

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«ДАГЕСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Биологический факультет

**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ**  
**Молекулярно-генетические методы**  
**в современной биотехнологии растений**

Кафедра физиологии растений и биотехнологии  
биологического факультета

Образовательная программа магистратуры  
06.04.01 Биология

Направленность (профиль) программы  
Физиология и биотехнология растений

Форма обучения:  
очная

Статус дисциплины: входит в часть, формируемую  
участниками образовательных отношений,  
дисциплина по выбору

Рабочая программа дисциплины «Молекулярно-генетические методы в современной биотехнологии растений» составлена в 2022 году в соответствии с требованиями ФГОС ВО – магистратура по направлению подготовки 06.04.01 Биология от 11 августа 2020 г. № 934.

Разработчик(и): кафедра физиологии растений и биотехнологии, Баламирзоева Р.М., к.б.н., Алиева З.М., д.б.н., доцент;

Рабочая программа дисциплины одобрена:

на заседании кафедры физиологии растений и биотехнологии от 09.03.2022 г., протокол № 7.

Зав. кафедрой  Алиева З.М.

на заседании Методической комиссии биологического факультета от 23.03.2022 г., протокол № 7.

Председатель  Рамазанова П.Б.

Рабочая программа дисциплины согласована с учебно-методическим управлением 31.03.2022 г.

/Начальник УМУ  Гасангаджиева А.Г.

### Аннотация рабочей программы дисциплины

Дисциплина «Молекулярно-генетические методы в современной биотехнологии растений» входит в часть, формируемую участниками образовательных отношений ОПОП магистратуры, дисциплина по выбору по направлению подготовки 06.04.01 Биология.

Дисциплина реализуется на биологическом факультете кафедрой физиологии растений и биотехнологии.

Дисциплина нацелена на формирование следующих компетенций выпускника: общепрофессиональных – ОПК-8, профессиональных – ПК-2, 4, 5.

Преподавание дисциплины предусматривает проведение следующих видов учебных занятий: лекции, практические занятия, самостоятельная работа.

Рабочая программа дисциплины предусматривает проведение следующих видов контроля успеваемости в форме устного опроса, тестовых заданий, письменных контрольных работ, коллоквиумов и промежуточный контроль в форме зачёта.

Объем дисциплины 2 зачетные единицы, в том числе 72 в академических часах по видам учебных занятий:

#### Очная форма обучения

| Семестр | Учебные занятия |  |                              |     |                   |  |  | СРС,<br>в том<br>числе<br>экза-<br>мен | Форма промежу-<br>точной аттеста-<br>ции (зачет, диф-<br>ференцированный<br>зачет, экзамен) |
|---------|-----------------|--|------------------------------|-----|-------------------|--|--|--|---|
|         | в том числе:    |  |                              |     |                   |  |  |  |   |
|         | всего           | Контактная работа обучающихся с преподавателем |                              |     |                   |  |  |  |   |
|         |                 | всего  | из них                       |     |                   |  |  |  |   |
|         | Лек-<br>ции     | Лабора-<br>торные<br>занятия                   | Практи-<br>ческие<br>занятия | КСР | консуль-<br>тации |  |  |  |   |
| 1       | 72              | 36   | 18                           | -   | 18                |  |  | 36                                     | зачет   |

#### 1. Цели освоения дисциплины

Ознакомить студентов с теоретическими основами некоторых физико-химических и молекулярно-генетических методов анализа, применяемых для решения задач в молекулярной биологии. Развить умение применять методы физико-химического и молекулярно-генетического анализа на практике.

Выполнение практических и лабораторных работ по молекулярно-генетическим методам анализа с привлечением знаний из соответствующих разделов физики, химии, математической статистики способствует установлению межпредметных связей, развивает навыки самостоятельной работы студентов, позволяет построить работу таким образом, чтобы учебные задачи перерастали в курсовые и дипломные проекты. Данная дисциплина должна вооружить студентов разнообразными методами молекулярно-генетического эксперимента, приобрести опыт экспериментальной работы и реализовать теоретические знания на практике.

#### 2. Место дисциплины в структуре ОПОП магистратуры

Дисциплина «Молекулярно-генетические методы в современной биотехнологии растений» входит в часть, формируемую участниками образовательных отношений ОПОП магистратуры, дисциплина по выбору по направлению 06.04.01 Биология. В начале курса студент должен иметь достаточные знания в области клеточной биологии, биохимии, физики, биофизики, аналитической и органической химии в объеме программы бакалавриата биологии, прослушав соответствующие курсы и имея по ним положительные отметки.

