активнее подавлять иммунный ответ. В участках гена окружающих (фланкирующих) повторы были выбраны праймеры. Последовательность праймеров представлена в таблице

Spa	Spa-F	AGCACCAAAAGAGGAAGAC
	Spa-R	GTTTAACGACATGTACTCCG

II. Для постановки реакции ПЦР-VNTR в микробирке типа Eppendorff смешиваем реагенты:

X мкл ДНК (0,1-0,2 мкг/реакция)

1мкл буфера для ПЦР (10x + 1,5 mM MgCl₂)

0,5 мкл dNTPs (4 mM каждого)

1мкл праймера Spa-F (10 пМ/мкл)

1мкл праймера Spa-R (10 пМ/мкл)

0,5 мкл Taq-полимеразы (5 ед.а/мкл)

X мкл H₂O деионизованной до объема 10 мкл

конечный объем смеси 10 мкл

Смесь перемешиваем. Для предотвращения выпаривания, поверх смеси было нанесено 30 мкл вазелинового масла.

Эппендорфы были помещены в амплификатор, с заданными параметрами амплификации:

1) стадия денатурации ДНК

94°C – 5 мин.

2) стадия отжига

94°C – 30с.

44°C – 30с.

72°C – 1,5мин.

Амплификацию проводили в 35 циклов

3) достройка ампликонов

72°C – 10 мин.

Работа 2. Заполнить таблицу «Методика проведения ПЦР».

Этапы ПЦР	Температурный режим	Цель этапа	Количество циклов
1. Денатурация			
2. Отжиг			
3. Элонгация			

Работа 3. Заполнить таблицу «Компоненты реакционной смеси».

Компоненты реакционной смеси	Состав компонентов	Цель использования
1. Праймеры		
2. Taq-полимераза		
3. Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (dНТФ)		
4. Буфер		
5. Анализируемый образец		
6. Внутренние контроли		
7. ДНК-зонды		

Работа 4. Написать и сдать отчет по проделанной работе.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Принципы ПЦР.
2. Особенности VNTR-ПЦР
3. Проведение и условия ПЦР.
4. Правила подбора праймеров.
5. Расчет температуры отжига.
6. Проведение гель-электрофореза ДНК в нативном геле.
7. Определение длин фрагментов по электрофореграмме
8. Правила работы с маркерами ДНК.

3). Проверить свои знания с помощью тестового контроля:

1. В ДНК-диагностике наследственных заболеваний можно использовать:

- 1) ПЦР
- 2) ПДРФ
- 3) Блоттинг-гибридизация
- 4) Двумерный электрофорез

2. В ПЦР выделяют стадии:

- 1) денатурация ДНК
- 2) отжиг праймеров
- 3) элонгация цепи
- 4) гибридизация

3. Синтез новой цепи ДНК на отстающей цепи в процессе репликации осуществляется:

- 1) дискретно
- 2) непрерывно
- 3) с помощью фрагментов Оказаки
- 4) ускоренно

4. Гибридизация in-situ с мечеными зондами позволяет

- А) локализовать последовательность на хромосоме или в ее локусе
- Б) изучить рестриктивную карту зонда
- В) исследовать нуклеотидный состав зонда
- Г) исследовать расстояние между зондами
- Д) определить последовательность расположения генов в хромосоме

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2. Методы молекулярной биологии

Тема 2.4: Гель-электрофорез

Цель: Освоить метод гель-электрофореза.

Задачи:

1. Изучить принцип гель-электрофореза
2. Изучить особенности буферов для гель-электрофореза

3. Изучить особенности применения разных носителей для гель-электрофореза.

Обучающийся должен знать: Принципы гель-электрофореза

Обучающийся должен уметь: Определять метод используемого гель-электрофореза в зависимости от условий.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами подбора условий гель-электрофореза.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Структура ДНК.
2. Особенности электрического поля
3. Физико-химические свойства ДНК.
4. Структура гелей.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика гель-электрофореза.

1. Для приготовления 1,5% геля навеску агарозы 0,75 г. полностью растворяем в 50 мл. 1х раствора ТВЕ (трис-боратный буфер с ЭДТА), при температуре 150°C (до полного просветления жидкости).

2. Затем полученный раствор охлаждаем до 50-55°C, после чего полученный раствор аккуратно заливаем в кювету для гель-электрофореза. В кювету с одной из сторон вставляем гребенку для формирования в геле ячеек.

3. После застывания геля, вынимаем гребенку и помещаем кювету с гелем в камеру для гель-электрофореза и заливаем однократным ТВЕ, так чтобы покрыть гель.

4. Продукты амплификации смешиваем с 6-кратным буфером для нанесения в соотношении 5 объемов раствора с продуктами амплификации к одному буфера для нанесения (состав буфера 30% глицерина, 0,25% бром-фенолового красителя, 0,25% ксилен-цианола) и вносим в ячейки в геле, в свободную ячейку вносим раствор маркерных ДНК так же смешав его с буфером для нанесения в том же соотношении.

5. Подключаем камеру для гель-электрофореза к блоку питания, таким образом чтобы отрицательный электрод был рядом с ячейками, а положительный с противоположной, это связано с тем, что нуклеиновые кислоты движутся от минуса к плюсу.

6. Гель-электрофорез проводим при условиях 95-100 В, около 50 мА, до тех пор, пока бром-феноловый синий не достигнет 2-х см от края геля. Отключаем блок питания.

7. Гель окрашиваем, погрузив его в раствор этидиум бромид (50мг/мл) на 15-20 мин, после этого ополаскиваем гель дистиллированной водой и проявляем на траниллюминаторе в УФ-свете (длина волны 250 нм). Молекулы ДНК флюоресцируют розово-оранжевым цветом.

8. Гель фотографируем. Рисунок сохраняем для дальнейшего анализа результатов.

Работа 2. Написать и сдать отчет по проделанной работе.

2) Выступление с рефератами/докладами по темам:

1. Генная терапия. Общая характеристика. Подходы.
2. Генная терапия. Определение. Стратегии, механизмы доставки ДНК.
3. Основные особенности структуры геномов прокариот.
4. Регуляция экспрессии генов эукариот.
5. Методы определения последовательности нуклеотидов.
6. FISH. Принцип метода. Применение.
7. ПЦР. Принцип метода. Разновидности. Применение.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Структура ДНК.
2. Особенности электрического поля
3. Физико-химические свойства ДНК.
4. Структура гелей.

3). Подготовить реферативные сообщения по теме:

1. Генная терапия. Общая характеристика. Подходы.
2. Генная терапия. Определение. Стратегии, механизмы доставки ДНК.
3. Основные особенности структуры геномов прокариот.
4. Регуляция экспрессии генов эукариот.
5. Методы определения последовательности нуклеотидов.
6. FISH. Принцип метода. Применение.
7. ПЦР. Принцип метода. Разновидности. Применение.

4) Решить ситуационную задачу:

Линейный фрагмент ДНК обработали рестриктазой TaqI и нанесли на электрофорез, при этом получили два бэнда. Один двигался в районе 7 kb, а второй в районе 6 kb и при этом был в два раза ярче первого. Этот же фрагмент ДНК обработали рестриктазой PstI и так же разогнали на электрофорезе. При этом получили два одинаковых по яркости бэнда размером 9kb и 10 kb. При обработке этого фрагмента TaqI и PstI одновременно получают набор фрагментов 3kb, 6kb и 7 kb, при этом на электрофорезе самый короткий бэнд светится ярче остальных. Необходимо построить рестрикционную карту фрагмента ДНК.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкхамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метаболомика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 1: Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов.

Тема 1.2: Теоретический и прикладной анализ генома

Цель: Проверить и упорядочить знания по теме «Теоретический и прикладной анализ генома»

Обучающийся должен знать: Принципы реализации геномов

Обучающийся должен уметь: Применять методы анализа реализации геномов

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами анализа реализации геномов.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Мобильные генетические элементы прокариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.
2. Мобильные генетические элементы эукариот, структура, расположение,

механизмы перемещения и функции.

3. Повторяющиеся элементы генома. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.

4. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области центромер. Структура, биологическая роль.

5. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер. Структура, биологическая роль.

6. Механизмы реорганизации геномов. Гомологичная рекомбинация и генная конверсия. Механизм, биологическая роль.

7. Механизмы реорганизации геномов. Сайт-специфическая и случайная рекомбинация, и генная конверсия.

8. Методы физического картирования генов прокариот.

9. Методы генетического картирования генов прокариот.

10. Методы физического картирования генов эукариот.

11. Методы генетического картирования генов эукариот.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Выступление с докладами/рефератами по темам:

1. Мобильные генетические элементы прокариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.

2. Мобильные генетические элементы эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.

3. Повторяющиеся элементы генома. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.

4. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области центромер. Структура, биологическая роль.

5. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер. Структура, биологическая роль.

6. Механизмы реорганизации геномов. Гомологичная рекомбинация и генная конверсия. Механизм, биологическая роль.

7. Механизмы реорганизации геномов. Сайт-специфическая и случайная рекомбинация, и генная конверсия.

8. Методы физического картирования генов прокариот.

9. Методы генетического картирования генов прокариот.

10. Методы физического картирования генов эукариот.

11. Методы генетического картирования генов эукариот.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*

2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*

1. Мобильные генетические элементы прокариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.

2. Мобильные генетические элементы эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.

3. Повторяющиеся элементы генома. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.

4. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области центромер. Структура, биологическая роль.
5. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер. Структура, биологическая роль.
6. Механизмы реорганизации геномов. Гомологичная рекомбинация и генная конверсия. Механизм, биологическая роль.
7. Механизмы реорганизации геномов. Сайт-специфическая и случайная рекомбинация, и генная конверсия.
8. Методы физического картирования генов прокариот.
9. Методы генетического картирования генов прокариот.
10. Методы физического картирования генов эукариот.
11. Методы генетического картирования генов эукариот.

3) Подготовить реферативные сообщения на тему:

1. Мобильные генетические элементы прокариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.
2. Мобильные генетические элементы эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.
3. Повторяющиеся элементы генома. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.
4. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области центромер. Структура, биологическая роль.
5. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер. Структура, биологическая роль.
6. Механизмы реорганизации геномов. Гомологичная рекомбинация и генная конверсия. Механизм, биологическая роль.
7. Механизмы реорганизации геномов. Сайт-специфическая и случайная рекомбинация, и генная конверсия.
8. Методы физического картирования генов прокариот.
9. Методы генетического картирования генов прокариот.
10. Методы физического картирования генов эукариот.
11. Методы генетического картирования генов эукариот.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 1. Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов.

Тема 1.3: Итоговое занятие по разделу «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов»

Цель: Проверить и упорядочить знания по теме «Методы молекулярной биологии»

Обучающийся должен знать: Принципы методов молекулярной биологии

Обучающийся должен уметь: Применять методы молекулярной биологии.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами молекулярной биологии.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Собеседование по разделу:

1. Направления и типы переноса наследственной информации в живых организмах. Центральная догма молекулярной биологии.
2. Физико-химическое строение ДНК. Сравнение ДНК и РНК.
3. Организация генома у прокариот. Регуляция экспрессии генов прокариот.
4. Организация генома у эукариот. Регуляция экспрессии генов эукариот.
5. Принципы репликации. Схема репликационной вилки. Ферментативный комплекс, участвующий в репликации ДНК. Функции ферментов репликации.
6. Особенности репликации лидирующей и отстающей цепей ДНК. Причины, механизмы возникновения и устранения ошибок репликации. Биологическое и медицинское значение ошибок репликации ДНК.
7. Транскрипция, определение. Основной фермент и вспомогательные факторы транскрипции. Точки начала и конца транскрипции. Этапы транскрипции.
8. Особенности транскрипции у про- и эукариот. Оперон.
9. Обратная транскрипция, понятие, в каких случаях происходит, ключевой фермент. Регуляция экспрессии гена на уровне транскрипции и последующих.
10. Трансляция, определение. Особенности у про- и эукариот. Матричная (информационная) РНК, ее структура и функциональные участки у прокариот и эукариот.
11. Генетический код, его свойства. Кодон и антикодон, принципы их взаимодействия.
12. тРНК строение и функции. Аминоацилирование тРНК как необходимый этап трансляции.
13. Структура рибосом про- и эукариот. Функциональные участки рибосом.
14. Механизмы инициации, элонгации, терминации трансляции у про- и эукариот.
15. Терминирующие кодоны, белковые факторы терминации (RF1, RF2, RF3), фактор RRF и диссоциация трансляционного комплекса.
16. Макромолекулярные структуры клетки, краткая характеристика.
17. Аминокислотный состав белков. Классификация АК.
18. Пространственная организация белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура).
19. Посттрансляционная модификация, варианты (метилование, гликозилирование, фосфорилирование).
20. Липопротеины, гликопротеины, шапероны (характеристика, функции).
21. Актиновые и промежуточные филаменты, микротрубочки (характеристика, функции).
22. Внеклеточный матрикс - коллаген и эластин, протеогликаны, строение, функции.
23. Методы генетического и физического картирования генов прокариот и эукариот.
24. Механизмы реорганизации геномов. Сайтспецифическая, гомологичная и случайная рекомбинация, генная конверсия. Механизмы, биологическая роль.
25. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер и центромер. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.
26. Мобильные генетические элементы прокариот и эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.

27. Организация молекулярно-биологической лаборатории. Основные отделы лаборатории и их взаимодействие.

28. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне пробоподготовки, подготовки реакционной смеси и амплификации, детекции, назначения.

2. Тестирование по разделу

Примеры тестов (жирным шрифтом выделены правильные ответы)

1. Какие типы транспорта белков существуют:

- а) активный;
- б) везикулярный;**
- в) через пору транслокатора;**
- г) диффузия.

2. Генетический код обладает свойством:

- а) триплетности;**
- б) непрерывности;**
- в) универсальности;**
- г) отсутствия перекрывания.**

3. Праймеры синтезирует:

- а) хеликаза;
- б) ДНК-полимераза;
- в) РНК-полимераза;**
- г) праймаза.**

4. Процесс ρ -зависимой терминации транскрипции включает в себя следующие процессы: 1) РНК полимеразы достигает терминатора, 2) наличие шпильки затормаживает РНК полимеразу 3) фактор ρ вытесняет РНК из комплекса 4) РНК полимеразы отсоединяется от ДНК. Составьте правильную последовательность процессов.

- а) 1, 2, 3, 4;**
- б) 1, 3, 2, 4;
- в) 1, 4, 3, 2.
- г) 2, 4, 3, 1.

5 При анализе генома бактерии были выявлены структуры промоторов трех типов, структура которых представлена на рисунке



Вопрос 1. Наиболее сильным является промотор:

- а) А;
- б) Б;
- в) В;
- г) А и Б.

Вопрос 2. Наиболее слабым является промотор:

- а) А;
- б) Б;
- в) В;**
- г) А и Б.

Вопрос 3. Наиболее сильными являются промоторы генов:

- а) мРНК;
- б) тРНК;
- в) рРНК;**
- г) мРНК рибосомных белков.

Вопрос 4. В прокариотической РНК-полимеразе за распознавание промотора отвечает субъединица:

- а) α ;
- б) β ;
- в) σ ;**
- г) ω .

3. Практическая подготовка.

Примеры ситуационных задач для итогового занятия.

ЗАДАЧА 1. Последовательность нуклеотидов в цепи ДНК: ГТТ-ААГ-ЦАТ-ГГГ-А. В результате мутации одновременно выпадают третий нуклеотид и третий триплет нуклеотидов. Запишите новую последовательность нуклеотидов в цепи ДНК. Определите по ней последовательность нуклеотидов в иРНК и последовательность аминокислот в полипептиде. Для выполнения задания используйте таблицу генетического кода.

ЗАДАЧА 2. В последовательности одной из цепей ДНК (А Г Ц А Г Г Т А А) произошла мутация – выпадение второго нуклеотида в третьем триплете. Используя таблицу генетического кода, определите исходную аминокислотную последовательность. Изменится ли первичная структура полипептида? Ответ поясните. К какому виду мутаций относится данное изменение?

ЗАДАЧА 3. У больного серповидно-клеточной анемией из 574 аминокислот, входящих в состав гемоглобина (белок), в результате мутации кодирующего гена ДНК в синтезируемом белке произошла замена глутаминовой кислоты на аминокислоту валин. Это привело к существенному изменению третичной и четвертичной структуры молекулы гемоглобина и, как следствие, к изменению формы и нарушению функций эритроцита. Воспользуйтесь генетическим кодом и определите замена какого нуклеотида в ДНК может привести к этой болезни?

ЗАДАЧА 4. Участок молекулы ДНК содержит 230 гуаниловых нуклеотидов, что составляет 32% от общего их количества. Определить, сколько в данном фрагменте содержится тимидиловых, цитидиловых и адениловых нуклеотидов, какова длина и масса данного фрагмента ДНК.

ЗАДАЧА 5. Определите процентное содержание нуклеотидов с аденином, тимин, гуанином и цитозином участка молекулы ДНК, в которой 80 нуклеотидов соединяются между собой двумя водородными связями и 40 нуклеотидов - тремя водородными связями. Объясните полученные результаты.

ЗАДАЧА 6. Сколько вариантов последовательностей нуклеотидов возможно в ДНК, содержащей: а) 10 пар нуклеотидов; б) 60 пар нуклеотидов; в) 200 пар нуклеотидов?

ЗАДАЧА 7. Вычислить длину и молекулярную массу молекулы ДНК, если известно, что она включает 106 пар нуклеотидов?

ЗАДАЧА 8. Как изменится структура белка, если из кодирующей его цепи ДНК: Г-АА-Т-Г-Т-А-Г-Ц-Т-А-Г удалить 4-й нуклеотид?

ЗАДАЧА 9. Одна из цепей ДНК образована последовательностью нуклеотидов: ГЦ-А-Ц-А-Т-Г-Ц-А-Т-А-А-Г-Т-Г. Определите первичную структуру белка, закодированного в этой цепи, количество (в %) различных видов нуклеотидов в этом гене (в двух цепях), длину гена.

ЗАДАЧА 10. Определите триплеты (антикодоны) т-РНК, участвующие в синтезе белка, если кодирующий фрагмент ДНК состоит из нуклеотидов: Г-Г-Т-А-Ц-Г-А-Т-Г-Т-Ц-АА-Г-А. Сколько тРНК участвует в синтезе белка? Какие аминокислоты закодированы в этой ДНК?

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Направления и типы переноса наследственной информации в живых организмах. Центральная догма молекулярной биологии.
2. Физико-химическое строение ДНК. Сравнение ДНК и РНК.
3. Организация генома у прокариот. Регуляция экспрессии генов прокариот.
4. Организация генома у эукариот. Регуляция экспрессии генов эукариот.
5. Принципы репликации. Схема репликационной вилки. Ферментативный комплекс, участвующий в репликации ДНК. Функции ферментов репликации.
6. Особенности репликации лидирующей и отстающей цепей ДНК. Причины, механизмы возникновения и устранения ошибок репликации. Биологическое и медицинское значение ошибок репликации ДНК.
7. Транскрипция, определение. Основной фермент и вспомогательные факторы транскрипции. Точки начала и конца транскрипции. Этапы транскрипции.
8. Особенности транскрипции у про- и эукариот. Оперон.
9. Обратная транскрипция, понятие, в каких случаях происходит, ключевой фермент. Регуляция экспрессии гена на уровне транскрипции и последующих.
10. Трансляция, определение. Особенности у про- и эукариот. Матричная (информационная) РНК, ее структура и функциональные участки у прокариот и эукариот.
11. Генетический код, его свойства. Кодон и антикодон, принципы их взаимодействия.
12. тРНК строение и функции. Аминоацилирование тРНК как необходимый этап трансляции.
13. Структура рибосом про- и эукариот. Функциональные участки рибосом.
14. Механизмы инициации, элонгации, терминации трансляции у про- и эукариот.

15. Терминирующие кодоны, белковые факторы терминации (RF1, RF2, RF3), фактор RRF и диссоциация трансляционного комплекса.
16. Макромолекулярные структуры клетки, краткая характеристика.
17. Аминокислотный состав белков. Классификация АК.
18. Пространственная организация белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура).
19. Посттрансляционная модификация, варианты (метилование, гликозилирование, фосфорилирование).
20. Липопротеины, гликопротеины, шапероны (характеристика, функции).
21. Актиновые и промежуточные филаменты, микротрубочки (характеристика, функции).
22. Внеклеточный матрикс - коллаген и эластин, протеогликаны, строение, функции.
23. Методы генетического и физического картирования генов прокариот и эукариот.
24. Механизмы реорганизации геномов. Сайтспецифическая, гомологичная и случайная рекомбинация, геновая конверсия. Механизмы, биологическая роль.
25. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер и центромер. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.
26. Мобильные генетические элементы прокариот и эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.
27. Организация молекулярно-биологической лаборатории. Основные отделы лаборатории и их взаимодействие.
28. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне пробоподготовки, подготовки реакционной смеси и амплификации, детекции, назначения.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов. Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии

Тема 2.5: Выделение РНК

Цель: Изучить методы выделения РНК

Обучающийся должен знать: Структуру и особенности физико-химических свойств РНК

Обучающийся должен уметь: Использовать методы выделения РНК.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами выделения РНК

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. МРНК вторичная и третичная структура. Различия структуры, физико-химических свойств ДНК и РНК.
2. Нуклеиновые кислоты. Методы качественного и количественного определения

нуклеиновых кислот. Гиперхромный эффект.

3. Репликация у прокариот. Механизм. Структура и особенности ферментов репликации.
4. Структура промотора прокариот. Что определяет «силу промотора»?
5. Опишите цикл элонгации трансляции?
6. Механизмы регуляции транскрипции на уровне инициации.
7. Механизмы регуляции транскрипции на уровне терминации.
8. Посттрансляционная модификация аминокислот.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика выделения РНК.

1. Предварительно фиксированных в 70-ти градусном спирте клещей помещают в эппендорфы.
2. Добавляют 0,5 мл гуанидинизотиоцианатного буфера и примерно соответствующий объему клеща объем кварцевого песка.
3. Клещей измельчают.
4. Эппендорфы ставят на 40 минут в термостат, при температуре 65°C.
5. Добавляют 0.5 мл хлороформа, интенсивно встряхивают, центрифугируют при 13,4 тыс. об/мин в течение 5 минут.
6. После центрифугирования отбирают водную часть раствора и повторяют предыдущий пункт.
7. После центрифугирования раствора образца нуклеиновой кислоты с хлороформом аккуратно отбирают водную часть раствора так, чтобы не задеть границу раздела фаз, и переносят раствор в чистую пробирку Eppendorf. К 1V раствора добавляют 1/10V ацетата натрия и 2V 96% спирта. Пробирку с раствором помещают в морозилку на 60 мин.
8. Осадок ДНК, образующийся при низкой температуре (-20°C или ниже) в присутствии умеренной концентрации моновалентных катионов, собирают центрифугированием раствора в течение 15 минут при частоте 13300 мин⁻¹.
9. Далее сливают надосадочную жидкость (супернатан), добавляют 300 мкл 70% спирта и центрифугируют 30 секунд.
10. Сливают спирт, добавляют 300 мкл 96% спирта и центрифугируют 30 секунд.
11. Надосадочную жидкость сливают и помещают Eppendorf с нуклеиновой кислотой в термостат при t = 65°C на 40 минут на высушивание для полного удаления спирта.
12. Осадок растворяют в 10 мкл TE.

2) Выступление с рефератами/докладами по темам:

1. Векторы для доставки фрагментов ДНК и РНК при генной терапии.
2. Векторы для доставки фрагментов ДНК и РНК при генной терапии.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

- 1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*
- 2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*
 1. МРНК вторичная и третичная структура. Различия структуры, физико-химических свойств ДНК и РНК.
 2. Нуклеиновые кислоты. Методы качественного и количественного определения нуклеиновых кислот. Гиперхромный эффект.
 3. Репликация у прокариот. Механизм. Структура и особенности ферментов репликации.

4. Структура промотора прокариот. Что определяет «силу промотора»?
5. Опишите цикл элонгации трансляции?
6. Механизмы регуляции транскрипции на уровне инициации.
7. Механизмы регуляции транскрипции на уровне терминации.
8. Посттрансляционная модификация аминокислот.

3) Подготовить реферативные сообщения на тему:

1. Векторы для доставки фрагментов ДНК и РНК при генной терапии.
2. Векторы для доставки фрагментов ДНК и РНК при генной терапии.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкетаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии

Тема 2.6 ОТ-ПЦР

Цель: Изучить метод постановки ОТ-ПЦР

Обучающийся должен знать: Структуру и особенности физико-химических свойств РНК.

Обучающийся должен уметь: Использовать методы постановки обратной транскрипции.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами ОТ-ПЦР.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. МРНК вторичная и третичная структура. Различия структуры, физико-химических свойств ДНК и РНК.
2. Нуклеиновые кислоты. Методы качественного и количественного определения нуклеиновых кислот. Гиперхромный эффект.
3. Репликация у прокариот. Механизм. Структура и особенности ферментов репликации.
4. Структура промотора прокариот. Что определяет «силу промотора»?
5. Опишите цикл элонгации трансляции?
6. Механизмы регуляции транскрипции на уровне инициации.
7. Механизмы регуляции транскрипции на уровне терминации.
8. Посттрансляционная модификация аминокислот

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика постановки ОТ-ПЦР.

