

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

«01 августа» 20 22г.



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

**НАУЧНАЯ СПЕЦИАЛЬНОСТЬ  
1.5.21. ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ**

г. Петрозаводск  
2022

### **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**

Обязательная для изучения дисциплина, направленная на сдачу кандидатского экзамена по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Относится к элективным дисциплинам образовательного компонента Основной образовательной программы высшего образования – программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Период освоения – 3 и 4 семестр.

### **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 в области физиологии и биохимии растений;

Способность генерировать теоретические знания и осваивать современные методы фундаментальных и прикладных исследований в области экологической физиологии растений;

Способность генерировать теоретические знания и осваивать современные методы фундаментальных и прикладных исследований в области изучения фотосинтеза растений;

Способность генерировать теоретические знания и осваивать современные методы фундаментальных и прикладных исследований в области изучения процесса роста и развития растений;

Способность планировать, организовывать и осуществлять экспериментальную работу в области физиологии и биохимии растений;

### **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 5 зачетных единиц, что составляет 180 часов.

Вид учебной работы	Объем часов / зачетных единиц
Объем дисциплины (всего)	180 / 5 з.е.
Аудиторная учебная нагрузка (всего), в том числе:	72 / 2 з.е.
лекции	18
практические занятия	36
семинары	18
Самостоятельная работа аспиранта (всего)	108 / 3 з.е.
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 растений. Отличия геномов растений от геномов других организмов. Макромолекулы, обеспечивающие хранение и реализацию генетической программы (ДНК, РНК). Структура хроматина. Хромосомы. Структура эукариотических генов. Повторяющиеся последовательности. Метилирование, гиперчувствительные сайты. Элементы генов, кодирующих белки. Репликация ДНК. Белки, участвующие в репликации ДНК (ферменты, ДНК-связывающие белки). Репликативное метилирование ДНК. Репарация ДНК. Ферменты обмена нуклеиновых кислот (экзо-, эндо-нуклеазы, обратная транскриптаза). Транскрипция. Структура эукариотического промотора. Типы РНК-полимераз и синтезируемые ими РНК, уникальные для растений РНК-полимеразы. Факторы транскрипции. Генетический контроль экспрессии генов. Негенетические факторы регуляции экспрессии генов.	5

	Некодирующие РНК: открытие, основные виды (рибосомные РНК, тРНК). Малые некодирующие РНК.	
2.	Методы исследования генома растений. Маркерные системы ДНК. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Виды ПЦР. Использование полимеразной цепной реакции для эпигенетических исследований. ПЦР в режиме реального времени. Разделение фрагментов ДНК при помощи гель-электрофореза. Секвенирование ДНК. Секвенирование по Сэнгеру. Пиросеквенирование. NGS секвенирование.	4
3.	Методы исследования транскриптома. Обратная транскрипция. Синтез комплементарной цепи, фермент ревертаза Создание библиотек кДНК. Нормализация библиотек кДНК. ОТ-ПЦР. ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Стратегии подбора праймеров для ПЦР-РВ. Анализ данных ПЦР-РВ. Измерение транскрипционной активности генов. Метод дифференциального дисплея. Метод SAGE. Метод EST. Гибридизационные методы для исследования транскриптома: Northern-blot, микрочиповые технологии, защита от РНКаз, флуоресцентная гибридизация in situ (FISH). Классические методы секвенирования. Высокопроизводительное секвенирование NGS для анализа транскриптома.	4
4.	Изменчивость и мобильность генома. Полиморфные сайты рестрикции. Микросателлитные и минисателлитные повторы. Alu повторы в геноме. Ретротранспозоны. Однонуклеотидные замены. Методы выявления геномного полиморфизма, использование генетических маркеров для оценки генетического разнообразия (ПЦР-ПДФ-анализ, микросателлитный анализ, аллель-специфическая ПЦР, полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК, дискриминация аллелей по кривым плавления (HMR)).	4
5.	Базы нуклеотидных последовательностей. Статистические программы для анализа генетических характеристик популяций. Алгоритмы выравнивания последовательностей генов. Генетические дистанции. Филогенетический анализ. Биоинформатика. Предсказание структуры белков.	1
	<b>Итого</b>	<b>18</b>

#### Практические занятия

№	Тема занятия	Кол-во час.
1.	Выделение и очистка НК из растительных тканей (выделение суммарной ДНК, РНК, мРНК). Особенности выделения НК из различных тканей растений. Фенол-хлороформная экстракция, сорбционные методы (магнитные частицы). Оценка качества и количества выделенных нуклеиновых кислот (спектрофотометрический метод, гель-электрофорез). Дополнительная очистка НК.	4
2.	Постановка реакции обратной транскрипции с использованием Random-праймеров, олиго(dT)праймеров или ген-специфичных праймеров.	3