### 3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины (перечень планируемых результатов обучения).

| Код и наименование компетенции из ОПОП   | Код и наименование индикатора достижения компетенции  | Планируемые результаты обучения   | Процедура освоения                |
|--|---|---|-----------------------------------|
| <b>ОПК-8.</b><br>Способен использовать современную исследовательскую аппаратуру и вычислительную технику для решения инновационных задач в профессиональной деятельности | <b>ОПК-8.1.</b> Выбирает и использует соответствующее оборудование для проведения экспериментальных исследований и измерений  | <i><b>Знает:</b></i> типы современной аппаратуры для полевых и лабораторных исследований в области профессиональной деятельности;<br><i><b>Умеет:</b></i> использовать современную вычислительную технику;<br><i><b>Владеет:</b></i> способностью творчески модифицировать технические средства для решения инновационных задач в профессиональной деятельности   | Письменный опрос;<br>Устный опрос |
|  | <b>ОПК-8.2.</b><br>Обрабатывает и представляет полученные экспериментальные данные с использованием современных методов анализа для получения обоснованных выводов  | <i><b>Знает:</b></i> традиционные и современные методы статистической обработки данных;<br><i><b>Умеет:</b></i> применять методы статистической обработки данных к конкретной ситуации с учетом специфики исследований и характера полученных данных;<br><i><b>Владеет:</b></i> методами анализа достоверности и оценки перспективности результатов проведенных экспериментов и наблюдений  |                                   |
| <b>ПК-2.</b> Способен применять методические основы проектирования, выполнения полевых и лабораторных биологических исследований   | <b>ПК-2.1.</b> Использует методы сбора, обработки, систематизации и представления полевой и лабораторной информации, применять навыки работы с современным оборудованием, анализировать полученные результаты | <i><b>Знает:</b></i> современные методические подходы при выполнении биологических и экологических исследований, обработке и интерпретации полученных результатов; устройство и правила эксплуатации полевого и лабораторного оборудования;<br><i><b>Умеет:</b></i> использовать современную приборную базу для биологических и экологических исследований, методически грамотного применения статистических и аналитических подходов в | Письменный опрос;<br>Устный опрос |

|  |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  |  | <p>обработке результатов;<br/>         ставить задачу и выполнять лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач по направлению подготовки с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств;<br/>         демонстрировать ответственность за качество работ и научную достоверность результатов;<br/> <b>Владеет:</b> навыками работы на современном полевом и лабораторном оборудовании, интерпретации научной биологической информации с применением статистических и аналитических подходов</p> |  |
|  | <p>ПК-2.2.<br/>         Самостоятельно анализирует имеющуюся информацию, выявляет фундаментальные проблемы, ставит задачи и выполняет полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств, несет ответственность за качество работ и научную достоверность результатов.</p> | <p><b>Знает:</b> фундаментальные проблемы биологии;<br/> <b>Умеет:</b> проводить самостоятельный анализ биологической информации;<br/> <b>Владеет:</b> навыками сбора и анализа биологической информации</p>   | <p>Письменный опрос;<br/>         Устный опрос</p> |
|  | <p>ПК-2.3.<br/>         Профессионально оформляет, представляет и докладывает результаты научно-исследовательских и производственно-техно-логических работ по утвержденным</p>   | <p><b>Знает:</b> фундаментальные проблемы биологии;<br/> <b>Умеет:</b> проводить самостоятельный анализ биологической информации;<br/> <b>Владеет:</b> навыками сбора и анализа биологической информации</p>   | <p>Письменный опрос;<br/>         Устный опрос</p> |

|   |  |   |                                   |
|---|--|---|-----------------------------------|
| ПК-4. Способен генерировать новые идеи и методические решения | <p>формам.</p> <p>ПК-4.1. Творчески использует в научной и производственно-технологической деятельности знания фундаментальных и прикладных разделов дисциплин (модулей), определяющих направленность (профиль) программы магистратуры</p> | <p><b>Знает:</b> основные понятия, категории, современные методики и технологии организации и реализации образовательного процесса в вузе; основные положения, законы, методы и достижения естественных наук;</p> <p><b>Умеет:</b> вести анализ системных объектов; адаптировать современные достижения науки к образовательному процессу; использовать принципы методов эксперимента; выявлять естественнонаучную сущность проблем, возникающих в ходе профессиональной деятельности;</p> <p><b>Владеет:</b> способами создания и методами работы с базами данных; основными методами, методиками, технологией контроля качества образования; основными методами, способами и средствами получения, обработки информации в области естественных наук; навыками теоретического мышления, анализа, осмысления, систематизации, интерпретации и обобщения фактов; методом системного анализа (принцип системности), навыками самостоятельной научно-исследовательской работы.</p> | Письменный опрос;<br>Устный опрос |
|   | ПК-4.2. Анализирует практические результаты работы и предлагает новые решения, к резюмированию и аргументированному отстаиванию своих  | <p><b>Знает:</b> основы обработки теоретических и экспериментальных данных, полученных в результате научной и производственной деятельности; основные представления о резюмировании и</p>   | Письменный опрос;<br>Устный опрос |

|  |   |   |                                |
|--|---|---|--------------------------------|
|  | решений   | <p>отстаивании своих решений, социальной и этической ответственности за принятые решения; новые технологии и методики в области биологии и экологии; основные теории, концепции и принципы в избранной области деятельности;</p> <p><b>Умеет:</b> применять инновационные технологии в обобщении практических результатов работы, предлагая новые подходы к аргументированному резюмированию своих решений, выделять и систематизировать практические результаты работы, предлагать но-вые решения, критически оценивать и отстаивать принятые решения; генерировать новые идеи и методические решения при выполнении индивидуальной научно-исследовательской работы;</p> <p><b>Владеет:</b> навыками применения новых идей и методические решения в профессиональной деятельности; системным мышлением; навыками работы с современным программным обеспечением, используемым в научной и производственной областях деятельности, навыками анализа и обобщения принятых решений, ответственности за принятые решения, аргументированного отстаивания своих решений.</p> |                                |
|  | ПК-4.3. Отстаивает и целенаправленно реализовывает новые идеи | <p><b>Знает:</b> способы генерирования новых идей в профессиональной деятельности.</p> <p><b>Умеет:</b> реализовывать новые идеи в профессиональной</p>   | Письменный опрос; Устный опрос |