В пробирке для проведения ОТ смешивают «премикс», состоящий из воды деонизированной и праймера, компоненты вносятся в расчете на количество исследуемых образцов. Затем «премикс» тщательно перемешивают на центрифуге «MicroSpin», осаждают жидкость со стенок и раскапывают по пробиркам. Потом ставят в термостат при $t=95^{\circ}\text{C}$ на 5 минут.

Далее образцы сразу же помещают в лед, а пока образцы остывают готовят второй «премикс», состоящий из буфера, дезоксинуклеотидтрифосфатов, воды деионизированной и M-MuLV обратной транскриптазы, компоненты вносятся в расчете на количество образцов. Затем «премикс» тщательно перемешивают на центрифуге «MicroSpin», осаждают жидкость со стенок и фасуют в пробирки.

Готовые пробирки ставят в термостат при $t=37^{\circ}\text{C}$ на 60 минут. Данный этап существенно необходим, т. к. в результате происходит концентрация кДНК и очистка от посторонних примесей.

К каждой пробе добавляют по 20 мкл воды деионизированной, 3 мкл ацетата Na и 500 мкл 96% этилового спирта. Данные пробирки ставят в холодильник при $t=-20^{\circ}\text{C}$ на 30-60 минут, далее

Осадок ДНК, образующийся при низкой температуре (-20°C или ниже) в присутствии умеренной концентрации моновалентных катионов, собирают центрифугированием раствора в течение 15 минут при частоте 13300 мин⁻¹.

Далее сливают надосадочную жидкость (супернатан), добавляют 300 мкл 70% спирта и центрифугируют 30 секунд.

Сливают спирт, добавляют 300 мкл 96% спирта и центрифугируют 30 секунд.

Надосадочную жидкость сливают и помещают Eppendorf с нуклеиновой кислотой в термостат при $t = 65^{\circ}\text{C}$ на 40 минут на высушивание для полного удаления спирта.

Для постановки реакции ПЦР- микробирке типа Eppendorff смешиваем реагенты:

X мкл ДНК (0,1-0,2 мкг/реакция)

1мкл буфера для ПЦР (10x + 1,5 mM MgCl₂)

0,5 мкл dNTPs (4 mM каждого)

1мкл праймера Spa-F (10 пМ/мкл)

1мкл праймера Spa-R (10 пМ/мкл)

0,5 мкл Taq-полимеразы (5 ед.а/мкл)

X мкл H₂O деионизированной до объема 10 мкл

конечный объем смеси 10 мкл

Смесь перемешиваем. Для предотвращения выпаривания, поверх смеси было нанесено 30 мкл вазелинового масла.

Эппендорфы были помещены в амплификатор, с заданными параметрами амплификации:

1) стадия денатурации ДНК

94°C – 5 мин.

2) стадия отжига

94°C – 30с.

44°C – 30с.

72°C – 1,5мин.

Амплификацию проводили в 35 циклов

3) достройка ампликонов

72°C – 10 мин.

Работа 2. Методика приготовления 6,0% полиакриламидного геля.

Собираем камеру для заливки вертикального геля: два стекла со спейсерами толщиной 1 мм между ними и зажимают их между фиксаторами на столике для заливки геля.

В стеклянном стаканчике готовят полиакриламидный гель. Для этого смешивают между собой 4,5 мл 20% стока полиакриламидного геля и 1,5 мл 10X TBE-буфера. Доводят до 15 мл дистиллированной водой. К ним добавляют 150 мкл свежеприготовленного 10% раствора персульфата аммония и 30 мкл TEMED.

Заливают приготовленный раствор геля между стеклами камеры и в верхнюю часть геля устанавливают гребенку.

Ждут застывания геля, снимают камеру с заливочного столика и устанавливают ее в камеру для вертикального гель-электрофореза. На дно камеры заливают 1X TBE-буфер.

Внесение проб.

На обезжиренной фторопластовой пластинке смешивают 10 мкл продуктов амплификации и 2 мкл красителя.

В ячейки полиакриламидного геля вносят 10 мкл смеси.

В крайние ячейки вносят смесь красителя и ДНК-маркера.

Вертикальный электрофорез в полиакриламидном геле осуществляют при напряжении 145В (~ 50 Вт).

По окончании электрофореза помещают гель в раствор бромистого этидия 5 мкг/мл на 15 минут.

Гель помещают на столик трансиллюминатора. Детекцию осуществляют при длине волны излучения 280 нм.

Для фотографирования результатов фореа используют видеосистему для детекции гелей «Gel Imager» («Петротерм», Россия).

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. МРНК вторичная и третичная структура. Различия структуры, физико-химических свойств ДНК и РНК.
2. Нуклеиновые кислоты. Методы качественного и количественного определения нуклеиновых кислот. Гиперхромный эффект.
3. Репликация у прокариот. Механизм. Структура и особенности ферментов репликации.
4. Структура промотора прокариот. Что определяет «силу промотора»?
5. Опишите цикл элонгации трансляции?
6. Механизмы регуляции транскрипции на уровне инициации.
7. Механизмы регуляции транскрипции на уровне терминации.
8. Посттрансляционная модификация аминокислот.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкхамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии

Тема 2.7. Цитогенетический анализ

Цель: Изучить метод постановки цитогенетического метафазного анализа

Обучающийся должен знать: Структуру и особенности физико-химических свойств хромосом

Обучающийся должен уметь: Использовать методы работы с клеточными культурами

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами проведения вертикального электрофореза.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Уровни компактизации ДНК, клеточный цикл и его фазы.
2. Типы строения хромосом.
3. Методы и типы окраски хромосом.

4. Денверская и Парижская номенклатуры.
5. Методика FISH.
6. Определение полового хроматина.
7. Методы метафазного и интерфазного анализа хромосом.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика постановки цитогенетического анализа.

Приготовление препаратов хромосом из лимфоцитов периферической крови

День первый

Расходные материалы: дозаторы на 5 мл, 1 мл, до 200 мкл, до 10 мкл; наконечники для дозаторов; штатив для дозаторов; пробирки центрифужные на 15 мл; перманентный маркер; ножницы, пинцет, вакутейнеры с гепарином, перчатки медицинские.

Реактивы: среда RPMI-1640 с L-глутамином; сыворотка эмбриональная телячья, антибиотик гентамицин в концентрации 40 мг/мл (или пенициллин 100 ед/мл + канамицин 100 мкг/мл); фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 1 мг/мл; 70-процентный этиловый спирт.

Методика:

1. Все манипуляции проводить в перчатках. Подготовить культуральный бокс: поверхность ламинарного шкафа протереть 70-процентным этиловым спиртом либо другой обеззараживающей смесью. Поместить расходный материал (кроме вакуумных пробирок с гепарином) в ламинарный шкаф.

Включить УФ-свет в ламинарном шкафу. Включить УФ-лампу в помещении. Обработку УФ проводить в течение 20–30 мин.

2. В процедурном кабинете, в стерильных условиях в вакутейнер с гепарином забрать 3–5 мл крови из периферической вены.

3. Выключить УФ в ламинарном шкафу и помещении. В ламинарном шкафу включить поток воздуха, расположить реактивы.

4. На каждый образец крови приготовить по две центрифужные пробирки на 15 мл. Каждую пробирку замаркировать следующим образом: номер пробирки, дата, фамилия и инициалы образца, лабораторный индекс образца (если имеется).

5. В каждую центрифужную пробирку добавить: среды RPMI-1640 с L-глутамином 4,5 мл; сыворотки эмбриональной телячьей 0,5 мл; антибиотик 3–5 мкл; ФГА 60–100 мкл. В последнюю очередь добавить 0,3–0,5 мл гепаринизированной крови.

6. Пробирку плотно закрыть крышкой, несколько раз осторожно перемешать содержимое пробирки для лучшего смешивания компонентов культуральной среды.

7. Пробирки в штативе поставить культивировать в термостат при +37 °С на 72 часа.

Примечания: 1. В связи с особенностями методики (необходимость культивирования в течение 72 часов) первый практический день (так же как и диагностический) лучше проводить в первой половине понедельника, вторника или пятницы. Необходимо особо подчеркнуть, что кровь должна быть собрана только в вакутейнеры с гепарином (!). Другие антикоагулянты такие как, например, цитрат натрия, ЭДТА) не подходят для приготовления препаратов хромосом.

2. При постановке культуры крови в диагностических целях материал в лабораторию поступает с направлением от врача, в котором кроме данных о пациенте (ФИО, возраст) указывается причина его направления на кариотипирование и контактные данные врача.

3. Центрифужные пробирки можно заменить стерильными культуральными флаконами с необработанной поверхностью для суспензионных культур. При этом следует помнить, что после истечения времени культивирования суспензию клеток необходимо переместить в центрифужные пробирки для дальнейшей работы.

4. Если среда RPMI-1640 не содержит L-глутамин, его можно заменить сухим, стерильным L-глутамином, добавляя на кончике стерильной иглы в каждую пробирку или во флакон с порцией среды, в объеме, приготовленном для полного израсходования в день постановки культуры. Следует помнить, что при использовании среды в течение нескольких месяцев L-глутамин постепенно начинает разлагаться, поэтому желательно его добавление в указанном количестве в каждую пробирку, даже если он изначально содержался в среде.

5. Вместо RPMI-1640 можно использовать среду RPMI-1640(т), в которую добавлены аланилглутамин и тимидин. Эта среда, кроме всего прочего, может позволить получить более «растянутые» по размерам хромосомы на препаратах.

6. Концентрация ФГА подбирается, исходя из рекомендаций фирмы-производителя. В методике указана концентрация стокового раствора и объем добавляемого ФГА фирмы ПАНЭКО, используемый на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова. Концентрация и фирма-производитель стимулятора клеточного деления могут отличаться в каждой конкретной лаборатории.

Также рекомендуется дублировать митогены, и кроме ФГА использовать такие стимуляторы, как конкавалин А, покивид и др.

День второй

Расходные материалы: дозаторы на 5 мл, 1 мл, до 200 мкл; наконечники для дозаторов; штатив для дозаторов; пинцет; стекла предметные с матовой полосой; стакан лабораторный на 100 мл; банка для реактивов с винтовой пластмассовой крышкой на 100 и 250 мл; штатив-рельсы без делителей для предметных стекол; спиртовка; спички или зажигалка; парафильм; карандаш графитовый. Реактивы: колхицин (колцемид) в концентрации 1 мг/мл, ледяная уксусная кислота, метанол или 95–96-процентный (абсолютный) этиловый спирт, соль хлорид калия (KCl), вода дистиллированная.

Методика:

1. После 72 часов культивирования в каждую пробирку добавить по 60–100 мкл колхицина. Осторожно перемешать содержимое флакона и оставить в термостате при +37 °C на 40–50 мин.

2. Далее все манипуляции проводятся в лаборантской комнате. Приготовить гипотонический раствор: 0,55-процентный KCl (550 мг KCl растворить в 100 мл дистиллированной воды); фиксатор: смесь спирта и уксусной кислоты в соотношении 3:1 (например, к 60 мл абсолютного этилового спирта или метанола добавить 20 мл ледяной уксусной кислоты). Поставить фиксатор охлаждаться на +4 °C. В чистый лабораторный стаканчик объемом 100 мл налить примерно 80 мл дистиллированной воды и поставить в стаканчик с водой предметные стекла из расчета два-три стекла на одну пробирку. Стаканчик со стеклами закрыть парафильмом и поставить в холодильник на +4 °C охлаждаться.

3. По окончании времени колхицинизации клетки осадить центрифугированием при 1000–1200 об/мин (RPM) 10 мин.

4. Супернатант (надосадочную жидкость) удалить пипеткой, оставляя 0,3–0,5 мл над осадком. Осадок разбить энергичным встряхиванием.

5. Струйно добавить 5 мл гипотонического раствора (0,55-процентный KCl), перемешать и инкубировать 15–20 мин при комнатной температуре.

6. Префиксация: по окончании времени гипотонической обработки в каждую пробирку добавить по 0,5 мл холодного фиксатора, аккуратно перемешать и сразу же осадить центрифугированием (10 мин, 1000–1200 RPM).

7. Повторить п. 4.

8. В каждую пробирку добавить по 5 мл холодного фиксатора. Хорошо перемешать. Фиксацию проводить при +4 °C в течение 20–30 мин. Провести две-три смены фиксатора, каждый раз осаждавая клетки центрифугированием и повторяя п. 4.

9. После последней фиксации клетки осадить, удалить супернатант, оставить примерно 0,3–0,5 мл супернатанта, осадок разбить пипетированием.

10. Поставить пробирки охлаждаться на 10–15 мин при +4 °C.

11. Подготовить штатив-рельсы, достать суспензию клеток и стакан с предметными стеклами из холодильника, пипетированием повторно разбить осадок, с помощью дозатора отобрать 30–80 мкл суспензии.

12. Пинцетом достать предметное стекло из стаканчика с водой, излишки воды аккуратно удалить, опустив кончик стекла на фильтровальную бумагу, остатки капель воды раскатать по всей поверхности стекла, покачивая его. Нанести суспензию клеток с высоты на поверхность мокрого охлажденного стекла, прижечь фиксатор над пламенем спиртовки.

13. С помощью графитового карандаша подписать предметные стекла: дата приготовления препарата, фамилию и инициалы образца, лабораторный индекс (если имеется), номер пробирки,

номер препарата. Оставить препараты подсыхать в вертикальном положении.

14. В микроскопной комнате оценить качество препаратов хромосом с помощью микроскопа с фазовым контрастом: количество метафазных пластинок на стекле, цельность метафазных пластинок, отсутствие или небольшое число взаимных наложений хромосом, степень конденсации хромосом, обособленность метафазных пластинок друг от друга.

15. По завершении работы в каждую пробирку добавить по 3–5 мл фиксатора и поставить на хранение на +4 °С или на –20 °С. Примечания: 1. Гипотонический раствор и фиксатор готовятся в день использования и не хранятся!

2. Концентрация колхицина (колцемида) подбирается, исходя из рекомендаций фирмы-производителя. В методике указана концентрация стокового раствора и объем добавляемого колхицина фирмы ПАНЭКО, используемого на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова. Стоковая концентрация, добавляемый объем и фирма-производитель данного реактива может отличаться в каждой конкретной лаборатории.

3. Гипотоническую обработку можно проводить в термостате при температуре +37 °С.

4. Префиксацию можно проводить фиксатором комнатной температуры. Вторую и последующие фиксации можно проводить при температуре –20 °С.

5. Важно, чтобы все манипуляции из п.12 методики выполнялись как можно быстрее, чтобы предотвратить скопление жидкости в центре стекла и достичь хорошего разброса клеток по всей его поверхности.

6. Качество препаратов метафазных хромосом зависит от многих условий: температуры и влажности воздуха в комнате, качества ледяной уксусной кислоты, температуры предметного стекла, времени испарения фиксатора со стекла и т.д. Более подробно влияние внешних условий на процесс расплывания хромосом на поверхности стекла и способов их устранения можно прочитать в специальной литературе. Например, при наличии цитоплазмы на метафазных пластинках, которая приводит к скученности хромосом, для улучшения качества препаратов можно увеличить соотношение уксусной кислоты в фиксаторе (добавив лишний этап фиксации для смены стандартного фиксатора) или капнуть несколько капель уксусной кислоты на предметное стекло перед раскапыванием. Допускается раскапывать суспензию на поверхность мокрых охлажденных стекол, размещенных на штатив-рельсы над горячим водяным паром. Следует помнить, что в этих случаях высота нанесения суспензии клеток на стекло будет небольшой, а этап прижигания следует исключить.

7. В случае необходимости приготовления дополнительных препаратов после хранения суспензий нужно освежить фиксатор и производить раскапывание суспензии (п. 12 методики).

3.3. Метод GTG дифференциальной окраски препаратов хромосом

Растворы

Фосфатный буфер Соренсена (рН 6,8) – состоит из двух растворов:

- раствор 1 – натрий фосфорнокислый: взвесить 23,8 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ или 11,8 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, довести дистиллированной водой до 1000 мл;
- раствор 2 – калий фосфорнокислый: взвесить 9,1 г KH_2PO_4 , довести дистиллированной водой до 1000 мл.

Перед употреблением смешать раствор 1 и раствор 2 в соотношении 1:1. Рабочий раствор трипсина: в емкости Коплина или Хеллендаля приготовить 0,05–0,025-процентный раствор трипсина на буфере Соренса (рН 6,8). Для этого навеску 50–20 мг сухого трипсина растворить в буфере Соренса. Раствор Гимзы: в емкости Коплина или Хеллендаля приготовить 5-процентный раствор Гимзы на буфере Соренса.

Методика

Свежеприготовленные препараты состарить. Для этого их выдерживают при температуре +37 °С в течение нескольких суток либо при 45–55 °С несколько часов или ночь.

1. Препараты опустить в рабочий раствор трипсина подогретого до +37 °С. Время обработки и процентность трипсина подбирается эмпирически. Стандартно начинают от 10 с, увеличивая в случае необходимости.

2. Ополоснуть стекла в дистиллированной воде.

3. Окрашивать в 5-процентном растворе Гимзы в течение 10–20 мин. Время окрашивания подбирать эмпирически.

4. Стекла высушить. Анализировать в проходящем свете.

Примечания: 1. Рабочие растворы трипсина и Гимзы готовить в день окрашивания и не хранить.

2. Буфер Соренса для приготовления рабочего раствора трипсина можно заменить раствором Версена.

3. Рабочие растворы трипсина и Гимзы можно наносить на поверхность предметных стекол, расположенных на штативе-рельсах для окрашивания.

4. Можно проводить одновременную обработку стекол трипсином и окрашивание Гимзой. Для этого смешать 50 мл 5-процентного раствора Гимзы на буфере Соренса и 0,1–0,3 мл 0,25-процентного раствора трипсина. Опустить препарат или нанести на предметное стекло раствор Гимзы с трипсином. Оптимальное время и температуру окрашивания (при комнатной температуре или при +37 °С) подбирать эмпирически.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Уровни компактизации ДНК, клеточный цикл и его фазы.
2. Типы строения хромосом.
3. Методы и типы окраски хромосом.
4. Денверская и Парижская номенклатуры.
5. Методика FISH.
6. Определение полового хроматина.
7. Методы метафазного и интерфазного анализа хромосом.

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016

2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.

2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016

3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.8. Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 1»

Цель: Проверить и упорядочить знания по теме «Методы молекулярной биологии. Часть 1».

Обучающийся должен знать: Методы молекулярной биологии.

Обучающийся должен уметь: Применять методы молекулярной биологии.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами молекулярной биологии.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Собеседование по вопросам раздела:

1. Из какого биоматериала может быть выделена ДНК и РНК? Особенности выделения РНК?
2. Условия транспортировки биоматериала или выделенной ДНК/РНК.
3. Оборудование необходимое для этапа выделения ДНК/РНК.
4. Основные этапы выделения. Условия и сроки хранения выделенной ДНК/РНК.
5. Экспресс методы выделения. Принцип. Достоинства и недостатки. Кит наборы.

6. Фенол хлороформный метод. Принцип. Достоинства, недостатки.
7. Выделение с использованием сорбентов. Принцип. Достоинства, недостатки.
8. Выделение на микроколонках. Принцип. Достоинства, недостатки.
9. Выделение на бумажных фильтрах. Принцип. Достоинства, недостатки.
10. Определение качества выделенной ДНК/РНК.
11. ПЦР. История разработки. Прикладное значение.
12. Принцип ПЦР. Состав смеси, температурные режимы.
13. Оборудование, необходимое для постановки ПЦР. Принцип работы.
14. ПЦР реал тайм. Принципы. Способы визуализации накопления ДНК в ходе ПЦР.
15. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием интеркалирующих элементов.
16. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием TagMap-зондов (выщепление 5' концевой метки).
17. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - принцип FLASH. Отличия от метода «Реал-тайм».
18. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - эл.форез, основные теоретические принципы.
19. Оборудование, необходимое для постановки фореза, назначение.
20. Электрофорез в агарозном геле. Методика приготовления геля и постановки фореза.
21. Электрофорез в полиакриламидном геле. Отличия от агарозного.
22. Визуализация результатов эл.фореза. Системы документации.
23. Мультиплексная полимеразная цепная реакция, принципы постановки, отличия от «классической» ПЦР, достоинства и недостатки.
24. ПЦР с обратной транскрипцией, описание метода, ситуации в которых он применяется, особенности постановки.
25. ПЦР с «горячим стартом», описание метода, особенности постановки.
26. Аллель-специфичная ПЦР, описание метода, что он позволяет выявить.
27. Гетеродуплексный анализ, описание метода, что он позволяет выявить.
28. Схематически изобразите принцип гетеродуплексного анализа и электрофоретическую картину результатов.
29. Рестрикционный анализ (ПДРФ), описание метода, что он позволяет выявить.
30. Схематически изобразите принцип рестрикционного анализа (ПДРФ) и электрофоретическую картину результатов.
31. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализ конформационного полиморфизма однострочной ДНК, описание метода, что он позволяет выявить.
32. Схематически изобразите принцип SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализа конформационного полиморфизма однострочной ДНК и электрофоретическую картину результатов.
33. Перечислите причины, по которым проведение ПЦР может быть неэффективно.
34. Оптимизация проведения ПЦР, ключевые факторы.
35. Преимущества метода ПЦР, перечислить и пояснить.
36. Недостатки метода ПЦР, перечислить и пояснить.
37. Организация технологического процесса при работе методом ПЦР.
38. Секвенирование, определение, общий принцип метода, области применения.
39. Метод терминирующих аналогов трифосфатов (дидезоксинуклеозидтрифосфатов).
40. ДНК-микрочип (ДНК-чип), описание метода, области применения.

2. Тестирование по разделу

Примеры тестов (жирным шрифтом выделены правильные ответы)

1. Укажите температуру денатурации ДНК при проведении ПЦР:

а) 30С;

б) 92С;

в) 50С;

г) 65С.

2. При определении положения делеции нуклеотида нужно использовать:

а) сиквенс;

б) FISH;

в) ПЦР;

г) цитогенетический анализ.

3. Процесс выделения ДНК включает в себя следующие процессы: 1) гомогенизация образца 2) лизис образца 3) депротеинизация образца 4) осаждение ДНК спиртом. Составьте правильную последовательность процессов.

а) 1, 2, 3, 4;

б) 1, 3, 2, 4;

в) 1, 4, 3, 2;

г) 2, 4, 3, 1.

4. Процесс постановки реакции Southern блот гибридизации включает в себя следующие процессы: 1) рестрикция ДНК 2) гель-электрофорез и денатурация ДНК 3) перенос ДНК на нитроцеллюлозный фильтр 4) инкубирование с меченным зондом. Составьте правильную последовательность процессов.

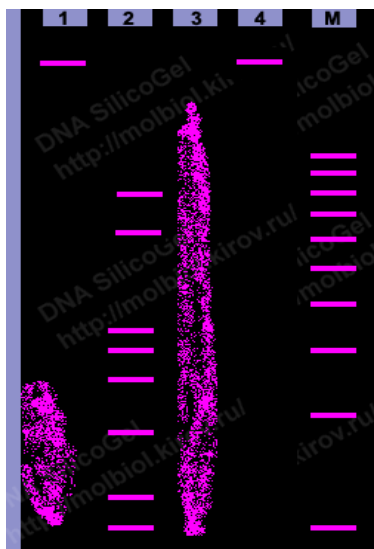
а) 1, 2, 3, 4;

б) 1, 3, 2, 4;

в) 1, 4, 3, 2;

г) 2, 4, 3, 1.

5. На рисунке представлен гель-электрофорез ДНК в агарозном геле.



Вопрос 1 Препарат геномной ДНК без обработки РНКазой на дорожке:

а) 1;

б) 2;

в) 3;

г) 4.

Вопрос 2 Препарат геномной ДНК после обработки РНКазой на дорожке:

а) 1;

б) 2;

в) 3;

г) 4.

Вопрос 3 Препарат геномной ДНК после обработки ДНКазой на дорожке:

- а) 1;
- б) 2;
- в) 3;
- г) 4.

Вопрос 4 Препарат геномной ДНК после обработки эндонуклеазой рестрикции на дорожке:

- а) 1;
- б) 2;
- в) 3;
- г) 4.

2. Практическая подготовка.

Примеры ситуационных задач для итогового занятия.

