



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«Дальневосточный федеральный университет»
(ДВФУ)

ИНСТИТУТ МИРОВОГО ОКЕАНА

«СОГЛАСОВАНО»

Руководитель ОП


(подпись) Богатыренко Е.А.
(Ф.И.О. рук. ОП)
«15» декабря 2021 г.



Заведующий кафедрой биоразнообразия и
морских биоресурсов

(подпись) Адрианов А.В.
(Ф.И.О. зав. каф.)
«15» декабря 2021 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов
Направление подготовки 06.04.01 Биология
магистерская программа «Морская микробиология»
Форма подготовки очная

курс 2 семестр 3
лекции 16 час.
практические занятия 8
лабораторные работы 18 час.
в том числе с использованием МАО лек. - / пр. 8- / лаб. 00 час.
всего часов аудиторной нагрузки 42 час.
в том числе с использованием МАО 8 час.
самостоятельная работа 102 час.
в том числе на подготовку к экзамену 54 час.
контрольные работы (количество)
курсовая работа / курсовой проект не предусмотрены
зачет Не предусмотрен
Экзамен 3 семестр

Рабочая программа составлена в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта по направлению подготовки 06.04.01 **Биология** утвержденного приказом Министерства образования и науки РФ от 11 августа 2020 г. № 934
Рабочая программа обсуждена на заседании кафедры Биоразнообразия и морских биоресурсов протокол № 3 от «15» декабря 2021 г.
Заведующий кафедрой А.В. Адрианов
Составитель: старший преподаватель Ким А.В.

Владивосток

2021

Оборотная сторона титульного листа РПД

I. Рабочая программа пересмотрена на заседании кафедры:

Протокол от «_____» _____ 20__ г. № _____

Заведующий кафедрой _____

(подпись)

(И.О. Фамилия)

II. Рабочая программа пересмотрена на заседании кафедры:

Протокол от «_____» _____ 20__ г. № _____

Заведующий кафедрой _____

(подпись)

(И.О. Фамилия)

Аннотация рабочей программы дисциплины «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов»

Рабочая программа дисциплины «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» разработана для 2 курса направления подготовки 06.04.01 Биология, образовательной программы «Морская микробиология», в соответствии с требованиями федерального государственного стандарта высшего образования. Дисциплина «Системы производственного контроля на предприятии» входит в часть учебного плана, формируемую участниками образовательных отношений, дисциплины по выбору Б1.В.ДВ.07.01.

Общая трудоемкость освоения дисциплины составляет 4 З.Е. (144 час). Учебным планом предусмотрены лекции (16 час), лабораторные работы (18 час), практические занятия (8 час), самостоятельная работа студента (102 час, в том числе 54 час на подготовку к экзамену). Дисциплина «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» реализуется на 2 курсе, в 3 семестре.

Дисциплина «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» логически и содержательно связана с такими курсами, как «Молекулярная биология», «Лабораторная диагностика возбудителей инфекционных заболеваний», «Метагеномный анализ микробных сообществ», «Молекулярные основы патогенности микроорганизмов» и др. дисциплинами по выбору части учебного плана, формируемой участниками образовательных отношений.

Молекулярная генетика микроорганизмов – один из наиболее важных и глубоко разработанных разделов современной генетики. Само изучение генетики этих объектов позволило установить генетическую роль нуклеиновых кислот, изучить механизмы таких процессов как репликация ДНК, репарация, мутагенез и рекомбинация, расшифровать генетический код, установить тонкую структуру генов и закономерности их функционирования на молекулярном уровне. Молекулярная генетика микроорганизмов послужила основой развития биотехнологии и генетической инженерии, на ее методах базируется конструирование и селекция промышленных микроорганизмов. Из

сказанного выше очевидно большое теоретическое и практическое значение молекулярной генетики микроорганизмов и важная роль этого спецкурса в подготовке специалистов в области современной микробиологии.

В программе курса демонстрируется ключевое значение генетики микроорганизмов для формирования современных представлений о генетическом аппарате клетки и для развития молекулярной генетики, геномики, генетической инженерии и биотехнологии. Новейшие аспекты курса основаны на информации из оригинальных научных работ последних лет. Приведены современные данные о структурно-функциональной организации клетки и генома и особенностях реализации генетической информации у прокариот.

Цель освоения дисциплины «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» состоит в приобретении у студентов теоретических и практических знаний о генетике микроорганизмов, позволяющим им использовать их в различных областях, связанных с мониторинговыми микробиологическими исследованиями, идентификацией микроорганизмов, биотехнологическими разработками по использованию или конструированию штаммов для различных хозяйственных нужд.

Задачи:

1. Изучить особенности и принципы организации генома микроорганизмов, возможных путей его эволюции; способы генетической рекомбинации и закономерности экспрессии генов у микробов в зависимости от различных факторов; принципы организации геномов бактерий;
2. Обучить студентов применять современные молекулярно-генетические методы для решения поставленной задачи

Изучение «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» фундаментально связано с другими вариативными дисциплинами ОП. Предшествующие дисциплины бакалавриата: общая биология, микробиология, биохимия, генетика и др.

Для успешного изучения дисциплины «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» должны быть сформированы следующие предварительные компетенции:

- способность применять принципы структурной и функциональной организации биологических объектов и знание механизмов гомеостатической регуляции; владеть основными физиологическими методами анализа и оценки состояния живых систем;

- способность эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ.

В результате изучения данной дисциплины у обучающихся формируются следующие профессиональные компетенции:

Наименование категории (группы) универсальных компетенций	Код и наименование универсальной компетенции	Индикаторы достижения компетенции
научно-исследовательский	ПК-4 Способен проводить научные исследования (в соответствии с направленностью (профилем) программы магистратуры) в области биологии в целях развития научного потенциала российского Дальнего Востока и освоения ресурсов Мирового океана	ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации
научно-исследовательский	ПК-5 Способен предоставлять научные (научно-производственные) результаты в форме публикаций в рецензируемых	ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях

	научных изданиях, проводить научные дискуссии на научных (научно-практических) мероприятиях, использовать в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов	ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов
--	--	--

2. Трудоёмкость дисциплины и видов учебных занятий по дисциплине

Общая трудоёмкость дисциплины составляет 4 зачётных единиц/ 144 академических часа (1 зачетная единица соответствует 36 академическим часам).

