



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ  
(ФГБНУ «ИЭМ»)»

УТВЕРЖДАЮ



Директор ФГБНУ «ИЭМ»  
академик РАН

Г.А. Софронов

2015 г.

**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА АСПИРАНТУРЫ**  
**ДИСЦИПЛИНА ПО ВЫБОРУ Б1.В.ДВ**  
**«МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ»**

Направление подготовки:	<b>06.06.01 Биологические науки</b>
Направленность (профиль):	<b>Вирусология</b>
Форма обучения:	<b>очная / заочная</b>
Нормативный срок обучения:	<b>4 года / 5 лет</b>
Объем дисциплины:	<b>2,5 зачетных единиц</b>

Санкт-Петербург  
2015

Рабочая программа составлена в соответствии с требованиями федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.06.01. Биологические науки (подготовка кадров высшей квалификации), утвержденного приказом Минобрнауки России от 30.07.2014 № 871.

**Составители:**

д.м.н., профессор Васильев В.Б., д.б.н. профессор Паткин Е.Л., д.б.н. Дмитриев А.В.

**Рабочая программа обсуждена и одобрена** на заседании отдела молекулярной генетики, отдела молекулярной микробиологии  
«14» 06. 2015 г., протокол № 2.

Заведующий отделом молекулярной генетики  
доктор медицинских наук профессор

В.Б. Васильев

Заведующий отделом молекулярной микробиологии  
доктор медицинских наук профессор

А.Н. Суворов

**Рабочая программа одобрена на заседании Ученого совета ФГБНУ «ИЭМ»**  
Протокол № 6 от «25» июня 2015 г.

Председатель Ученого совета  
ФГБНУ «ИЭМ» академик РАН

Г.А. Софронов

**Согласовано:**

Заместитель директора ФГБНУ «ИЭМ» по научной работе  
доктор биологических наук

А.В. Дмитриев

Ученый секретарь ФГБНУ «ИЭМ»  
доктор биологических наук

Н.Н. Пшенкина

Заведующая отделом подготовки кадров высшей квалификации  
и международных научных проектов  
кандидат медицинских наук доцент

М.В. Куропатенко

## Оглавление

1. Цель и задачи освоения дисциплины .....	4
2. Место дисциплины в структуре ОПОП.....	4
3. Требования к результатам освоения учебной дисциплины (компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины).....	5
4. Структура и содержание дисциплины.....	8
4.1. Объем дисциплины и виды учебной работы .....	8
4.2. Содержание дисциплины.....	8
4.3. Разделы дисциплины и виды занятий .....	9
4.4. Лекции .....	10
4.5. Практические занятия .....	10
4.6. Самостоятельная работа .....	10
4.7. Контроль освоения дисциплины.....	10
4.7.1. Система и формы контроля.....	10
4.7.2. Критерии оценки освоения дисциплины .....	11
4.7.3. Итоговый контроль освоения дисциплины .....	12
5. Ресурсное обеспечение реализации дисциплины.....	12
5.1. Кадровое обеспечение.....	12
5.2. Материально-техническое обеспечение.....	12
5.3. Информационное обеспечение.....	13

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

**Цель дисциплины** – совершенствование и приобретение современных знаний, теоретических и практических навыков по методам исследования нуклеиновых кислот, которые позволят аспирантам, во-первых, ознакомиться с арсеналом современных методов исследования нуклеиновых кислот, во-вторых, получить знания об историческом развитии методов, что поможет ориентироваться в преимуществах и недостатках подходов к исследованию структуры и функции нуклеиновых кислот, в-третьих, проводить научные исследования по теме диссертации, способствовать подготовке исследователей и научно-педагогических кадров для работы в научно-исследовательских учреждениях и в высшей школе.

### **Задачи:**

1. Ознакомить аспирантов с историей развития методов исследования нуклеиновых кислот, установления их структуры и функций.
2. Раскрыть основные теоретические знания аспирантов по биохимическим, иммунологическим, генно-инженерным методам анализа ДНК и других нуклеиновых кислот с позиций современных достижений науки.
3. Продемонстрировать преимущества и недостатки подходов для изучения функций нуклеиновых кислот, их взаимодействия с регуляторными белками и ферментами.
4. Освоить новые лабораторные методы изучения изменений в последовательности ДНК с целью идентификации причин развития и диагностики наследуемых заболеваний, а также сравнительной геномики.