|  |  |   |   |
|--|--|---|---|
|  |  | <p>деятельности.</p> <p><b>Владеет:</b> теоретическими и практическими знаниями в реализации новых идей, целенаправленно их реализовывая</p>  |   |
| <p>ПК-5. Способен применять современные методы научных исследований, использовать современную аппаратуру, вычислительные комплексы, современные информационные технологии (в соответствии с направленностью (профилем) программы магистратуры) в научных, производственных и клинических сферах деятельности</p> | <p>ПК-5.1. Анализирует, оптимизирует и применяет методы современных исследований и современные информационные технологии при решении научных задач</p> | <p><b>Знает:</b> основные типы основные формы анализа и изучения научно-технической информации, отечественного и зарубежного опыта, разработки и внедрения информационных систем и технологий, баз данных при решении научных задач; основные приёмы оптимизации условий труда с учетом инноваций в области техносферной безопасности;</p> <p><b>Умеет:</b> анализировать результаты научно-исследовательской работы по решению технических задач; применять информационные технологии для оценки результатов научно-исследовательской работы; оценивать эффективность и выбирать современные методики и информационные технологии для проведения научных исследований в области решения научно-исследовательских задач;</p> <p><b>Владеет:</b> базовыми приёмами изучения и анализа литературных и патентных источников, организации научных исследований с использованием информационных технологий; навыками решения научных задач с применением информационных технологий</p> | <p>Письменный опрос;<br/>Устный опрос</p> |



|  |  |  |                                   |
|--|--|--|-----------------------------------|
|  | ПК-5.2. Осуществляет организацию и управление научно-исследовательскими и научно-производственными работами в области биологии и биомедицины с использованием принципов биоэтики и углубленных знаний в профессиональной сфере (в соответствии с направленностью программы магистратуры) | <p><b>Знает:</b> принципы и подходы в организации и управлении работ в сфере профессиональной деятельности, теоретические основы и понятия биоэтики и разделов в предметной области;</p> <p><b>Умеет:</b> грамотно осуществлять организацию и управление работами в разных областях профессиональной деятельности, учитывая биоэтические принципы и углубленные профессиональные знания;</p> <p><b>Владеет:</b> навыками организации и управления работами в разных областях профессиональной деятельности с учетом биоэтических принципов и углубленных профессиональных знаний</p> | Письменный опрос;<br>Устный опрос |
|--|--|--|-----------------------------------|

#### 4. Объем, структура и содержание дисциплины.

4.1. Объем дисциплины составляет 2 зачетные единицы, 72 академических часа.

4.2. Структура дисциплины.

4.2.1. Структура дисциплины в очной форме

| №<br>п/п  | Разделы и темы дисциплины по модулям     |  | Семестр | Виды учебной работы, включая самостоятельную работу студентов (в часах) |                      |                      |     |                               | Формы текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации   |
|---|--|--|---------|---|----------------------|----------------------|-----|-------------------------------|---|
|   |  |  |         | Лекции  | Практические занятия | Лабораторные занятия | ... | Самостоятельная работа в т.ч. |   |
| <b>Модуль 1. Методы выделения и фиксации ДНК.</b> |  |  |         |   |                      |                      |     |                               |   |
| 1   | <b>Тема 1.</b> Выделение и обработка ДНК |  | 1       | 2   | 2                    |                      |     | 4                             | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
| 2   | <b>Тема 2.</b> Методы гибридизации ДНК   |  | 1       | 2   | 2                    |                      |     | 4                             | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде             |

|  |   |  |   |    |    |  |  |             |   |
|--|---|--|---|----|----|--|--|-------------|---|
|  |   |  |   |    |    |  |  | коллоквиума |   |
| 3.   | <b>Тема 3.</b><br>Полимеразная цепная реакция   |  | 1 | 2  | 2  |  |  | 6           | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
| 4  | <b>Тема 4.</b><br>Секвенирование  |  | 1 | 2  | 2  |  |  | 6           | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
|  | <i>Итого по модулю 1:</i>   |  |   | 8  | 8  |  |  | 20          |   |
| <b>Модуль 2. Методы анализа ДНК в условиях современной молекулярно-генетической лаборатории и статистическая оценка генетического разнообразия</b> |   |  |   |    |    |  |  |             |   |
| 1  | <b>Тема 1.</b><br>Молекулярные маркеры  |  | 1 | 4  | 4  |  |  | 4           | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
| 3  | <b>Тема 3.</b> Микрочипы в генетике   |  | 1 | 2  | 2  |  |  | 4           | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
| 4  | <b>Тема 3.</b><br>Статистическая оценка генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами |  | 1 | 2  | 2  |  |  | 4           | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
| 5  | <b>Тема 4.</b> Оснащение современной молекулярно-генетической лаборатории                               |  | 1 | 2  | 2  |  |  | 4           | устный, тестовый опрос, промежуточный контроль в виде коллоквиума |
|  | <i>Итого по модулю 2:</i>   |  |   | 10 | 10 |  |  | 16          |   |
|  | <b>ИТОГО:</b>   |  |   | 18 | 18 |  |  | 36          | зачёт   |

### 4.3. Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам).

#### 4.3.1. Содержание лекционных занятий по дисциплине.

##### Модуль 1. Методы выделения и фиксации ДНК.

**Тема 1.** Выделение и обработка ДНК. Особенности выделения ДНК из растительного материала. В целом, процедура выделения ДНК включает обязательные процедуры: разрушение клеток; удаление мембранных липидов; удаление вторичных метаболитов и запасных веществ; удаление белков; удаление РНК; осаждение ДНК. Примеры модификации методов выделения ДНК. Выделение ДНК из материала с высоким содержанием полисахаридов и полифенолов. Приложения метода.