1) При проведении анализа на отцовство Вы получили следующие результаты:

Тест на отцовство (на основании материала, предоставленного Клиентом)				
Лабораторная часть анализа производится с использованием образцов, предоставленных Клиентом. Если информация, полученная в результате анализа, противостоит материалу, Клиент предоставляет информацию в судебном порядке. По Клиенту следует убедиться, что информация, полученная в результате анализа, соответствует информации, полученной в результате анализа предоставленного Клиентом материала, и таким образом не имеет отношения к другим лицам (родителям, братьям, сестрам, дяде, бабушке, дедушке, другим лицам с родственными связями).				
Образцы: Для сравнения профилей ДНК были использованы следующие образцы: Предполагаемый отец: Ребенок:				
Исследованные образцы демонстрируют следующие генетические профили:				
Локус	Предполагаемый отец		Ребенок	
CSF1PO	10	11	11	11
D13S317	12	13	10	12
D16S539	12	14	12	12
D18S51	14	20	14	20
D19S433	14	14,2	14	14
D21S11	29	32,2	31	32,2
D2S1338	20	23	20	20
D3S1358	14	16	16	16
D5S818	11	12	11	12
D7S820	8	11	8	10
D8S1179	13	14	12	13
TH01	7	9	7	9,3
TPOX	8	11	8	8
vWA	14	19	16	19
AM	X	Y	X	Y

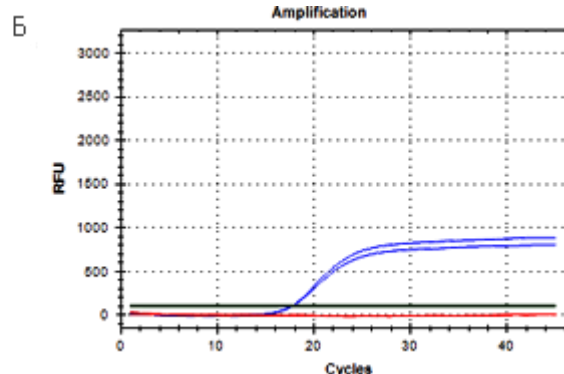
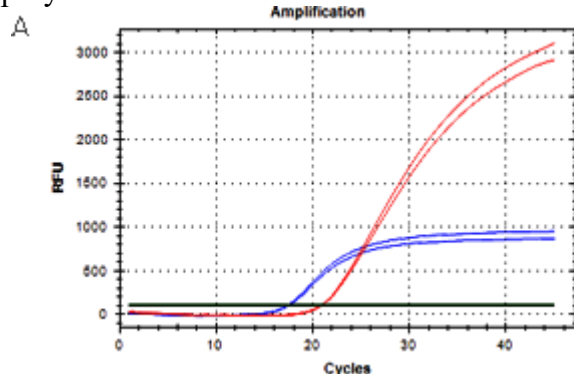
Как известно, любой ребенок получает от каждого из своих биологических родителей по одному аллелю каждого гена (локуса). Следовательно у отца и ребенка по каждому такому локусу должен быть как минимум один совпадающий аллель. В приведенной таблице совпадающие аллели выделены цветом.

Локусы, по которым у предполагаемого отца и ребенка нет совпадающих аллелей выделены красным цветом (наличие более 2-х подобных локусов практически исключает отцовство).

Маркер пола (AM) в сравнении не участвует, он указывает только на пол человека.

Интерпретируйте их и сделайте заключение.

2). Определить по фотографиям вид молекулярно-генетического исследования, интерпретировать результат.



Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием

конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Из какого биоматериала может быть выделена ДНК и РНК? Особенности выделения РНК?
2. Условия транспортировки биоматериала или выделенной ДНК/РНК.
3. Оборудование необходимое для этапа выделения ДНК/РНК.
4. Основные этапы выделения. Условия и сроки хранения выделенной ДНК/РНК.
5. Экспресс методы выделения. Принцип. Достоинства и недостатки. Кит наборы.
6. Фенол хлороформный метод. Принцип. Достоинства, недостатки.
7. Выделение с использованием сорбентов. Принцип. Достоинства, недостатки.
8. Выделение на микроколонках. Принцип. Достоинства, недостатки.
9. Выделение на бумажных фильтрах. Принцип. Достоинства, недостатки.
10. Определение качества выделенной ДНК/РНК.
11. ПЦР. История разработки. Прикладное значение.
12. Принцип ПЦР. Состав смеси, температурные режимы.
13. Оборудование, необходимое для постановки ПЦР. Принцип работы.
14. ПЦР реал тайм. Принципы. Способы визуализации накопления ДНК в ходе ПЦР.
15. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием интеркалирующих элементов.
16. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием TagMan-зондов (выщепление 5' концевой метки).
17. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - принцип FLASH. Отличия от метода «Реал-тайм».
18. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - эл.форез, основные теоретические принципы.
19. Оборудование, необходимое для постановки фореза, назначение.
20. Электрофорез в агарозном геле. Методика приготовления геля и постановки фореза.
21. Электрофорез в полиакриламидном геле. Отличия от агарозного.
22. Визуализация результатов эл.фореза. Системы документации.
23. Мультиплексная полимеразная цепная реакция, принципы постановки, отличия от «классической» ПЦР, достоинства и недостатки.
24. ПЦР с обратной транскрипцией, описание метода, ситуации в которых он применяется, особенности постановки.
25. ПЦР с «горячим стартом», описание метода, особенности постановки.
26. Аллель-специфичная ПЦР, описание метода, что он позволяет выявить.
27. Гетеродуплексный анализ, описание метода, что он позволяет выявить.
28. Схематически изобразите принцип гетеродуплексного анализа и электрофоретическую картину результатов.
29. Рестрикционный анализ (ПДРФ), описание метода, что он позволяет выявить.
30. Схематически изобразите принцип рестрикционного анализа (ПДРФ) и электрофоретическую картину результатов.
31. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализ конформационного полиморфизма одонитевой ДНК, описание метода, что он позволяет выявить.
32. Схематически изобразите принцип SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализа конформационного полиморфизма одонитевой ДНК и

электрофоретическую картину результатов.

33. Перечислите причины, по которым проведение ПЦР может быть неэффективно.
34. Оптимизация проведения ПЦР, ключевые факторы.
35. Преимущества метода ПЦР, перечислить и пояснить.
36. Недостатки метода ПЦР, перечислить и пояснить.
37. Организация технологического процесса при работе методом ПЦР.
38. Секвенирование, определение, общий принцип метода, области применения.
39. Метод терминирующих аналогов трифосфатов (дидезоксинуклеозидтрифосфатов).
40. ДНК-микрочип (ДНК-чип), описание метода, области применения.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии

Тема 2.9. Построение филогенетических деревьев

Цель: Изучить методы построения филогенетических деревьев

Задачи:

Изучить особенности маркерных последовательностей

1. Подобрать алгоритм построения филогенетического дерева
2. Подобрать программу построения филогенетического дерева
3. Проанализировать полученное филогенетическое дерево

Обучающийся должен знать:

1. Параметры генетических маркеров
2. Алгоритм построения филогенетического дерева.

Обучающийся должен уметь: Пользоваться программами построения филогенетического дерева.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами анализа полученного филогенетического дерева

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Структура генов у эукариот
2. Структура генов у прокариот.
3. Структура некодирующей ДНК у прокариот
4. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
5. Степень гомологии.
6. Филогенетические деревья и их свойства.
7. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Последовательность действий при работе с программами.

Подготовка последовательностей для выравнивания.

1. В базе данных NCBI находим исследуемые последовательности.
2. На сайте www.ncbi.nlm.nih.gov В разделе Database выбираем подразделы Protein или Nucleotide/
3. В поисковое окно вводим названия исследуемых маркеров и организмов по-английски или по-латыни.
4. В полученном списке выбираем полные последовательности исследуемых маркеров и открываем файлы находим начальный и конечный нуклеотиды или аминокислоты и переносим полученные последовательности файл с расширением *.rtf (WordPad). (В случае последовательностей нуклеотидов, кодирующих белки, начальный триплет ATG конечные TAA, TGA, TAG, в случае аминокислотных последовательностей начальная аминокислота Met или M)
5. В программе WordPad удаляем из последовательности цифры и пробелы с помощью команды «заменить». Отключаем перенос по строкам и переводим всю последовательность в одну строку. Перед последовательностью вносим название организма, которому принадлежит данная последовательность.
6. Повторяем предыдущий пункт для всех исследуемых маркеров.
7. В результате получаем набор последовательностей с обозначенными организмами, в одном файле.

Работа 2. Выравнивание первичных структур при помощи программы AliBee – Mutiple aligenment Release 2.0:

1. На сайте www.gennebee.msu.ru входим в раздел genebee, а в нем в подраздел AliBee – Mutiple aligenment Release 2.0
2. в окно управления вводим исследуемую первичную структуру в формате базы последовательностей FASTA (значок ">", затем название исследуемой последовательности, с новой строки вводим полную первичную структуру [последовательность нуклеотидов]);
3. для каждой исследуемой первичной структуры повторяем предыдущий пункт;
4. нажимаем кнопку "Послать запрос";
5. полученный результат сохраняем в формате html и копируем получившееся дерево.
6. Повторяем последовательность операций для каждого сравниваемых первичных последовательностей нуклеотидов исследуемых организмов в различных сочетаниях.

Работа 3. Построение филогенетических деревьев при помощи программы TREECON:

1. Осуществляем выравнивание нуклеотидных последовательностей вручную. Ищем консервативные участки в обеих последовательностях и выравниванием их друг с другом, при этом делеции нуклеотидов обозначаем знаком «-».
2. Далее при помощи программы NotePad++ корректируем получившееся выравнивание. Не должно быть знаков пробела, каждая строка должна заканчиваться табуляцией, все строки, содержащие нуклеотидные последовательности должны быть одинаковой длины, в начале файла цифрами указываем количество знаков в строке. Сохраняем файл с расширением seq.
3. Из основного меню программы TREECON выбираем опцию "Оценка эволюционной дистанции", далее выбираем опцию "Начать оценку эволюционной дистанции".
4. В появившемся окне "Открыть файл" выбираем необходимый файл, содержащий выровненную вручную нуклеотидную последовательность в формате ASCII
5. В появившемся окне "Тип сиквенса" выбираем сиквенс, содержащий нуклеотидную последовательность и в окне "Выберите сиквенсы" нажимаем кнопку "Select all", нажимаем кнопку "ОК"
6. Затем в открывшемся меню "Опции" выбираем способ оценки эволюционного расстояния

“Jukes и Cantor”

7. После завершения оценки дистанции, из основного меню программы TREECON выбираем опцию “Вывод топологии дерева”, нажимаем кнопку “Начать вывод топологии дерева”

8. В открывшемся меню “Опции” выбираем метод построения дерева “Neighbor-joining”

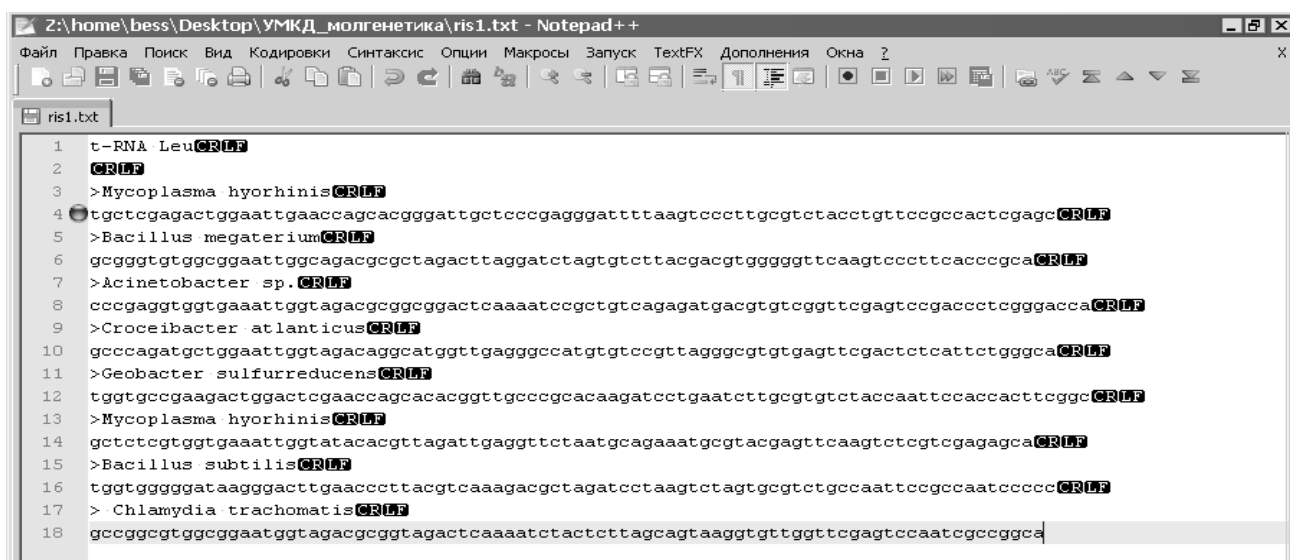
9. После завершения вывода топологии дерева, из основного меню программы TREECON выбираем опцию “Изображение филогенетического дерева”, нажимаем кнопку “Load new tree”

10. Для появившегося дерева добавляем шкалу генетической дистанции при помощи кнопки “Add distance scale”

11. При помощи Print Screen сохраняем изображение дерева в программе Paint

12. Сохраняем снимок экрана с изображением филогенетического древа (Print Screen) в программе Paint (недостаток программы TREECON – отсутствие возможности прямого экспорта в графический файл).

II. Используя правила работы с последовательностями найти и подготовить для анализа последовательности генов, при подготовке обязательно учитывать не только организмы, чьи гены сравниваются, но сами гены, так как различные генетические маркеры обладают разной вариабельностью (смотри приложение 1). В результате должен быть получен файл в формате .txt, внешний вид которого представлен на рисунке 1.



```
1 t-RNA LeuCRIF
2 CRIF
3 >Mycoplasma hyorhinitisCRIF
4 tgctcgagactggaattgaaccagcagcggttgcctccgagggattttaagtccttgcgtctacctgttccgcccactcgagcCRIF
5 >Bacillus megateriumCRIF
6 ggggtgtggcggaattggcagacgcgctagacttaggatctagtgtcttacgacgtgggggttcaagtccttcacccgcaCRIF
7 >Acinetobacter sp. CRIF
8 cccgaggtggtgaaattggttagacgcggcgactcaaaatccgctgtcagagatgacgtgtcggttcgagtcggaccctcgggaccaCRIF
9 >Croceibacter atlanticusCRIF
10 gcccagatgctggaattggttagacagggcatggttgaggggccatgtgtccgttagggcgtgtgagttcgactctcattctgggcaCRIF
11 >Geobacter sulfurreducensCRIF
12 tgggtccgaagactggactcgaaccagcacacgggttggccgcacaagatcctgaatcttgcgtgtctaccaattccaccacttcggcCRIF
13 >Mycoplasma hyorhinitisCRIF
14 gctctcgtggtgaaattggtatacacggttagattgaggttcttaatgcagaaatgcgtacgagttcaagttctcgtcgagagcaCRIF
15 >Bacillus subtilisCRIF
16 tgggtgggggataagggacttgaacccttacgtcaaagacgctagatcctaagtctagtgcgtctgccaattccgccaatccccCRIF
17 >Chlamydia trachomatisCRIF
18 gcccggcgtggcggaatggttagacgcggttagactcaaaatctactcttagcagtaaggtgttggttcgagttccaatcgccggca
```

Рисунок 1. Вид файла с подготовленными к анализу последовательностями.

III. Используя правила работы с программами построить филогенетическое дерево с использованием программы AliBee – Mutiple aligenment Release 2.0 (www.genebee.msu.ru). Используя шкалу генетической дистанции определить степень расхождения видов.

IV. Используя правила работы с программами построить филогенетическое дерево с использованием программы Treescop. Используя шкалу генетической дистанции определить степень расхождения видов.

V. Проанализировав полученные деревья определить группы близкородственных видов, генетические дистанции. Определить какая из программ наиболее подходит для анализа последовательностей, объяснить результаты с точки зрения используемых алгоритмов.

2) Выступление с докладами/рефератами по темам:

1. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
2. Саузерн-блот гибридизация. Принцип метода. Применение.
3. Методы генетического картирования генов эукариот.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Структура генов у эукариот
2. Структура генов у прокариот.
3. Структура некодирующей ДНК у прокариот
4. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
5. Степень гомологии.
6. Филогенетические деревья и их свойства.
7. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

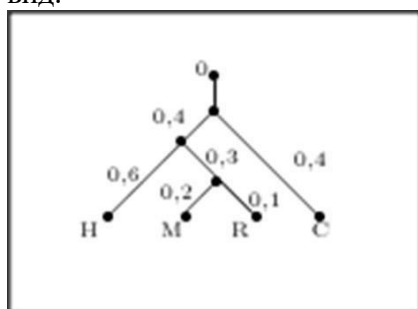
3). Подготовить реферативные сообщения по теме:

1. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
2. Саузерн-блот гибридизация. Принцип метода. Применение.
3. Методы генетического картирования генов эукариот.

4). Решить ситуационную задачу:

При помощи программы было построено филогенетическое дерево, имеющее следующий

вид:



Представители каких групп наиболее близки друг к другу филогенетически?

Представители каких групп имеют наименьшее сходство?

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.10. Элементы генетической инженерии (постановка реакций рестрикции и

лигирования)

Цель: Изучить методы проведения реакции рестрикции и лигирования

Задачи:

1. Постановка реакции рестрикции.
2. Постановка реакции лигирования.

Обучающийся должен знать:

1. Особенности эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности лигаз.

Обучающийся должен уметь: Пользоваться методами постановки реакции рестрикции и лигирования.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами постановки реакции рестрикции и лигирования.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Определение и функции эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности активности эндонуклеаз рестрикции.
3. Определение и функции лигаз.
4. Особенности лигазной активности.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика проведения реакции рестрикции.

1 Продукт ПЦР очистите на колонке согласно инструкции производителя.

2 Элюируйте ДНК 40 мкл буфера для элюции (5мМ Трис-НСl, pH 8,0).

3 Методом гель-электрофореза проанализируйте 2 мкл элюата, чтобы убедиться, что не произошло существенной потери ДНК.

Подготовьте реакционную смесь для рестрикции ПЦР-фрагмента, смешав реагенты в указанном порядке:

28 мкл Очищенный ПЦР-фрагмент (15-20 нг/мкл) (ДНК с предыдущей стадии)

4 мкл 10X буфер для рестрикции (BufferW, Сибэнзим или Buffer2, NEB)

4 мкл 10X раствор БСА (1 мг/мл), до конечной концентрации 100 мкг/мл

2 мкл Эндонуклеаза рестрикции BamHI (Сибэнзим или NEB, соответственно)

2 мкл Эндонуклеаза рестрикции HindIII (Сибэнзим или NEB, соответственно)

40 мкл Суммарный объем

Если Вы используете рестриктазы других производителей, выберите буфер для одновременной рестрикции двумя рестриктазами согласно рекомендациям производителя.

4) Инкубируйте смеси при +37°C. Для рестрикции ПЦР-фрагмента время инкубации – 1 час. Время инкубации вектора можно увеличить до 1,5-2 часов.

5) Через 1 час инкубации очистите ПЦР-фрагмент на колонке согласно инструкции производителя набора для очистки. Для элюции с колонки используйте 20 мкл буфера для элюции (5мМ Трис-НСl, pH 8,0). Пробирку с очищенным ДНК-фрагментом поместите в лед.

Для элюции фрагментов ДНК после рестрикции нельзя использовать воду, так как в ней может произойти частичная денатурация концов молекул ДНК.

6) Приготовьте 1,2% агарозный гель, желательно с широкими (7-10 мм) лунками (для нанесения проб по 10-15 мкл) для очистки вектора от продуктов неполной рестрикции. Очистка вектора на геле позволяет существенно снизить количество колоний, лишенных вставки, при трансформации.

7) Нанесите в несколько соседних лунок (в 3 или 4) весь объем реакции рестрикции вектора. Для сравнения электрофоретической подвижности линейизованного и цельного вектора нанесите рядом 2 мкл исходной плазмиды.

8) Проведите электрофорез, используя следующие параметры: не более 8-10 V на см пробега (от электрода до электрода), стабилизация по напряжению.

9) Поместите гель в трансиллюминатор, не снимая с подложки. Аккуратно и быстро чистым

скальпелем (или тонким носиком для пипетки) отметьте под УФ-лампой фрагмент геля, содержащий наиболее интенсивно окрашенную полосу, представляющую собой линейаризованную плазмидную ДНК.

В трансиллюминаторе лучше использовать «мягкий» режим излучения – при 365 нм. Время экспозиции должно быть сокращено до минимума (5-10 сек), так как под воздействием УФ света происходит апуринизация ДНК, что снижает эффективность клонирования.

10) Выньте гель из трансиллюминатора, вырежьте отмеченный фрагмент скальпелем и перенесите в чистую пробирку. Определите вес вырезанного фрагмента (взвесив пустую пробирку и пробирку с гелем).

11) После вырезания полосы рассмотрите гель под трансиллюминатором, чтобы убедиться, что большая часть линейаризованной плазмиды была вырезана.

12) Очистите вектор на колонке для очистки фрагментов ДНК из агарозного геля, следуя инструкции производителя. Для элюции с колонки используйте 20 мкл буфера для элюции (5мМ Трис-HCl, pH 8,0).

13) Проанализируйте полученные препараты ДНК с помощью гельэлектрофореза в 1.2% агарозе. Нанесите рядом по 1 и 2 мкл очищенной ДНК вектора и вставки. По интенсивности полос оцените их концентрацию. Для этого нанесите параллельно с опытными образцами маркер длин ДНК (25, 50 и 100 нг суммарного препарата) и визуальнo сравните интенсивность полос сразу после вхождения образцов в гель (разгон пробы не более 0,3-0,5 см, пока фрагменты маркера длин не успели разделиться).

Работа 2. Методика проведения реакции лигирования.

Исходя из оценки концентрации ДНК вектора и вставки, рассчитайте объемы добавляемых компонентов в реакцию лигирования. Количество добавляемых ДНК вектора и вставки в данной задаче должно быть в пределах 15-25 нг на реакцию.

Приготовьте смесь для лигирования:

X мкл Стерильная вода

1 мкл 10X буфер для лигазы

Y мкл Линейаризованная плазмида (вектор) (20-25 нг)

Z мкл ДНК вставки (20-25 нг, допустимо до 50 нг)

1 мкл Quick-TA T4 ДНК лигаза

10 мкл Суммарный объем

Инкубируйте смесь при +16°C в течение ночи.

Для хранения реакционную смесь следует заморозить, инаktivация ферментов не требуется.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*

2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*

1. Определение и функции эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности активности эндонуклеаз рестрикции.
3. Определение и функции лигаз.
4. Особенности лигазной активности.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016

2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.

2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016

3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. -

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.11. Построение и анализ рестрикционных карт

Цель: Изучить методы построения рестрикционных карт

Задачи:

1. Подобрать программу построения рестрикционных карт
2. Проанализировать полученные рестрикционные карты

Обучающийся должен знать:

1. Особенности эндонуклеаз рестрикции
2. Применение эндонуклеаз рестрикции
3. Методы применения рестрикционного картирования.

Обучающийся должен уметь: Пользоваться программами построения рестрикционного карты.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами анализа полученной рестрикционной карты.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Определение и функции эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности активности эндонуклеаз рестрикции.
3. Особенности генетического картирования
4. Особенности физического картирования

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика построения рестрикционных карт.

Составляем карту рестрикции для исследуемого ампликона в программе NEBcutter V2.0 (www.tools.neb.com/NEBcutter2/). Для этого осуществляем следующие действия:

1. Копируем из текстового файла последовательность нуклеотидов в окно ввода
2. Нажимаем кнопку «Submit»
3. Программа выводит на экран фрагмент с указанием названия сайта рестрикции и порядкового номера нуклеотида, указывая место, где этот сайт начинается, и последовательность узнаваемую эндонуклеазой рестрикции.

Смотри рисунок 2.

