Федеральное агентство научных организаций (ФАНО) России
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИМГ РАН)

СОГЛАСОВАНО:
Ученый совет ИМГ РАН
Протокол №11 от «17» октября 2016 г.
Ученый секретарь
_____ к.б.н. Л.Е. Андреева

УТВЕРЖДАЮ:
Директор ИМГ РАН
чл.-корр. РАН
_____ С.В. Костров
«17» октября 2016 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА
подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре

Дисциплина по выбору Б1.В.ДВ1

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Направление подготовки:
06.06.01 Биологические науки

Направленность (профиль) программы:
03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Присваемая квалификация:
Исследователь. Преподаватель-исследователь.

Форма обучения: очная

Москва – 2016

Составители: д.б.н. П.А. Сломинский, к.б.н. Ю.Я. Шевелев

Рабочая программа составлена на основании федерального государственного образовательного стандарта, разработанного для реализации основных профессиональных образовательных программ высшего образования - программ подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки кадров высшей квалификации 06.06.01«Биологические науки».

Согласно Федеральному государственному образовательному стандарту высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., и учебному плану аспирантов, разработанному на основе этого стандарта, дисциплина «Современные методы молекулярной биологии» является учебной дисциплиной по выбору модуля вариативной части Блока 1 образовательной программы по направленности (профилю) 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Объём курса составляет 3 зачетные единицы или 108 академических часов, в том числе 36 академических часов лекций, 18 академических часов семинаров, 18 академических часов практических лабораторных занятий, 32 академических часов самостоятельной внеаудиторной работы аспирантов, включая подготовку к зачету, и 4 часа на контроль знаний.

I. Цели и задачи изучения дисциплины

Знание современных методов молекулярной биологии является фундаментом для работы биотехнолога-молекулярного биолога и необходимо для формирования грамотного специалиста вне зависимости от того, в какой области молекулярно-генетической биотехнологии он работает. В ходе изучения курса аспиранты получат фундаментальные знания в области современных методов молекулярной биологии, способов переноса и экспрессии генетической информации в разных типах клеток про- и эукариот, качественного и количественного анализа эффективности экспрессии рекомбинантных продуктов, а также значения и роли современных методов молекулярной биологии в изучении структуры и функционирования геномов, в том числе генома человека, ознакомление с практическим применением методов и подходов в различных областях молекулярной биологии.

1.1. Цель курса: освоение аспирантами фундаментальных знаний в области современных методов молекулярной биологии и способности их практического применения в научной деятельности.

1.2. Задачи курса: обучение аспирантов принципам и подходам, применяемым в различных областях молекулярной биологии.

1.3. Связь с другими дисциплинами: Дисциплина «Современные методы молекулярной биологии» имеет непосредственную связь практически со всеми дисциплинами, изучаемыми на протяжении всего времени овладения аспирантами образовательной программы по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки и является элективной при подготовке специалистов в области биотехнологии**.**

II. Требования к уровню освоения дисциплины

В рамках данной дисциплины углубляются и развиваются следующие компетенции:

Универсальные компетенции:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе междисциплинарных областях (УК-1);
- способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки (УК-2);
- готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);
- готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языках (УК-4);
- способностью планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5);

Общепрофессиональные компетенции:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);
- способность передавать методический и научно-исследовательский опыт в подготовке научно-педагогических кадров (ОПК-2);
- готовность к преподавательской деятельности по основным образовательным программам высшего образования (ОПК-3).

Профессиональные компетенции:

- способность к самостоятельному проведению научно-исследовательской работы на современном научно-методическом уровне в области биотехнологии (ПК-1);
- обладание представлениями о фундаментальных основах биологических, химических и технологических процессов, формах и методах научного познания, способностью к самообразованию и личностному развитию в данной области исследований (ПК-2);
- способность приобретать новые знания с использованием современных научных методов и владение ими на уровне, необходимом для решения задач, возникающих при профессиональной деятельности в области биотехнологии (ПК-3);
- способность проводить обработку и анализ научных результатов в области биотехнологии, обобщать результаты в форме научных докладов и статей для ведущих профильных журналов, способность к профессиональному ведению научных дискуссий (ПК-4);
- владение методами преподавания, отбора учебного материала и основами управления процессом обучения биотехнологии в организациях среднего и высшего профессионального образования (ПК-5).