Создание банков ДНК. Банки ДНК Великобритании, Японии, Австралии. Банки Германии и США, как часть сети DNA Bank Network

**Тема 2.** Методы гибридизации ДНК.

Рестрикция. Мелкощепящие и крупнощепящие рестриктазы. Рестрикция с образованием тупых и липких концов. Электрофоретическое определение фрагментов ДНК. Электрофорез в агарозном и полиакриламидном геле: преимущества и недостатки. Гибридизация по Саузерну. Блот-гибридизация. Нозерн-блот, вестерн-блот, иммуно-блот. Флуоресцентная гибридизация. Гибридизация *in situ*. Точечная гибридизация. ДНК-зонды. Процедура мечения ДНК-зондов.

**Тема 3.** Полимеразная цепная реакция.

Типичная реакционная смесь. Праймеры. Этапы реакции: денатурация, отжиг праймеров, элонгация. ПЦР с обратной транскрипцией: схема ОТ-ПЦР. ПЦР в реальном времени. Зонды TaqMan и SYBR Green. Иммуно-ПЦР в реальном времени. Варианты реакции ПЦР: ПЦР с горячим стартом, ступенчатая ПЦР, «Холодная» ПЦР, ПЦР длинных фрагментов, мультиплексная ПЦР, асимметричная ПЦР, метилспецифичная ПЦР, ПЦР со вложенной парой праймеров, ПЦР с перекрывающимися праймерами, сборочная ПЦР.

**Тема 4.** Секвенирование.

Секвенирование по Сэнгеру. Метод терминаторов. Ключевая характеристика метода прерывания цепи. NGS – секвенирование нового поколения. Секвенирование путем синтеза. Секвенирование лигированием. Платформа Illumina: технология SLR на платформе Illumina. Пиросеквенирование : платформа 454 Roche. Одномолекулярное (Helicos BioSciences, Pacific BioSciences) и клональное секвенирование. Нанопоровое секвенирование. Биологические, твердотельные и гибридные нанопоры.

**Модуль 2. Методы анализа ДНК в условиях современной молекулярно-генетической лаборатории и статистическая оценка генетического разнообразия**

**Тема 1.** Молекулярные маркеры.

Горячие точки генома. Тандемные повторы: сателлиты, минисателлиты и микросателлиты. Кодоминантные маркеры. ДНК-фингерпринтинг: «классический» фингерпринтинг, основанный на ДНК-гибридации и ДНК-фингерпринтинг, основанный на ПЦР, с электрофоретическим разделением амплифицированных фрагментов. AFLP – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов. CAPS – расщепленные амплифицированные полиморфные последовательности. DArT – ДНК-чип технология для изучения разнообразия. IRAP – полиморфизм амплифицированных последовательностей между ретротранспозонами. ISSR – межмикросателлитные последовательности. RAPD – случайно амплифицированная полиморфная ДНК. RFLP – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов. SCAR – амплифицированная область, охарактеризованная нуклеотидной последовательностью. SNP – однонуклеотидный полиморфизм. SSAP – полиморфизм сиквенса-специфичной амплификации. SSCP – полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК. SSR – простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты).

**Тема 2.** Микрочипы в генетике.

История. Принципы метода. Сборка ДНК-микрочипов: фотолитография, электрофокусирование. Эксперимент: выделение ДНК/РНК, мечение ДНК/РНК, гибридизация, промывка, сканирование, анализ данных. Области применения: анализ экспрессии генов, анализ связывания транскрипционных факторов. Генотипирование: аллельная дискриминация, «Golden Gate» анализ, расширение праймеров, оценка крайнего нуклеотида. Ограничения микрочипирования. Области применения ДНК-микрочипов в физиологии растений.

**Тема 3.** Статистическая оценка генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами.

Концепция аллельных и генотипических частот. Закон генетического равновесия Харди-Вайнберга. Установление полиморфизма, выявляемого молекулярными маркерами: подходы, основанные на прямой оценке профилей электрофоретических полос, измерение полиморфизма, информационный индекс Shannon-Weaver,

коэффициенты симилярности. Подходы, основанные на подсчете частот аллелей: разнообразие аллелей ( $A$ ), эффективный размер популяции ( $N_e$ ), гетерозиготность ( $H$ ),  $F$ -статистика, дрейф генов ( $Nm$ ). Определение генетической дистанции

**Тема 4.** Оснащение современной молекулярно-генетической лаборатории.

Оборудование для выделения ДНК: термостат, вортекс, миницентрифуга, дозаторы, лабораторный пластик. Оборудование для проведения пробоподготовки: УФ бокс, вортексы, миницентрифуга, дозаторы, лабораторный пластик. Современные амплификаторы: термоциклеры и амплификаторы «в реальном времени». Современные секвенаторы.

#### **4.3.2. Содержание практических занятий по дисциплине**

##### **Модуль 1. Методы выделения и фиксации ДНК.**

**Тема 1.** Выделение и обработка ДНК.

Особенности выделения ДНК из растительных объектов. Метод солевой экстракции ДНК с фенольной депротеинизацией. Выделение суммарной ДНК из растений по Devey et al. с небольшими модификациями. Выделение геномной ДНК (с мочевиной). Быстрый метод выделения ДНК из растительных тканей. Выделение ДНК растений с использованием СТАВ. Дополнительная очистка ДНК.

**Тема 2.** Методы гибридизации ДНК.

Процедура блот-гибридизации по Саузерну. Процедура флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Процедура точечной гибридизации. Методика гибридизации ДНК с радиоактивно мечеными зондами. Методика гибридизации ДНК с флуоресцентно мечеными зондами.