Видами учебных занятий и работы обучающегося по дисциплине являются:

Обозначение	Виды учебных занятий и работы обучающегося
Лек	Лекции
ЛР	Лабораторные работы
ПР	Практические работы
СР	Самостоятельная работа обучающегося в период теоретического обучения
Контроль	Самостоятельная работа обучающегося и контактная работа обучающегося с преподавателем в период промежуточной аттестации

3. Структура дисциплины:

Форма обучения – очная.

№	Наименование раздела дисциплины	Семестр	Количество часов по видам учебных занятий и работы обучающегося						Формы промежуточной аттестации
			Лек	Лаб	Пр	ДК	СР	Контроль	
1	Тема 1. Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики микроорганизмов	2	3	2	2				УО-1; УО-2; ПР-1; ПР-2; ПР-4; ПР-7
2	Тема 2. Молекулярные основы наследственности: обзор	2	3	4	2				
3	Тема 3. Организация генома бактерий и бактериофагов. Плазмиды бактерий. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий	2	3	4	2		48	54	
4	Тема 4. Мутации у микроорганизмов	2	3	4	1				
5	Тема 7. Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов	2	4	4	1				
Итого:			16	18	8		120		экзамен

I. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ КУРСА

Лекционные занятия (16 час.)

Тема 1. Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики микроорганизмов (3 часа)

Предмет генетики микроорганизмов. Предпосылки возникновения. Особенности микроорганизмов как объектов генетических исследований. Основные этапы развития достижений в области генетики микроорганизмов. Эксперименты Д. Бидла и Е. Татума. Теория «один ген – один фермент». Исследования С. Лурия и М. Дельбрюка, Х. Ньюкомба, Д. Ледерберга, их значение для формирования научных подходов в генетике микроорганизмов. Проблема «адаптивных» мутаций у микроорганизмов. Значение работ Д. Уотсона, Ф. Крика, Д. Ледерберга, В. Хейса, О. Эвери, А. Херши, Ж. Моно, Ф. Жакоба, С. Бензера и др. для развития генетики микроорганизмов. Развитие генетики микроорганизмов в России. Б. Хесин и его школа.

Значение генетики микроорганизмов. Место ее среди других генетических дисциплин. Роль генетики микроорганизмов в развитии молекулярной биологии, генетической инженерии и биотехнологии.

Тема 2. Молекулярные основы наследственности: обзор (3 часа)

Природа генетического материала. Химический состав и структура ДНК. Денатурация, ренатурация. Репликация ДНК. Ферменты репликации. ДНК/ДНК гибридизация. Репарация ДНК. Химический состав и структура РНК. Транскрипция ДНК. Обратная транскрипция. Ферменты транскрипции. Процессинг РНК у прокариот. Генетический код. Рибосомы прокариот. Трансляция мРНК у прокариот. Ферменты. Ингибиторы транскрипции и трансляции. Регуляция экспрессии генов. Лактозный оперон. Триптофановый оперон.

Тема 3. Организация генома бактерий и бактериофагов. Плазмиды бактерий. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий (3 часа)

Признаки, характеризующие организацию генома прокариот, его отличие от генома эукариот. Развитие представлений о строении генетического аппарата прокариот. Основные методы определения организации генома прокариот. Генетические и физические карты, библиотеки геномов. Стратегия секвенирования геномов прокариот. Нуклеоид бактерий. Структура, химический состав. Размеры генома. Упаковка генетического материала. Транскрипционные единицы у бактерий. Интроны. Опероны. Регуляция деления генома. Повторяющиеся последовательности ДНК в геномах бактерий. Амплификация нуклеотидных последовательностей в хромосомах бактерий. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома. Основные особенности геномов фагов. Использование фагов для конструирования геномов. РНК - геном бактериофагов. Жизненный цикл РНК-фагов на примере MS2. Репликация фаговой РНК. Экспрессия. ДНК – геном бактериофагов (на примере T4 и T7). Особенности экспрессии. Бактериофаги с кольцевыми ДНК - геномами. Жизненный цикл бактериофага M13. Бактериофаг лямбда. Строение его генома, репликация ДНК. Развитие фага лямбда по типу лизогенизации клетки. Интеграция генома фага лямбда в хромосому E. coli. Механизмы индукции профага лямбда.

Понятие «плазида». Размеры, форма плазмидной ДНК. Идентификация

плазмид. Частота встречаемости плазмидной ДНК в клетках бактерий. Типы плазмид, их значение. F-, R-, RTF-факторы, плазмиды биodeградации. Несовместимость. Репликация плазмид. Взаимодействие плазмид с хромосомами бактерий. Рекомбинация между плазмидной ДНК. Роль плазмид в эволюции бактерий. Использование плазмид в генетическом анализе и конструировании бактерий.

Открытие МГЕ бактерий. Способы идентификации МГЕ бактерий, их распространенность у бактерий. Типы МГЕ бактерий: инсерционные последовательности (IS), транспозоны (Tn – элементы). Механизмы перемещения МГЕ у бактерий. Роль МГЕ в адаптациях бактерий, изменчивости их генома, межвидовом переносе генов и эволюции геномов. Значение МГЕ для конструирования бактерий.

Тема 4. Мутации у микроорганизмов (3 часа)

Общие понятия. История развития представлений о мутационном процессе у бактерий. Спонтанные мутации, частота мутирования. Обратимость мутационного процесса. Супрессорные мутации. Индуцированный мутагенез, его механизмы. Факторы индуцирования мутаций. Отбор мутантов.

Тема 5. Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов (4 час)

Механизмы генетической рекомбинации у бактерий: общая гомологичная рекомбинация, сайт-специфическая рекомбинация, негомологичная рекомбинация. Способы рекомбинации. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Работы Д. Ледерберга и Е. Татума. Доноры и реципиенты в конъюгационном скрещивании. Выявление Hfr - доноров. Взаимодействие F - фактора с хромосомой *E. coli*. Сайты интеграции F - фактора в хромосому *E. coli*. Конъюгационное картирование генов. Доказательство кольцевого характера генетической карты *E. coli*. Конъюгация между разными видами и между представителями разных таксонов бактерий. Роль конъюгации в эволюции бактерий. Использование конъюгации в генетическом конструировании бактерий. Генетическая трансформация и трансфекция у

бактерий. Открытие генетической трансформации у бактерий. Распространенность трансформации у бактерий в природе. Роль генетической трансформации в горизонтальном переносе генов. Модельные объекты изучения генетической трансформации – *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. Компетентность бактериальных клеток, факторы ее индуцирующие. Проникновение трансформирующей ДНК в клетку, рекомбинация ДНК. Частота возникновения трансформантов. Трансформация плазмидной ДНК. Генетическая трансфекция бактерий ДНК фага. Значение трансформации и трансфекции в экспериментах по генной инженерии. Трансдукция у бактерий, ее открытие. Неспецифическая трансдукция. Специфическая трансдукция.Abortивная трансдукция. Трансдукция плазмидной ДНК. Генетическое картирование с помощью трансдукции. Роль трансдукции в генетическом конструировании и изменчивости бактерий. Рестрикция и модификация. Механизмы. Ферменты. Значение. Молекулярное клонирование, его применение. Генетическая рекомбинация у бактериофагов, ее открытие. Роль рекомбинации в изменчивости бактериофагов. Генетические карты бактериофагов.

II. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ КУРСА И САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

Практические занятия (8 час. в том числе на МАО 8 ч)

Практическое занятие №1. Тема: «Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики микроорганизмов» (2 час)

1. Основные этапы развития достижений в области генетики микроорганизмов.
2. Теория «один ген – один фермент».
3. Проблема «адаптивных» мутаций у микроорганизмов.
4. Эксперименты Д. Бидла и Е. Татума
5. Исследования С. Лурия и М. Дельбрюка, Х. Ньюкомба, Д. Ледерберга, их значение для формирования научных подходов в генетике микроорганизмов.

6. Значение работ Д. Уотсона, Ф. Крика, Д. Ледерберга, В. Хейса, О. Эвери, А. Херши, Ж. Моно, Ф. Жакоба, С. Бензера и др. для развития генетики микроорганизмов.

7. Развитие генетики микроорганизмов в России. Б. Хесин и его школа.

Практическое занятие №2. Тема: «Молекулярные основы наследственности»
(2 час)

1. Химический состав и структура ДНК. Транскрипция и трансляция ДНК. Репарация ДНК. Ингибиторы транскрипции и трансляции

2. Строение ДНК и РНК полимераз

3. Обратная транскрипция. Регуляция экспрессии генов.

4. Лактозный оперон. Триптофановый оперон.

5. Островки патогенности

6. Иммунная система бактерий

7. Система секреции бактерий

Практическое занятие №3. Тема: «Организация генома бактерий и бактериофагов» (1 час)

1. Признаки, характеризующие организацию генома прокариот, его отличие от генома эукариот.

2. Методы секвенирования нуклеотидных последовательностей (метод Сенгера и Максама-Гилберта) Стратегия секвенирования геномов прокариот. Нуклеоид бактерий.

3. Амплификация нуклеотидных последовательностей в хромосомах бактерий.

4. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома. Основные особенности геномов фагов.

5. Использование фагов для конструирования геномов.

6. РНК - геном бактериофагов. Жизненный цикл РНК-фагов на примере MS2.

7. Репликация фаговой РНК.

8. ДНК – геном бактериофагов (на примере T4 и T7). Особенности экспрессии.

9. Бактериофаги с кольцевыми ДНК - геномами.

10. Литический и лизогенный жизненный цикл бактериофага (на примере

лямбда фага)

Практическое занятие №3 (продолжение). Тема: «Плазмиды бактерий» (0,5 час)

1. Размеры, форма плазмидной ДНК. Идентификация плазмид. Частота встречаемости плазмидной ДНК в клетках бактерий.
2. Типы плазмид, их значение. F-, R-, RTF-факторы, плазмиды биodeградации. Несовместимость.
3. Репликация плазмид. Взаимодействие плазмид с хромосомами бактерий. Рекомбинация между плазмидной ДНК.
4. Роль плазмид в эволюции бактерий.
5. Использование плазмид в генетическом анализе и конструировании бактерий.

Практическое занятие №3(продолжение). Тема: «Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий» (0,5 час)

1. Открытие МГЭ бактерий.
2. Способы идентификации МГЭ бактерий, их распространенность у бактерий.
3. Типы МГЭ бактерий: инсерционные последовательности (IS), транспозоны (Tn – элементы). Механизмы перемещения МГЭ у бактерий.
4. Роль МГЭ в адаптациях бактерий, изменчивости их генома, межвидовом переносе генов и эволюции геномов.
5. Значение МГЭ для конструирования бактерий.

Практическое занятие №4. Тема: «Мутации у микроорганизмов» (1 час)

1. История развития представлений о мутационном процессе у бактерий.
2. Спонтанные мутации, частота мутирования.
3. Обратимость мутационного процесса.
4. Супрессорные мутации. Индуцированный мутагенез, его механизмы.
5. Факторы индуцирования мутаций. Отбор мутантов.
6. Точечные мутации (минсенси и нонсенси мутации)

Практическое занятие №5. Тема: «Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов» (1 час)

1. Механизмы генетической рекомбинации у бактерий: общая гомологичная рекомбинация, сайт-специфическая рекомбинация, негомологичная рекомбинация. Способы рекомбинации.
2. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Роль конъюгации в эволюции бактерий.
3. Генетическая трансформация и трансфекция у бактерий. Открытие генетической трансформации у бактерий. Распространенность трансформации у бактерий в природе. Роль генетической трансформации в горизонтальном переносе генов.
4. Значение трансформации и трансфекции в экспериментах по генной инженерии.
5. Трансдукция у бактерий, ее открытие. Неспецифическая трансдукция. Специфическая трансдукция.Abortивная трансдукция. Трансдукция плазмидной ДНК. Генетическое картирование с помощью трансдукции. Роль трансдукции в генетическом конструировании и изменчивости бактерий.
6. Рестрикция и модификация. Механизмы. Ферменты. Значение.
7. Генетическая рекомбинация у бактериофагов, ее открытие. Роль рекомбинации в изменчивости бактериофагов. Генетические карты бактериофагов.

Лабораторные работы (18 час)

Лабораторная работа № 1 Выделение геномной и плазмидной ДНК согласно протоколу коммерческих наборов. Например, выделение бактериальной ДНК с помощью спин-колонок производителя БиолабМикс (3 ч)

Ход работы.

Состав набора

PBS

Буфер для лизиса LB

Буфер для промывки WB1

Буфер для промывки WB2

Буфер для элюции EB 5

Протеиназа К, раствор

Буфер для растворения лизоцима

Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца

Грамотрицательные бактерии.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более $1 \cdot 10^8$ клеток) в одноразовую микропробирку.
2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 gcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 150 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы К.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при температуре 56°C .
6. Добавить к образцу 500 мкл буфера для нанесения на колонку LB.
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25 $^{\circ}\text{C}$).