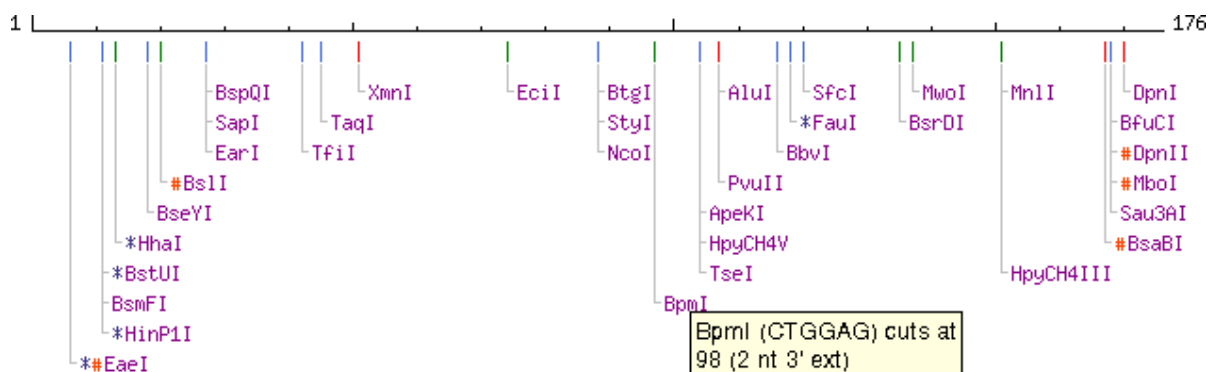
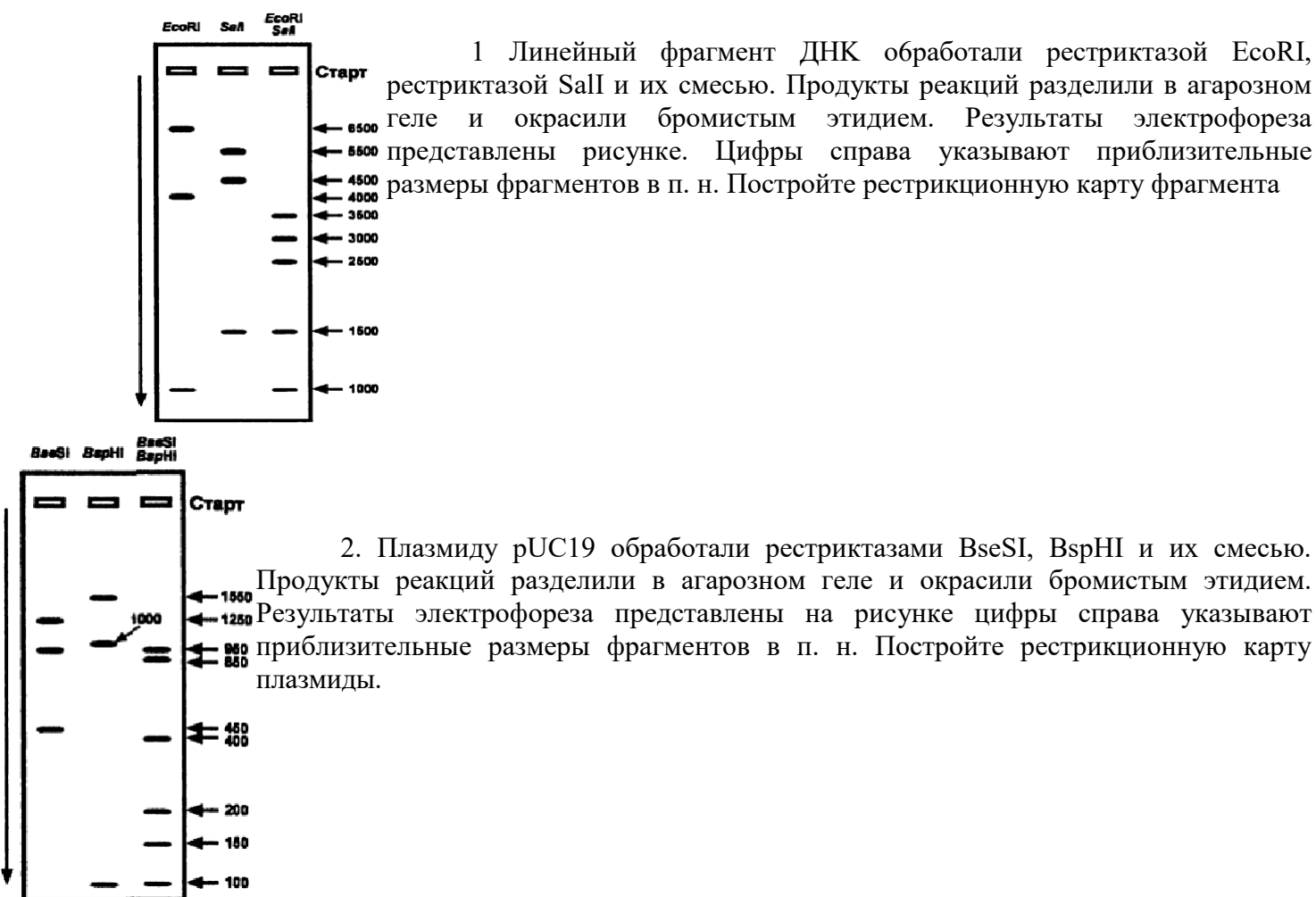
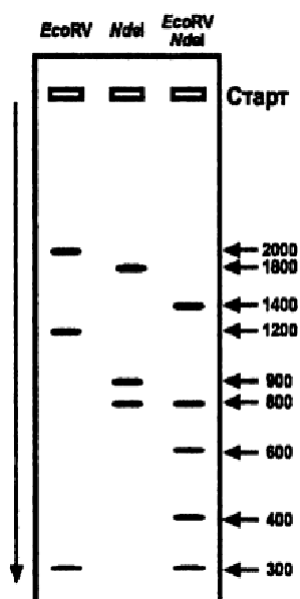


Рисунок 2. Вид рестрикционной карты, построенной с помощью программы NEBcutter V2.0 (Фрагмент HTML-страницы)

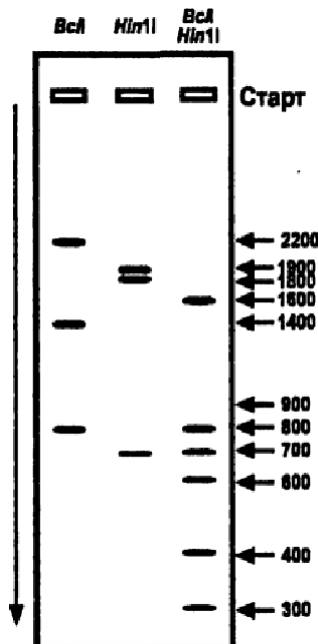
4. Используя данные, полученные в пункте IX, проверяем: входит ли исследуемый триплет в состав сайта рестрикции. Если входит, то переходим к моделированию геля электрофореза. Так как нормальная последовательность нашего гена содержит сайт рестрикции и замена нуклеотида при ведет к потере рестрикционного сайта. Если триплет нормальной ORF не входит в состав сайта рестрикции, то переходим к следующему пункту, в этом случае о мутации будет говорить возникновение сайта рестрикции.

3. Решить ситуационные задачи на рестрикционное картирование.





3. Линейный фрагмент ДНК обработали рестриктазой EcoRV, рестриктазой NdeI и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены на рисунке. Цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту фрагмента.



4. Плазмидную ДНК обработали рестриктазами BclI, HinfI и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены на рис. 8.4. Цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту плазмиды.

4. Выступление с докладами/рефератами по темам:

1. Методы физического картирования генов эукариот.
2. ДНК-микрочипирование
3. Анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP)

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Определение и функции эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности активности эндонуклеаз рестрикции.
3. Особенности генетического картирования
4. Особенности физического картирования

3) Подготовить реферативные сообщения на тему:

1. Методы физического картирования генов эукариот.
2. ДНК-микрочипирование
3. Анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP)

4) Решить ситуационные задачи:

1 При электрофорезе в агарозном геле отдельные фрагменты ДНК мигрируют со скоростью, обратно пропорциональной их молекулярной массе: чем крупнее молекулы, тем сильнее они тормозятся сложной пространственной сеткой геля и тем медленнее продвигаются от старта.

2 Ферменты, называемые рестриктазами, разрезают двуцепочечную спираль ДНК по специфическим последовательностям, состоящим, как правило, из четырех-восьми нуклеотидов, являющихся палиндромами.

3 Плазмидными векторами, используемыми при клонировании, могут быть небольшие молекулы ДНК, которые содержат уникальные сайты рестрикции, чтобы включить чужеродную ДНК, иметь свою точку начала репликации ДНК, а так же ген, сообщаящий клетке устойчивость к какому-либо антибиотику.

4 Расположите олигонуклеотиды по порядку возрастания температуры плавления:

AAATTGC GGG GCGCGCG AAAAAAAAAAAAAAAAAA

TTTAACG CCC GCGCGCG TTTTTTTTTTTTTTTT

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016

2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.

2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метаболомика: учебник.- Москва 2016

3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.12. Дизайн праймеров

Цель: Изучить методы подбора праймеров

Задачи:

1. Подобрать праймеры
2. Проверить температуру отжига праймеров
3. Проверить уникальность праймеров

Обучающийся должен знать:

- 1) Структуру праймеров
- 2) Правила ПЦР

Обучающийся должен уметь:

Определять температуру отжига праймеров.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами проверки уникальности праймеров

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Принципы метода ПЦР.
2. Типы анализа с использованием ПЦР.
3. Применение методов ПЦР в клинике и диагностике.
4. Особенности применения метода ПЦР-ПДРФ для анализа ДНК.
5. Принципы метода ПЦР-ПДРФ
6. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
7. Правила подбора праймеров.
8. Расчет температуры отжига.
9. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика подбора праймеров.

Полученный в одном из вариантов программы для анализа последовательностей файл анализируется. Последовательности выравнены по совпадению нуклеотидов в одном и том же положении последовательностей. Совпадающие нуклеотиды в одном положении обозначаются знаком «*». Не совпадающие нуклеотиды обозначаются «.» .

Выбираем фрагмент, содержащий множественно несовпадений, обозначенных «.», чем больше несовпадений, тем более вариабелен исследуемый участок, при чем для всех анализируемых последовательностей. Наиболее вариабельные участки наиболее перспективны для метода ПЦР-ПДРФ.

Вариабельный участок должен быть окружен максимально консервативными участками, которые характеризуются максимальным количеством знаков «*», без знаков «.».

Таким образом, нужно подобрать вариабельный участок, содержащий много несовпадающих пунктов, обозначенных «.», но этот участок должен быть окружен с двух сторон консервативными участками, обозначенными «*». Анализируемый участок должен иметь размер 300-700 п.н..

В консервативных участках нужно подобрать праймеры в соответствии с правилами подбора праймеров, представленных в приложении 4.

Проверяем праймеры на уникальность. Для этого осуществляем следующие действия:

1. Заходим на сайт www.ncbi.nlm.nih.gov в раздел BLAST.
2. В разделе BLAST входим в подраздел Nucleotide BLAST.
3. В форму озаглавленную “Enter Query Sequence” вносим проверяемую последовательность и нажимаем кнопку “BLAST.”
4. Анализируем полученный результат выбранная последовательность должна выявляться только в исследуемых генах и организмах. Если последовательность обнаруживается в других генах исследуемых организмов или в других организмах, данная последовательность не уникальна и не может использоваться для праймеров.

Готовим последовательности праймера для заказа. Для этого просто переносим последовательность прямого праймера (5'-концевая последовательность праймера) в редактор и присваиваем ему название. Последовательность обратного праймера (3'-концевая последовательность праймера) требует преобразований. Можно в ручную составить комплиментарную последовательность, а затем переписать ее в обратном порядке. Но можно использовать утилиты сайта www.molbiol.kirov.ru. На сайте www.molbiol.kirov.ru в разделе «Утилиты», находим подраздел «Манипуляции с последовательностями», в котором преобразуем выбранную последовательность праймеров в соответствии с инструкцией:

1. вводим последовательность в окно нажимаем кнопку «complement»;
2. полученную последовательность снова вводим в окно, нажимаем кнопку «reverse»;
3. полученная последовательность — обратный праймер.

Преобразованную последовательность обратного праймера (3'-концевая последовательность праймера) в редактор и присваиваем ему название.

Выбираем для рестрикционного анализа все выбранные участки исследуемых последовательностей. Для этого переносим в отдельный файл участок последовательности от первого нуклеотида прямого праймера до последнего нуклеотида первоначальной последовательности для обратного праймера. Лучше переносить фрагмент лучше в отдельный текстовый файл с обозначением названия последовательностей, аналогично анализу гомологии, но в место полной последовательности ее фрагменты, ограниченные праймерами.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

- 1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*
- 2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*
 1. Принципы метода ПЦР.
 2. Типы анализа с использованием ПЦР.
 3. Применение методов ПЦР в клинике и диагностике.
 4. Особенности применения метода ПЦР-ПДРФ для анализа ДНК.
 5. Принципы метода ПЦР-ПДРФ
 6. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
 7. Правила подбора праймеров.
 8. Расчет температуры отжига.

9. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.13 Итоговое занятие по разделу «Методы молекулярной биологии. Часть 2»

Цель: Проверить и упорядочить знания по теме «Методы молекулярной биологии. Часть 2».

Обучающийся должен знать: Методы молекулярной биологии.

Обучающийся должен уметь: Применять методы молекулярной биологии.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами молекулярной биологии.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Собеседование по вопросам раздела:

1. Принципы и методы цитологической диагностики. Цитохимия, иммуногистохимия.
2. Проточная цитометрия. Световая, люминисцентная и электронная микроскопия.
3. Метод клеточных культур. Типы и виды стволовых клеток. Практическое применение тканевой инженерии.
4. Тест на цитотоксичность. Методика, области применения.
5. Получение моноклональных антител. Методика, области применения.
6. Цитогенетика. История развития. Показания к проведению.
7. Интерфазные цитогенетические методы. Определение полового хроматина, методика.
8. Fluorescence in situ hybridization, FISH – принцип метода, дать характеристику патологии по фотографии мультиплексной FISH.
9. Метафазный метод. Виды хромосом. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская номенклатуры. Система записи кариотипов.
10. Методика получения препарата для цитогенетического анализа.
11. Виды окрасок, применяемые в цитогенетике, их характеристики.
12. Рестриктазы, определение, функции, номенклатура.
13. Лигазы, определение, функции.
14. Создание рекомбинантной ДНК, рестриктазно-лигазный метод.
15. Вектор, определение, функции, виды.
16. Пример генной инженерии на методике генотерапии семейной гиперхолестеринемии.
17. Саузерн-блот гибридизация, описание методики или схема выполнения.

2. Тестирование по разделу

Примеры тестов (жирным шрифтом выделены правильные ответы)

1. Филадельфийскую хромосому выявили с помощью:

а) вычитающей гибридизации;

б) FISH;

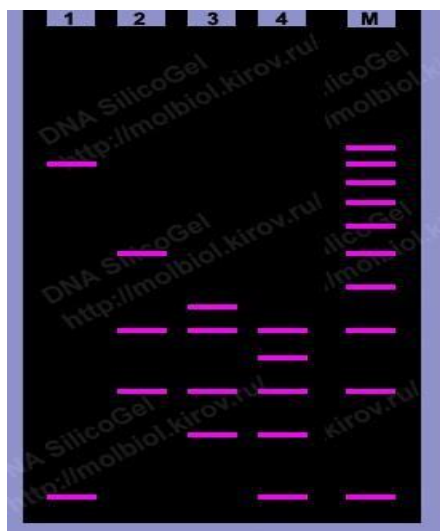
в) ПЦР;

г) цитогенетического анализа.

2. При определении положения делеции нужно использовать:

- а) вычитающую гибридизацию;
- б) FISH;
- в) ПЦР;
- г) цитогенетический анализ.

2. На рисунке представлен гель-электрофорез результатов рестрикции линейной ДНК в агарозном геле. Дорожка 1 — рестриктаза *FauNDI*, дорожка 2 — рестриктаза *EcoRI*, дорожка 3 — рестриктаза *HincII*, дорожка 4 — рестриктаза *FokI*.



Вопрос 1. В исследуемой ДНК сайтов распознаваемых рестриктазой *EcoRI*

- а) 1
- б) 2
- в) 3
- г) 4

Вопрос 2. В исследуемой ДНК один сайт рестрикции содержит рестриктаза

- а) *FauNDI*,
- б) *EcoRI*
- в) *HincI*
- г) *FokI*

Вопрос 3. В плазмиде сайтов распознаваемых рестриктазой *FokI*

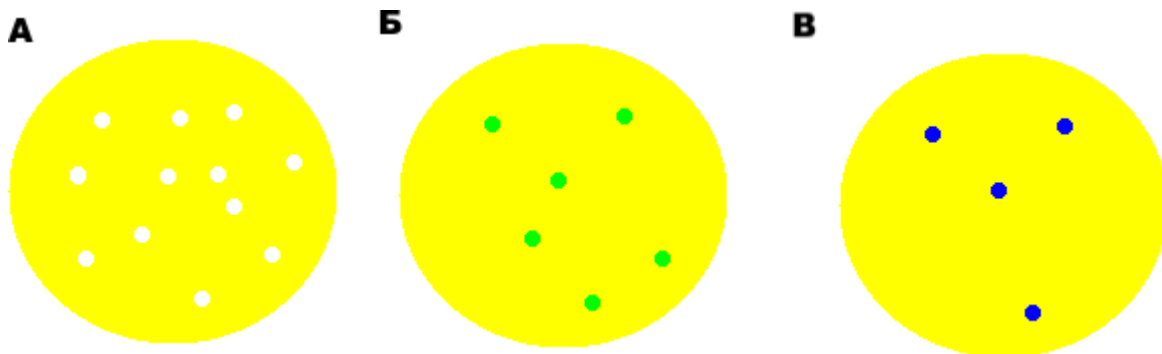
- а) 1
- б) 2
- в) 3
- г) 4

Вопрос 4. Для наиболее подробного картирования необходимо использовать рестриктазу:

- а) *FauNDI*,
- б) *EcoRI*
- в) *HincI*

г) FokI

3. На рисунке представлены результаты посева культуры после трансформации. На рисунке А -рост культуры на среде с антибиотиком, устойчивость к которому закодированы в вводимой плазмиде. На рисунке Б — результаты гибридизации с зондом, содержащим фрагмент вставки. На рисунке В — результат иммунной реакции с антителами к белку, закодированному во вставке. Отметьте колонии, которые можно использовать для экспрессии белка. Объясните почему количество колоний на рисунках Б и В не совпадают.



Вопрос 1 Колонии, содержащие плазмиду на рисунке :

- а) А;
- б) Б;
- в) В;
- г) **все выше перечисленные.**

Вопрос 2 Колонии, содержащие плазмиду со вставкой на рисунке :

- а) А;
- б) **Б;**
- в) В;
- г) **все выше перечисленные.**

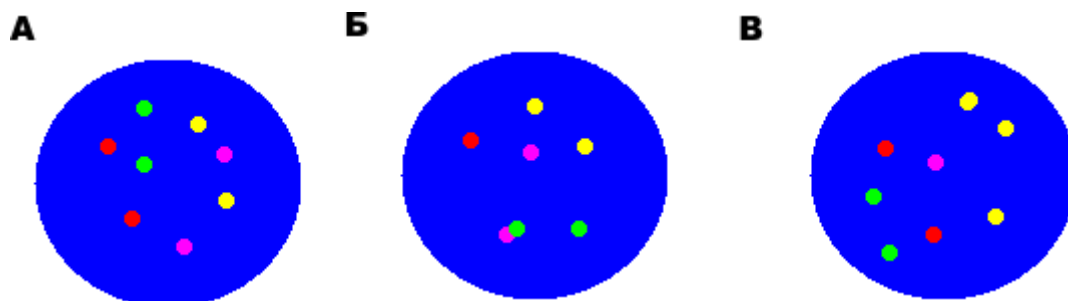
Вопрос 3 Колонии, содержащие экспрессионноактивную плазмиду на рисунке :

- а) А;
- б) Б;
- в) **В;**
- г) **все выше перечисленные.**

Вопрос 3 Колонии, содержащие только вектор на рисунке :

- а) **А;**
- б) Б;
- в) В;
- г) **все выше перечисленные.**

4. На рисунках представлены результаты FISH. На рисунке А — FISH нормальной клетки, на рисунках Б и В — FISH онкотрансформированных клеток. Красным флюоресцентным красителем помечен зонд к хромосоме 8, зеленым — к 9-й хромосоме, розовым — хромосоме 22, желтым — к хромосоме 7.



Вопрос 1. На результатах FISH на рисунке Б наблюдается:

- а) делеция хромосомы 7
- б) дупликация хромосомы 8
- в) транслокация хромосом 9 и 22**
- г) транслокация хромосом 7 и 8.

Вопрос 2. На результатах FISH на рисунке Б наблюдается:

- а) дупликация хромосомы 7
- б) делеция хромосомы 8**
- в) транслокация хромосом 7 и 22
- г) транслокация хромосом 7 и 8.

Вопрос 3. На результатах FISH на рисунке В наблюдается:

- а) дупликация хромосомы 7**
- б) дупликация хромосомы 8
- в) транслокация хромосом 9 и 22
- г) транслокация хромосом 7 и 8.

Вопрос 4. На результатах FISH на рисунке В наблюдается:

- а) делеция хромосомы 7
- б) дупликация хромосомы 8
- в) транслокация хромосом 9 и 22
- г) делеция хромосомы 22.**

3. Практическая подготовка.

Примеры ситуационных задач для решения:

1. Рассчитайте среднее расстояние между сайтами рестриктаз EcoRI (5'-GAATTC) и MboI (5'-GATC) в геномной ДНК.
2. Рассчитайте среднее расстояние между сайтами рестриктазы HphI (5'-GGTGA) в геномной ДНК.

3. Имеется последовательность двухцепочечной ДНК следующего состава:

5`- ГЦА.АТА.ГТГ.ТГА.АТТ.ЦАЦ.АТГ-3`

3`-ЦГТ.ТАТ.ЦАЦ.АЦТ.ТАА.ГТГ.ТАЦ-5`

Каким способом и на сколько частей можно разрезать эту ДНК?

4. Рестрикционный фермент Hae III разрезает ДНК по последовательности ГГЦЦ. Насколько часто этот фермент будет разрезать двухцепочечную ДНК? (Какова средняя длина фрагментов разрезанной ДНК?).

5. Гаплоидный геном (4хромосомы) *Drosophila melanogaster* содержит около 120 миллионов н.п. ДНК. Если вы порежете человеческую ДНК рестрикционным ферментом EcoRI, узнающим гексамерную последовательность GAATTC, то сколько различных рестрикционных фрагментов будет получено?

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

- 1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*
- 2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*
 1. Принципы и методы цитологической диагностики. Цитохимия, иммуногистохимия.
 2. Проточная цитометрия. Световая, люминисцентная и электронная микроскопия.
 3. Метод клеточных культур. Типы и виды стволовых клеток. Практическое применение тканевой инженерии.
 4. Тест на цитотоксичность. Методика, области применения.
 5. Получение моноклональных антител. Методика, области применения.
 6. Цитогенетика. История развития. Показания к проведению.
 7. Интерфазные цитогенетические методы. Определение полового хроматина, методика.
 8. Fluorescence in situ hybridization, FISH – принцип метода, дать характеристику патологии по фотографии мультиплексной FISH.
 9. Метафазный метод. Виды хромосом. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская номенклатуры. Система записи кариотипов.
 10. Методика получения препарата для цитогенетического анализа.
 11. Виды окрасок, применяемые в цитогенетике, их характеристики.
 12. Рестриктазы, определение, функции, номенклатура.
 13. Лигазы, определение, функции.
 14. Создание рекомбинантной ДНК, рестриктазно-лигазный метод.
 15. Вектор, определение, функции, виды.
 16. Пример генной инженерии на методике генотерапии семейной гиперхолестеринемии.
 17. Саузерн-блот гибридизация, описание методики или схема выполнения.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкетаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

**Дополнения и изменения в рабочей программе учебной дисциплины
«Молекулярная биология»**

Специальность 30.05.01 Медицинская биохимия (ФГОС 3++)

Направленность (профиль) Медицинская биохимия

Форма обучения очная

Кафедра Биологии

Автор (ы) Коледаева Е.В., Козвонин В.А.

С 2025 / 2026 учебного года в приложение А к рабочей программе вносятся следующие дополнения и изменения:

Темы №№ 2.7.; 2.9; 2.11.; 2.12. изменить и читать в следующей редакции:

Раздел 2: Методы молекулярной биологии

Тема 2.7. Цитогенетический анализ

Цель: Изучить метод постановки цитогенетического метафазного анализа

Обучающийся должен знать: Структуру и особенности физико-химических свойств хромосом

Обучающийся должен уметь: Использовать методы работы с клеточными культурами

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Постановкой биохимического эксперимента с научной, диагностической и педагогической целью. Навыками физико-химических исследований. Методами проведения вертикального электрофореза. *Анализировать кариотип с помощью ИИ.*

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Уровни компактизации ДНК, клеточный цикл и его фазы.
2. Типы строения хромосом.
3. Методы и типы окраски хромосом.
4. Денверская и Парижская номенклатуры.
5. Методика FISH.
6. Определение полового хроматина.
7. Методы метафазного и интерфазного анализа хромосом.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика постановки цитогенетического анализа.

Приготовление препаратов хромосом из лимфоцитов периферической крови

День первый

Расходные материалы: дозаторы на 5 мл, 1 мл, до 200 мкл, до 10 мкл; наконечники для дозаторов; штатив для дозаторов; пробирки центрифужные на 15 мл; перманентный маркер; ножницы, пинцет, вакутейнеры с гепарином, перчатки медицинские.

Реактивы: среда RPMI-1640 с L-глутамином; сыворотка эмбриональная телячья, антибиотик гентамицин в концентрации 40 мг/мл (или пенициллин 100 ед/мл + канамицин 100 мкг/мл); фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 1 мг/мл; 70-процентный этиловый спирт.

Методика:

1. Все манипуляции проводить в перчатках. Подготовить культуральный бокс: поверхность ламинарного шкафа протереть 70-процентным этиловым спиртом либо другой обеззараживающей смесью. Поместить расходный материал (кроме вакуумных пробирок с гепарином) в ламинарный шкаф.

Включить УФ-свет в ламинарном шкафу. Включить УФ-лампу в помещении. Обработку УФ проводить в течение 20–30 мин.

2. В процедурном кабинете, в стерильных условиях в вакутейнер с гепарином забрать 3–5 мл крови из периферической вены.

3. Выключить УФ в ламинарном шкафу и помещении. В ламинарном шкафу включить поток воздуха, расположить реактивы.

4. На каждый образец крови приготовить по две центрифужные пробирки на 15 мл. Каждую пробирку замаркировать следующим образом: номер пробирки, дата, фамилия и инициалы образца, лабораторный индекс образца (если имеется).