**Тема 3.** Полимеразная цепная реакция.

Состав типичной реакционной смеси. Этапы реакции: денатурация, отжиг праймеров, элонгация. Составление протокола реакции. Схема ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Детекция результатов ПЦР анализа методом электрофореза в агарозном и полиакриламидном геле. Схема ПЦР в реальном времени Процедура ПЦР с зондами TaqMan и SYBR Green.

**Тема 4.** Секвенирование.

Метод терминаторов (обрыва цепи) по Сэнгеру. Технология капиллярного метода секвенирования. Методы анализа результатов процедуры секвенирования. Технологии высокопроизводительного секвенирования: анализ на платформе Illumina, пиросеквенирование, нанопоровое секвенирование.

##### **Модуль 2. Методы анализа ДНК в условиях современной молекулярно-генетической лаборатории и статистическая оценка генетического разнообразия**

**Тема 1.** Молекулярные маркеры.

Использование молекулярных маркеров для анализа генома растений. Применение RAPD маркеров в селекции для идентификации сортов и пород растений. Мониторинг популяций редких и исчезающих видов растений, находящихся на охраняемых территориях с применением ISSR-маркеров. Изучение филогеографии, структуры популяций, сортовой идентификации, выявления источника происхождения с помощью микросателлитов. Изучение генетической идентичности, филогенетических связей, идентификация сортов и клонов, картирование. Анализ с использованием маркеров SNP.

**Тема 2.** Микрочипы в генетике.

Сборка ДНК-микрочипов методом фотолитографии и электрофокусирования. Использование ДНК-микрочипов в физиологии растений для изучения: циркадных ритмов, защиты растений, ответов на холодостресс и засуху, развития семени, сигнальной системы фитохрома А. Использование микрочипов в анализе молекулярных механизмов координации метаболических путей растений.

**Тема 3.** Статистическая оценка генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами.

Методы расчета частот аллелей и частот генотипов. Непараметрический критерий  $\chi^2$ . Методы расчета эффективного размера популяции ( $N_e$ ), гетерозиготности ( $H$ ).  $F$ -статистика, дрейф генов ( $Nm$ ). Определение генетической дистанции.

**Тема 4.** Оснащение современной молекулярно-генетической лаборатории

Разделение лаборатории на зоны: зону выделения ДНК, зону пробоподготовки, зону проведения ПЦР и секвенирования, зону детекции результатов анализа. Оборудование для зоны выделения ДНК. Оборудование для зоны пробоподготовки. Оборудование для проведения ПЦР и секвенирования. Оборудование для детекции результатов анализа.

## 5. Образовательные технологии

Активные инновационные методы обучения

- неимитационные методы;
- неигровые имитационные методы;

Неимитационные методы: проблемная лекция, лекция-визуализация, лекция с запланированными ошибками, лекция-беседа, лекция-дискуссия;

- лекция с разбором конкретной ситуации, изложенной устно или в виде краткого диафильма, видеозаписи и т.п.; студенты совместно анализируют и обсуждают представленный материал;
- лекция-консультация, при которой до 50% времени отводится для ответов на вопросы студентов; в том числе с привлечением квалифицированных специалистов в области изучаемой проблемы.

Неигровые имитационные методы: кейс-метод, контекстное обучение, тренинг;

- методы группового решения творческих задач
- метод Дельфи
- метод дневников
- метод развивающейся кооперации

## 6. Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов.

Самостоятельная работа студента над глубоким освоением фактического материала организуется в процессе подготовки к занятиям, по текущему, промежуточному и итоговому контролю знаний. Пропущенные лекции отрабатываются в форме составления реферата по пропущенной теме. Задания по самостоятельной работе разнообразны:

- выполнение лабораторной работы;
- оформление рабочей тетради с соответствующими методическими указаниями к работе, результатами работы и выводами по сделанной работе;
- обработка учебного материала по учебникам и лекциям, текущему, промежуточному и итоговому контролю знаний по модульно-рейтинговой системе;
- поиск и обзор публикаций и электронных источников информации при подготовке к занятиям, написании рефератов;
- работа с тестами и контрольными вопросами при самоподготовке;
- обработка и анализ статистических и фактических материалов, составление выводов на основе проведенного анализа.

Результаты самостоятельной работы контролируются преподавателем и учитываются при аттестации студента (экзамен). При этом проводятся тестирование, экспресс-опрос на семинарских и лабораторных занятиях, заслушивание докладов, проверка письменных контрольных работ.

### Примерный перечень вопросов и заданий для самостоятельной работы

1. Строение и структура ДНК и РНК.
2. Транскрипция и трансляция генетического материала.

3. Обработка растительного материала.
3. Приготовление растворов для выделения обработки растительного материала.
4. Электрофоретическая подвижность.
5. Классификация электрофоретических методов: зональный электрофорез; изоэлектрическое фокусирование; иммуноэлектрофорез.
5. Преимущества и недостатки использования различных носителей при электрофорезе: крахмальный гель, агарозный гель, полиакриламидный гель – ПААГ.
6. Особенности электрофореза в полиакриламидном геле, нативный и SDS-ПААГ-электрофорез.
8. Суть метода ПЦР.
9. Приготовление реакционной смеси и проведение ПЦР. Детекция результатов ПЦР.
10. Модификации метода ПЦР.
12. Преимущества ПЦР перед другими методами. Практическое применение и перспективы развития метода ПЦР.
13. Секвенирование ДНК по Максаму и Гилберту: метод химической деградации.
14. Секвенирование ДНК по Сэнгеру: «плюс-минус» метод, метод «терминаторов».
15. Методы секвенирования нового поколения.
16. Молекулярные маркеры: основные классы молекулярных маркеров.
17. Горячие точки генома.
18. Тандемные повторы.
19. Кодоминантные маркеры.
20. RAPD-анализ.
18. ISSR-маркирование.
19. SSR-маркеры.
20. AFLP-метод.
21. SNP.
22. Генное картирование.
23. Физическое картирование.
24. Оптическое картирование.
25. Картирование мутационных участков в пределах гена.
26. Принципы метода ДНК-микрочипирования.
27. Области применения ДНК-микрочипов в физиологии растений.
28. Статистическая оценка генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами.
29. Подходы, основанные на подсчете частот аллелей.
30. Определение генетической дистанции
31. Оснащение современной молекулярно-генетической лаборатории.
32. Оборудование для выделения ДНК.
33. Оборудование для проведения пробоподготовки.
34. Современные амплификаторы и секвенаторы.