Грамположительные бактерии

Подготовка раствора лизоцима:

- К навеске лизоцима чистым одноразовым наконечником добавить необходимый объём буфера для растворения лизоцима (входит в состав набора).
- Тщательно перемешать на вортексе.
- Инкубировать 30 мин при $T_{\text{комн}}$ (15-25 $^{\circ}\text{C}$), периодически перемешивая до полного растворения лизоцима.
- Хранить при -20 $^{\circ}\text{C}$.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более $1 \cdot 10^8$ клеток) в одноразовую микропробирку.

2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 gcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в буфере для растворения лизоцима (50 мМ Tris-HCl (pH 8), 10 мМ EDTA (pH 8), 50% глицерин).

Примечание: лизоцим не входит в набор, буфер для растворения лизоцима поставляется вместе с набором. Раствор лизоцима хранить в буфере для растворения лизоцима не более 6 месяцев при -20 0C.

4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 10 мин при Tкомн (15-25 0C).
5. Чистым одноразовым наконечником добавить 50 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
6. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
7. Инкубировать 10 мин при температуре 56⁰ C.
8. Добавить к образцу 600 мкл буфера для лизиса LB.
9. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25 0C).

Нанесение на колонку

1. Перенести 800 мкл лизата на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
2. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: Если объём лизата больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование. Если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование увеличив время и/или скорость центрифугирования, не добавляя новую порцию буфера LB.

Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера WB2.

Элюция ДНК

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл (не входит в состав набора). Плотно прижать колонку к пробирке.

2. Нанести на центр фильтра колонки от 60 до 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25 °C). Центрифугировать 1 мин, 10000 gcf.

□ При увеличении объёма элюции увеличивается количество ДНК и снижается концентрация ДНК. Количество ДНК при элюции объёмами 60 и 200 мкл может различаться в 1.5-2 раза.

□ Вторая элюция новой аликвотой буфера для элюции EB или повторное нанесение элюата на колонку позволяет дополнительно увеличить количество ДНК.

□ Буфер для элюции содержит 0.01 М Tris•HCl (pH 8.0). Элюировать образец также можно TE буфером (0.01 М Tris-HCl, 0.001 М EDTA, pH 8.0-8.5) либо водой (pH 8.0-8.5, pH доводить раствором NaOH).

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20 °C. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1-1 мМ.

Примечание: EDTA может ингибировать ферментативные реакции, например, ПЦР.

10. Анализ выделенной ДНК

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК при $\lambda = 260$ нм.

Посчитать концентрацию ДНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

*$A_{260} * \text{разбавление} * 50$ мкг/мл.*

Характерные соотношения оптической плотности $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.

Лабораторная работа №2 ПЦР-амплификация (3 ч)

Амплификация фрагментов ДНК с использованием коммерческих наборов. На примере использования реагентов производства БиолабМикс В состав БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) реакционной смеси входят все необходимые компоненты для проведения ПЦР (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

высокопроцессивная рекомбинантная Taq ДНК-полимераза,

смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов,

ПЦР буфер

Mg²⁺

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь, осторожно и тщательно перемешайте.
2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавьте следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×)	25	1×
Прямой праймер	переменный	0,1 – 300 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1 – 300 нМ
ДНК-матрица	переменный	10 пг – 1 мкг
Стерильная вода	до 50 мкл	

4. Проведите ПЦР, используя рекомендованный режим:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5-7 мин	1
Денатурация	95	15 – 30 сек	25 - 40
Отжиг	50 – 68 (Tm-5)	15 - 30 сек	
Элонгация	72	1 мин/т.п.о.	
Финальная элонгация	72	5 – 15 мин	1

Tm - температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета Tm можно воспользоваться формулой: $T_m (°C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$.

5. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

Примечание: для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1xTAE буфер с бромистым этидием.

Примечание: Подвижность красителей в 0.5 – 1.5% агарозном геле

Ксилен цианол	Бромфеноловый синий	Orange G	Тартразин
10000 – 4000 п.о.	500-400 п.о.	<100 п.о.	<20 п.о.

Пример

Для амплификации необходимого ДНК фрагмента используйте набор реагентов «БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×)» фирмы «Biolabmix» (Россия) согласно протоколу с добавлением универсальных бактериальных праймеров 27F 5' – AGAGTTTGATCMTGGCTCAG – 3' и 1350R 5'– GACGGGCGGTGTGTACAAG – 3'. Амплификацию проводите с использованием следующего режима: 94 °С – 4 мин (1 цикл); 94 °С – 60 сек, 48 °С – 60 сек, 72 °С – 90 сек (5 циклов); 92 °С – 60 сек, 50 °С – 110 сек, 72 °С – 90 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 52 °С – 60 сек, 72 °С – 60 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 54 °С – 60 сек, 72 °С – 110 сек (10 циклов); 72° С – 10 мин (1 цикл) [5]. Полученные ампликоны разделите в агарозном геле (1%-ном) с добавлением этидиум бромид в электрофорезной камере (при напряженности поля около 2 В/см), результаты учитывайте на трансиллюминаторе под ультрафиолетовым излучением. Продукты амплификации нужной длины вырежьте из геля и экстрагируйте ДНК с помощью набора реагентов для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей «ColGen» фирмы «Синтол» (Россия) согласно протоколу.

Лабораторная работа № 2 (продолжение) Подготовка образцов к секвенированию по методу Сенгера (3 ч)

После выделения из геля и очистки, ПЦР-продукты используйте набор реагентов Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) для подготовки нуклеотидных последовательностей к прочтению на Секвенаторе согласно протоколу.

Лабораторная работа № 3 Анализ нуклеотидных последовательностей ДНК (4 час)

1. Ручная корректировка файла с хроматограммой и последовательностью в программе BioEdit

- Корректировка нуклеотидной последовательности, замена вырожденных букв и N

- Сборка последовательности из двух и более фрагментов

2. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей

- Сравнительный анализ заданной последовательности с помощью пакета программ FASTA

- Сравнительный анализ заданной последовательности с помощью пакета программ BLAST

3. Выравнивание последовательностей в программе ClustalX

4. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей

- Выравнивание последовательностей в программе Mega 7(X)

- Работа в программе Mega. Проведение филогенетического анализа

- Работа в программе Mega. Корректировка филогенетического дерева

Лабораторная работа №4 Трансформация *E. Coli* (5 ч)

Метод PEG-DMSO

Использовать охлаждённый TSS буфер и охлаждённые пробирки.