В результате освоения дисциплины «Современные методы молекулярной

биологии» обучающиеся должны:

Знать:

- лексический минимум в объеме, необходимом для профессиональных устных и письменных коммуникаций и работы с информацией в области молекулярной биологии;
- место и роль принципов и методов молекулярной биологии в современных исследованиях физико-химических основ живых систем;
- перспективы использования современных методов молекулярной биологии в биотехнологии и биомедицине;
- проблемы безопасности научных исследований в области молекулярной биологии.

Уметь:

- эффективно использовать в научных исследованиях теоретические положения и практический арсенал методов молекулярной биологии;
- планировать эксперименты по созданию рекомбинантных молекул ДНК и переносу генов в модельные организмы;
- анализировать, систематизировать и обобщать результаты собственных научных исследований с использованием методов молекулярной биологии и литературные данные.

Владеть:

- методологией выбора адекватных методов для исследований в области молекулярной биологии;
- планированием, постановкой и обработкой результатов экспериментов с использованием арсенала методов молекулярной биологии;
- навыками научного поиска и использования информационных источников (научная литература, базы данных, компьютерные программы и другие Интернет-ресурсы) для аналитического поиска в области исследований с использованием арсенала методов молекулярной биологии.

III. Объём дисциплины и виды учебной работы

Форма обучения – ОЧНАЯ, общий объём дисциплины: 3 зачётные единицы или 108 академических часов

Всего часов	Аудиторные занятия (час) в том числе:			Самостоятельная работа (час)	Контроль (час)
108	Лекции	Практические занятия (семинары)	Лабораторные занятия		
	36	18	18	32	4
	72				

Распределение аудиторных часов по темам и видам учебной работы

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия		
		лекции	семинары	лабораторные занятия
1	Методы выделения плазмидной и геномной ДНК. Методы количественной детекции нуклеиновых	4	2	2

	кислот.			
2	Основные методы молекулярной биологии: центрифугирование, хроматография, электрофорез, спектроскокпические методы	6	2	2
3	Методы генетической инженерии. Ферменты для генно-инженерных манипуляций	6	4	4
4	Методы перенесения ДНК в бактериальные и эукариотические клетки. Экспрессия эукариотических генов в клетках бактерий.	4	2	2
5	Нокаут и нокдаун генов в эукариотических клетках.	4	2	2
6	Современные методы протеомики. Методы исследования ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействий.	4	2	2
7	Современные методы геномики. Микрочиповые технологии, методы массированного определения нуклеотидной последовательности ДНК	4	2	2
8	Микроскопические методы изучения живой клетки.	4	2	2
	ВСЕГО (зач. ед. (часов))	72		

IV. Содержание курса «Современные методы молекулярной биологии»

Раздел 1

Методы выделения и анализа нуклеиновых кислот

Методы выделения плазмидной и геномной ДНК из клеток бактерий. Методы выделения геномной ДНК из эукариотических клеток. Гибридизация нуклеиновых кислот. ДНК-зонды. Блоттинг, его виды. Методы количественной детекции нуклеиновых кислот. Полимеразная цепная реакция. ОТ-ПЦР. Количественная ПЦР. Спектрофотометрические и флуометрические методы определения концентрации нуклеиновых кислот.

Раздел 2

Современные методы разделения макромолекул

Дифференциальное центрифугирование. Центрифугирование в градиенте плотности. Методы получения ступенчатых и непрерывных градиентов плотности. Хроматография при низком и высоком давлении. Гель-фильтрация. Адсорбционная хроматография. Ионообменная хроматография. Аффинная хроматография. Электрофорез. Изоэлектрическое фокусирование. Иммунный электрофорез. Классификация спектроскопических методов. Рентгеноструктурный анализ.