## **7. Фонд оценочных средств для проведения текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины.**

### **7.1. Типовые контрольные задания**

#### **Примерный перечень вопросов для проведения текущего контроля**

1. В чем сложности выделения ДНК из растительного материала?
2. С какой целью при выделении ДНК проводится обработка фенолом и хлороформом?
3. Почему предпочтительнее использовать додецилсульфат натрия, а не Тритон X-100 при выделении ДНК?
4. Что необходимо сделать, если при осаждении ДНК препарат имеет желтый или коричневый цвет?

5. Как осадить ДНК из раствора?
6. Для чего при выделении ДНК в буфер добавляют меркаптоэтанол и поливинилпирролидон?
7. Почему нежелательно растворять препарат ДНК в дистиллированной воде?
8. Как очистить препарат ДНК от примеси РНК и белков?
9. Какие способы существуют для разрушения клеточной стенки растений?
10. Что такое СТАВ и для чего его применяют?
11. Каким образом можно оценить качество и количество выделенной из образца ДНК?
12. При каких длинах волн поглощают излучение ДНК, РНК, белки и углеводы?
13. Что такое спектрофотометрия?
14. Из какого материала должна быть изготовлена кювета, используемая для определения качества и количества нуклеиновых кислот?
15. Какие соотношения оптических плотностей при длине волны 260 нм и 280 нм имеет препарат качественно выделенной и свободной от примесей ДНК?
16. Каковы пределы обнаружения ДНК в агарозном геле после электрофореза?
17. В чем суть полимеразной цепной реакции? Какой биологический процесс она повторяет?
18. Какие этапы можно выделить в ПЦР?
19. Как выглядит стандартная программа для ПЦР, из каких этапов она состоит?
20. Что такое праймер?
21. Почему в буфер для ПЦР обязательно должны входить ионы магния?
22. Назовите области применения ПЦР.
23. Что такое ПЦР в реальном времени, какие преимущества у этого метода в сравнении с классическим?
24. Какие разновидности ПЦР вам известны?
25. Что такое контаминация? Каковы ее причины и как с ней бороться?
26. Как рассчитать температуру отжига праймеров?
27. Что такое дизайн праймеров? Каким требованиям должны удовлетворять праймеры?
28. Как можно визуализировать ДНК в гелях после электрофореза?
29. Что такое интеркалирующие красители?
30. Какие меры предосторожности надо принимать при проведении электрофореза нуклеиновых кислот?
31. В чем принцип электрофореза НК?
32. Что входит в состав ТАЕ- и ТВЕ-буферов?
33. Что такое секвенирование биополимеров?
34. Какие методы секвенирования НК вам известны?
35. В чем смысл метода секвенирования по Сэнгеру?
36. Какое практическое значение имеет секвенирование ДНК?
37. Почему перед секвенированием образец ДНК необходимо амплифицировать, а после этого – дополнительно очистить?
38. Что позволило автоматизировать процесс секвенирования ДНК по Сэнгеру?

### **Примерный перечень вопросов для итоговой аттестации**

1. В чем сложности выделения ДНК из растительного материала?
2. С какой целью при выделении ДНК проводится обработка фенолом и хлороформом?
3. Почему предпочтительнее использовать додецилсульфат натрия, а не Тритон X-100 при выделении ДНК?
4. Что необходимо сделать, если при осаждении ДНК препарат имеет желтый или коричневый цвет?

5. Как осадить ДНК из раствора?
6. Для чего при выделении ДНК в буфер добавляют меркаптоэтанол и поливинилпирролидон?
7. Почему нежелательно растворять препарат ДНК в дистиллированной воде?
8. Как очистить препарат ДНК от примеси РНК и белков?
9. Какие способы существуют для разрушения клеточной стенки растений?
10. Что такое СТАВ и для чего его применяют?
11. Каким образом можно оценить качество и количество выделенной из образца ДНК?
12. При каких длинах волн поглощают излучение ДНК, РНК, белки и углеводы?
13. Что такое спектрофотометрия?
14. Из какого материала должна быть изготовлена кювета, используемая для определения качества и количества нуклеиновых кислот?
15. Какие соотношения оптических плотностей при длине волны 260 нм и 280 нм имеет препарат качественно выделенной и свободной от примесей ДНК?
16. Каковы пределы обнаружения ДНК в агарозном геле после электрофореза?
17. В чем суть полимеразной цепной реакции? Какой биологический процесс она повторяет?
18. Какие этапы можно выделить в ПЦР?
19. Как выглядит стандартная программа для ПЦР, из каких этапов она состоит?
20. Что такое праймер?
21. Почему в буфер для ПЦР обязательно должны входить ионы магния?
22. Назовите области применения ПЦР.
23. Что такое ПЦР в реальном времени, какие преимущества у этого метода в сравнении с классическим?
24. Какие разновидности ПЦР вам известны?
25. Что такое контаминация? Каковы ее причины и как с ней бороться?
26. Как рассчитать температуру отжига праймеров?
27. Что такое дизайн праймеров? Каким требованиям должны удовлетворять праймеры?
28. Как можно визуализировать ДНК в гелях после электрофореза?
29. Что такое интеркалирующие красители?
30. Какие меры предосторожности надо принимать при проведении электрофореза нуклеиновых кислот?
31. В чем принцип электрофореза НК?
32. Что входит в состав ТАЕ- и ТВЕ-буферов?
33. Что такое секвенирование биополимеров?
34. Какие методы секвенирования НК вам известны?
35. В чем смысл метода секвенирования по Сэнгеру?
36. Какое практическое значение имеет секвенирование ДНК?
37. Почему перед секвенированием образец ДНК необходимо амплифицировать, а после этого – дополнительно очистить?
38. Что позволило автоматизировать процесс секвенирования ДНК по Сэнгеру?
39. Что такое генетические маркеры?
40. Какую информацию об организме может дать генетическое маркирование?
41. Что такое RAPD-анализ? Каковы его достоинства и недостатки?
42. Что такое ISSR-анализ? В чем его отличия от RAPD?
43. Назовите методы генетического анализа, основанные на амплификации со специфическими праймерами.
44. В чем суть метода RFLP?
45. В чем суть метода AFLP?
46. Как выявить полиморфизм на уровне отдельных нуклеотидов?