Состав TSS буфера на 1 ml:

PEG 4000 – 0,1 g

MgCl₂ – 30 µl (1M)

DMSO – 50 µl

LB et to 1 ml

- 1) Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- 2) Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- 3) Развести культуру в 10-100 раз (на одну пробу необходимо культуры 2-10 ml) и подрастить до $OD_{600}=0,4-0,6$
- 4) Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- 5) Слить супернатант и ресуспендировать осадок в необходимом объёме TSS буфера (на одну пробу необходимо 100 µl)
- 6) Добавить плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- 7) Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- 8) Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- 9) Добавить LB 900 µl
- 10) Подращивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- 11) Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- 12) Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- 13) Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)

Метод CaCl₂

- Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- Развести культуру в 10-100 раз в 50 ml жидкой LB и подрастить до $OD_{600}=0,4-0,6$
- Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- Слить супернатант и ресуспендировать в 25 ml холодного 0.1 M CaCl₂
- Инкубировать на льду 1 час

- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, клетки ресуспендировать в 4 ml 0,1 M CaCl₂ + 15% глицерина, разделить на аликвоты по 500 µl
- Добавить к аликвотам плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- Добавить LB 900 µl
- Подращивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)
- **Метод CaCl₂ + MgCl₂**
- Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- Развести культуру в 10-100 раз в 50 ml жидкой LB и подрастить до OD₆₀₀=0,4-0,6
- Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- Слить супернатант и ресуспендировать в 15 ml холодного 0.1 M MgCl₂
- Инкубировать на льду 10 мин
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, ресуспендировать в 15 ml 0.1 M CaCl₂
- Инкубировать на льду 30 мин
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, ресуспендировать в 4 ml 0.1 M CaCl₂ + 20% глицерина, разделить на аликвоты по 500 µl

- Добавить к аликвотам плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- Добавить LB 900 µl
- Подрачивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду).

III. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ

7. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ

Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы включает в себя:

- план-график выполнения самостоятельной работы по дисциплине, в том числе примерные нормы времени на выполнение по каждому заданию;
- характеристика заданий для самостоятельной работы студентов и методические рекомендации по их выполнению;
- требования к представлению и оформлению результатов самостоятельной работы;
- критерии оценки выполнения самостоятельной работы.

Самостоятельная работа студента включает:

- 1) библиотечную или домашнюю работу с учебной литературой и конспектом лекций;
- 2) самостоятельное изучение отдельных тем дисциплины;

3) подготовку к семинарским занятиям;

4) подготовку к экзамену.

Порядок выполнения самостоятельной работы должен соответствовать календарно-тематическому плану дисциплины, в котором установлена последовательность проведения лекций, лабораторных работ, семинаров и контрольных мероприятий.

План-график выполнения самостоятельной работы по дисциплине

Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов

№ п/п	Дата/сроки выполнения	Вид самостоятельной работы	Примерные нормы времени на выполнение	Форма контроля
1	1 – 3 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 1	5 ч	Устный ответ
2	4 – 5 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 1	5 ч	Устный ответ
3	6 - 7 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 2	5 ч	Устный ответ, выполнение лабораторной работы
4	8-9 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 2	5 ч	Устный ответ, выполнение лабораторной работы
5	10-11 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 3	8 ч	Устный ответ, выполнение лабораторной работы
6	12-13 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 3. Подготовка к тесту и контрольной работе.	5 ч	Устный ответ, выполнение лабораторной работы

7	14-15 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 4 Подготовка к тесту и контрольной работе.	8 ч	Устный ответ, выполнение лабораторной работы
8	16-18 недели	Работа с литературой и конспектом лекций. Подготовка к семинару по теме 5. Подготовка к сдаче реферативной работы	7 ч	Устный ответ, выполнение лабораторной работы. Подготовка к сдаче реферативной работы
9	Экзаменационная сессия	Работа с литературой и конспектом лекций.	54 ч	экзамен
Итого			120 час	

Методические рекомендации при работе над конспектом лекций во время проведения лекции

В ходе лекционных занятий следует обязательно вести конспектирование учебного материала. Обращать внимание на категории, формулировки, раскрывающие содержание тех или иных явлений и процессов, научные выводы и практические рекомендации, положительный опыт в ораторском искусстве. Желательно оставить в рабочих конспектах поля, на которых делать пометки из рекомендованной литературы, дополняющие материал прослушанной лекции, а также подчеркивающие особую важность тех или иных теоретических положений. Задавать преподавателю уточняющие вопросы с целью уяснения теоретических положений, разрешения спорных ситуаций. В ходе подготовки к лабораторным занятиям, тестированию и коллоквиумам необходимо изучить рекомендованную основную литературу, ознакомиться с дополнительной литературой. При этом учесть рекомендации преподавателя и требования учебной программы. Дорабатывать свой конспект лекции, делая в нем соответствующие записи из литературы, рекомендованной преподавателем и предусмотренной учебной программой. Своевременное и качественное выполнение самостоятельной работы базируется на соблюдении настоящих рекомендаций и изучении рекомендованной литературы. Студент может дополнить список использованной литературы современными источниками, не представленными в списке рекомендованной литературы, и в дальнейшем

использовать собственные подготовленные учебные материалы при подготовке к коллоквиумам и экзамену.

Методические указания по подготовке к лабораторным работам и их выполнению

К лабораторным работам студент должен подготовиться: повторить лекционный материал, прочитать нужный раздел по теме в учебнике.

Занятие начинается с краткого устного/письменного опроса по заданной теме. Далее студентам объясняется тема занятия и ход ее выполнения. После прочтения методического указания и протоколирования хода работ студенты приступают к работе с объектом исследования. В конце занятия оформленная работа сдается на проверку преподавателю. Если работа не зачтена, следует выполнить работу над ошибками.

Для занятий необходимо иметь халат, тетрадь для протоколирования хода работы и наблюдаемых явлений, ручку, простой карандаш, ластик. По завершении лабораторной работы студенту дается домашнее задание по новой теме и предлагается выполнить анализ проделанных работ, интерпретацию и обобщение полученных результатов сначала устно, а затем и в письменном виде.

Ответы на вопросы, выступления и активность студентов на занятии оцениваются текущей оценкой.

