

Минобрнауки России  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки  
**Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр  
Российской академии наук»  
(КарНЦ РАН)**

**УТВЕРЖДАЮ**

Генеральный директор КарНЦ РАН  
член-корр. РАН

О.Н. Бахмет

« *ОН* » *августа* 20 22 г.



**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ  
«МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»**

**НАУЧНАЯ СПЕЦИАЛЬНОСТЬ  
1.5.12. ЗООЛОГИЯ**

г. Петрозаводск

2022

## **РАЗРАБОТЧИКИ ПРОГРАММЫ:**

Ведущий научный сотрудник  
лаборатории генетики ИБ КарНЦ  
РАН, к.б.н.

**Л.В. Топчиева**

Заместитель директора по  
научной работе ИБ КарНЦ РАН,  
руководитель лаборатории  
генетики, к.б.н.

**О.Н. Лебедева**

### **1. Цели и задачи освоения дисциплины**

Цель освоения дисциплины – ознакомление аспирантов с современными методами молекулярно-генетических исследований и областями их применения.

### **2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы**

Факультативная дисциплина – необязательная для изучения.

Период освоения – по желанию аспиранта.

### **3. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия**

**ЗНАТЬ:** современные методы молекулярно-генетических исследований для выработки правильного научного общебиологического мировоззрения и для корректной и правильной постановки экспериментов.

**УМЕТЬ:** применить методы для решения задач, поставленных в своем исследовании.

**ВЛАДЕТЬ:** основными навыками постановки эксперимента с использованием молекулярно-биологических методов.

### **4. Перечень компетенций выпускника аспирантуры, на формирование которых направлено освоение дисциплины:**

Способность генерировать теоретические знания и осваивать современные методы фундаментальных и прикладных исследований по научной специальности;

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

**ЗНАТЬ:** сервисы поиска научной информации в области молекулярной биологии, современные методы молекулярно-генетических исследований; принципы анализа данных и интерпретации результатов, полученных с использованием молекулярно-генетических методов.

**УМЕТЬ:** используя теоретические знания, средства и сервисы поиска и анализа научной информации генерировать необходимые знания и сведения в области молекулярной биологии; применить современные методы молекулярно-генетических исследований для решения фундаментальных и прикладных научно-исследовательских задач в области биохимии.

**ВЛАДЕТЬ:** навыками самостоятельной работы с литературой, поиска и анализа и обобщения теоретической и методологической информации в области молекулярной биологии;

молекулярно-генетическими методами изучения структуры, свойств и функций соединений белковой природы, навыками постановки и проведения эксперимента с использованием молекулярно-генетических методов, методами обработки и интерпретации результатов, полученных с использованием молекулярно-генетических методов.

### **6. Объем дисциплины и виды учебных занятий (в виде таблицы)**

Общая трудоемкость дисциплины составляет 2 зачетных единиц, что составляет 72 часа.

| Вид учебной работы                                | Объем часов |
|---|-------------|
| Объем дисциплины (всего)                          | 72          |
| Аудиторная учебная нагрузка (всего), в том числе: | 48          |

|  |       |
|--|-------|
| лекции                                   | 12    |
| практические занятия                     | 36    |
| семинары                                 | -     |
| Самостоятельная работа аспиранта (всего) | 24    |
| Вид итогового контроля по дисциплине     | Зачет |

**7. Структура дисциплины по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов, видов учебных занятий, форм текущего контроля**  
Приложение