Теоретическая подготовка в ходе освоения дисциплины «Методы исследования нуклеиновых кислот» включает в себя проведение лекций и практических занятий в соответствии с типовым учебным планом, самостоятельное изучение научной периодики и монографий по основным аспектам дисциплины, подготовка выступлений с реферативными сообщениями на тематических семинарах и др.

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

Дисциплина «Методы исследования нуклеиновых кислот» входит в раздел Блок 1 «Дисциплины (модули)» ОПОП, относится к вариативной части, раздел – дисциплины по выбору (Б1.В.ДВ) подготовки аспирантов по направлению «06.06.01. Биологические науки», направленность (профиль) – «Вирусология».

Требования к предварительной подготовке:

Дисциплина базируется на знаниях, умениях и компетенциях, полученных обучающимся в высшем учебном заведении в соответствии с федеральными государственными образовательными стандартами высшего образования по программам магистратуры или специалитета.

Изучение дисциплины направлено на подготовку к сдаче кандидатского экзамена по обязательной дисциплине «Вирусология».

Знания и навыки, полученные аспирантами при изучении методов исследования нуклеиновых кислот, необходимы при подготовке и написании научно-исследовательской работы (диссертации) по специальности «03.02.02 – Вирусология».

**3. Требования к результатам освоения учебной дисциплины  
(компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины)**

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов следующих компетенций в соответствии с ФГОС по направлению «06.06.01. Биологические науки»: УК-1; ПК-1, ПК-3.

Требования к результатам освоения учебной дисциплины в контексте формируемых компетенций приведены в таблице.

### Требования к результатам освоения учебной дисциплины

№ п/п	Индекс	Содержание компетенции (или её части)	В результате изучения учебной дисциплины обучающиеся должны		
			<b>ЗНАТЬ</b>	<b>УМЕТЬ</b>	<b>ВЛАДЕТЬ</b>
1	УК-1	Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях.	методы критического анализа и оценки современных научных достижений, методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях.	анализировать альтернативные варианты решения исследовательских и практических задач; уметь решать исследовательские и практические задачи, генерировать новые идеи.	навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в т.ч. в междисциплинарных областях; навыками критического анализа и оценки современных научных достижений.
2	ПК-1	Готовность к организации и проведению на современном уровне научных исследований в области биологических наук	основы планирования, организации и проведения научно-исследовательской работы в своей профессиональной области; современные методы исследований в данной области, в том числе, основанные на междисциплинарных знаниях.	самостоятельно планировать и проводить эксперименты, грамотно интерпретировать получаемые результаты; уметь правильно использовать полученные знания, корректно дискутировать и полемицировать с коллегами, уметь работать с научной и учебно-методической литературой по вопросам своей профессиональной области, уметь четко излагать	методиками планирования, организации и проведения научных исследований, навыками проведения современных экспериментальных исследований в своей профессиональной области, позволяющих получить новые научные факты, значимые для биологии и медицины.

				результаты в письменном виде.	
3	ПК-3	Готовность к практическому использованию полученных научных результатов	принципы подготовки научных публикаций и презентаций; знать требования государственных стандартов к оформлению отчетов о НИР и другой научной документации по результатам исследований в своей профессиональной области.	оформить в соответствии с существующими требованиями научную публикацию в отечественный и зарубежный журнал; уметь представить научные результаты в виде доклада; уметь составить отчет по результатам исследований в своей профессиональной области.	навыками устной презентации научного доклада (на русском и иностранном языке); навыками представления научных материалов в виде научных публикаций; владеть навыками подготовки отчетной научной документации по результатам исследований в своей профессиональной области.

#### 4. Структура и содержание дисциплины

##### 4.1. Объем дисциплины и виды учебной работы

Трудоёмкость учебной нагрузки обучающегося при освоении данной дисциплины составляет 2,5 зачетные единицы (90 часов) и распределяется следующим образом:

Вид учебной работы	Объем (часы)
<b>Аудиторные занятия (всего)</b>	<b>54</b>
<i>В том числе:</i>	
Лекции (Лек)	18
Практические занятия (Пр)	36
<b>Внеаудиторная самостоятельная работа (СР)</b>	<b>32</b>
<b>Контроль (всего)</b>	<b>4</b>
<i>В том числе:</i>	
Промежуточный (Зач)	4
<b>Общая трудоемкость</b>	<b>90</b>