Лабораторные занятия могут проводиться в форме поискового занятия, занятия с ситуационными задачами или с привлечением методики брэйнсторминг для поиска ответов на проблемные вопросы, связанные со здоровьем человека, методами защиты здоровья в экстремальных ситуациях. Подготовка к таким занятиям проводится по тем же требованиям.

Методические указания по подготовке к контрольным работам

К контрольным работам (тестированию) студент должен подготовиться особенно тщательно, так как полученная оценка идет в рейтинг. Необходимо еще раз повторить лекционный материал, прочитать нужный раздел в учебнике, вспомнить семинарскую дискуссию. Для хорошего запоминания формул, схем,

терминов их нужно прописать несколько раз на бумаге. Если предполагается решение задач, полезно заранее проработать аналогичные. Рекомендуется использовать подготовленные самостоятельно студентом тезаурусы и интерактивные карты.

В контрольной работе вопросы должны быть освещены кратко, но достаточно полно. В ответе должны содержаться определение явления, процесса, структуры, перечисление наиболее характерных признаков или свойств явления, процесса, структуры. Приветствуется схематизация ответа в виде рисунка с указанием деталей и связей.

Темы заканчивается подведением итогов преподавателем.

Методические указания по работе с литературой

Надо составить первоначальный список источников. Основой могут стать список литературы, рекомендованный в рабочей программе курса. Для удобства работы можно составить собственную картотеку отобранных источников (фамилия авторов, заглавие, характеристики издания) в виде рабочего файла в компьютере. Такая картотека имеет преимущество, т.к. она позволяет добавлять источники, заменять по необходимости одни на другие, убирать те, которые оказались не соответствующие тематике. Первоначальный список литературы можно дополнить, используя электронный каталог библиотеки ДВФУ, при этом не стесняйтесь обращаться за помощью к сотрудникам библиотеки.

Работая с литературой по той или другой теме, надо не только прочитать, но и усвоить метод ее изучения: сделать краткий конспект, алгоритм, схему прочитанного материала, что позволяет быстрее его понять, запомнить. Не рекомендуется дословно переписывать текст.

Методические рекомендации по написанию реферата

Цели и задачи реферата

Реферат (от лат. *refero* — докладываю, сообщаю) представляет собой краткое изложение проблемы практического или теоретического характера с формулировкой определенных выводов по рассматриваемой теме. Избранная

студентом проблема изучается и анализируется на основе одного или нескольких источников. В отличие от курсовой работы, представляющей собой комплексное исследование проблемы, реферат направлен на анализ одной или нескольких научных работ.

Целями реферата являются:

- развитие у студентов навыков поиска актуальных проблем современной белковой биохимии;
- развитие навыков краткого изложения материала с выделением лишь самых существенных моментов, необходимых для раскрытия сути проблемы;
- развитие навыков анализа изученного материала и формулирования собственных выводов по выбранному вопросу научным, грамотным языком.

Задачами подготовки и защиты реферата являются:

- научить студента максимально верно передать мнения авторов, на основе работ которых студент готовит свой реферат;
- научить студента грамотно излагать свою позицию по анализируемой в реферате проблеме;
- подготовить студента к дальнейшему участию в научно – практических конференциях, семинарах и конкурсах;
- помочь студенту определиться с интересующей его темой, дальнейшее раскрытие которой возможно осуществить при написании курсовой работы или диплома;
- уяснить для себя и изложить причины своего согласия (несогласия) с мнением того или иного автора по данной проблеме.

Основные требования к содержанию реферата

Студент должен использовать только те материалы (научные статьи, монографии, пособия), которые имеют прямое отношение к избранной им теме. Не допускаются отстраненные рассуждения, не связанные с анализируемой проблемой. Содержание реферата должно быть конкретным, исследоваться должна только одна проблема (допускается несколько, только если они

взаимосвязаны). Студенту необходимо строго придерживаться логики изложения (начать с определения и анализа понятий, перейти к постановке проблемы, проанализировать пути ее решения и сделать соответствующие выводы). Реферат должен заканчиваться выводами по теме.

Реферат должен быть представлен в виде презентации.

Общие требования к презентации:

- презентация не должна быть меньше 10 слайдов;
- первый лист – это титульный лист, на котором обязательно должны быть представлены: название проекта; фамилия, имя, отчество автора;
- следующим слайдом должно быть содержание, где представлены основные этапы (моменты) презентации; желательно, чтобы из содержания по гиперссылке можно перейти на необходимую страницу и вернуться вновь на содержание;
- дизайн-эргономические требования: сочетаемость цветов, ограниченное количество объектов на слайде, цвет текста;
- последними слайдами презентации должны быть глоссарий и список литературы.

Выступление по реферируемой теме не должно превышать 15 минут, 5 минут дополнительно отводится на вопросы по теме.

Порядок сдачи реферата и его оценка

Реферат готовится студентами в течение триместра в сроки, устанавливаемые преподавателем по конкретной дисциплине, и сдается преподавателю, ведущему дисциплину.

По результатам проверки студенту выставляется определенное количество баллов, которое входит в общее количество баллов студента, набранных им в течение триместра. При оценке реферата учитываются соответствие содержания выбранной теме, четкость структуры работы, умение работать с научной литературой, умение ставить проблему и анализировать ее, умение логически мыслить, владение профессиональной терминологией, грамотность изложения.

Задания для самостоятельной работы

Требования: Перед каждой лабораторной работой обучающемуся необходимо изучить Методические указания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов»

Тематика рефератов

1. Использование генетически модифицированных микроорганизмов для производства лекарственных препаратов.
2. Использование генетически модифицированных микроорганизмов для биоремедиации загрязненных сред.
3. Промышленный синтез белков при участии рекомбинантных микроорганизмов.
4. Гены биодegradации ксенобиотиков и их распространение в загрязненных средах.
5. Генетические механизмы металлоустойчивости у бактерий.
6. Гены антибиотикорезистентности у бактерий.
7. lux-гены и их использование в мониторинговых исследованиях.
8. Полимеразная цепная реакция, принципы и ее использование.
9. Системы ДНК-диагностики. Гибридизационные зонды.
10. Генная терапия наследственных заболеваний человека и использование вирусных систем доставки генов.