5. В каждую центрифужную пробирку добавить: среды RPMI-1640 с L-глутамином 4,5 мл; сыворотки эмбриональной телячьей 0,5 мл; антибиотик 3–5 мкл; ФГА 60–100 мкл. В последнюю очередь добавить 0,3–0,5 мл гепаринизированной крови.

6. Пробирку плотно закрыть крышкой, несколько раз осторожно перемешать содержимое пробирки для лучшего смешивания компонентов культуральной среды.

7. Пробирки в штативе поставить культивировать в термостат при +37 °C на 72 часа.

Примечания: 1. В связи с особенностями методики (необходимость культивирования в течение 72 часов) первый практический день (так же как и диагностический) лучше проводить в первой половине понедельника, вторника или пятницы. Необходимо особо подчеркнуть, что кровь должна быть собрана только в вакутейнеры с гепарином (!). Другие антикоагулянты такие как, например, цитрат натрия, ЭДТА) не подходят для приготовления препаратов хромосом.

2. При постановке культуры крови в диагностических целях материал в лабораторию поступает с направлением от врача, в котором кроме данных о пациенте (ФИО, возраст) указывается причина его направления на кариотипирование и контактные данные врача.

3. Центрифужные пробирки можно заменить стерильными культуральными флаконами с необработанной поверхностью для суспензионных культур. При этом следует помнить, что после истечения времени культивирования суспензию клеток необходимо переместить в центрифужные пробирки для дальнейшей работы.

4. Если среда RPMI-1640 не содержит L-глутамин, его можно заменить сухим, стерильным L-глутамином, добавляя на кончике стерильной иглы в каждую пробирку или во флакон с порцией среды, в объеме, приготовленном для полного израсходования в день постановки культуры. Следует помнить, что при использовании среды в течение нескольких месяцев L-глутамин постепенно начинает разлагаться, поэтому желательно его добавление в указанном количестве в каждую пробирку, даже если он изначально содержался в среде.

5. Вместо RPMI-1640 можно использовать среду RPMI-1640(t), в которую добавлены аланилглутамин и тимидин. Эта среда, кроме всего прочего, может позволить получить более «растянутые» по размерам хромосомы на препаратах.

6. Концентрация ФГА подбирается, исходя из рекомендаций фирмы-производителя. В методике указана концентрация стокового раствора и объем добавляемого ФГА фирмы ПАНЭКО, используемый на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова. Концентрация и фирма-производитель стимулятора клеточного деления могут отличаться в каждой конкретной лаборатории.

Также рекомендуется дублировать митогены, и кроме ФГА использовать такие стимуляторы, как конкавалин А, покивид и др.

День второй

Расходные материалы: дозаторы на 5 мл, 1 мл, до 200 мкл; наконечники для дозаторов; штатив для дозаторов; пинцет; стекла предметные с матовой полосой; стакан лабораторный на 100 мл; банка для реактивов с винтовой пластмассовой крышкой на 100 и 250 мл; штатив-рельсы без делителей для предметных стекол; спиртовка; спички или зажигалка; парафильм; карандаш графитовый. Реактивы: колхицин (колцемид) в концентрации 1 мг/мл, ледяная уксусная кислота, метанол или 95–96-процентный (абсолютный) этиловый спирт, соль хлорид калия (KCl), вода дистиллированная.

Методика:

1. После 72 часов культивирования в каждую пробирку добавить по 60–100 мкл колхицина. Осторожно перемешать содержимое флакона и оставить в термостате при +37 °C на 40–50 мин.

2. Далее все манипуляции проводятся в лаборантской комнате. Приготовить гипотонический раствор: 0,55 процентный KCl (550 мг KCl растворить в 100 мл дистиллированной воды); фиксатор: смесь спирта и уксусной кислоты в соотношении 3:1 (например, к 60 мл абсолютного этилового спирта или метанола добавить 20 мл ледяной уксусной кислоты). Поставить фиксатор охлаждаться на +4 °C. В чистый лабораторный стаканчик объемом 100 мл налить примерно 80 мл дистиллированной воды и поставить в стаканчик с водой предметные стекла из расчета два-три стекла на одну пробирку. Стаканчик со стеклами закрыть парафильмом и поставить в холодильник на +4 °C охлаждаться.

3. По окончании времени колхицинизации клетки осадить центрифугированием при 1000–1200 об/мин (RPM) 10 мин.

4. Супернатант (надосадочную жидкость) удалить пипеткой, оставляя 0,3–0,5 мл над осадком. Осадок разбить энергичным встряхиванием.

5. Струйно добавить 5 мл гипотонического раствора (0,55-процентный KCl), перемешать и инкубировать 15–20 мин при комнатной температуре.

6. Префиксация: по окончании времени гипотонической обработки в каждую пробирку добавить по 0,5 мл холодного фиксатора, аккуратно перемешать и сразу же осадить центрифугированием (10 мин, 1000–1200 RPM).

7. Повторить п. 4.

8. В каждую пробирку добавить по 5 мл холодного фиксатора. Хорошо перемешать. Фиксацию проводить при +4 °C в течение 20–30 мин. Провести две-три смены фиксатора, каждый раз осажая клетки центрифугированием и повторяя п. 4.

9. После последней фиксации клетки осадить, удалить супернатант, оставить примерно 0,3–0,5 мл супернатанта, осадок разбить пипетированием.

10. Поставить пробирки охлаждаться на 10–15 мин при +4 °C.

11. Подготовить штатив-рельсы, достать суспензию клеток и стакан с предметными стеклами из холодильника, пипетированием повторно разбить осадок, с помощью дозатора отобрать 30–80 мкл суспензии.

12. Пинцетом достать предметное стекло из стаканчика с водой, излишки воды аккуратно удалить, опустив кончик стекла на фильтровальную бумагу, остатки капель воды раскатать по всей поверхности стекла, покачивая его. Нанести суспензию клеток с высоты на поверхность мокрого охлажденного стекла, прижечь фиксатор над пламенем спиртовки.

13. С помощью графитового карандаша подписать предметные стекла: дата приготовления препарата, фамилию и инициалы образца, лабораторный индекс (если имеется), номер пробирки, номер препарата. Оставить препараты подсыхать в вертикальном положении.

14. В микроскопной комнате оценить качество препаратов хромосом с помощью микроскопа с фазовым контрастом: количество метафазных пластинок на стекле, цельность метафазных пластинок, отсутствие или небольшое число взаимных наложений хромосом, степень конденсации хромосом, обособленность метафазных пластинок друг от друга.

15. По завершении работы в каждую пробирку добавить по 3–5 мл фиксатора и поставить на хранение на +4 °C или на –20 °C. Примечания: 1. Гипотонический раствор и фиксатор готовятся в день использования и не хранятся!

2. Концентрация колхицина (колцемида) подбирается, исходя из рекомендаций фирмы-производителя. В методике указана концентрация стокового раствора и объем добавляемого колхицина фирмы ПАНЭКО, используемого на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова. Стоковая концентрация, добавляемый объем и фирма-производитель данного реактива может отличаться в каждой конкретной лаборатории.

3. Гипотоническую обработку можно проводить в термостате при температуре +37 °C.

4. Префиксацию можно проводить фиксатором комнатной температуры. Вторую и последующие фиксации можно проводить при температуре –20 °C.

5. Важно, чтобы все манипуляции из п.12 методики выполнялись как можно быстрее, чтобы предотвратить скопление жидкости в центре стекла и достичь хорошего разброса клеток по всей его поверхности.

6. Качество препаратов метафазных хромосом зависит от многих условий: температуры и влажности воздуха в комнате, качества ледяной уксусной кислоты, температуры предметного стекла, времени испарения фиксатора со стекла и т.д. Более подробно влияние внешних условий на процесс распластывания хромосом на поверхности стекла и способов их устранения можно прочитать в специальной литературе. Например, при наличии цитоплазмы на метафазных пластинках, которая приводит к скученности хромосом, для улучшения качества препаратов можно увеличить соотношение уксусной кислоты в фиксаторе (добавив лишний этап фиксации для смены стандартного фиксатора) или капнуть несколько капель уксусной кислоты на предметное стекло перед раскапыванием. Допускается раскапывать суспензию на поверхность мокрых охлажденных стекол, размещенных на штатив-рельсы над горячим водяным паром. Следует помнить, что в этих случаях высота нанесения суспензии клеток на стекло будет небольшой, а этап прижигания следует исключить.

7. В случае необходимости приготовления дополнительных препаратов после хранения суспензий нужно освежить фиксатор и производить раскапывание суспензии (п. 12 методики).

3.3. Метод GTG дифференциальной окраски препаратов хромосом

Растворы

Фосфатный буфер Соренсена (pH 6,8) – состоит из двух растворов:

• раствор 1 – натрий фосфорнокислый: взвесить 23,8 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ или 11,8 г Na_2HPO_4 $2\text{H}_2\text{O}$, довести дистиллированной водой до 1000 мл;

• раствор 2 – калий фосфорнокислый: взвесить 9,1 г KH_2PO_4 , довести дистиллированной водой до 1000 мл.

Перед употреблением смешать раствор 1 и раствор 2 в соотношении 1:1. Рабочий раствор трипсина: в емкости Коплина или Хеллендаля приготовить 0,05–0,025-процентный раствор трипсина на буфере Соренса (рН 6,8). Для этого навеску 50–20 мг сухого трипсина растворить в буфере Соренса. Раствор Гимзы: в емкости Коплина или Хеллендаля приготовить 5-процентный раствор Гимзы на буфере Соренса.

Методика

Свежеприготовленные препараты состарить. Для этого их выдерживают при температуре +37 °С в течение нескольких суток либо при 45–55°С несколько часов или ночь.

1. Препараты опустить в рабочий раствор трипсина подогретого до +37 °С. Время обработки и процентность трипсина подбирается эмпирически. Стандартно начинают от 10 с, увеличивая в случае необходимости.

2. Ополоснуть стекла в дистиллированной воде.

3. Окрашивать в 5-процентном растворе Гимзы в течение 10–20 мин. Время окрашивания подбирать эмпирически.

4. Стекла высушить. Анализировать в проходящем свете.

Примечания: 1. Рабочие растворы трипсина и Гимзы готовить в день окрашивания и не хранить.

2. Буфер Соренса для приготовления рабочего раствора трипсина можно заменить раствором Версена.

3. Рабочие растворы трипсина и Гимзы можно наносить на поверхность предметных стекол, расположенных на штативе-рельсах для окрашивания.

4. Можно проводить одновременную обработку стекол трипсином и окрашивание Гимзой. Для этого смешать 50 мл 5-процентного раствора Гимзы на буфере Соренса и 0,1–0,3 мл 0,25-процентного раствора трипсина. Опустить препарат или нанести на предметное стекло раствор Гимзы с трипсином. Оптимальное время и температуру окрашивания (при комнатной температуре или при +37 °С) подбирать эмпирически.

Работа 2. Анализ полученных кариотипов с использованием программ ИИ.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*

2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*

1. Уровни компактизации ДНК, клеточный цикл и его фазы.

2. Типы строения хромосом.

3. Методы и типы окраски хромосом.

4. Денверская и Парижская номенклатуры.

5. Методика FISH.

6. Определение полового хроматина.

7. Методы метафазного и интерфазного анализа хромосом.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016

2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.

2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016

3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии

Тема 2.9. Построение филогенетических деревьев

Цель: Изучить методы построения филогенетических деревьев

Задачи:

Изучить особенности маркерных последовательностей

1. Подобрать алгоритм построения филогенетического дерева
2. Подобрать программу построения филогенетического дерева
3. Проанализировать полученное филогенетическое дерево

Обучающийся должен знать:

1. Параметры генетических маркеров
2. Алгоритм построения филогенетического дерева.

Обучающийся должен уметь: Пользоваться программами построения филогенетического дерева.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами анализа полученного филогенетического дерева, *в том числе с использованием ИИ.*

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Структура генов у эукариот
2. Структура генов у прокариот.
3. Структура некодирующей ДНК у прокариот
4. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
5. Степень гомологии.
6. Филогенетические деревья и их свойства.
7. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Последовательность действий при работе с программами.

Подготовка последовательностей для выравнивания.

1. В базе данных NCBI находим исследуемые последовательности.
2. На сайте www.ncbi.nlm.nih.gov В разделе Database выбираем подразделы Protein или Nucleotide/
3. В поисковое окно вводим названия исследуемых маркеров и организмов по-английски или по-латыни.
4. В полученном списке выбираем полные последовательности исследуемых маркеров и открываем файлы находим начальный и конечный нуклеотиды или аминокислоты и переносим полученные последовательности файл с расширением *.rtf (WordPad). (В случае последовательностей нуклеотидов, кодирующих белки, начальный триплет ATG конечные TAA, TGA, TAG, в случае аминокислотных последовательностей начальная аминокислота Met или M)
5. В программе WordPad удаляем из последовательности цифры и пробелы с помощью команды «заменить». Отключаем перенос по строкам и переводим всю последовательность в одну строку. Перед последовательностью вносим название организма, которому принадлежит данная последовательность.
6. Повторяем предыдущий пункт для всех исследуемых маркеров.
7. В результате получаем набор последовательностей с обозначенными организмами, в одном файле.

Работа 2. Выравнивание первичных структур при помощи программы AliBee – Multiple alignment Release 2.0:

1. На сайте www.gennebee.msu.ru входим в раздел genebee, а в нем в подраздел AliBee – Multiple alignment Release 2.0
2. в окно управления вводим исследуемую первичную структуру в формате базы последовательностей FASTA (значок “>”, затем название исследуемой последовательности, с новой строки вводим полную первичную структуру [последовательность нуклеотидов]);
3. для каждой исследуемой первичной структуры повторяем предыдущий пункт;
4. нажимаем кнопку “Послать запрос”;
5. полученный результат сохраняем в формате html и копируем получившееся дерево.
6. Повторяем последовательность операций для каждого сравниваемых первичных последовательностей нуклеотидов исследуемых организмов в различных сочетаниях.

Работа 3. Построение филогенетических деревьев при помощи программы TREECON, в том числе с использованием ИИ.

1. Осуществляем выравнивание нуклеотидных последовательностей вручную. Ищем консервативные участки в обеих последовательностях и выравниваем их друг с другом, при этом делеции нуклеотидов обозначаем знаком «-».

2. Далее при помощи программы NotePad++ корректируем получившееся выравнивание. Не должно быть знаков пробела, каждая строка должна заканчиваться табуляцией, все строки, содержащие нуклеотидные последовательности должны быть одинаковой длины, в начале файла цифрами указываем количество знаков в строке. Сохраняем файл с расширением seq.

3. Из основного меню программы TREECON выбираем опцию “Оценка эволюционной дистанции”, далее выбираем опцию “Начать оценку эволюционной дистанции”.

4. В появившемся окне “Открыть файл” выбираем необходимый файл, содержащий выровненную вручную нуклеотидную последовательность в формате ASCII

5. В появившемся окне “Тип сиквенса” выбираем сиквенс, содержащий нуклеотидную последовательность и в окне “Выберите сиквенсы” нажимаем кнопку “Select all”, нажимаем кнопку “OK”

6. Затем в открывшемся меню “Опции” выбираем способ оценки эволюционного расстояния “Jukes и Cantor”

7. После завершения оценки дистанции, из основного меню программы TREECON выбираем опцию “Вывод топологии дерева”, нажимаем кнопку “Начать вывод топологии дерева”

8. В открывшемся меню “Опции” выбираем метод построения дерева “Neighbor-joining”

9. После завершения вывода топологии дерева, из основного меню программы TREECON выбираем опцию “Изображение филогенетического дерева”, нажимаем кнопку “Load new tree”

10. Для появившегося дерева добавляем шкалу генетической дистанции при помощи кнопки “Add distance scale”

11. При помощи Print Screen сохраняем изображение дерева в программе Paint

12. Сохраняем снимок экрана с изображением филогенетического древа (Print Screen) в программе Paint (недостаток программы TREECON – отсутствие возможности прямого экспорта в графический файл).

II. Используя правила работы с последовательностями найти и подготовить для анализа последовательности генов, при подготовке обязательно учитывать не только организмы, чьи гены сравниваются, но сами гены, так как различные генетические маркеры обладают разной вариабельностью (смотри приложение 1). В результате должен быть получен файл в формате .txt, внешний вид которого представлен на рисунке 1.

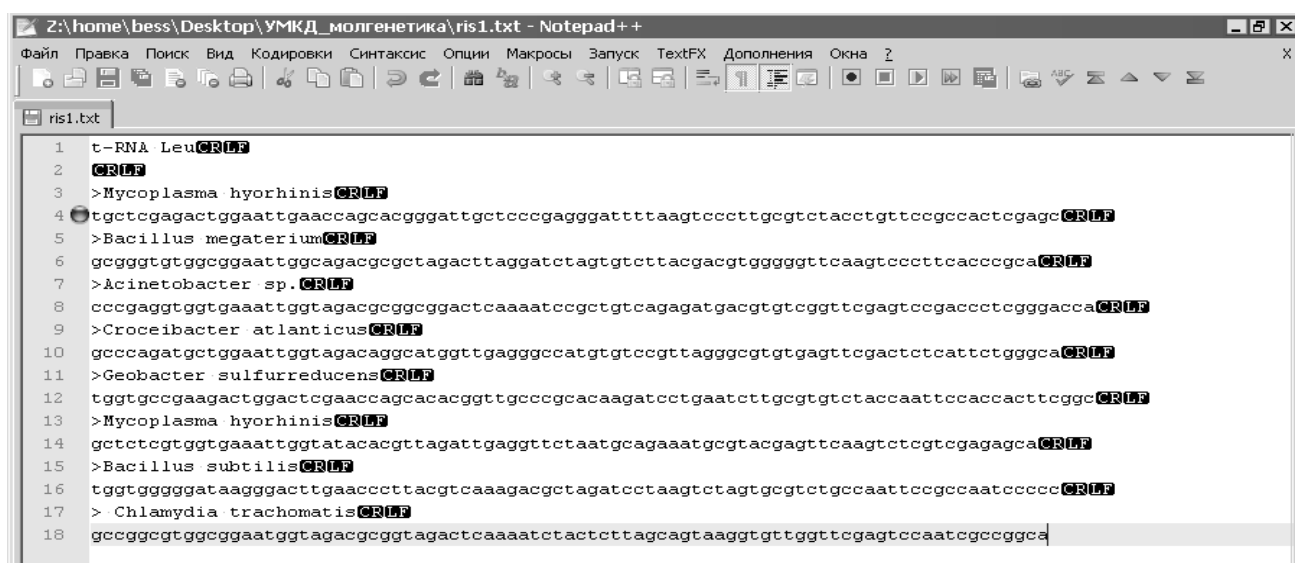


Рисунок 1. Вид файла с подготовленными к анализу последовательностями.

III. Используя правила работы с программами построить филогенетическое дерево с использованием программы AliBee – Mutiple aligenment Release 2.0 (www.genebee.msu.ru). Используя шкалу генетической дистанции определить степень расхождения видов.

IV. Используя правила работы с программами построить филогенетическое дерево с использованием программы Treescop. Используя шкалу генетической дистанции определить степень расхождения видов.

V. Проанализировав полученные деревья определить группы близкородственных видов, генетические дистанции. Определить какая из программ наиболее подходит для анализа последовательностей, объяснить результаты с точки зрения используемых алгоритмов.

2) Выступление с докладами/рефератами по темам:

1. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
2. Саузерн-блот гибридизация. Принцип метода. Применение.
3. Методы генетического картирования генов эукариот.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

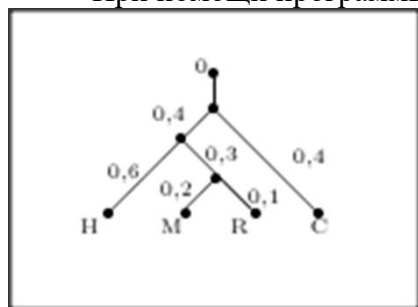
1. Структура генов у эукариот
2. Структура генов у прокариот.
3. Структура некодирующей ДНК у прокариот
4. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
5. Степень гомологии.
6. Филогенетические деревья и их свойства.
7. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

3). Подготовить реферативные сообщения по теме:

1. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
2. Саузерн-блот гибридизация. Принцип метода. Применение.
3. Методы генетического картирования генов эукариот.

4). Решить ситуационную задачу:

При помощи программы было построено филогенетическое дерево, имеющее следующий вид:



Представители каких групп наиболее близки друг к другу филогенетически?

Представители каких групп имеют наименьшее сходство?

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.11. Построение и анализ рестрикционных карт

Цель: Изучить методы построения рестрикционных карт

Задачи:

1. Подобрать программу построения рестрикционных карт
2. Проанализировать полученные рестрикционные карты

Обучающийся должен знать:

1. Особенности эндонуклеаз рестрикции
2. Применение эндонуклеаз рестрикции
3. Методы применения рестрикционного картирования.

Обучающийся должен уметь: Пользоваться программами построения рестрикционного карты.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами анализа полученной рестрикционной карты.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Определение и функции эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности активности эндонуклеаз рестрикции.
3. Особенности генетического картирования
4. Особенности физического картирования

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Построение рестрикционных карт известной последовательности с использованием программы Webcutter2 и иных средств ИИ.

Составляем карту рестрикции для исследуемого ампликона в программе NEBcutter V2.0 (www.tools.neb.com/NEBcutter2/). Для этого осуществляем следующие действия:

1. Копируем из текстового файла последовательность нуклеотидов в окно ввода
2. Нажимаем кнопку «Submit»
3. Программа выводит на экран фрагмент с указанием названия сайта рестрикции и порядкового номера нуклеотида, указывая место, где этот сайт начинается, и последовательность узнаваемую эндонуклеазой рестрикции.

Смотри рисунок 2.

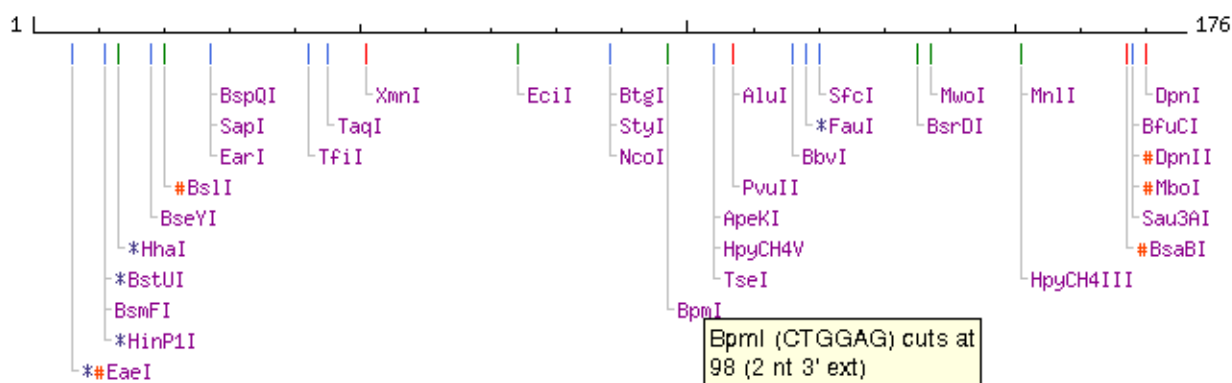
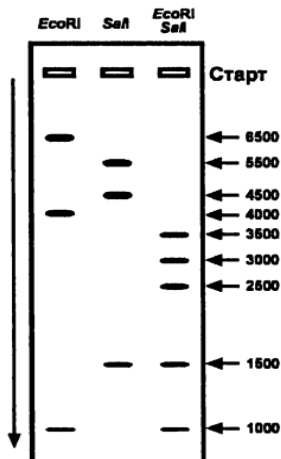


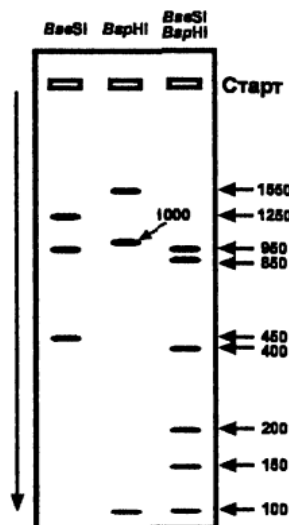
Рисунок 2. Вид рестрикционной карты, построенной с помощью программы NEBcutter V2.0 (Фрагмент HTML-страницы)

4. Используя данные, полученные в пункте IX, проверяем: входит ли исследуемый триплет в состав сайта рестрикции. Если входит, то переходим к моделированию геля электрофореза. Так как нормальная последовательность нашего гена содержит сайт рестрикции и замена нуклеотида приводит к потере рестрикционного сайта. Если триплет нормальной ORF не входит в состав сайта рестрикции, то переходим к следующему пункту, в этом случае о мутации будет говорить возникновение сайта рестрикции.

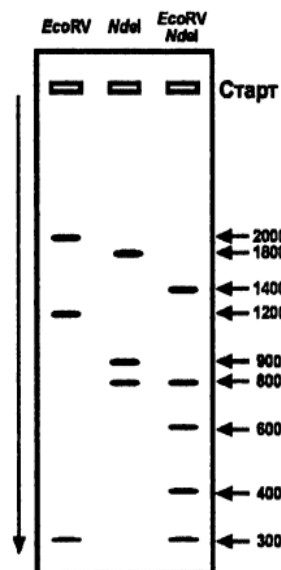
3. Решить ситуационные задачи на рестрикционное картирование.