##### 4.2. Содержание дисциплины

№ п/п	Название раздела дисциплины	Содержание раздела
1.	История развития методов исследования нуклеиновых кислот	История открытия нуклеиновых кислот, их структуры и функций. История открытия и разнообразие ферментов, участвующих в процессах репликации, транскрипции, обратной транскрипции, рестрикции и репарации. Представление о взаимодействии методических подходов исследования первичной и вторичной структуры нуклеиновых кислот, их модификации и взаимодействия с регуляторными молекулами.
2.	Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и способы ее применения	История развития и принцип метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Оптимизация условий ПЦР, факторы влияющие на специфичность метода. Выбор праймеров для ПЦР, знакомство с программами для выбора праймеров. Эффект «плато». Ферменты, используемые в ПЦР. Термоциклеры. Температурный профиль ПЦР. «Touchdown PCR». «Горячий старт», ферменты с встроенным «горячим стартом». Клонирование ПЦР-продуктов. Сайт-направленный мутагенез. Инвертированная ПЦР, «bubble-PCR», long PCR. Амплификация случайных последовательностей, RAPD, Alu PCR.
3.	Мечение нуклеиновых кислот	Задачи, решаемые с помощью мечения нуклеиновых кислот. История развития разнообразия применяемых меток нуклеиновых кислот, способы амплификации сигнала от метки, их преимущества и недостатки. Ник-трансляция, мечение дезоксирибонуклеиновой кислоты



		(ДНК) с помощью рандомных праймеров, введение метки в ПЦР продукт при использовании модифицированных олигонуклеотидов. Флуоресцентная <i>in situ</i> гибридизация. Представления о развитии методов электронной и флуоресцентной микроскопии для визуализации меченных нуклеиновых кислот.
4.	Гибридизация нуклеиновых кислот и исследование взаимодействия нуклеиновых кислот с белковыми факторами	Задачи, решаемые с помощью методов гибридизации. Гибридизация по Саузерну. Нозерн-гибридизация. Гибридизация колоний. Методы детекции гибридных дуплексов. Расчет температуры и прочих условий гибридизации. Методы исследования взаимодействия нуклеиновых кислот с белковыми факторами. Электрофоретический анализ изменения подвижности, хроматографические и биосенсорные методы. Определение специфической последовательности нуклеотидов (консенсус), взаимодействующей с транскрипционным фактором.
5.	ПЦР, совмещенная с обратной транскрипцией (RT-PCR), и количественная ПЦР	Выбор ферментов для RT-PCR. Быстрая амплификация концов ДНК (технология RACE). Дифференциальный дисплей. Количественная ПЦР, технология “real-time” PCR, количественная ПЦР с эндогенным контролем. Цифровая количественная ПЦР. Преимущества и недостатки различных вариантов количественной ПЦР. Принципы выбора эндогенного контроля и способы верификации результатов. Представления о методах обработки результатов количественной ПЦР.
6.	Секвенирование ДНК.	Метод Сэнгера. Метод Максама-Гилберта. Области применимости методов. Выбор ферментов для секвенирования по методу Сэнгера. Секвенаторы ДНК и особенности автоматического секвенирования. Твердофазное секвенирование ДНК. Циклическое секвенирование ДНК. GAWTS, RAWTS – технологии. Альтернативные методы секвенирования ДНК с использованием пирофосфоролита и микрочиповых методов (секвенирование ДНК путем гибридизации на олигонуклеотидной матрице – технология ГНОМ). Методы секвенирования ДНК нового поколения.

### 4.3. Разделы дисциплины и виды занятий

№ п/п	Название раздела дисциплины	Лек	Пр	СР	Всего часов
1.	История развития методов исследования нуклеиновых кислот	3	6	6	15
2.	Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и способы ее применения	3	6	4	13
3.	Мечение нуклеиновых кислот	3	6	6	15
4.	Гибридизация нуклеиновых кислот и исследование взаимодействия нуклеиновых кислот с белковыми факторами	3	6	4	13
5.	ПЦР, совмещенная с обратной	3	6	6	15

	транскрипцией (RT-PCR), и количественная ПЦР				
6.	Секвенирование ДНК.	3	6	6	15
<b>Сдача зачета</b>					<b>4</b>
<b>ВСЕГО:</b>		<b>18</b>	<b>36</b>	<b>32</b>	<b>90</b>