**8. Содержание тем (разделов) дисциплины**

Лекционные занятия

| №  | Тема занятия  | Кол-во час. |
|----|---|-------------|
| 1. | Организация генома, информационные молекулы генома (ДНК, РНК). Структура хроматина. Хромосомы. Гены эукариот: мозаичное строение. Повторяющиеся последовательности. Изохоры, метилирование, гиперчувствительные сайты. Репликация ДНК. Ферменты, участвующие в репликации ДНК. Репликативное метилирование ДНК. Транскрипция. Структура эукариотического промотора. Типы РНК- полимераз у эукариот и синтезируемые ими РНК. Факторы транскрипции. Медиаторный комплекс транскрипции. Эnhансеры и сайленсеры. ДНК-связывающие белки, участвующие в регуляции транскрипции: белки, содержащие гомеодомены, лейциновую «застежку», «цинковые пальцы». Особенности организации генов у прокариот и эукариот. Механизмы регуляции экспрессии генов. Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые некодирующие РНК. Репарация ДНК. | 3,2         |
| 2. | Методы исследования генома. Полимеразная цепная реакция. Использование полимеразной цепной реакции для эпигенетических исследований (Метилспецифическая ПЦР, Метилспецифическая ПЦР со статистическими GC-богатыми праймерами, метилспецифическая ПЦР со специфическими праймерами). ПЦР в режиме реального времени. Секвенирование ДНК. Секвенирование по Сэнгеру. Пиросеквенирование. NGS секвенирование.   | 2,7         |
| 3. | Методы исследования транскриптома. Обратная транскрипция. Фермент ревертаза. Синтез комплементарной цепи. Создание библиотек кДНК. Нормализация библиотек кДНК. ОТ-ПЦР. ПЦР в режиме реального времени. Метод дифференциального дисплея. Метод SAGE. Метод EST. Гибридизационные методы для исследования транскриптома: Northern-blot, микрочиповые технологии, защита от РНКаз, флуоресцентная гибридизация in situ (FISH). NGS секвенирование для анализа транскриптома.  | 2,7         |

|    |   |     |
|----|---|-----|
| 4. | Изменчивость и мобильность генома. Полиморфные сайты рестрикции. Микросателлитные и минисателлитные повторы. Alu повторы в геноме. Ретротранспазоны. Однонуклеотидные замены. Методы выявления геномного полиморфизма, использование генетических маркеров для оценки генетического разнообразия (ПЦР-ПДРФ-анализ, микросателлитный анализ, аллель-специфическая ПЦР, полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК, дискриминация аллелей по кривым плавления (HMR)). | 2,7 |
| 5. | Базы нуклеотидных последовательностей. Статистические программы для анализа генетических характеристик популяций.   | 0,7 |
|    | <b>Итого</b>  | 12  |

#### Практические занятия

| №  | Тема занятия  | Кол-во час. |
|----|---|-------------|
| 1. | Методы выделения и очистки ДНК плазмид. Методы выделения и очистки эукариотической ДНК. Методы выделения и очистки РНК, мРНК. Оценка качества и количества выделенных нуклеиновых кислот. Электрофорез нуклеиновых кислот.  | 6           |
| 2. | Ферменты, применяемые в молекулярно-генетическом исследовании. Рестриктазы: I, II и III типов. Изоизомеры. Изменение субстратной специфичности рестриктаз в неоптимальных условиях. Построение рестрикционных карт.<br>ДНК-метиلاзы, их использование для получения крупных рестрикционных фрагментов ДНК. ДНК-лигазы. Механизм лигирования ДНК T4-ДНК-лигазой.<br>ДНК-зависимая ДНК-полимераза I E.coli и ее фрагмент Кленова. Их использование для введения концевой радиоактивной метки, «затупления» концов ДНК и ник-трансляции. Термостабильные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы.<br>РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), их использование для получения кДНК. Обратная транскрипция. | 1,3         |
| 3. | Полимеразная цепная реакция. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.  | 6           |
| 4. | ПЦР-ПДРФ-анализ, микросателлитный анализ, аллель-специфическая ПЦР, полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК, дискриминация аллелей по кривым плавления (HMR).  | 11,1        |
| 5. | Секвенирование ДНК. Секвенирование по Сэнгеру.  | 2,7         |
| 6. | Работа в базе нуклеотидных последовательностей.   | 1,3         |
| 7. | Ознакомление с программами для дизайна праймеров и зондов для ПЦР (Primer Premier 5.0 и Beacon Designer 3.2). Конструирование праймеров и зондов.   | 1,3         |
| 8. | Устный опрос на тему: метод репортерного гена и его использование в биологических исследованиях. Методы визуализации фрагментов ДНК.  | 0,7         |
| 9. | Семинар-конференция на тему: использование реакции  | 0,7         |