1 Линейный фрагмент ДНК обработали рестриктазой EcoRI, рестриктазой SalI и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены рисунке. Цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту фрагмента



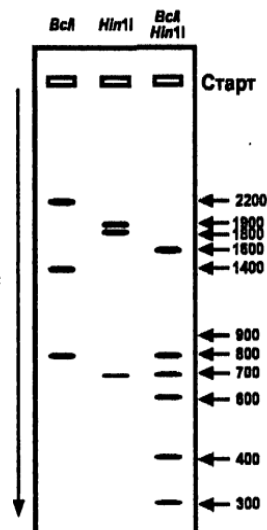


2. Плазмиду pUC19 обработали рестриктазами BseSI, BspHI и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены на рисунке цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту плазмиды.



3. Линейный фрагмент ДНК обработали рестриктазой EcoRV, рестриктазой NdeI и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены на рисунке. Цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту фрагмента.

4. Плазмидную ДНК обработали рестриктазами BclI, HinfI и их смесью. Продукты реакций разделили в агарозном геле и окрасили бромистым этидием. Результаты электрофореза представлены на рис. 8.4. Цифры справа указывают приблизительные размеры фрагментов в п. н. Постройте рестрикционную карту плазмиды.



4. Выступление с докладами/рефератами по темам:

1. Методы физического картирования генов эукариот.
2. ДНК-микрочипирование
3. Анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP)

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.

2). Ответить на вопросы для самоконтроля:

1. Определение и функции эндонуклеаз рестрикции.
2. Особенности активности эндонуклеаз рестрикции.
3. Особенности генетического картирования
4. Особенности физического картирования

3) Подготовить реферативные сообщения на тему:

1. Методы физического картирования генов эукариот.
2. ДНК-микрочипирование
3. Анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP)

4) Решить ситуационные задачи:

1 При электрофорезе в агарозном геле отдельные фрагменты ДНК мигрируют со скоростью, обратно пропорциональной их молекулярной массе: чем крупнее молекулы, тем сильнее они тормозятся сложной пространственной сеткой геля и тем медленнее продвигаются от старта.

2 Ферменты, называемые рестриктазами, разрезают двуцепочечную спираль ДНК по специфическим последовательностям, состоящим, как правило, из четырех-восьми нуклеотидов, являющихся палиндромами.

3 Плазмидными векторами, используемыми при клонировании, могут быть небольшие молекулы ДНК, которые содержат уникальные сайты рестрикции, чтобы включить чужеродную ДНК, иметь свою точку начала репликации ДНК, а так же ген, сообщающий клетке устойчивость к какому-либо антибиотику.

4 Расположите олигонуклеотиды по порядку возрастания температуры плавления:

AAATTGC GGG GCGCGCG AAAAAAAAAAAAAAAAAA
TTTAACG CCC CGCGCGC TTTTTTTTTTTTTTTT

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкетаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016
2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.
2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016
3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Раздел 2: Методы молекулярной биологии.

Тема 2.12. Дизайн праймеров

Цель: Изучить методы подбора праймеров

Задачи:

1. Подобрать праймеры
2. Проверить температуру отжига праймеров
3. Проверить уникальность праймеров

Обучающийся должен знать:

- 1) Структуру праймеров
- 2) Правила ПЦР

Обучающийся должен уметь:

Определять температуру отжига праймеров.

Обучающийся должен владеть: Методиками планирования и разработки схемы медико-биологических экспериментов. Медико-функциональным понятийным аппаратом. Методами проверки уникальности праймеров, в том числе с использованием ИИ.

Самостоятельная аудиторная работа обучающихся по теме:

1. Ответить на вопросы по теме занятия.

1. Принципы метода ПЦР.
2. Типы анализа с использованием ПЦР.
3. Применение методов ПЦР в клинике и диагностике.
4. Особенности применения метода ПЦР-ПДРФ для анализа ДНК.
5. Принципы метода ПЦР-ПДРФ
6. Структура некодирующей ДНК у эукариот.
7. Правила подбора праймеров.
8. Расчет температуры отжига.
9. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

2. Практическая подготовка.

1) Выполнение практических заданий

Работа 1. Методика подбора праймеров, в том числе с использованием ИИ.

Полученный в одном из вариантов программы для анализа последовательностей файл анализируется. Последовательности выравнены по совпадению нуклеотидов в одном и том же положении последовательностей. Совпадающие нуклеотиды в одном положении обозначаются знаком «*». Не совпадающие нуклеотиды обозначаются «.».

Выбираем фрагмент, содержащий множественно несовпадений, обозначенных «.», чем больше несовпадений, тем более вариативен исследуемый участок, при чем для всех анализируемых последовательностей. Наиболее вариативные участки наиболее перспективны для метода ПЦР-ПДРФ.

Вариативный участок должен быть окружен максимально консервативными участками, которые характеризуются максимальным количеством знаков «*», без знаков «.».

Таким образом, нужно подобрать вариативный участок, содержащий много несовпадающих пунктов, обозначенных «.», но этот участок должен быть окружен с двух сторон консервативными участками, обозначенными «*». Анализируемый участок должен иметь размер 300-700 п.н.

В консервативных участках нужно подобрать праймеры в соответствии с правилами подбора праймеров, представленных в приложении 4.

Проверяем праймеры на уникальность. Для этого осуществляем следующие действия:

1. Заходим на сайт www.ncbi.nlm.nih.gov в раздел BLAST.
2. В разделе BLAST входим в подраздел Nucleotide BLAST.
3. В форму озаглавленную “Enter Query Sequence” вносим проверяемую последовательность и нажимаем кнопку “BLAST.”

4. Анализируем полученный результат выбранная последовательность должна выявляться только в исследуемых генах и организмах. Если последовательность обнаруживается в других генах исследуемых организмов или в других организмах, данная последовательность не уникальна и не может использоваться для праймеров.

Готовим последовательности праймера для заказа. Для этого просто переносим последовательность прямого праймера (5'-концевая последовательность праймера) в редактор и присваиваем ему название. Последовательность обратного праймера (3'-концевая последовательность праймера) требует преобразований. Можно вручную составить комплементарную последовательность, а затем переписать ее в обратном порядке. Но можно использовать утилиты сайта www.molbiol.kirov.ru. На сайте www.molbiol.kirov.ru в разделе «Утилиты», находим подраздел «Манипуляции с последовательностями», в котором преобразуем выбранную последовательность праймеров в соответствии с инструкцией:

1. вводим последовательность в окно нажимаем кнопку «complement»;
2. полученную последовательность снова вводим в окно, нажимаем кнопку «reverse»;
3. полученная последовательность — обратный праймер.

Преобразованную последовательность обратного праймера (3'-концевая последовательность праймера) в редактор и присваиваем ему название.

Выбираем для рестрикционного анализа все выбранные участки исследуемых последовательностей. Для этого переносим в отдельный файл участок последовательности от первого нуклеотида прямого праймера до последнего нуклеотида первоначальной последовательности для обратного праймера. Лучше переносить фрагмент лучше в отдельный текстовый файл с обозначением названия последовательностей, аналогично анализу гомологии, но в место полной последовательности ее фрагменты, ограниченные праймерами.

Самостоятельная внеаудиторная работа обучающихся по теме:

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по указанной теме:

1). *Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций и рекомендуемой учебной литературы.*

2). *Ответить на вопросы для самоконтроля:*

1. Принципы метода ПЦР.
2. Типы анализа с использованием ПЦР.
3. Применение методов ПЦР в клинике и диагностике.
4. Особенности применения метода ПЦР-ПДРФ для анализа ДНК.
5. Принципы метода ПЦР-ПДРФ
6. Структура некодирующей ДНК у эукариот.

7. Правила подбора праймеров.
8. Расчет температуры отжига.
9. Алгоритмы расчета степени гомологии и программы для ее расчета.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. Молекулярная биология. Введение в молекулярную цитологию и гистологию: Учебное пособие.- М.: МИА, 2016

2. С. Г. Инге-Вечтомов Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов.- СПб.: Изд-во Н - Л, 2015

Дополнительная:

1. Северина Е.С. Биохимия: учебник для медицинских вузов.- М.:ГЭОТАР-Медиа,2015, 2007.

2. Ершов Ю. А. Основы молекулярной диагностики. Метабономика: учебник.- Москва 2016

3. Курчанов Н.А. Генетика человека с основами общей генетики: учебное пособие. - СПб.:СпецЛит, 2009.

Дополнения и изменения в приложение А рабочей программы рассмотрены на заседании кафедры «10» февраля 2026 г. Протокол № 2

Зав. кафедрой Коледаева Е.В.

Внесенные изменения и дополнения утверждаю:

Проректор по учебной работе Е.Н. Касаткин

«19» февраля 2026 г., протокол № 3

Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Кировский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Кафедра БИОЛОГИИ

Приложение Б к рабочей программе дисциплины

ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации
обучающихся по дисциплине

«Молекулярная биология»

Специальность 30.05.01
Медицинская биохимия
Направленность ОПОП
Медицинская биохимия Форма
обучения очная

**1. Показатели и критерии оценивания компетенций на различных
этапах их формирования, описание шкал оценивания**

Показате ли оценива ния	Критерии и шкалы оценивания				Оценочное средство	
	Неудовлетвор ительно	Удовлетворит ельно	Хорошо	Отлично	для текущего контроля	для промежуто чной аттестации
ОПК-1. Способен использовать и применять фундаментальные и прикладные медицинские, естественнонаучные знания для постановки и решения стандартных и инновационных задач профессиональной деятельности						
ИД ОПК 1.1. Использует естественно-научные знания для постановки и решения стандартных и инновационных задач профессиональной деятельности						
Знать	Фрагментарные знания строения, физико-химических свойств и функции различных видов нуклеиновых кислот, белков, понимать взаимосвязь между репликацией, репарацией, транскрипцией и трансляцией в клетке у про- и эукариот; химико-биологическую	Общие, но не структурированные знания строения, физико-химических свойств и функции различных видов нуклеиновых кислот, белков, понимать взаимосвязь между репликацией, репарацией, транскрипцией и трансляцией в клетке у про- и эукариот; химико-	Сформированные, но содержащие отдельные пробелы знания строения, физико-химических свойств и функции различных видов нуклеиновых кислот, белков, понимать взаимосвязь между репликацией, репарацией, транскрипцией и трансляцией в клетке у про- и	Сформированные систематические знания строения, физико-химических свойств и функции различных видов нуклеиновых кислот, белков, понимать взаимосвязь между репликацией, репарацией, транскрипцией и трансляцией в клетке у про- и эукариот;	Собеседование, тестирование.	Собеседование, тестирование.

	сущность процессов,	биологическую сущность	эукариот; химико-	химико-биологическую		
	происходящих на молекулярном и клеточном уровнях в организме человека.	процессов, происходящих на молекулярном и клеточном уровнях в организме человека.	биологическую сущность процессов, происходящих на молекулярном и клеточном уровнях в организме человека.	сущность процессов, происходящих на молекулярном и клеточном уровнях в организме человека.		
Уметь	Частично освоенное умение применять научные знания в области молекулярной биологии в учебной и профессиональной деятельности, осуществлять поиск и анализ научной информации по актуальным вопросам молекулярной биологии.	В целом успешное, но не систематически осуществляемое умение применять научные знания в области молекулярной биологии в учебной и профессиональной деятельности, осуществлять поиск и анализ научной информации по актуальным вопросам молекулярной биологии.	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение применять научные знания в области молекулярной биологии в учебной и профессиональной деятельности, осуществлять поиск и анализ научной информации по актуальным вопросам молекулярной биологии.	Сформированное умение применять научные знания в области молекулярной биологии в учебной и профессиональной деятельности, осуществлять поиск и анализ научной информации по актуальным вопросам молекулярной биологии.	Реферат/доклад, решение ситуационных задач.	Решение ситуационных задач.
Владеть	Фрагментарное применение навыков владения молекулярно-биологическим понятийным аппаратом.	В целом успешное, но не систематическое применение навыков владения молекулярно-биологическим понятийным аппаратом.	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы применение навыков владения молекулярно-биологическим понятийным аппаратом.	Успешное и систематическое применение навыков владения молекулярно-биологическим понятийным аппаратом.	Практические навыки.	Практические навыки.
ОПК-5. Способен к организации и осуществлению прикладных и практических проектов и иных мероприятий по изучению биохимических и физиологических процессов и явлений, происходящих в клетке человека						
ИД ОПК 5.1. Организует и осуществляет прикладные и практические проекты и иные мероприятия по изучению биохимических и физиологических процессов и явлений, происходящих в клетке человека						
Знать	Фрагментарные знания теоретических основ современных компьютерных и информационн	Общие, но не структурированные знания основ современных компьютерных и информационн	Сформированные, но содержащие отдельные пробелы знания основ современных компьютерных	Сформированные систематические знания основ современных компьютерных и информационн	Собеседование, тестирование.	Собеседование, тестирование.

	о-коммуникационных технологий для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	о-коммуникационных технологий для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	и информационн о-коммуникационных технологий для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	о-коммуникационных технологий для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.		
Уметь	Частично освоенное умение пользоваться современными компьютерным и и информационн о-коммуникацион ными технологиями для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	В целом успешное, но не систематически осуществляемо е умение пользоваться современными компьютерным и и информационн о-коммуникацион ными технологиями для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение пользоваться современными компьютерным и и информационн о-коммуникацион ными технологиями для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	Сформированн ое умение пользоваться современными компьютерным и и информационн о-коммуникацион ными технологиями для организации практических проектов и мероприятий по изучению молекулярных процессов в клетках человека.	Реферат/доклад, решение ситуацион ных задач.	Решение ситуацион ных задач.
Владеть	Фрагментарное применение навыков использования современных компьютерных и информационн о-коммуникацион ных технологий для организации практических проектов и мероприятий по изучению регенеративных процессов в	В целом успешное, но не систематическо е применение навыков использования современных компьютерных и информационн о-коммуникацион ных технологий для организации практических проектов и мероприятий по	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы применение навыков использования современных компьютерных и информационн о-коммуникацион ных технологий для организации практических проектов и	Успешное и систематическо е применение навыков использования современных компьютерных и информационн о-коммуникацион ных технологий для организации практических проектов и мероприятий по изучению регенеративных	Практичес кие навыки.	Практичес кие навыки.

	клетках, тканях и органах человека.	изучению регенеративных процессов в клетках, тканях и органах человека.	мероприятий по изучению регенеративных процессов в клетках, тканях и органах человека.	процессов в клетках, тканях и органах человека.		
ПК-1 Способен выполнять клинические лабораторные исследования						
ИД ПК 1.4. Оценивает результаты контроля качества клинических лабораторных исследований						
Знать	Фрагментарные знания физико-химических принципов, сущности, методологии и порядка выполнения современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Общие, но не структурированные знания физико-химических принципов, сущности, методологии и порядка выполнения современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Сформированные, но содержащие отдельные пробелы знания физико-химических принципов, сущности, методологии и порядка выполнения современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Сформированные систематические знания физико-химических принципов, сущности, методологии и порядка выполнения современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Собеседование, тестирование.	Собеседование, тестирование.
Уметь	Частично освоенное умение оценивать результаты и качество современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	В целом успешное, но не систематически осуществляемое умение оценивать результаты и качество современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение оценивать результаты и качество современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Сформированное умение оценивать результаты и качество современных методов биохимического и молекулярно-генетического исследования.	Реферат/доклад, решение ситуационных задач.	Решение ситуационных задач.
Владеть	Фрагментарное применение навыков постановки биохимического и молекулярно-генетического эксперимента, методами изучения биологических объектов, анализом результатов	В целом успешное, но не систематическое применение навыков постановки биохимического и молекулярно-генетического эксперимента, методами изучения биологических	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы применение навыков постановки биохимического и молекулярно-генетического эксперимента, методами изучения	Успешное и систематическое применение навыков постановки биохимического и молекулярно-генетического эксперимента, методами изучения биологических объектов, анализом	Практические навыки.	Практические навыки.

	лабораторных исследований.	объектов, анализом результатов лабораторных исследований.	биологических объектов, анализом результатов лабораторных исследований.	результатов лабораторных исследований.		
--	----------------------------	---	---	--	--	--

2. Типовые контрольные задания и иные материалы

2.1. Примерный комплект типовых заданий для оценки сформированности компетенций, критерии оценки

Код компетенции	Комплект заданий для оценки сформированности компетенций
ОПК-1	Примерные вопросы к экзамену (с №1 по №22 (полный перечень вопросов – см. п. 2.2)) 1. Направления и типы переноса наследственной информации в живых организмах. Центральная догма молекулярной биологии. 2. Физико-химическое строение ДНК. Сравнение ДНК и РНК. 3. Организация генома у прокариот. Регуляция экспрессии генов прокариот. 4. Организация генома у эукариот. Регуляция экспрессии генов эукариот. 5. Принципы репликации. Схема репликационной вилки. Ферментативный комплекс, участвующий в репликации ДНК. Функции ферментов репликации. 6. Особенности репликации лидирующей и отстающей цепей ДНК. Причины, механизмы возникновения и устранения ошибок репликации. Биологическое и медицинское значение ошибок репликации ДНК. 7. Транскрипция, определение. Основной фермент и вспомогательные факторы транскрипции. Точки начала и конца транскрипции. Этапы транскрипции. 8. Особенности транскрипции у про- и эукариот. Оперон. 9. Обратная транскрипция, понятие, в каких случаях происходит, ключевой фермент. Регуляция экспрессии гена на уровне транскрипции и последующих стадиях. 10. Трансляция, определение. Особенности у про- и эукариот. Матричная (информационная) РНК, ее структура и функциональные участки у прокариот и эукариот. 11. Генетический код, его свойства. Кодон и антикодон, принципы их взаимодействия. 12. тРНК строение и функции. Аминоацитилирование тРНК как необходимый этап трансляции. 13. Структура рибосом про- и эукариот. Функциональные участки рибосом. 14. Механизмы инициации, элонгации, терминации трансляции у про- и эукариот. 15. Терминирующие кодоны, белковые факторы терминации (RF1, RF2, RF3), фактор RRF и диссоциация трансляционного комплекса. 16. Макромолекулярные структуры клетки, краткая характеристика. 17. Аминокислотный состав белков. Классификация АК. 18. Пространственная организация белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура). 19. Посттрансляционная модификация, варианты (метилование, гликозилирование, фосфорилирование). Примерные вопросы к собеседованию текущего контроля (с №5 по №19 раздел 1, с №1 по №10 раздел 2 часть 1 (полный перечень

вопросов – см. п. 2.2))

Раздел 1.

5. Физико-химическое строение ДНК.
6. Сравнение ДНК и РНК (таблицей).
7. Основные методы выделения геномной ДНК, принципы.
8. Направления и типы переноса наследственной информации в живых организмах. Центральная догма молекулярной биологии.
9. Организация генома у прокариот и эукариот, особенности.
10. Принципы репликации. Схема репликационной вилки.
11. Ферментативный комплекс, участвующий в репликации ДНК (перечислить ферменты).
12. Функции ферментов репликации.
13. Особенности репликации лидирующей и отстающей цепей ДНК.
14. Причины, механизмы возникновения и устранения ошибок репликации. Биологическое и медицинское значение ошибок репликации ДНК.
15. Транскрипция, определение. Основной фермент и вспомогательные факторы транскрипции.
16. Точки начала и конца транскрипции. Этапы транскрипции.
17. Особенности транскрипции у про- и эукариот.
18. Оперон (нарисуйте схему).
19. Обратная транскрипция, понятие, в каких случаях происходит, ключевой фермент.

Раздел 2. Часть 1.

1. Из какого биоматериала может быть выделена ДНК и РНК? Особенности выделения РНК?
2. Условия транспортировки биоматериала или выделенной ДНК/РНК.
3. Оборудование необходимое для этапа выделения ДНК/РНК.
4. Основные этапы выделения. Условия и сроки хранения выделенной ДНК/РНК.
5. Экспресс методы выделения. Принцип. Достоинства и недостатки. Кит наборы.
6. Фенол хлороформный метод. Принцип. Достоинства, недостатки.
7. Выделение с использованием сорбентов. Принцип. Достоинства, недостатки.
8. Выделение на микроколонках. Принцип. Достоинства, недостатки.
9. Выделение на бумажных фильтрах. Принцип. Достоинства, недостатки.
10. Определение качества выделенной ДНК/РНК.

Тестовые задания (разноуровневые) для текущего контроля и промежуточной аттестации

1 уровень:

- 1) Различия ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы заключаются в:
 - а) субъединичном составе*;
 - б) механизме реакции;
 - в) необходимости затравок*;
 - г) матрице.
- 2) Генетические свойства ДНК были доказаны:
 - а) Мак-Карти*;
 - б) Сталем;
 - в) Мак-Леодом*;
 - г) Эйвери*.
- 3) ДНК-полимераза «проверяет» ошибки на этапах:

- а) связывания нуклеотида*;
 - б) ни на каких;
 - в) нуклеофильной атаки;
 - г) 3'-5'-экзонуклеазной активности*.
- 4) Каковы функции посттрансляционных модификаций аминокислот в белке:
- а) расширение спектра аминокислот*;
 - б) дополнительная стабилизация глобулы;
 - в) сигнальная*;
 - г) регуляторная*.
- 5) Переход в гетерохроматин происходит в результате:
- а) активности ферментов;
 - б) процессов метилирования*;
 - в) активности нуклеосом*;
 - г) мутаций.
- 6) В виде РНК в ходе размножения присутствуют:
- а) транспозоны прокариот;
 - б) транспозоны эукариот;
 - в) ретротранспозоны*;
 - г) вирусы*.

2 уровень:

1) Определите последовательность реакций транскрипции:

I. Связывание с промотором.

II.Abortивная транскрипция.

III. Переход из закрытого комплекса в открытый.

IV. Элонгация.

V. Терминация.

а) I, II, III, IV, V;

б) I, III, IV, V, II;

в) I, III, II, IV, V*;

г) V, II, I, IV, III.

2) Напишите соответствие субъединицы ДНК-полимеразы и его функции:

1) α -субъединица ДНК полимеразы

2) β -субъединица ДНК полимеразы

3) ϵ -субъединица ДНК полимеразы

4) τ -субъединица ДНК полимеразы

A). полимеразная.

B). процессивность.

B). коррекция ошибок

Г.) димеризация

Ответы: таблица соответствия

Субъединица	Активность
1 α -субъединица ДНК полимеразы	A.
2 β -субъединица ДНК полимеразы	B.
3 ϵ -субъединица ДНК полимеразы	B.
4 τ -субъединица ДНК полимеразы	Г.

3 уровень:

1) В клетке была транслирована ORF длиной 459 нуклеотидов?

Вопрос 1: Длина молекулы синтезированного белка составила:

а) 112 аминокислот;

- а) 153;
б) 612*;
в) 453;
г) 306.

	материала. 4. Иметь навык постановки методики полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализа оценки результатов. 5. Уметь подбирать условия полимеразной цепной реакции (ПЦР). Примерные задания для написания (и защиты) рефератов/докладов 1. Генная терапия. Общая характеристика. Подходы. 2. Генная терапия. Определение. Стратегии, механизмы доставки ДНК. 3. Векторы для доставки фрагментов ДНК и РНК при генной терапии. 4. Векторы для доставки фрагментов ДНК и РНК при генной терапии. 5. Основные особенности структуры геномов прокариот. 6. Регуляция экспрессии генов эукариот. 7. Структура регуляторных элементов генома эукариот. 8. Структура кодирующей части генома эукариот. 9. Структура регуляторных элементов генома прокариот. 10. Структура кодирующей части генома прокариот. 11. Регуляция экспрессии генов прокариот. 12. Особенности реализации митохондриальных геномов. 13. Особенности структуры митохондриальных геномов.
ОПК-5	Примерные вопросы к экзамену (с №23 по №51 (полный перечень вопросов – см. п. 2.2)) 1. Методы генетического и физического картирования генов прокариот и эукариот. 2. Механизмы реорганизации геномов. Сайтспецифическая, гомологичная и случайная рекомбинация, генная конверсия. Механизмы, биологическая роль. 3. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер и центромер. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме. 4. Мобильные генетические элементы прокариот и эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции. 5. Филогенетический анализ, построение деревьев, прикладное программное обеспечение. 6. Организация молекулярно-биологической лаборатории. Основные отделы лаборатории и их взаимодействие. 7. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне пробоподготовки, подготовки реакционной смеси и амплификации, детекции, назначение. 8. Из какого биоматериала может быть выделена ДНК и РНК? Особенности выделения РНК? Условия транспортировки биоматериала или выделенной ДНК/РНК. 9. Основные методы выделения ДНК (экспресс, фенол-хлороформный). Принципы. Достоинства и недостатки. Кит наборы. 10. Основные методы выделения ДНК (сорбентный, на микроколонках, на бумажных фильтрах). Принципы. Достоинства и недостатки. Кит наборы. 11. Условия и сроки хранения выделенной ДНК. Определение качества выделенной ДНК/РНК.