#### 4.4. Лекции

№ п/п	Название тем лекций	Объем в часах
1.	Методы поиска неизвестных мутаций в ДНК.	6
2.	Методы поиска известных мутаций в ДНК.	3
3.	Классификация и номенклатура мутаций. Механизмы мутагенеза. Частоты спонтанного мутагенеза. Гетерогенность наследственных заболеваний.	3
4.	Моногенные, полигенные, мультифакториальные заболевания.	6
<b>ВСЕГО:</b>		<b>18</b>

#### 4.5. Практические занятия

№ п/п	Название тем практических занятий	Объем в часах
1.	Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Оптимизация ПЦР	6
2.	Количественная ПЦР, технология "real-time" PCR	6
3.	Секвенирование ДНК. Метод Сэнгера.	6
4.	Метод анализа конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-анализ).	6
5.	Использование рестрикционных эндонуклеаз.	6
6.	Технология ARMS (аллель-специфическая амплификация)	6
<b>ВСЕГО:</b>		<b>36</b>

#### 4.6. Самостоятельная работа

Виды самостоятельной работы	Объем в часах
Подготовка к практическим занятиям	10
Работа с литературой	12
Подготовка к зачету	10
<b>ВСЕГО</b>	<b>32</b>

#### 4.7. Контроль освоения дисциплины

##### 4.7.1. Система и формы контроля

Текущий контроль успеваемости и выполнения научно-исследовательской работы постоянно осуществляет научный руководитель аспиранта.

По результатам освоения программы дисциплины «Методы исследования нуклеиновых кислот» аспирант должен сдать зачет, который фиксируются в зачетной книжке аспиранта.

Зачет проводится путем собеседования по тематике разделов программы.

Фонд оценочных средств:

1. Методы исследования первичной и вторичной структуры нуклеиновых кислот.
2. Ферменты рестрикции.
3. Факторы, влияющие на полимеразную цепную реакцию.
4. Принципы выбора праймеров.
5. Ферменты обратной транскрипции.
6. Применение полимеразной цепной реакции.
7. Методы поиска неизвестных мутаций в ДНК.
8. Разнообразие методов секвенирования нуклеиновых кислот.
9. Ник-транскляция.
10. Виды гибридизации нуклеиновых кислот.
11. Принципы выбора эндогенного контроля для количественной ПЦР.
12. Ферменты со встроенным «горячим стартом».
13. Методы исследования взаимодействия нуклеиновых кислот с белками.
14. Условия гибридизации нуклеиновых кислот.
15. Разнообразие методов мечения нуклеиновых кислот и меток.
16. Флуоресцентная *in situ* гибридизация.
17. Методы детекции гибридных дуплексов.
18. Ферменты репарации
19. Цифровая количественная ПЦР.
20. Инвертированная ПЦР.
21. Ферменты, используемые в ПЦР.
22. Секвенаторы ДНК и особенности автоматического секвенирования.
23. Определение специфической последовательности нуклеотидов (консенсус), взаимодействующей с транскрипционным фактором.
24. Метод анализа конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-анализ).
25. Классификация и номенклатура мутаций.
26. Методы поиска известных мутаций в ДНК.
27. Технология ARMS (аллель-специфическая амплификация)
28. История установления структуры дезоксирибонуклеиновой кислоты

#### 4.7.2. Критерии оценки освоения дисциплины

Для получения оценки **«зачет»** аспирант должен

**знать:**

- способы эффективной идентификации вариаций в последовательности нуклеиновых кислот;
- возможности и ограничения методов анализа ДНК при идентификации различных видов структурных мутаций в ДНК;

**уметь:**

- самостоятельно интерпретировать полученные результаты.

**иметь навыки:**

- работы с ДНК методом электрофореза, полимеразной цепной реакции, секвенирования ДНК;
- самостоятельно анализировать полученный материал.

Оценка **«незачет»** ставится в случае, если аспирант имеет фрагментарные знания по одному из заданных вопросов и демонстрирует недостаточные умения и владения целевыми навыками.

### **4.7.3. Итоговый контроль освоения дисциплины**

Вопросы по «Методы исследования нуклеиновых кислот» включаются в кандидатский экзамен по «Биохимии». Вопросы организации и проведения кандидатского экзамена регламентируются локальным правовым актом организации.