	Синтез первой цепи кДНК. Амплификация двухцепочечной полноразмерной кДНК. Оценка эффективности реакции обратной транскрипции.	
3.	Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Оценка эффективности и специфичности ПЦР. Использование положительного и отрицательного контроля при проведении ПЦР.	5
4.	Электрофорез продуктов амплификации. Выделение фрагментов ДНК из агарозного и полиакриламидного геля.	4
4.	ПЦР-ПДРФ-анализ, микросателлитный анализ, аллель-специфическая ПЦР, полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК, дискриминация аллелей по кривым плавления (HMR).	6
5.	Секвенирование ДНК. Секвенирование по Сэнгеру.	6
6.	Основы биоинформатики. Работа в базе нуклеотидных последовательностей. Mega 11. Филогенетический анализ.	4
7.	Ознакомление с программами для дизайна праймеров и зондов для ПЦР (Primer Premier 5.0 и Beacon Designer 8.21). Конструирование праймеров и зондов.	4
	<b>Итого</b>	<b>36</b>

#### Семинары

8.	Устный опрос на тему: метод репортерного гена и его использование в биологических исследованиях. Методы визуализации фрагментов ДНК.	2
9.	Семинар-конференция на тему: использование реакции минисеквенирования для идентификации точечных полиморфизмов.	2
10.	Семинар на тему: поиск и анализ транскриптомных данных растений в открытых базах данных.	2
11.	Семинар на тему: патентование ДНК-последовательностей. Генетические базы данных.	2
12.	Устный опрос по теме: основные классы молекулярных маркеров.	2
13.	Семинар на тему: предварительная обработка данных секвенирования	2
14.	Семинар на тему: Сравнение последовательностей ДНК и белков, BLAST-анализ.	2
15.	Семинар на тему: Алгоритмы обработки транскриптомных данных.	4
	<b>Итого</b>	<b>18</b>

### 9. Методические материалы для текущего контроля

Тесты по теме «Хранение и защита генетической информации»

Вопросы к контрольной работе по теме «Выделение и очистка нуклеиновых кислот»

Вопросы к устным опросам

1. История возникновения и развития молекулярной биологии.
2. Молекулярные основы генетической рекомбинации и её виды.
3. Транскрипция у эукариот.
4. Структура рибосом. Трансляция.
5. ДНК: кодирующие и некодирующие участки. Сателлитная ДНК.
6. Регуляторные области генов.

## 7. Интрон-экзонная организация генов эукариот. Сплайсинг.

Темы рефератов:

1. Современные методики секвенирования и возможности их применения.
2. Различные механизмы сплайсинга. Автосплайсинг. Trans-сплайсинг. Альтернативный сплайсинг. Роль альтернативного сплайсинга в функциональной активности белков.
3. Качественный и количественный анализ нуклеиновых кислот методом гель-электрофореза.
4. Реорганизация хроматина и регуляция экспрессии генов.
5. Химический синтез олиго- и полинуклеотидов.
6. Картирование генома растений. Методы.

## 10. Методические материалы для оценивания итоговых результатов обучения по дисциплине

Вопросы к зачету

1. Методы выделения и очистки нуклеиновых кислот.
2. Методы выделения и очистки эукариотической ДНК.
3. Методы выделения и очистки РНК, мРНК.
4. Оценка качества и количества выделенных нуклеиновых кислот. Электрофорез нуклеиновых кислот.
5. Ферменты, применяемые в молекулярно-генетическом исследовании.
6. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), их использование для получения кДНК.
7. Методы исследования генома. Полимеразная цепная реакция.
8. Аллель-специфическая ПЦР.
9. Дискриминация аллелей по кривым плавления (HMR).
10. Секвенирование.
11. Новые технологии секвенирования. QTL-анализ.
12. Методы исследования транскриптома. ОТ-ПЦР. Создание библиотек кДНК. Нормализация библиотек кДНК. ПЦР в режиме реального времени. Метод дифференциального дисплея. Метод SAGE.
13. Метод EST. Гибридизационные методы для исследования транскриптома: Northern-blot, микрочиповые технологии, защита от РНКаз, флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH).
14. Использование молекулярно-генетических методов в популяционных исследованиях. Характеристика ДНК маркеров. Микросателлитный анализ.
15. РАПД анализ.
16. AFLP анализ.
17. ПДРФ-анализ.
18. Использование полимеразной цепной реакции для эпигенетических исследований.
19. Метилспецифическая ПЦР.
20. Метилспецифическая ПЦР со статистическими GC-богатыми праймерами. Метилспецифическая ПЦР со специфическими праймерами.

## 11. Учебная литература

Перечень основной литературы

- 1) 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.
- 2) Нуклеиновые кислоты от А до Я. Редактор С. Мюллер, М. Бином. 2013.