12. ПЦР. История разработки. Прикладное значение. Принцип ПЦР. Состав смеси, температурные режимы.
13. Оборудование, необходимое для постановки ПЦР. Принцип работы.
14. ПЦР реал тайм. Принципы и способы визуализации накопления ДНК в ходе ПЦР (с использованием интеркалирующих элементов и TagMan-зондов).
15. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - принцип FLASH. Отличия от метода «Реал-тайм».
16. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - эл.форез, основные теоретические принципы. Оборудование, необходимое для постановки фореза, назначение.
17. Электрофорез в агарозном геле. Методика приготовления геля и постановки фореза.
18. Электрофорез в полиакриламидном геле. Отличия от агарозного. Визуализация результатов электрофореза. Системы документации.
19. Мультиплексная полимеразная цепная реакция, принципы постановки, отличия от «классической» ПЦР, достоинства и недостатки.

**Примерные вопросы к собеседованию текущего контроля
(с №20 по №25 раздел 1, с №29 по №40 раздел 2 часть 1, с №12 по №20 раздел 2 часть 2 (полный перечень вопросов – см. п. 2.2))**

Раздел 1.

20. Регуляция экспрессии гена на уровне транскрипции и последующих.
21. Трансляция, определение. Особенности у про- и эукариот.
22. Матричная (информационная) РНК, ее структура и функциональные участки у прокариот и эукариот.
23. Основные свойства генетического кода.
24. Кодон и антикодон, принципы их взаимодействия.
25. тРНК строение, изобразить схематически.

Раздел 2. Часть 1.

1. Рестрикционный анализ (ПДРФ), описание метода, что он позволяет выявить.
2. Схематически изобразите принцип рестрикционного анализа (ПДРФ) и электрофоретическую картину результатов.
3. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализ конформационного полиморфизма одностречевой ДНК, описание метода, что он позволяет выявить.
4. Схематически изобразите принцип SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализа конформационного полиморфизма одностречевой ДНК и электрофоретическую картину результатов.
5. Перечислите причины, по которым проведение ПЦР может быть неэффективно.
6. Оптимизация проведения ПЦР, ключевые факторы.
7. Преимущества метода ПЦР, перечислить и пояснить.
8. Недостатки метода ПЦР, перечислить и пояснить.
9. Организация технологического процесса при работе методом ПЦР.
10. Секвенирование, определение, общий принцип метода, области применения.
11. Метод терминирующих аналогов трифосфатов (дидезоксинуклеозидтрифосфатов).
12. ДНК-микрочип (ДНК-чип), описание метода, области применения.

Раздел 2. Часть 2.

1. Рестриктазы, определение, функции, номенклатура.
2. Лигазы, определение, функции.

3. Создание рекомбинантной ДНК, рестриктазно-лигазный метод.
4. Вектор, определение, функции, виды.
5. Пример генной инженерии на методике генотерапии семейной гиперхолестеринемии.
6. Саузерн-блот гибридизация, описание методики или схема выполнения.
7. Имеется последовательность двухцепочечной ДНК следующего состава:
5`- ГЦА.АТА.ГТГ.ТГА.АТТ.ЦАЦ.АТГ-3`
3`-ЦГТ.ТАТ.ЦАЦ.АЦТ.ТАА.ГТГ.ТАЦ-5`
Каким способом и на сколько частей можно разрезать эту ДНК?
8. Рестрикционный фермент Hae III разрезает ДНК по последовательности ГГЦЦ. Насколько часто этот фермент будет разрезать двухцепочечную ДНК? (Какова средняя длина фрагментов разрезанной ДНК?).
9. Гаплоидный геном (4хромосомы) *Drosophila melanogaster* содержит около 120 миллионов н.п. ДНК. Если вы порежете человеческую ДНК рестрикционным ферментом EcoRI, узнающим гексамерную последовательность GAATTC, то сколько различных рестрикционных фрагментов будет получено?

Тестовые задания (разноуровневые) для текущего контроля и промежуточной аттестации

1 уровень:

- 1) Фланкирующие последовательности содержат инвертированные повторы у элементов:
 - а) IS*;
 - б) транспозоны*;
 - в) ретротранспозоны*;
 - г) SHINE*.
- 2) К физическому картированию прокариот относят:
 - а) рестрикционный анализ*;
 - б) конъюгацию;
 - в) дот-блот гибридизации*;
 - г) ПЦР.
- 3) Делетированные участки хромосом эукариот выявляют методами:
 - а) гибридизации*;
 - б) цитогенетики*;
 - в) FISH*;
 - г) ПЦР*.
- 4) Низким титром для генотерапии обладают:
 - а) аденовирусы*;
 - б) адено-ассоциированные вирусы*;
 - в) герпес вирусы;
 - г) ретровирусы.
- 5) Основными проблемами генотерапии является:
 - а) введение генетической информации*;
 - б) подбор вектора*;
 - в) механизм введения*;
 - г) этическая проблема
- 6) Для генотерапии клеток печени могут быть использованы:
 - а) аденовирусы*;
 - б) адено-ассоциированные вирусы*;
 - в) герпес вирусы*;
 - г) ретровирусы.

2 уровень:

1) Укажите правильную последовательность основных этапов транспозиции: 1) образование коинтеграта; 2) заполнение брешки, лигирование; 3) образование одноцепочечных разрывов в донорной и реципиентной ДНК; 4) сшивка разрезанных концов 3'-концов мобильного элемента с 5'-концами реципиента; 5) разрешение коинтеграта.

- а) 1, 2, 3, 4, 5
- б) 5, 2, 1, 4, 3
- в) 3, 5, 4, 2, 5*
- г) 3, 1, 5, 4, 2

2) В какой последовательности происходит разрушение трансляционного комплекса: а) отделение тРНК и полипептида от рибосомы; б) отделение пептидной цепи от тРНК; в) разделение 70S рибосомы и мРНК; г) диссоциация 70S рибосомы на составляющие.

- а) 1, 2, 3, 4;
- б) 2, 1, 4, 3;
- в) 3, 2, 4, 1*;
- г) 4, 3, 1, 2.

3 уровень:

Для связывания *гесА* необходим одноцепочечный фрагмент ДНК со свободным 3'-концом. Но *гесА* зависящая рекомбинация возможна при наличии двухцепочечных разрывов.

Вопрос 1 Возможность функционирования *гесА* обеспечивается:

- а) расщеплением одной из цепей;
- б) функционированием ДНКазы V*;
- в) образованием липких концов;
- г) функционированием резольвазы.

Вопрос 2 Работа *гесА* обеспечивает:

- а) кроссинговер;
- б) генную конверсию;
- в) репарацию замены нуклеотидов;
- г) репарацию разрывов*.

Вопрос 3 Появление двухцепочечных разрывов связано с:

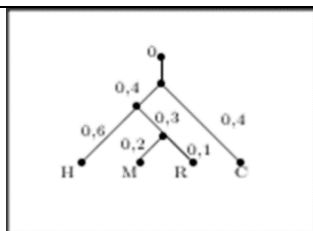
- а) образованием тиминовых димеров;
- б) разрывом связей в сахарофосфатном остове*;
- в) появлением радикалов;
- г) реакциями транэтерификации.

Вопрос 4 Функционирование *гес А* связано с рекомбинацией:

- а) гомологичной*;
- б) сайтспецифической;
- в) случайной;
- г) всеми выше перечисленными.

Примерные ситуационные задачи

1. При помощи программы было построено филогенетическое древо, имеющее следующий вид:



Представители каких групп наиболее близки друг к другу филогенетически?
Представители каких групп имеют наименьшее сходство?

2. При конъюгации у *Escherichia coli* установлены такие последовательности передачи генетических маркеров для донорных штаммов: HfrH: *0-thr-leu-proA purE-trp-his*; HfrC: *0 purE- proA-leu-thr-ilv-mal-rpsL*; Hfr KL19: *0-trp-his-tyrA-thy*; Hfr AB313: *0-mal-rpsL -thy-tyrA-his-trp*; Hfr PK191: *0-his-tyrA-thy-rpsL.-mal-ilv* Hfr KL14: *0-mal-rpsL-ilv- thr-leu-proA*. Постройте генетическую карту хромосомы *E. coli*.

3. Рассчитайте среднее расстояние между сайтами рестриктаз EcoRI (5'-GAATTC) и MboI (5'-GATC) в геномной ДНК.

Примерный перечень практических навыков

1. Владеть навыками анализа рестрикционных карт.
2. Использовать компьютерные базы данных нуклеотидных последовательностей для построения филогенетических деревьев.
3. Анализировать научно-медицинскую информацию, отечественный и зарубежный опыт по тематике исследования для осуществления прикладных и практических проектов и иных мероприятий.
4. Уметь пользоваться учебной, научной, научно-популярной литературой, сетью Интернет для профессиональной деятельности.

Примерные задания для написания (и защиты) рефератов/докладов

1. Механизмы реорганизации геномов. Сайтоспецифическая и случайная екомбинация и генная конверсия.
2. Механизмы реорганизации геномов. Гомологичная рекомбинация и генная конверсия. Механизм, биологическая роль.
3. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер. Структура, биологическая роль.
4. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области центромер. Структура, биологическая роль.
5. Повторяющиеся элементы генома. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.
6. Мобильные генетические элементы эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.
7. Мобильные генетические элементы прокариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.

ПК-1

Примерные вопросы к экзамену

(с №52 по №68 (полный перечень вопросов – см. п. 2.2))

1. ДНК-микрочип (ДНК-чип), описание метода, области применения.
2. Принципы и методы цитологической диагностики. Цитохимия, иммуногистохимия, проточная цитометрия. Световая, люминисцентная и электронная микроскопия.

3. Метод клеточных культур. Типы и виды стволовых клеток. Практическое применение тканевой инженерии.
4. Тест на цитотоксичность. Методика, области применения.
5. Получение моноклональных антител. Методика, области применения.
6. Цитогенетика. История развития. Показания к проведению.
7. Интерфазные цитогенетические методы. Определение полового хроматина, методика. Fluorescence in situ hybridization, FISH – принцип метода, дать характеристику патологии по фотографии мультиплексной FISH.
78. Метафазный метод. Виды хромосом. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская номенклатуры. Система записи кариотипов.
9. Методика получения препарата для цитогенетического анализа.
10. Виды окрасок, применяемые в цитогенетике, их характеристики.
11. Рестриктазы, определение, функции, номенклатура.
12. Лигазы, определение, функции.
13. Создание рекомбинантной ДНК, рестриктазно-лигазный метод.
14. Вектор, определение, функции, виды.
15. Саузерн-блот гибридизация, описание методики или схема выполнения.
16. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
17. Генетическая инженерия. Опишите методику генотерапии семейной гиперхолестеринемии.

Примерные вопросы к устному опросу, собеседованию текущего контроля (с №1 по №4 раздел 1, с №11 по №28 раздел 2 часть 1, с №1 по №11 раздел 2 часть 2. (полный перечень вопросов – см. п. 2.2))

Раздел 1.

1. Организация молекулярно-биологической лаборатории. Изобразите схему с основными отделами лаборатории и их взаимодействие в виде направления движения исследуемого образца.
2. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне пробоподготовки, назначение.
3. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне подготовки реакционной смеси и амплификации, назначение.
4. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне детекции, назначение.

Раздел 2. Часть 1.

1. ПЦР. История разработки. Прикладное значение.
2. Принцип ПЦР. Состав смеси, температурные режимы.
3. Оборудование, необходимое для постановки ПЦР. Принцип работы.
4. ПЦР реал тайм. Принципы. Способы визуализации накопления ДНК в ходе ПЦР.
5. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием интеркалирующих элементов.
6. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием TagMan-зондов (выщепление 5' концевой метки).
7. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - принцип FLASH. Отличия от метода «Реал-тайм».
8. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - эл.форез, основные теоретические принципы.
9. Оборудование, необходимое для постановки фореза, назначение.
10. Электрофорез в агарозном геле. Методика приготовления геля и постановки фореза.

11. Электрофорез в полиакриламидном геле. Отличия от агарозного.
12. Визуализация результатов эл.фореза. Системы документации.
13. Мультиплексная полимеразная цепная реакция, принципы постановки, отличия от «классической» ПЦР, достоинства и недостатки.
14. ПЦР с обратной транскрипцией, описание метода, ситуации в которых он применяется, особенности постановки.
15. ПЦР с «горячим стартом», описание метода, особенности постановки.
16. Аллель-специфичная ПЦР, описание метода, что он позволяет выявить.
17. Гетеродуплексный анализ, описание метода, что он позволяет выявить.
18. Схематически изобразите принцип гетеродуплексного анализа и электрофоретическую картину результатов.

Раздел 2. Часть 2.

10. Принципы и методы цитологической диагностики. Цитохимия, иммуногистохимия.
11. Проточная цитометрия. Световая, люминисцентная и электронная микроскопия.
12. Метод клеточных культур. Типы и виды стволовых клеток. Практическое применение тканевой инженерии.
13. Тест на цитотоксичность. Методика, области применения.
14. Получение моноклональных антител. Методика, области применения.
15. Цитогенетика. История развития. Показания к проведению.
16. Интерфазные цитогенетические методы. Определение полового хроматина, методика.
17. Fluorescence in situ hybridization, FISH – принцип метода, дать характеристику патологии по фотографии мультиплексной FISH.
18. Метафазный метод. Виды хромосом. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская номенклатуры. Система записи кариотипов.
19. Методика получения препарата для цитогенетического анализа.
20. Виды окрасок, применяемые в цитогенетике, их характеристики.

Тестовые задания (разноуровневые) для текущего контроля и промежуточной аттестации

1 уровень:

- 1) К цис-элементам регуляции относятся:
 - а) промоторы*;
 - б) терминаторы*;
 - в) ORF;
 - г) факторы транскрипции.
- 2) Наиболее сильным является промотор:
 - а) тРНК
 - б) мРНК;
 - в) рРНК*;
 - г) вирусные РНК*.
- 3) В составе гетерохроматина присутствуют:
 - а) центромеры*;
 - б) теломеры*;
 - в) сателлитная ДНК*;
 - г) инактивированные гены*.
- 4) Сателлитная ДНК характерна для:

- а) теломеров*;
- б) транспозонов;
- в) ретротранспозонов;
- г) центромеров*.

5) К уникальным повторам относятся:

- а) ORF*;
- б) псевдогены*;
- в) диспергированные повторы;
- г) теломеры.

6) В виде полицистронных РНК транскрибируются гены:

- а) мРНК;
- б) мяРНК*;
- в) рРНК*;
- г) тРНК*.

2 уровень:

1) Напишите соответствие метода молекулярной биологии и области их применения:

- 1) ПЦР
- 2) цитогенетический анализ
- 3) ПЦР-ПДРФ
- 4) Northern гибридизация

- А) выявление хромосомных мутаций
- Б) выявление возбудителей заболеваний
- В) выявление отдельных точечных мутаций
- Г) изучение экспрессии генов

Ответы: таблица соответствия

Метод молекулярной биологии	Область применения
1 ПЦР	Б
2 цитогенетический анализ	А
3 ПЦР-ПДРФ	В
4 Northern гибридизация	Г

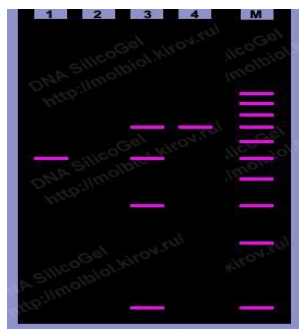
2) Напишите соответствие этапов реакции ПЦР и температуры, характерной для реакции:

- 1) денатурация
- 2) отжиг праймера
- 3) достройка цепи

- А) 95⁰С
 - Б) температура рассчитывается с учетом структуры праймера
 - В) 72⁰С
- таблица соответствия

Этап ПЦР	температура
1 95 ⁰ С	А
2 температура рассчитывается с учетом структуры праймера	Б
3 72 ⁰ С	В

Ответы: 1-А, 2-Б, 3-В.



3 уровень:

1) На рисунке представлен гель-электрофорез результатов ПЦР в агарозном геле. Размер ожидаемого продукта 500 п. н. Маркер — набор из фрагментов ДНК 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 п. н.

Вопрос 1 На дорожке 1 изображен:

- а) Ожидаемый ПЦР продукт качественной реакции*;
- б) Результат ПЦР в отсутствии матрицы;
- в) Результат ПЦР, не подобранными условиями по температуре отжига;
- г) Результат ПЦР с матрицы, подвергшейся перестройке.

Вопрос 2 Отсутствие ПЦР продукта на дорожке 2 может объясняться:

- а) отсутствием матрицы*;
- б) низкой температурой отжига;
- в) денатурацией ДНК;
- г) концентрацией магния.

Вопрос 3 Множество продуктов на дорожке 3 может объясняться:

- а) денатурацией Taq-полимеразы;
- б) низкой температурой отжига*;
- в) денатурацией ДНК;
- г) перестройкой в целевой матрице.

Вопрос 4 Продукт несоответствующего размера на дорожке 4 может объясняться:

- а) денатурацией Taq-полимеразы;
- б) низкой температурой отжига;
- в) денатурацией ДНК;
- г) перестройкой в целевой матрице*.

Примерные ситуационные задачи

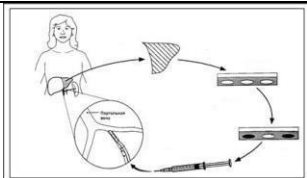
Задача 1. При исследовании методом ПЦР на заболевание кандидоз, вызываемое *Candida albicans* и получении результатов электрофореза видна следующая картина:



Интерпретируйте данные и поясните фото геля.

Задача 2. Интерпретируйте данную схему, заполнив следующие пункты:

- Стратегия:
- Вектор:
- Трансген:
- Генно-инженерная конструкция:
- Процедура 1-2-3-4-5-6



Результат:

Примерный перечень практических навыков

Правильно провести техническое оснащение лаборатории ДНК-диагностики.

Уметь оценивать чистоту препарата ДНК.

Уметь оценивать качество препаратов нуклеиновых кислот.

Уметь подбирать метод модифицированной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в зависимости от типа анализа.

Уметь проверять достоверность результатов полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Уметь анализировать белки методом гель-электрофореза.

Примерные задания для написания (и защиты) рефератов

1. Методы определения последовательности нуклеотидов.
2. FISH. Принцип метода. Применение.
3. ПЦР. Принцип метода. Разновидности. Применение.
4. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
5. Саузерн-блот гибридизация. Принцип метода. Применение.
6. Методы генетического картирования генов эукариот.
7. Методы физического картирования генов эукариот.
8. Методы генетического картирования генов прокариот.
9. Методы физического картирования генов прокариот.
10. «Вычитающая гибридизация». Принцип метода. Применение.

Критерии оценки экзаменационного собеседования, собеседования текущего контроля:

Оценки «отлично» заслуживает обучающийся, обнаруживший всестороннее, систематическое и глубокое знание учебно-программного материала, умение свободно выполнять задания, предусмотренные программой, усвоивший основную и знакомый с дополнительной литературой, рекомендованной программой. Как правило, оценка «отлично» выставляется обучающимся, усвоившим взаимосвязь основных понятий дисциплины в их значении для приобретаемой профессии, проявившим творческие способности в понимании, изложении и использовании учебно-программного материала.

Оценки «хорошо» заслуживает обучающийся, обнаруживший полное знание учебно-программного материала, успешно выполняющий предусмотренные в программе задания, усвоивший основную литературу, рекомендованную в программе. Как правило, оценка «хорошо» выставляется обучающимся, показавшим систематический характер знаний по дисциплине и способным к их самостоятельному пополнению и обновлению в ходе дальнейшей учебной работы и профессиональной деятельности.

Оценки «удовлетворительно» заслуживает обучающийся, обнаруживший знания основного учебно-программного материала в объеме, необходимом для дальнейшей учебы и предстоящей работы по специальности, справляющийся с выполнением заданий, предусмотренных программой, знакомый с основной литературой, рекомендованной программой. Как правило, оценка «удовлетворительно» выставляется обучающимся, допустившим погрешности в ответе на экзамене и при выполнении экзаменационных заданий, но обладающим необходимыми знаниями для их устранения под руководством преподавателя.

Оценка «неудовлетворительно» выставляется обучающемуся, обнаружившему пробелы в знаниях основного учебно-программного материала, допустившему принципиальные ошибки в выполнении предусмотренных программой заданий. Как правило, оценка «неудовлетворительно»

ставится обучающимся, которые не могут продолжить обучение в образовательной организации высшего образования и приступить к изучению последующих дисциплин.

Критерии оценки тестовых заданий:

«зачтено» - не менее 71% правильных ответов;

«не зачтено» - 70% и менее правильных ответов.

Критерии оценки ситуационных задач:

«зачтено» - обучающийся решил задачу в соответствии с алгоритмом, дал полные и точные ответы на все вопросы задачи, представил комплексную оценку предложенной ситуации, сделал выводы, привел дополнительные аргументы, продемонстрировал знание теоретического материала с учетом междисциплинарных связей, нормативно-правовых актов; предложил альтернативные варианты решения проблемы;

«не зачтено» - обучающийся не смог логично сформулировать ответы на вопросы задачи, сделать выводы, привести дополнительные примеры на основе принципа межпредметных связей, продемонстрировал неверную оценку ситуации.

Критерии оценки практических навыков:

«зачтено» - обучающийся обладает теоретическими знаниями и владеет методикой выполнения практических навыков, демонстрирует их выполнение, в случае ошибки может исправить при коррекции их преподавателем;

«не зачтено» - обучающийся не обладает достаточным уровнем теоретических знаний (не знает методики выполнения практических навыков, показаний и противопоказаний, возможных осложнений, нормативы и проч.) и/или не может самостоятельно продемонстрировать практические умения или выполняет их, допуская грубые ошибки.

Критерии оценки написания (и защиты) рефератов/докладов:

«зачтено» – обоснована актуальность проблемы и темы, содержание соответствует теме и плану реферата, полно и глубоко раскрыты основные понятия проблемы, обнаружено достаточное владение терминологией, продемонстрировано умение работать с литературой, систематизировать и структурировать материал, умение обобщать, сопоставлять различные точки зрения по рассматриваемому вопросу, аргументировать основные положения и выводы, к анализу привлечены новейшие работы по проблеме (журнальные публикации, материалы сборников научных трудов и т.д.), полностью соблюдены требования к оформлению реферата, грамотность и культура изложения материала на высоком уровне.

«не зачтено» – не обоснована или слабо обоснована актуальность проблемы и темы, содержание не соответствует теме и плану реферата, обнаружено недостаточное владение терминологией и понятийным аппаратом проблемы, не продемонстрировано умение работать с литературой, систематизировать и структурировать материал, умение обобщать, сопоставлять различные точки зрения по рассматриваемому вопросу, аргументировать основные положения и выводы, использован очень ограниченный круг литературных источников по проблеме, не соблюдены требования к оформлению реферата, отсутствует грамотность и культура изложения материала.

2.2. Примерные вопросы к экзамену

1. Направления и типы переноса наследственной информации в живых организмах. Центральная догма молекулярной биологии.
2. Физико-химическое строение ДНК. Сравнение ДНК и РНК.
3. Организация генома у прокариот. Регуляция экспрессии генов прокариот.
4. Организация генома у эукариот. Регуляция экспрессии генов эукариот.
5. Принципы репликации. Схема репликационной вилки. Ферментативный комплекс, участвующий в репликации ДНК. Функции ферментов репликации.

6. Особенности репликации лидирующей и отстающей цепей ДНК. Причины, механизмы возникновения и устранения ошибок репликации. Биологическое и медицинское значение ошибок репликации ДНК.
7. Транскрипция, определение. Основной фермент и вспомогательные факторы транскрипции. Точки начала и конца транскрипции. Этапы транскрипции.
8. Особенности транскрипции у про- и эукариот. Оперон.
9. Обратная транскрипция, понятие, в каких случаях происходит, ключевой фермент. Регуляция экспрессии гена на уровне транскрипции и последующих.
10. Трансляция, определение. Особенности у про- и эукариот. Матричная (информационная) РНК, ее структура и функциональные участки у прокариот и эукариот.
11. Генетический код, его свойства. Кодон и антикодон, принципы их взаимодействия.
12. тРНК строение и функции. Аминоацилирование тРНК как необходимый этап трансляции.
13. Структура рибосом про- и эукариот. Функциональные участки рибосом.
14. Механизмы инициации, элонгации, терминации трансляции у про- и эукариот.
15. Терминирующие кодоны, белковые факторы терминации (RF1, RF2, RF3), фактор RRF и диссоциация трансляционного комплекса.
16. Макромолекулярные структуры клетки, краткая характеристика.
17. Аминокислотный состав белков. Классификация АК.
18. Пространственная организация белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура).
19. Посттрансляционная модификация, варианты (метилование, гликозилирование, фосфорилирование).
20. Липопротеины, гликопротеины, шапероны (характеристика, функции).
21. Актиновые и промежуточные филаменты, микротрубочки (характеристика, функции).
22. Внеклеточный матрикс - коллаген и эластин, протеогликаны, строение, функции.
23. Методы генетического и физического картирования генов прокариот и эукариот.
24. Механизмы реорганизации геномов. Сайтспецифическая, гомологичная и случайная рекомбинация, генная конверсия. Механизмы, биологическая роль.
25. Повторяющиеся элементы генома. Последовательности в области теломер и центромер. Тандемные и диспергированные повторы. Структура, биологическая роль, распределение в геноме.
26. Мобильные генетические элементы прокариот и эукариот, структура, расположение, механизмы перемещения и функции.
27. Филогенетический анализ, построение деревьев, прикладное программное обеспечение.
28. Организация молекулярно-биологической лаборатории. Основные отделы лаборатории и их взаимодействие.
29. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне пробоподготовки, подготовки реакционной смеси и амплификации, детекции, назначение.
30. Из какого биоматериала может быть выделена ДНК и РНК? Особенности выделения РНК? Условия транспортировки биоматериала или выделенной ДНК/РНК.
31. Основные методы выделения ДНК (экспресс, фенол-хлороформный). Принципы. Достоинства и недостатки. Кит наборы.
32. Основные методы выделения ДНК (сорбентный, на микроколонках, на бумажных фильтрах). Принципы. Достоинства и недостатки. Кит наборы.
33. Условия и сроки хранения выделенной ДНК. Определение качества выделенной ДНК/РНК.
34. ПЦР. История разработки. Прикладное значение. Принцип ПЦР. Состав смеси, температурные режимы.
35. Оборудование, необходимое для постановки ПЦР. Принцип работы.
36. ПЦР реал тайм. Принципы и способы визуализации накопления ДНК в ходе ПЦР (с использованием интеркалирующих элементов и TagMan-зондов).
37. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - принцип FLASH. Отличия от метода

«Реал-тайм».

38. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - эл.форез, основные теоретические принципы. Оборудование, необходимое для постановки фореза, назначение.
39. Электрофорез в агарозном геле. Методика приготовления геля и постановки фореза.
40. Электрофорез в полиакриламидном геле. Отличия от агарозного. Визуализация результатов эл.фореза. Системы документации.
41. Мультиплексная полимеразная цепная реакция, принципы постановки, отличия от «классической» ПЦР, достоинства и недостатки.
42. ПЦР с обратной транскрипцией, описание метода, ситуации, в которых он применяется, особенности постановки.
43. ПЦР с «горячим стартом», описание метода, особенности постановки.
44. Аллель-специфичная ПЦР, описание метода, что он позволяет выявить, поясните схему.
45. Гетеродуплексный анализ, описание метода, что он позволяет выявить, поясните схему.
46. Рестрикционный анализ (ПДРФ), описание метода, что он позволяет выявить, поясните схему.
47. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализ конформационного полиморфизма однострессовой ДНК, описание метода, что он позволяет выявить, поясните схему.
48. Перечислите причины, по которым проведение ПЦР может быть неэффективно. Оптимизация проведения ПЦР, ключевые факторы.
49. Преимущества и недостатки метода ПЦР, перечислить и пояснить. Организация технологического процесса при работе методом ПЦР.
50. Конструирование ПЦР праймеров, основные условия, прикладные программы и базы данных.
51. Секвенирование, определение, общий принцип метода, области применения. Метод терминирующих аналогов трифосфатов (дидезоксинуклеозидтрифосфатов).
52. ДНК-микрочип (ДНК-чип), описание метода, области применения.
53. Принципы и методы цитологической диагностики. Цитохимия, иммуногистохимия, проточная цитометрия. Световая, люминисцентная и электронная микроскопия.
54. Метод клеточных культур. Типы и виды стволовых клеток. Практическое применение тканевой инженерии.
55. Тест на цитотоксичность. Методика, области применения.
56. Получение моноклональных антител. Методика, области применения.
57. Цитогенетика. История развития. Показания к проведению.
58. Интерфазные цитогенетические методы. Определение полового хроматина, методика. Fluorescence in situ hybridization, FISH – принцип метода, дать характеристику патологии по фотографии мультиплексной FISH.
59. Метафазный метод. Виды хромосом. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская номенклатуры. Система записи кариотипов.
60. Методика получения препарата для цитогенетического анализа.
61. Виды окрасок, применяемые в цитогенетике, их характеристики.
62. Рестриктазы, определение, функции, номенклатура.
63. Лигаза, определение, функции.
64. Создание рекомбинантной ДНК, рестриктазно-лигазный метод.
65. Вектор, определение, функции, виды.
66. Саузерн-блот гибридизация, описание методики или схема выполнения.
67. «Прогулка по хромосоме». Принцип метода. Применение.
68. Генетическая инженерия. Опишите методику генотерапии семейной гиперхолестеринемии.

Примерные вопросы к собеседованию по текущему контролю

Раздел 1. «Основы молекулярного строения клеточных компонентов. Структура, реорганизация и реализация геномов».

1. Организация молекулярно-биологической лаборатории. Изобразите схему с основными отделами лаборатории и их взаимодействие в виде направления движения исследуемого образца.
2. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне пробоподготовки, назначение.
3. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне подготовки реакционной смеси и амплификации, назначение.
4. Оборудование молекулярно-биологической лаборатории в зоне детекции, назначение.
5. Физико-химическое строение ДНК.
6. Сравнение ДНК и РНК (таблицей).
7. Основные методы выделения геномной ДНК, принципы.
8. Направления и типы переноса наследственной информации в живых организмах. Центральная догма молекулярной биологии.
9. Организация генома у прокариот и эукариот, особенности.
10. Принципы репликации. Схема репликационной вилки.
11. Ферментативный комплекс, участвующий в репликации ДНК (перечислить ферменты).
12. Функции ферментов репликации.
13. Особенности репликации лидирующей и отстающей цепей ДНК.
14. Причины, механизмы возникновения и устранения ошибок репликации. Биологическое и медицинское значение ошибок репликации ДНК.
15. Транскрипция, определение. Основной фермент и вспомогательные факторы транскрипции.
16. Точки начала и конца транскрипции. Этапы транскрипции.
17. Особенности транскрипции у про- и эукариот.
18. Оперон (нарисуйте схему).
19. Обратная транскрипция, понятие, в каких случаях происходит, ключевой фермент.
20. Регуляция экспрессии гена на уровне транскрипции и последующих.
21. Трансляция, определение. Особенности у про- и эукариот.
22. Матричная (информационная) РНК, ее структура и функциональные участки у прокариот и эукариот.
23. Основные свойства генетического кода.
24. Кодон и антикодон, принципы их взаимодействия.
25. тРНК строение, изобразить схематически.

Раздел 2. «Методы молекулярной биологии» Часть 1.

41. Из какого биоматериала может быть выделена ДНК и РНК? Особенности выделения РНК?
42. Условия транспортировки биоматериала или выделенной ДНК/РНК.
43. Оборудование необходимое для этапа выделения ДНК/РНК.
44. Основные этапы выделения. Условия и сроки хранения выделенной ДНК/РНК.
45. Экспресс методы выделения. Принцип. Достоинства и недостатки. Кит наборы.
46. Фенол хлороформный метод. Принцип. Достоинства, недостатки.
47. Выделение с использованием сорбентов. Принцип. Достоинства, недостатки.
48. Выделение на микроколонках. Принцип. Достоинства, недостатки.
49. Выделение на бумажных фильтрах. Принцип. Достоинства, недостатки.
50. Определение качества выделенной ДНК/РНК.
51. ПЦР. История разработки. Прикладное значение.
52. Принцип ПЦР. Состав смеси, температурные режимы.
53. Оборудование, необходимое для постановки ПЦР. Принцип работы.
54. ПЦР реал тайм. Принципы. Способы визуализации накопления ДНК в ходе ПЦР.
55. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием интеркалирующих элементов.
56. Схематически изобразите принцип ПЦР реал-тайм с использованием TagMan-зондов

(выщепление 5' концевой метки).

57. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - принцип FLASH. Отличия от метода «Реал-тайм».
58. Визуализация результатов ПЦР «по конечной точке» - эл.форез, основные теоретические принципы.
59. Оборудование, необходимое для постановки фореза, назначение.
60. Электрофорез в агарозном геле. Методика приготовления геля и постановки фореза.
61. Электрофорез в полиакриламидном геле. Отличия от агарозного.
62. Визуализация результатов эл.фореза. Системы документации.
63. Мультиплексная полимеразная цепная реакция, принципы постановки, отличия от «классической» ПЦР, достоинства и недостатки.
64. ПЦР с обратной транскрипцией, описание метода, ситуации в которых он применяется, особенности постановки.
65. ПЦР с «горячим стартом», описание метода, особенности постановки.
66. Аллель-специфичная ПЦР, описание метода, что он позволяет выявить.
67. Гетеродуплексный анализ, описание метода, что он позволяет выявить.
68. Схематически изобразите принцип гетеродуплексного анализа и электрофоретическую картину результатов.
69. Рестрикционный анализ (ПДРФ), описание метода, что он позволяет выявить.
70. Схематически изобразите принцип рестрикционного анализа (ПДРФ) и электрофоретическую картину результатов.
71. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализ конформационного полиморфизма одностандартной ДНК, описание метода, что он позволяет выявить.
72. Схематически изобразите принцип SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - анализа конформационного полиморфизма одностандартной ДНК и электрофоретическую картину результатов.
73. Перечислите причины, по которым проведение ПЦР может быть неэффективно.
74. Оптимизация проведения ПЦР, ключевые факторы.
75. Преимущества метода ПЦР, перечислить и пояснить.
76. Недостатки метода ПЦР, перечислить и пояснить.
77. Организация технологического процесса при работе методом ПЦР.
78. Секвенирование, определение, общий принцип метода, области применения.
79. Метод терминирующих аналогов трифосфатов (дидезоксинуклеозидтрифосфатов).
80. ДНК-микрочип (ДНК-чип), описание метода, области применения.

Раздел 2. «Методы молекулярной биологии» Часть 2.

18. Принципы и методы цитологической диагностики. Цитохимия, иммуногистохимия.
19. Проточная цитометрия. Световая, люминисцентная и электронная микроскопия.
20. Метод клеточных культур. Типы и виды стволовых клеток. Практическое применение тканевой инженерии.
21. Тест на цитотоксичность. Методика, области применения.
22. Получение моноклональных антител. Методика, области применения.
23. Цитогенетика. История развития. Показания к проведению.
24. Интерфазные цитогенетические методы. Определение полового хроматина, методика.
25. Fluorescence in situ hybridization, FISH – принцип метода, дать характеристику патологии по фотографии мультиплексной FISH.
26. Метафазный метод. Виды хромосом. Характеристика кариотипа человека. Денверская и Парижская номенклатуры. Система записи кариотипов.

27. Методика получения препарата для цитогенетического анализа.
28. Виды окрасок, применяемые в цитогенетике, их характеристики.
29. Рестриктазы, определение, функции, номенклатура.
30. Лигазы, определение, функции.
31. Создание рекомбинантной ДНК, рестриктазно-лигазный метод.
32. Вектор, определение, функции, виды.
33. Пример генной инженерии на методике генотерапии семейной гиперхолестеринемии.
34. Саузерн-блот гибридизация, описание методики или схема выполнения.
35. Имеется последовательность двухцепочечной ДНК следующего состава:
5'-ГЦА.АТА.ГТГ.ТГА.АТТ.ЦАЦ.АТГ-3'
3'-ЦГТ.ТАТ.ЦАЦ.АЦТ.ТАА.ГТГ.ТАЦ-5'
Каким способом и на сколько частей можно разрезать эту ДНК?
36. Рестрикционный фермент *NotI* разрезает ДНК по последовательности ГГЦЦ. Насколько часто этот фермент будет разрезать двухцепочечную ДНК? (Какова средняя длина фрагментов разрезанной ДНК?).
37. Гаплоидный геном (4хромосомы) *Drosophila melanogaster* содержит около 120 миллионов н.п. ДНК. Если вы порежете человеческую ДНК рестрикционным ферментом *EcoRI*, узнающим гексамерную последовательность ГААТТЦ, то сколько различных рестрикционных фрагментов будет получено?

3. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта профессиональной деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций

3.1. Методика проведения тестирования

Целью этапа промежуточной аттестации по дисциплине (модулю), проводимой в форме тестирования, является оценка уровня усвоения обучающимися знаний, приобретения умений, навыков и сформированности компетенций в результате изучения учебной дисциплины (части дисциплины).

Локальные нормативные акты, регламентирующие проведение процедуры:

Проведение промежуточной аттестации обучающихся регламентируется Порядком проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся.

Субъекты, на которых направлена процедура:

Процедура оценивания должна охватывать всех обучающихся, осваивающих дисциплину (модуль). В случае, если обучающийся не проходил процедуру без уважительных причин, то он считается имеющим академическую задолженность.

Период проведения процедуры:

Процедура оценивания проводится по окончании изучения дисциплины (модуля) на последнем занятии. В случае проведения тестирования на компьютерах время и место проведения тестирования преподаватели кафедры согласуют с информационно-вычислительным центром и доводят до сведения обучающихся.

Требования к помещениям и материально-техническим средствам для проведения процедуры:

Требования к аудитории для проведения процедуры и необходимость применения специализированных материально-технических средств определяются преподавателем.

Требования к кадровому обеспечению проведения процедуры:

Процедуру проводит преподаватель, ведущий дисциплину (модуль).

Требования к банку оценочных средств:

До начала проведения процедуры преподавателем подготавливается необходимый банк тестовых заданий. Преподаватели кафедры разрабатывают задания для тестового этапа зачёта, утверждают их на заседании кафедры и передают в информационно-вычислительный центр в электронном виде вместе с копией рецензии. Минимальное количество тестов, составляющих фонд тестовых заданий, рассчитывают по формуле: трудоемкость дисциплины в з.е. умножить на 50.

Тесты включают в себя задания 3-х уровней:

- ТЗ 1 уровня (выбрать все правильные ответы)
- ТЗ 2 уровня (соответствие, последовательность)
- ТЗ 3 уровня (ситуационная задача)

Соотношение заданий разных уровней и присуждаемые баллы

	Вид промежуточной аттестации
	экзамен
Количество ТЗ 1 уровня (выбрать все правильные ответы)	30
Кол-во баллов за правильный ответ	1
Всего баллов	30
Количество ТЗ 2 уровня (соответствие, последовательность)	15
Кол-во баллов за правильный ответ	2
Всего баллов	30
Количество ТЗ 3 уровня (ситуационная задача)	5
Кол-во баллов за правильный ответ	8
Всего баллов	40
Всего тестовых заданий	50
Итого баллов	100
Мин. количество баллов для аттестации	70

Описание проведения процедуры:

Тестирование является обязательным этапом экзамена независимо от результатов текущего контроля успеваемости. Тестирование может проводиться на компьютере или на бумажном носителе.

Тестирование на бумажном носителе:

Каждому обучающемуся, принимающему участие в процедуре, преподавателем выдается бланк индивидуального задания. После получения бланка индивидуального задания обучающийся должен выбрать правильные ответы на тестовые задания в установленное преподавателем время.

Обучающемуся предлагается выполнить 50 тестовых заданий разного уровня сложности на экзамене. Время, отводимое на тестирование, составляет не более полутора академических часов на экзамене.

Тестирование на компьютерах:

Для проведения тестирования используется программа INDIGO. Обучающемуся предлагается выполнить 50 тестовых заданий разного уровня сложности на экзамене. Время, отводимое на тестирование, составляет не более полутора академических часов на экзамене.

Результаты процедуры:

Результаты тестирования на компьютере или бумажном носителе имеют качественную оценку «зачтено» – «не зачтено». Оценки «зачтено» по результатам тестирования являются основанием для допуска обучающихся к собеседованию. При получении оценки «не зачтено» за тестирование обучающийся к собеседованию не допускается и по результатам промежуточной аттестации по дисциплине выставляется оценка «неудовлетворительно».

Результаты проведения процедуры в обязательном порядке проставляются преподавателем в экзаменационные ведомости в соответствующую графу.

3.2. Методика проведения приема практических навыков

Цель этапа промежуточной аттестации по дисциплине (модулю), проводимой в форме приема практических навыков является оценка уровня приобретения обучающимся умений, навыков и сформированности компетенций в результате изучения учебной дисциплины (части дисциплины).

Локальные нормативные акты, регламентирующие проведение процедуры:

Проведение промежуточной аттестации обучающихся регламентируется Положением о текущем контроле успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся, введенным в действие приказом от 08.02.2018 № 61-ОД.

Субъекты, на которые направлена процедура:

Процедура оценивания должна охватывать всех обучающихся, осваивающих дисциплину (модуль). В случае, если обучающийся не проходил процедуру без уважительных причин, то он считается имеющим академическую задолженность.

Период проведения процедуры:

Процедура оценивания проводится по окончании изучения дисциплины (модуля) на последнем занятии по дисциплине (модулю), или в день проведения собеседования, или может быть совмещена с экзаменационным собеседованием по усмотрению кафедры.

Требования к помещениям и материально-техническим средствам для проведения процедуры:

Требования к аудитории для проведения процедуры и необходимость применения специализированных материально-технических средств определяются преподавателем.

Требования к кадровому обеспечению проведения процедуры:

Процедуру проводит преподаватель, ведущий дисциплину (модуль).

Требования к банку оценочных средств:

До начала проведения процедуры преподавателем подготавливается необходимый банк оценочных материалов для оценки умений и навыков. Банк оценочных материалов включает перечень практических навыков, которые должен освоить обучающийся для будущей профессиональной деятельности.

Описание проведения процедуры:

Оценка уровня освоения практических умений и навыков может осуществляться на основании положительных результатов текущего контроля при условии обязательного посещения всех занятий семинарского типа.

Для прохождения этапа проверки уровня освоения практических навыков обучающийся должен овладеть всеми практическими умениями и навыками, предусмотренными программой дисциплины (модуля).

Результаты процедуры:

Результаты проверки уровня освоения практических умений и навыков имеют качественную оценку «зачтено» – «не зачтено». Оценки «зачтено» по результатам проверки уровня освоения практических умений и навыков являются основанием для допуска обучающихся к собеседованию. При получении оценки «не зачтено» за освоение практических умений и навыков обучающийся к собеседованию не допускается и по результатам промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) выставляется оценка «не зачтено».

Результаты проведения процедуры в обязательном порядке проставляются преподавателем в экзаменационные ведомости в соответствующую графу.

3.3. Методика проведения устного собеседования

Целью процедуры промежуточной аттестации по дисциплине (модулю), проводимой в форме устного собеседования, является оценка уровня усвоения обучающимися знаний, приобретения умений, навыков и сформированности компетенций в результате изучения учебной дисциплины (части дисциплины).

Локальные нормативные акты, регламентирующие проведение процедуры:

Проведение промежуточной аттестации обучающихся регламентируется Положением о текущем контроле успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся, введенным в действие приказом от 08.02.2018 № 61-ОД.

Субъекты, на которые направлена процедура:

Процедура оценивания должна охватывать всех обучающихся, осваивающих дисциплину (модуль). В случае, если обучающийся не проходил процедуру без уважительных причин, то он считается имеющим академическую задолженность.

Период проведения процедуры:

Процедура оценивания проводится по окончании изучения дисциплины (модуля) в соответствии с приказом о проведении промежуточной аттестации (если промежуточная аттестация проводится в форме экзамена). Деканатом факультета может быть составлен индивидуальный

график прохождения промежуточной аттестации для обучающегося при наличии определенных обстоятельств.

Требования к помещениям и материально-техническим средствам для проведения процедуры:

Требования к аудитории для проведения процедуры и необходимость применения специализированных материально-технических средств определяются преподавателем.

Требования к кадровому обеспечению проведения процедуры:

Процедуру проводит преподаватель, ведущий дисциплину (модуль), как правило, проводящий занятия лекционного типа.

Требования к банку оценочных средств:

До начала проведения процедуры преподавателем подготавливается необходимый банк оценочных материалов для оценки знаний, умений, навыков. Банк оценочных материалов включает вопросы, как правило, открытого типа, перечень тем, выносимых на опрос, типовые задания. Из банка оценочных материалов формируются печатные бланки индивидуальных заданий (билеты). Количество вопросов, их вид (открытые или закрытые) в бланке индивидуального задания определяется преподавателем самостоятельно.

Описание проведения процедуры:

Каждому обучающемуся, принимающему участие в процедуре, преподавателем выдается бланк индивидуального задания. После получения бланка индивидуального задания и подготовки ответов обучающийся должен в меру имеющихся знаний, умений, навыков, сформированности компетенции дать устные развернутые ответы на поставленные в задании вопросы и задания в установленное преподавателем время. Продолжительность проведения процедуры определяется преподавателем самостоятельно, исходя из сложности индивидуальных заданий, количества вопросов, объема оцениваемого учебного материала, общей трудоемкости изучаемой дисциплины (модуля) и других факторов.

Собеседование может проводиться по вопросам билета и (или) по ситуационной(ым) задаче(ам). Результат собеседования при проведении промежуточной аттестации в форме зачёта определяется оценками «зачтено», «не зачтено».

Результаты процедуры:

Результаты проведения процедуры в обязательном порядке проставляются преподавателем в зачетные книжки обучающихся и зачётные ведомости и представляются в деканат факультета, за которым закреплена образовательная программа.

По результатам проведения процедуры оценивания преподавателем делается вывод о результатах промежуточной аттестации по дисциплине.

3.4. Методика проведения написания и защиты рефератов/докладов.

Целью процедуры подготовки и защиты реферата является оценка уровня усвоения обучающимися знаний, приобретения умений, навыков и сформированности компетенций в результате изучения учебной дисциплины (части дисциплины), оценка способности обучающегося к научно-исследовательской деятельности.

Локальные нормативные акты, регламентирующие проведение процедуры:

Проведение промежуточной аттестации обучающихся регламентируется Положением о текущем контроле успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся, введенным в действие приказом от 08.02.2018 № 61-ОД.

Субъекты, на которые направлена процедура:

Процедура оценивания должна охватывать всех обучающихся, осваивающих дисциплину (модуль), по которой предусмотрено выполнение и написание реферата. В случае, если обучающийся не проходил процедуру без уважительных причин, то он считается имеющим академическую задолженность.

Период проведения процедуры:

Процедура оценивания проводится в соответствии с учебным планом и расписанием учебных занятий.

Требования к помещениям и материально-техническим средствам для проведения процедуры:

Требования к аудитории для проведения процедуры и необходимость применения специализированных материально-технических средств определяются преподавателем.

Требования к кадровому обеспечению проведения процедуры:

Процедуру проводит преподаватель, ведущий дисциплину (модуль).

Требования к банку оценочных средств:

До начала проведения процедуры преподавателем подготавливается необходимый банк тем рефератов. Обучающийся выбирает самостоятельно тему реферата.

Описание проведения процедуры:

Законченную работу студент сдает на кафедру в бумажном и электронном виде.

Реферат подлежит проверке на наличие заимствований и плагиата. Затем работа направляется на рецензирование.

Рецензирование включает: выявление ошибок и недочетов в работе.

Рецензент выясняет соответствие работы поставленному заданию, актуальность темы, самостоятельность выполнения работы, степень применения теоретических знаний на практике и практическую значимость работы, анализирует положительные стороны, недостатки и ошибки, оценивает стиль изложения и оформления.

Основанием для допуска к защите реферата являются:

- оформление работы в соответствии с предъявляемыми к написанию рефератов требованиями;

- рецензия руководителя и его подпись на титульном листе.

Студент заранее готовит доклад на 8-10 минут, выбирая основные моменты в работе, сохраняя при этом структуру работы. В выступлении следует отразить мотивы выбора темы, объект, предмет, цель, задачи исследования, основное содержание, выводы и их обоснование. Подготовить мультимедийную презентацию, помогающую раскрыть основные положения работы.

Студент в своем докладе должен раскрыть следующие вопросы:

- актуальность темы, цель и задачи работы, особенности нормативного регулирования исследуемых вопросов;

- состояние и особенности исследуемой проблемы;

- полученные результаты, выводы и предложения, степень их новизны.

2) Ответы студента на вопросы рецензента и членов комиссии, присутствующих.

3) Заключение преподавателя с оценкой работы.

Результаты процедуры:

Реферат оценивается по предложенному оценочному листу:

ОЦЕНОЧНЫЙ ЛИСТ РЕФЕРАТА ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Студента _____ Факультет _____ Курс _____

Тема реферата				
Критерии оценки				
№	Оцениваемые критерии	Балл от 0 до 2	Максимально возможный балл	Набранный балл
А)	Соответствие содержания теме* (тема работы выбирается студентом в течение семестра и не дублируется внутри группы)	0	2	
		1		
		2		
Б)	Уровень анализа проблемы (использование научно-популярных данных; информация из специализированных источников; самые современные и актуальные научные данные)	0	2	
		1		
		2		
В)	Самостоятельность выполнения (собственно проанализированный объем материала; знание и умение пользоваться медико-генетической терминологией и т.д.)	0	2	
		1		
		2		
Г)		0	2	

	Законченность работы и умение делать адекватные выводы и заключение (усвоение материала так же должно подтверждаться ответами на дополнительные вопросы)	1		
		2		
Д)	Качество оформления (умение оформить работу в полном соответствии с требованиями - структура, план, техническое оформление).	0	2	
		1		
		2		
ИТОГОВЫЙ БАЛЛ				
О баллов – полное невыполнение критерия 1 балл – частичное невыполнение, выполнение с ошибками 2 балла - критерий выполнен полностью				
«Зачтено»: 6-10 баллов «Не зачтено»: 5 и менее баллов !*Невыполнение критерия А) автоматически ведет к оценке «не зачтено»				

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: реферат зачтено / не зачтено

Преподаватель _____ / _____ Дата _____ 20__ г.