|     |  |           |
|-----|--|-----------|
|     | минисеквенирования для идентификации точечных полиморфизмов.   |           |
| 10. | Семинар-дискуссия на тему: ДНК-диагностика наследственных заболеваний. Генетическое сцепление и картирование генов. Программа «Геном человека» | 0,7       |
| 11. | Семинар на тему: патентование ДНК-последовательностей. Генетические базы данных.   | 0,7       |
| 12. | Устный опрос по теме: структурно-функциональная организация и полиморфизм митохондриальной ДНК животных.                                       | 0,7       |
| 13. | Семинар на тему: структурно-функциональная организация и полиморфизм рибосомной ДНК животных.  | 0,7       |
| 14. | Устный опрос по теме: микросателлиты и популяционные аспекты судебной медицины.  | 0,7       |
| 15. | Семинар-дискуссия на тему: Этническая геномика. ДНК маркеры, используемые в этногеномике.  | 0,7       |
| 16. | Выполнение контрольной работы на тему: гены основного комплекса гистосовместимости и их использование в этногеномике.                          | 0,7       |
|     | <b>Итого</b>   | <b>36</b> |

## 9. Учебная литература

### Перечень основной литературы

- 1) Darbre Ph.D. Basic molecular biology: essential techniques. John Wiley&Sons. 2001. 194 p.
- 2) Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. М., Мир. 2002. 589 с.
- 3) Инге-Вечтомов. Генетика с основами селекции. СПб.: Изд-во Н-Л, 2010. 720 с. М.
- 4) Лебедева М.А., Творогова В.Е., Тиходеев О.Н. Эпигенетические механизмы и их роль в развитии растений // Генетика. 2017. Т. 53, № 10. С. 1115-1131.
- 5) Люин Б. Гены. М.: Бином. Лаборатория знаний. 2011.
- 6) Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 480 с.
- 7) Молекулярная клиническая диагностика. Методы Пер.с англ. / Под ред. С. Херрингтона, Дж. Макгию Мю: Мир, 1999. 558 с.
- 8) Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Кузнецова В.Вл, Кузнецова В.В., Романова Г.А. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. 487 с.
- 9) Нуклеиновые кислоты от А до Я. Редактор С. Мюллер, М. Бином. 2013.
- 10) Павлов С.Д., Животовский Л.А. Выявление аллельных вариантов микросателлитных маркеров методами капиллярного и традиционного электрофореза // Генетика. 2016. Т. 52, №4. С. 482-487.
- 11) Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени. М.: Бином. 2008. 216 с.
- 12) Сингер, П. Берг Гены и геномы (в 2-х томах) М. Мир. 1998.
- 13) Спирин А.С.. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. М: Высшая школа, 1990.
- 14) Спирин А.С.. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. М: Академика, 2009.

- 15) Топчиева Л.В., Федоренко О.М. Методические подходы для изучения молекулярных механизмов адаптации // Труды КарНЦ РАН. 2014. №5. С. 30-43.
- 16) Щуко А.Г., Веселов А.А., Юрьева Е.Н., Волкова Н.В., Шабанов Г.А., Рыбченко А.А., Почтаренко Е.В. Эпигенетика и способы ее реализации // Сибирский научный медицинский журнал. 2017. Т. 37, № 4. С. 26-36.

#### Перечень дополнительной литературы

- 1) Антонова О.С., Корнева Р.А., Белов Ю.В., Курочкин В.Е. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии // Научное приборостроение. 2010. Т. 20, №1. С. 3-9.
- 2) Рубцова Г.А., Пономарева Е.В., Афанасьев К.И., Шайхаев Е.Г., Холодова М.В.,
- 3) Столповский Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения генофондов domesticiрованных видов животных // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 4/2. С. 900-915.
- 4) Храмева Е.А. Дальние взаимодействия в геномах эукариот и регуляция сплайсинга. Диссертация на соиск. уч. степени канд. биол. наук. М. 2014.
- 5) Патрушев Л.И., Коваленко Т.Ф. Функции некодирующих последовательностей генома млекопитающих // Успехи биологической химии. 2014. Т. 54. С. 39-102.
- 6) Разин С.В., Гаврилов А.А., Ульянов С.В. Регуляторные элементы эукариотического генома, контролирующие транскрипцию // Молекулярная биология. 2015. Т. 49, №2. С. 212-223.
- 7) Равин Н.В., Шестаков С.В. Геном прокариот // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т.17, № 4/2. С. 972-984.
- 8) Дымшиц Г.М., Саблина О.В. «Разорванные» гены и сплайсинг // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18, № 1. С. 71-80.
- 9) Киселева Н.П., Киселев Ф.Л. Эпигенетическая регуляция экспрессии генов в вирус-ассоциированных опухолях человека // Успехи молекулярной онкологии. 2014. №1. С. 48-55. <https://elibrary.ru/item.asp?id=22662131>