- 3) Павлов С.Д., Животовский Л.А. Выявление аллельных вариантов микросателлитных маркеров методами капиллярного и традиционного электрофореза // Генетика. 2016. Т. 52, №4. С. 482-487.
- 4) Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени. М.: Бином. 2008. 216 с.
- 5) Сингер, П. Берг Гены и геномы (в 2-х томах) М. Мир. 1998.
- 6) Спириин А.С. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. М: Высшая школа, 1990.
- 7) Спириин А.С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. М: Академика, 2009.
- 8) Топчиева Л.В., Федоренко О.М. Методические подходы для изучения молекулярных механизмов адаптации // Труды КарНЦ РАН. 2014. №5. С. 30-43.
- 9) Bustin S.A., Benes V., Garson J.A., Hellemans J., Hugget J., Kubista M., Mueller R., Nolan T., Pfaffl M.W., Shipley G.L., Vandesompele J., Wittwer C.T. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments // Clinical Chemistry. 2009. V. 55. P. 611. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
- 10) Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // Mol. Biol. Evol. 2016. V. 33. P. 1870. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- 11) Ramakers C., Ruijter J.M., Deprez R.H., Moorman A.F. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data // Neurosci. Lett. 2003. V. 339. P. 62. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)01423-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)01423-4)
- 12) Saitou N., Nei M. The Neighbor-Joining Method – a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. 1987. V. 4. P. 406. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- 13) Svec D., Tichopad A., Novosadova V., Pfaffl M.W., Kubista M. How good is a PCR efficiency estimate: recommendations for precise and robust qPCR efficiency assessments // Biomol. Detect. Quantif. 2015. V. 3. P. 9. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2015.01.005>
- 14) Marchler-Bauer A., Bryant S.H. CD-Search: protein domain annotations on the fly Nucleic // Acids Res. 2004. V. 32. P. 327. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh454>
- 15) Ghawana S., Paul A., Kumar H., Kumar A., Singh H., Bhardwaj P.K., Rani A., Singh R.S., Raizada J., Singh K., Kumar S. An RNA isolation system for plant tissues rich in secondary metabolites // BMC Res. Notes. 2007. V.4. P. 85. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-85>

#### 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) Храмеева Е.А. Дальние взаимодействия в геномах эукариот и регуляция сплайсинга. Диссертация на соиск. уч. степени канд. биол. наук. М. 2014.
- 3) Патрушев Л.И., Коваленко Т.Ф. Функции некодирующих последовательностей генома млекопитающих // Успехи биологической химии. 2014. Т. 54. С. 39-102.
- 4) Разин С.В., Гаврилов А.А., Ульянов С.В. Регуляторные элементы эукариотического генома, контролирующие транскрипцию // Молекулярная биология. 2015. Т. 49, №2. С. 212-223.

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

### Наименование ресурса и ссылка

Отчистка нуклеиновых кислот

[режим доступа:

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

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/>]

### **13. Материально-техническое обеспечение**

Амплификатор (термоциклер) BioRad T100.

Амплификатор Real-time CFX96 Touch, Bio-Rad

Система высокой очистки воды Simplicity с УФ лампой

Лабораторная микроцентрифуга MiniSpin plus

Лабораторная Микроцентрифуга Microfuge20 (Beckman Coulter)

Термостат твердотельный с BioSan;

Модуль HRM Manager для анализа кривых плавления

Бокс абактериальной воздушной среды для работы с ДНК-пробами при проведении ПЦР-диагностики БАВ-ПЦР-"Ламинар-С."

Электрофорезная горизонтальная система Sub-Cell GT Cell, Bio-Rad.

Электрофорезная вертикальная камера Protean II XL Cell, Bio-Rad.

### **14. Перечень лицензионного программного обеспечения**

1. Access 2010 Russian Open License Pack NoLevel Academic Edition – программа для работы с базами данных;
2. Пакет программного обеспечения Microsoft Office 2010
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.



## **15. Критерии оценивания для итогового контроля по дисциплине**

Результаты зачета оцениваются на «зачтено», «не зачтено» по следующим основаниям:

«Зачтено» ставится, если ответ построен логично, в соответствии с планом, показано знание универсальных, общепрофессиональных и профессиональных вопросов, терминов и понятий, установлены содержательные межпредметные связи, выдвигаемые положения обоснованы, приведены примеры, показан аналитический и комплексный подход к раскрытию материала, сделаны содержательные выводы, продемонстрировано знание основной и дополнительной литературы.

«Не зачтено» ставится, если ответ построен не логично, план ответа соблюдается непоследовательно, отвечающий не раскрыты профессиональные знания и умения. Научное обоснование вопросов подменено рассуждениями дилетантского характера. Ответ содержит ряд серьезных неточностей и грубых ошибок. Не обнаружен аналитический и комплексный подход к раскрытию материала, сделанные выводы поверхностны или неверны, не продемонстрировано знание основной и дополнительной литературы.