IV. КОНТРОЛЬ ДОСТИЖЕНИЯ ЦЕЛЕЙ КУРСА

Для контроля могут использоваться следующие оценочные средства:

УО-1 индивидуальное собеседование;

УО-2 коллоквиум

ПР-1 тест

ПР-2 контрольная работа

ПР-4 реферативная работа

ПР-7 лабораторная работа

№ п/п	Контролируемые модули /разделы / темы дисциплины	Коды и этапы формирования компетенций		Оценочные средства - наименование	
				текущий контроль	промежуточная аттестация
	<p>Тема 1. Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики и микроорганизмов</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных)</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p>	УО-2	УО-1

	результатов	<p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
Тема 2. Молекулярные основы наследственности: обзор	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p>	УО-2; ПР-7	УО-1

	<p>деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности. Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций Умеет работать с научной литературой Владеет навыками работы с ПК Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 3. Организация генома бактерий и бактериофагов. Плазмиды бактерий. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов Умеет ориентироваться в современных достижениях и</p>	<p>УО -2; ПР-1; ПР-4; ПР-7</p>	<p>УО-1</p>

	<p>участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 4. Мутации у микроорганизмов</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники;</p>	<p>УО -2; ПР-1; ПР-4; ПР-7</p>	<p>УО-1</p>

	<p>производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 5. Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p>	<p>УО -2; ПР-2; ПР-7</p>	<p>УО-1</p>

	<p>требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
экзамен	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование,</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и</p>		УО-1

		<p>документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
--	--	---	--	--	--

V. СПИСОК УЧЕБНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННО-

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Основная литература

1. Москвитина, Е. Н. Атлас возбудителей грибковых инфекций / Екатерина Николаевна Москвитина, Любовь Валерьевна Федорова, Татьяна Анатольевна Мукомолова, Василий Викторович Ширяев - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 208 с. Режим доступа: <https://lib.dvfu.ru/lib/item?id=RosMedLib:RosMedLib-ISBN9785970441978&theme=FEFU>
2. Нетрусов, А.И. Микробиология. Учебник для высшего профессионального образования /А. И. Нетрусов, И. Б. Котова; под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Издательский центр "Академия", 2012. – 379 с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:668869&theme=FEFU>
3. Ткаченко К.В. Микробиология : учебное пособие / Ткаченко К.В.. —Саратов : Научная книга, 2019. — 159 с. Режим доступа: <https://lib.dvfu.ru/lib/item?id=IPRbooks:IPRbooks-80990&theme=FEFU>
4. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия : учебно-справочное пособие / Щелкунов С.Н.. — Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2017. — 514 с. Режим доступа: <https://lib.dvfu.ru/lib/item?id=IPRbooks:IPRbooks-65273&theme=FEFU>

Дополнительная литература

1. Шлегель, Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. пер. с нем. Л. В. Алексеевой, Г. А. Куреллы, Н. Ю. Несытовой. – М.: Мир, 1987. – 566 с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:54562&theme=FEFU>
2. Брода, П. Плазмиды / П. Брода. под ред. А.А. Баев . М.: Мир, 1982. – 220 с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:46453&theme=FEFU>
3. Егорова Т. А. Основы биотехнологии : учебное пособие для вузов / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. Москва : Академия, 2005. - 208с.

– Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:236946&theme=FEFU>

4. Сингер, М. Гены и геномы т. 1. / М. Сингер, П. Берг; под ред. Н. К. Янковского Москва: Мир, 1998. – 373с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:23576&theme=FEFU>

5. Сингер, М. Гены и геномы т. 2. / М. Сингер, П. Берг; под ред. Н. К. Янковского Москва: Мир, 1998. – 373с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:286556&theme=FEFU>

6. Льюин, Б. Гены / Б. Льюин ; пер. с англ. А. Л. Гинцбурга [и др.]. Москва. : Мир, 1987. - 554с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:54059&theme=FEFU>

7. Захаров, И. А. Генетика микроорганизмов (введение в генетический анализ) : учебное пособие / И. А. Захаров, К. В. Квитко ; Ленинград: Ленинградский государственный университет, 1967 - 244с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:67710&theme=FEFU>

8. Прозоров, А. А. Генетическая трансформация и трансфекция / Прозоров А.А.; Под ред. Б.Н. Ильяшенко; АН СССР. Ин-т общей генетики Москва.: Наука, 1980. -248с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:41611&theme=FEFU>

9. Хесин, Р.Б. Непостоянство генома / Р.Б. Хесин М.: Наука, 1984. – 472с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:49982&theme=FEFU>

10. Пташне, М. Переключение генов. Регуляция генной активности и фаг λ / М. Пташне ; под ред. М. Д. Франк-Каменецкого ; пер. с англ. А. М. Колчинского. М.: Мир, 1989. - 160с. Режим доступа – <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:56229&theme=FEFU>

11. Дебабов, В.Г. Генетика промышленных микроорганизмов и биотехнология / Академия наук СССР, Институт молекулярной генетики: отв. ред. В. Г. Дебабов. М.: Высшая школа, 1990. - 277с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:106691&theme=FEFU>

12. Глазер, В. М. Задачи по современной генетике: учебное пособие по

биологическим специальностям / В. М. Глазер, А. И. Ким, Н. Н. Орлова [и др.] ; [под ред. М. М. Асланяна] Москва: Университет, 2008. - 223с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:417471&theme=FEFU>

5. Харди, К. Плазмиды. Методы / Под ред. К.Харди. М.:Мир, 1989. - 267с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:107015&theme=FEFU>

6. Алексеев, В.И. Прикладная молекулярная биология: учебное пособие для вузов / В. И. Алексеев, В. А. Каминский; Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, Владивосток: Изд-во Дальневосточного технического рыбохозяйственного университета, 2011. – 238 с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:425474&theme=FEFU>

7. Борисов, Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник / Л. Б. Борисов. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. – 736 с.

8. Геномы / Терри А. Браун; пер. с англ. А. А. Светлова; под ред. А. А. Миронова. Москва Ижевск: Изд-во Института компьютерных исследований , 2011. – 921 с. – Режим доступа: <http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:660961&theme=FEFU>

Интернет- ресурсы

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

1. Матасова Л.В., Хицова Л.Н., Попова Т.Н., Научный редактор проф., Артюхов В.Г. Биохимическая экология: Учебное пособие. - Воронеж: Изд-во ВГУ, 2003. - 63 с. <http://window.edu.ru/resource/881/26881>
2. www.school.edu.ru
3. www.sbio.info
4. www.cbio.ru
5. www.window.edu.ru
6. www.humanities.edu.ru

7. www.ecosystema.ru
8. www.zipsites.ru/books/microbiol
9. www.biotechnolog.ru
10. <http://www.twirpx.com/file/861788/>

Профессиональные базы данных и информационные справочные системы

1. База данных Scopus <http://www.scopus.com/home.url>
2. База данных Web of Science <http://apps.webofknowledge.com/>
3. Электронная библиотека диссертаций Российской государственной библиотеки <http://diss.rsl.ru/>

Перечень информационных технологий и программного обеспечения

1. При осуществлении образовательного процесса студенты используют программное обеспечение: MicrosoftOffice (Access, Excel, PowerPoint, Word и др.), электронные ресурсы сайта ДВФУ, включая ЭБС ДВФУ.