#### 10. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

Отчистка нуклеиновых кислот

[режим доступа:

[http://www.skygen.com/obzory/13\\_ochistka\\_nukleinovyh\\_kislot\\_mnogoobrazie\\_metodov\\_i\\_podhodov/](http://www.skygen.com/obzory/13_ochistka_nukleinovyh_kislot_mnogoobrazie_metodov_i_podhodov/) ]

Электронный ресурсы научной библиотеки КарНЦ РАН

[режим доступа: <http://library.krc.karelia.ru/> ]

Электронная научная библиотека eLIBRARY.RU

[режим доступа: <http://elibrary.ru/defaultx.asp>]

Электронная юбиблиотека ОБН РАН

[режим доступа: <http://www.sevin.ru/library/>]

Библиотека по естественным наукам РАН

[режим доступа: <http://www.benran.ru/>]

Электронная научная библиотека Wiley Online Library

[режим доступа: <http://onlinelibrary.wiley.com/>]

Электронная научная библиотека издательства Springer

[режим доступа: <http://www.springer.com/gp/>]

Электронная научная библиотека издательства Elsevier  
[режим доступа: <http://www.elsevier.com/>]  
Библиографическая и реферативная база данных Scopus  
[режим доступа: <http://www.scopus.com/>]  
Национальная библиотека Республики Карелия  
[режим доступа: <http://library.karelia.ru/>]  
Медико-биологический информационный портал и поисковая система Medline  
[режим доступа: <http://www.medline.ru/medsearch/>]  
Национальная библиотека США по Медицине PubMed  
[режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>]

## **11. Материально-техническое обеспечение**

*Оборудование для молекулярно-генетических исследований:*

Система ПЦР в режиме реального времени, система анализа РНК IQ iCycler (Bio-Rad)  
Амплификатор (термоциклер) МахуGene II Therm-1000 (Ахугене)  
Система Areol и Cyto Vision Areol SL-50 (Genetix, Великобритания)  
Система генетического анализа CEQ 8000 в комплекте (Beckman Coulter)  
Комплексная лаборатория иммуноферментного анализа АИФ-Ц-01С  
Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, исполнения C1000 Touch в комплекте с модулем реакционным оптическим CFX96  
Система высокой очистки воды Simplicity с УФ лампой  
Лабораторная микроцентрифуга MiniSpin plus  
Микроцентрифуга-вортекс "Микроспин" FV-2400, 2800 об/мин, роторы R-1,5, R-0.5/0.2  
Термостат твердотельный с таймером ТТ-2 "Термит";  
Модуль HRM Manager для анализа кривых плавления  
Бокс микробиологической безопасности БМБ-II-"Ламинар-С" в исполнении БМБ-II-"Ламинар-С.»-1.2  
Бокс абактериальной воздушной среды для работы с ДНК-пробами при проведении ПЦР-диагностики БАВ-ПЦР-"Ламинар-С."  
Термостат твердотельный с таймером ТТ-2 "Термит".

## **12. Перечень лицензионного программного обеспечения**

1. Access 2010 Russian Open License Pack NoLevel Academic Edition – программа для работы с базами данных;
2. Power Point 2007 – программа для создания презентаций.
3. Пакет программного обеспечения для создания и поддержки генетических баз данных Fingerprinting II Informatix (Bio-Rad, США).
4. Пакет программного обеспечения для конструирования олигонуклеотидных зондов Primer Premier 5.0 и Beacon Designer 8.