47. У вас есть организм с неизвестным геномом. Необходимо оценить степень полиморфизма в его популяции. Какой метод анализа вы будете использовать?
48. Сравните различные методы генетического маркирования. Назовите их достоинства и недостатки.
49. Каковы области применения методов генетического маркирования?
50. Генное картирование.
51. Физическое картирование.
52. Оптическое картирование.
53. Картирование мутационных участков в пределах гена.
54. Что такое ДНК-микрочипы.
55. Принципы метода микрочипирования ДНК.
56. Области применения ДНК-микрочипов в физиологии растений.
57. Статистическая оценка генетического разнообразия, выявляемого молекулярными маркерами.
58. Закон генетического равновесия Харди-Вайнберга.
59. Установление полиморфизма, выявляемого молекулярными маркерами.
60. Подходы, основанные на подсчете частот аллелей.
61. Методы статистики, применяемые в молекулярной генетике.
62. Определение генетической дистанции
63. Оснащение современной молекулярно-генетической лаборатории.
64. Оборудование для выделения ДНК.
65. Оборудование для проведения пробоподготовки.
66. Современные амплификаторы.
67. Современные секвенаторы.

### **Тематика рефератов**

1. Генная инженерия и ее методы.
2. Трансгенетика: за и против.
3. Клонирование растений.
4. Использование ДНК-технологий в растениеводстве
5. Мутагенез и мутагенные факторы.
6. Генетические последствия загрязнения окружающей среды и защита растений от мутагенов.
7. Генетические основы онтогенеза.
8. Полиплоидия и ее практическое применение в растениеводстве.
9. Использование мутагенеза в селекции растений.
10. Модификационная изменчивость и использование нормы реакции в практической деятельности агроспециалиста.
11. Отдаленная гибридизация и ее использование в селекции растений.
12. Генномодифицированные продукты растениеводства и их влияние на здоровье человека.

### **7.2. Методические материалы, определяющие процедуру оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций.**

Общий результат выводится как интегральная оценка, складывающаяся из текущего контроля – 50 % и промежуточного контроля – 50 %.

Текущий контроль по дисциплине включает:

- посещение занятий – 5 баллов,
- выполнение лабораторных заданий – 35 баллов,

-выполнение домашних (аудиторных) контрольных работ – 60 баллов. Промежуточный контроль по дисциплине включает:

- устный опрос – 25 баллов,
- письменная контрольная работа – 25 баллов,
- тестирование – 10 баллов.

### **8. Учебно-методическое обеспечение дисциплины.**

*Адрес сайта курса:*

на платформе Moodle: <http://edu.dgu.ru/course/view.php?id=3510>

#### **а) основная литература:**

1. Кутлунина, Н. А., Ермошин А. А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений : учеб.-метод. пособие. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2017. 142 с.
2. Чесноков Ю. В., Косолапов В. М. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса. Москва : ООО «Угрешская типография», 2016. 172 с.
3. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. М. : Академкнига, 2003. 432 с.
4. Великов В. А. Молекулярная биология : практ. руководство. Саратов : Саратовский гос. ун-т, 2013. 84 с.
5. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. Л. : Агропромиздат, 1987. 430 с.
6. Падутов В. Е., Баранов О. В., Воропаев Е. В. Методы молекулярно-генетического анализа. Минск : Юнипол, 2007. 176 с.
7. Жимулёв И.Ф. Общая и молекулярная генетика [Электронный ресурс] : учебное пособие для вузов / И.Ф. Жимулёв. — Электрон. текстовые данные. — Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2017. — 480 с. — 978-5-379-02003-3. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/65279.html>.
8. Просеков, А.Ю. и др. Основы биотехнологии : учебное пособие / А.Ю. Просеков, О.В.Кригер, И.С.Милентьева, О.О.Бабич . - Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2015.-214с. Местонахождение: ЭБС IPRbooks URL: <http://www.iprbookshop.ru/61271.html>