Раздел 3

Методы генетической инженерии

Методы генетической инженерии: рекомбинантные ДНК. Ферменты генетической инженерии. Рестриктазы и их виды, свойства и особенности воздействия на ДНК. Клонирование ДНК. Векторы для молекулярного клонирования. Направленный мутагенез молекул ДНК in vitro.

Получение генов с использованием обратной транскрипции. Химико-ферментативный синтез генов.

Раздел 4

Методы переноса ДНК в клетки

Методы перенесения ДНК в клетки бактерий. Трансформация, трансфекция, трансдукция, конъюгация. Перенесение ДНК в клетки эукариот, стабильная и транзиентная экспрессия генов (Са-фосфатная трансфекция, электропорация, баллистическая трансфекция, микроинъекции). Репортерные гены. Векторы для встраивания чужеродной ДНК в геном млекопитающих и дрозофилы. Векторные системы на основе вирусов животных. Вирусы насекомых как векторы высокоэффективной экспрессии чужеродных белков. Векторная система на основе транспозонов эукариот. Противовирусные вакцины.

Раздел 5

Нокаут и нокдаун генов

Нокаут и нокдаун генов в эукариотических клетках. РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК (siRNA). Подавление экспрессии генов с помощью РНК-интерференции (нокдаун генов). Векторы для РНК-интерференции и ее особенности у разных организмов (растения, беспозвоночные, млекопитающие). Методы получения нокаутов генов у млекопитающих. CRISPR-система и ее применение.

Раздел 6

Методы работы с белками

Принципы выделения, очистки и количественного определения белков. Денатурация белков и полипептидов. Специфические методы очистки белков (хроматография, электрофорез белков, иммунопреципитация, выявление и картирование эпитопов с помощью моноклональных антител, ультрафильтрация, избирательное осаждение, обратимая денатурация). Методы исследования посттрансляционных модификаций аминокислотных остатков в молекулах белков (фосфорилирование, гликозилирование, гидроксилирование, сумаилирование, и др.). Методы исследования ДНК-белковых взаимодействий. Методы футпринтинга. Методы исследования белок-белковых взаимодействий. Вестерн-блоттинг. Коиммунопреципитация. Дрожжевая двугибридная система. Методы масс-спектрометрии.

Раздел 7

Современные методы геномики

Современные методы геномики: иммунопреципитация хроматина (X-ChIP), DamID, chromosome conformation capture (3C, Hi-C), RIP, CLIP, ChIA-PET, анализ в единичных клетках. Технология микрочипов. Принципы организации. ДНК-микрочипы, белковые микрочипы. Методы определения нуклеотидной последовательности ДНК - от метода Максама-Гилберта до методов массированного определения нуклеотидной последовательности ДНК (Next Generation Sequencing). Преимущества и недостатки разных технологических платформ.

Раздел 8

Микроскопические методы изучения клетки.

Микроскопические методы изучения живой клетки. Флуоресцентная микроскопия. Источники света. Флуоресцентные фильтры. Детекторы. Конфокальный микроскоп. Цифровое изображение. Обработка и анализ изображения.

V. Самостоятельная работа

В процессе освоения предмета предусмотрено самостоятельное изучение отдельных вопросов лекционного курса в виде проработки лекционного материала и соответствующих разделов курса по учебникам.

VI. Итоговая проверка знаний

6.1. Форма итоговой проверки и оценки знаний

Учебный план по дисциплине «Современные методы молекулярной биологии», разработанный в соответствии с ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., по направленности (профилю) программы 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) предусматривает контроль знаний в форме дифференцированного зачета с выставлением оценок в пятибалльной системе.