## **5. Ресурсное обеспечение реализации дисциплины**

### **5.1. Кадровое обеспечение**

Профессорско-преподавательский состав и научно-педагогические работники, обеспечивающие реализацию программы: д.м.н. проф. Васильев В.Б., д.б.н. профессор Паткин, д.б.н. Дмитриев А.В., к.б.н., Соколов А.В.

### **5.2. Материально-техническое обеспечение**

Мультимедийный комплекс (ноутбук, проектор, экран), телевизор, видеокамера, мультимедийные презентации, таблицы. Наборы слайдов по различным разделам дисциплины.

Исследовательское оборудование отделов ФГБНУ «ИЭМ» обеспечивает обучение и выполнение научно-исследовательской работы аспирантов на современном научном и методическом уровне.

#### ***Высокотехнологичное оборудование:***

СО<sub>2</sub> инкубаторы  
Амплификаторы  
Анализатор изображения  
Анализатор микроциркуляции крови  
Анализатор микрочипов  
Анализатор размера частиц  
Биохимические анализаторы  
Вибрационная криомельница  
Гематологический анализатор  
Гомогенизаторы  
Ламинарные боксы  
Лиофильные сушки  
Льдогенератор  
Люминометр  
Масс-спектрометры  
Микроскопы (конфокальные, инвертированные световые, тринокулярный)  
Микротомы санные и ротационные  
Модульный планшетный ридер  
Низкотемпературные морозильники  
Оборудование для двумерного электрофореза  
Оборудование для изучения межмолекулярных взаимодействий  
Оборудование для изучения поведенческих реакций  
Оборудование для электрофореза в пульсирующем электрическом поле  
Оборудование для электрофореза и блоттинга ДНК и белков  
Промыватель планшет  
Проточный цитофлуориметр  
Секвенаторы  
Синтезатор пептидов

Система для получения ультрачистой воды  
Системы гель-документирования  
Сканирующий флуоресцентный спектрометр  
Спектрофотометры  
Флуороскан  
Хроматографические системы  
Центрифуги и ультрацентрифуги

***Мелкое лабораторное оборудование:***

pH-метры, водяные бани, магнитные мешалки, шейкеры, аналитические и электронные весы, сушильные шкафы, автоклавы и др.

### **5.3. Информационное обеспечение**

Учебная, учебно-методическая и иные библиотечно-информационные ресурсы обеспечивают учебный процесс и гарантируют возможность качественного освоения аспирантом образовательной программы.

**Рекомендуемая литература:**

***а) основная:***

1. Strachan T., Read A. Human Molecular Genetics. 4th Edition. Garland Science, Taylor & Francis Group, 2011. 781 pp.
2. Васильев В.Б. Генетические основы митохондриальных болезней. “Нестор-история”, Санкт-Петербург, 2006. – 146 с.
3. Геномика – медицине. Под. ред. акад. РАМН В.И. Иванова и акад. РАН Л.Л. Киселева. – М.: ИКЦ “Академкнига”, 2005. – 392 с.

***б) дополнительная:***

1. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. Практическое пособие. Москва, «Наука», 1981.

***Журналы***

1. Вопросы вирусологии
2. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии
3. Иммунология
4. Генетика
5. Молекулярная биология
6. Микробиология
7. Успехи современной биологии

***Интернет-ресурсы***

Каждое рабочее место аспиранта и ординатора оснащено компьютером с неограниченным доступом в Интернет. Такой доступ позволяет обращаться к постоянно обновляемым базам данных, используемым в образовательной деятельности ФГБНУ «ИЭМ», таким как

<http://doprimer.interactiva.de>  
<http://www.cbs.dtu.dk/services/OligoWiz>  
<http://berry.engin.umich.edu/oligoarray/>  
<http://www.tigr.org/software/>  
<http://www.r-project.org>  
<http://affymetrix.com>  
<http://ambion.com>

<http://invitrogen.com>  
<http://amershambiosciences.com>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>  
<http://www.ebi.ac.uk>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>  
<http://www.kegg.com>  
<http://genome.jp>  
<http://expasy.org>  
<http://www.protocol-online.org>  
<http://www.toulouse.inra.fr/multalin>  
<http://pubmlst.org>  
<http://www.mlst.net>  
<http://www.restrictionmapper.org>  
<http://www.fr33.net> и др.)

ФГБНУ «ИЭМ» в течение многих лет имел доступ к электронным ресурсам издательств Springer, Elsevier, Wiley. В настоящее время Институт имеет доступ к электронным ресурсам издательства Karger.