#### **б) дополнительная литература:**

1. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. Новосибирск : Наука, Сиб. отд-ние, 1986. 143 с.
2. Лекции по биологии : в 2 кн. Ч. 1 : Цитология и генетика / под ред. проф. Т. В. Викторовой. Уфа : Изд-во БГМУ, 2012. 192 с.
3. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Вл. В. Кузнецова. М. : Бином, 2012.
4. Научно-производственная фирма Литех : [сайт]. URL: [http://www.lytech.ru/articles\\_129.htm](http://www.lytech.ru/articles_129.htm)
5. Основы полимеразной цепной реакции : метод. пособие / сост. В. В. Зорина. М. : ДНК-технологии, 2012. 80 с.
6. Энциклопедия большой научной библиотеки : [сайт]. URL: <http://enc.sci-lib.com/article0001460.html>

### **9. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины.**

1. <https://biomolecula.ru/articles/molekuliarnoe-klonirovanie-ili-kak-zasunut-v-kletku-chuzherodnyi-geneticheskii-material>
2. <https://biomolecula.ru/articles/vazhneishie-metody-molekuliarnoi-biologii-i-gennoi-inzhenerii>
3. <https://pandia.ru/text/80/662/57170.php>
4. <https://studfile.net/preview/16457929/page:8/>
5. <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaia-reaktsiia>

6. <https://medicalplanet.su/genetica>

### **10. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины.**

Перечень учебно-методических изданий, рекомендуемых студентам, для подготовки к занятиям представлен в разделе 8. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины.

Лекционный курс. Лекция является основной формой обучения в высшем учебном заведении.

В ходе лекционного курса проводится систематическое изложение современных научных материалов, освещение основных проблем физико – химической биологии. В тетради для конспектирования лекций необходимо иметь поля, где по ходу конспектирования студент делает необходимые пометки. Записи должны быть избирательными, полностью следует записывать только определения. В конспектах рекомендуется применять сокращения слов, что ускоряет запись. В ходе изучения курса данного курса особое значение имеют рисунки, схемы и поэтому в конспекте лекции рекомендуется делать все рисунки, сделанные преподавателем на доске, или указанные в наглядном пособии. Вопросы, возникшие у Вас в ходе лекции, рекомендуется записывать на полях и после окончания лекции обратиться за разъяснением к преподавателю. Студенту необходимо активно работать с конспектом лекции: после окончания лекции рекомендуется перечитать свои записи, внести поправки и дополнения на полях. Конспекты лекций следует использовать при выполнении практических занятий, при подготовке к зачёту, контрольным тестам, коллоквиумам, при выполнении самостоятельных заданий.

Реферат. Реферат – это обзор и анализ литературы на выбранную Вами тему. Реферат это не списанные куски текста с первоисточника. Недопустимо брать рефераты из Интернета.

Тема реферата выбирается Вами в соответствии с Вашими интересами. Необходимо, чтобы в реферате были освещены как теоретические положения выбранной Вами темы, так и приведены и проанализированы конкретные примеры.

Реферат оформляется в виде машинописного текста на листах стандартного формата (А4).

Структура реферата включает следующие разделы:

- титульный лист;
- оглавление с указанием разделов и подразделов;
- введение, где необходимо указать актуальность проблемы, новизну исследования и практическую значимость работы;
- литературный обзор по разделам и подразделам с анализом рассматриваемой проблемы;
- заключение с выводами;
- список используемой литературы.

Желательное использование наглядного материала – таблицы, графики, рисунки и т.д. Все факты, соображения, таблицы, рисунки и т.д., приводимые из литературных источников студентами, должны быть сопровождаемы ссылками на источник информации. Недопустимо компоновать реферат из кусков дословно заимствованного текста различных литературных источников. Все цитаты должны быть представлены в кавычках с указанием в скобках источника, отсутствие кавычек и ссылок означает плагиат и является нарушением авторских прав. Используемые материалы необходимо комментировать, анализировать и делать соответственные и желательно собственные выводы. Все выводы должны быть ясно и четко сформулированы и пронумерованы. Список литературы оформляется строго по правилам Государственного стандарта. Реферат должен быть подписан автором, который несет ответственность за проделанную работу.

**Перечень учебно-методических материалов, предоставляемых студентам во время занятий:**

- рабочие тетради студентов;
- наглядные пособия;
- словарь терминов;
- тезисы лекций,
- раздаточный материал по тематике лекций.

**Самостоятельная работа студентов:**

- проработка учебного материала (по конспектам лекций учебной и научной литературе) и подготовка докладов на семинарах и практических занятиях;
- поиск и обзор научных публикаций и электронных источников по тематике дисциплины;
- выполнение курсовых работ (проектов);
- написание рефератов;
- работа с тестами и вопросами для самопроверки.

**11. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине, включая перечень программного обеспечения и информационных справочных систем.**

1. «POWER POINT»
2. «EXEL»
3. «MATHCAD»
4. «STATISTICA»

**12. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине.**

Материально-техническая база кафедры физиологии растений и биотехнологии и кафедры биохимии и биофизики, лаборатория молекулярной биологии биологического факультета, лаборатория физиологии растений и биотехнологии им. проф. А.Г. Юсуфова, лаборатория коллективного пользования ДГУ «Аналитическая спектроскопия». На лекционных и практических занятиях используются методические разработки, наглядные пособия, тесты, компьютерные программы, а также компьютеры (для обучения и проведения тестового контроля), наборы слайдов и таблиц по темам, а также результаты научных исследований кафедры (монографии, учебные и методические пособия и т.д.). Перечень необходимых технических средств обучения и способы их применения:

- компьютерное и мультимедийное оборудование, которое используется в ходе изложения лекционного материала;
- пакет прикладных обучающих и контролирующих программ, используемых в ходе текущей работы, а также для промежуточного и итогового контроля;
- электронная библиотека курса и Интернет-ресурсы – для самостоятельной работы.