6.2. Вопросы для дифференцированного зачета

1. Рестриктазы и метилазы. Рестриктазы I, II и III типа. Участки узнавания и расщепления рестриктаз. Изошизомеры.
2. ДНК лигазы. ДНК-лигаза фага Т4. ДНК-лигаза E. coli. Функции ДНК-лигаз in vivo. Использование в генетической инженерии.
3. ДНК-полимеразы. Свойства ДНК-полимераз. Применение в генетической инженерии.
4. Термостабильные ДНК-полимеразы. Полимеразная цепная реакция. Общие принципы и области применения.
5. Обратные транскриптазы (ревертазы). Синтез кДНК. Определение содержания мРНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.
6. Секвенирование ДНК. Химический метод Максама-Гильберта. Энзиматический метод Сэнгера.
7. Сравнение разных технологий высокопродуктивного секвенирования ДНК.
8. Плазмидные векторы для бактерий, принципы организации, основные функциональные элементы, сферы применения.
9. Спектр электромагнитного излучения, его основные характеристики.
10. Векторы на основе бактериофагов (M13, лямбда). Космидные векторы. PAC- и BAC-векторы. Преимущества и недостатки разных типов клонирующих векторов.
11. Экспрессия чужеродных генов в бактериях. Продукция рекомбинантных белков. Секреция белков. Принципы выделения и очистки рекомбинантных белков.

12. Ретровирусные векторы. Лентивирусные векторы. Сравнение ретро- и лентивирусных векторов.
13. Направленное встраивание генов в геном. Позитивно-негативная селекция. Рекомбиназы и их использование для генетических манипуляций. Нокаут генов с использованием сайт-специфичной рекомбинации.
14. Генная терапия. Векторы для генотерапии. Векторы на основе ретровирусов, лентивирусов, аденовирусов. CRISPR-система и ее использование.
15. Нокдаун генов. РНК-интерференция. Малые интерферирующие РНК (siRNA). Механизм образования siRNA. Подавление экспрессии генов с помощью РНК-интерференции, его особенности у разных организмов.
16. Перенос ДНК в клетки млекопитающих и дрозофилы. Неспецифические методы введения ДНК (Са-фосфатная трансфекция, электропорация, микроиньекции). Стабильная и транзиентная (временная) экспрессия генов в клетках млекопитающих. Репортерные гены.
17. Количественный анализ экспрессии генов. ОТ-ПЦР в режиме реального времени.
18. Методы исследования структуры хроматина (ChIP, DamID).
19. Методы выделения плазмидных и геномных ДНК из бактериальных и эукариотических клеток.
20. Методы хроматографического разделения макромолекул.
21. Фракционирование макромолекул методом центрифугирования.
22. Методы экстракции.
23. Методы исследования посттрансляционных модификаций белков.
24. Методы очистки белков.
25. Антитела, их использование в молекулярной биологии.
26. Методы исследования ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействий.
27. Современные методы протеомики.
28. Методы анализа транскриптома в единичных клетках.
29. Hi-C и ChIA-PET методы анализа пространственных взаимодействий.
30. Микрочипы, их применение в молекулярной биологии.
31. Микроскопические методы изучения живой клетки.

VII. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

Рекомендуемая литература для освоения теоретического курса

Основная литература

1. Анализ генома. Методы. Под ред. К.Дейвиса. М.: Мир, 1990.
2. Клонирование ДНК. Методы. Под ред. Д.Гловера. М.: Мир, 1988.
3. M.R. Green, J. Sambrook. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition), Cold Spring Harbor Lab. Press, 2012.
4. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. 2-е изд. Новосибирск: Сиб.унив. изд-во. 2004.
5. Уилсон Д., Хант Т. Молекулярная биология клетки: Сборник задач. М., Мир, 1994.

6. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Новосибирск. Сибирское университетское изд-во. 2004.

Дополнительная литература

1. Льюин Б. Гены IX. Бином. 2011.

Электронные ресурсы, включая доступ к базам данных и . т.д.

Информационные ресурсы: Научные журналы (Молекулярная биология, Биохимия, Acta Naturae, и др.), доступные через Internet научные журналы: http://scitation.aip.org/, http://www.sciencemag.org/, электронные конспекты лекций и презентации, разработанные для данного курса.

Доступные через Internet базы данных и биоинформатические программы: Pubmed – NCBI, OMIM – NCBI, UCSC Genome Browser.