2. Научная электронная библиотека eLIBRARY, электронно-библиотечная система издательства «Лань», электронная библиотека "Консультант студента", информационная система "ЕДИНОЕ ОКНО" доступа к образовательным ресурсам доступ к электронному заказу книг в библиотеке ДВФУ.

VI. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Успешное освоение дисциплины предполагает активную работу студентов на всех занятиях аудиторной формы: лекциях и практиках, выполнение аттестационных мероприятий. В процессе изучения дисциплины студенту необходимо ориентироваться на проработку лекционного материала, подготовку к практическим занятиям, выполнение контрольных и творческих работ.

Освоение дисциплины *«Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов»* предполагает рейтинговую систему оценки знаний

студентов и предусматривает со стороны преподавателя текущий контроль за посещением студентами лекций, подготовкой и выполнением всех практических заданий, выполнением всех видов самостоятельной работы.

Промежуточной аттестацией по дисциплине Антибиотики и антибиотикорезистентность микроорганизмов является экзамен. Студент считается аттестованным по дисциплине при условии выполнения всех видов текущего контроля и самостоятельной работы, предусмотренных учебной программой.

Шкала оценивания сформированности образовательных результатов по дисциплине представлена в фонде оценочных средств (ФОС).

Планирование и организация времени, отведенного на изучение дисциплины. Приступить к освоению дисциплины следует незамедлительно в самом начале учебного семестра. Рекомендуется изучить структуру и основные положения Рабочей программы дисциплины. Обратите внимание, что кроме аудиторной работы (лекции, лабораторные занятия) планируется самостоятельная работа, итоги которой влияют на окончательную оценку по итогам освоения учебной дисциплины. Все задания (аудиторные и самостоятельные) необходимо выполнять и предоставлять на оценку в соответствии с графиком.

В процессе изучения материалов учебного курса предлагаются следующие формы работ: чтение лекций, лабораторные занятия, задания для самостоятельной работы.

Лекционные занятия ориентированы на освещение вводных тем в каждый раздел курса и призваны ориентировать студентов в предлагаемом материале, заложить научные и методологические основы для дальнейшей самостоятельной работы студентов.

Лабораторные занятия акцентированы на наиболее принципиальных и проблемных вопросах курса и призваны стимулировать выработку практических умений.

Особо значимой для профессиональной подготовки студентов является *самостоятельная работа* по курсу. В ходе этой работы студенты отбирают необходимый материал по изучаемому вопросу и анализируют его. Студентам необходимо ознакомиться с основными источниками, без которых невозможно полноценное понимание проблематики курса.

Освоение курса способствует развитию навыков обоснованных и самостоятельных оценок фактов и концепций. Поэтому во всех формах контроля знаний, особенно при сдаче зачета, внимание обращается на понимание проблематики курса, на умение практически применять знания и делать выводы.

Работа с литературой. Рекомендуется использовать различные возможности работы с литературой: фонды научной библиотеки ДВФУ и электронные библиотеки (<http://www.dvfu.ru/library/>), а также доступные для использования другие научно-библиотечные системы.

Подготовка к экзамену. К сдаче экзамена допускаются обучающиеся, выполнившие все задания (лабораторные, самостоятельные), предусмотренные учебной программой дисциплины, посетившие не менее 85% аудиторных занятий.

VII. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Учебные занятия по дисциплине проводятся в помещениях, оснащенных соответствующим оборудованием и программным обеспечением.

Перечень материально-технического и программного обеспечения дисциплины приведен в таблице.

Материально-техническое и программное обеспечение дисциплины:

Наименование специальных помещений и помещений для самостоятельной работы[11]	Оснащенность специальных помещений и помещений для самостоятельной работы	Перечень лицензионного программного обеспечения. Реквизиты подтверждающего документа
<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. Л, Этаж 8, каб. L814</p> <p>Учебная аудитория для проведения занятий лекционного и лабораторного типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Шкаф вытяжной для работы с ЛВЖ ЛАБ-ПРО ШВЛВЖ-D - 8 шт.</p> <p>Холодильник “Stinol” - 1 шт.</p> <p>Микроскоп для лабораторных исследований Primo Star с принадлежностями - 1 шт.</p> <p>Спектрофотометр Genesys 10S Bio, 190-1100мм, 6/1 поз.кюветодерж, шир. щели 1.8мм, USB, Thermo + кювета кварц., 10 мм EBPO - 1 шт.</p> <p>Доска аудиторная</p>	
<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. Л, Этаж 8, каб. L809</p> <p>Учебная аудитория для проведения занятий лекционного типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Микроскоп для лаб. исследований Axio Lab A1 с принадлежностями - 1 шт.</p> <p>Микроскоп для лаб. исследований Axioskop 40 - 1 шт.</p> <p>Спектрофотометр Shimadzu UV-1800 - 1 шт.</p>	

<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. L, Этаж 8, каб. L810</p> <p>Специализированная учебно- научная лаборатория микробиологического профиля</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Морозильник медицинский вертикальный Sanyo - 1 шт. Камера для горизонтального электрофореза SE-2 - 1 шт.</p> <p>Источник питания Эльф-8 - 1 шт.</p> <p>Трансиллюминатор «Квант 312» - 1 шт.</p>	
<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. L, Этаж 8, каб. L813</p> <p>Специализированная учебно- научная лаборатория микробиологического профиля</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Термостат 200л, ТС-200 - 1 шт.</p> <p>Штейкер S4 с качающейся платформой - 1 шт.</p> <p>Центрифуга СМ6 для стеклянных и пласмассовых пробирок - 1 шт.</p> <p>Шкаф холодильный фармацевтический Бирюса 550К - 1 шт.</p> <p>Бокс микробиологической безопасности БМБ-II- "Ламинар-С" - 1 шт.</p> <p>Термостат ТС-80 - 1 шт.</p> <p>Холодильник LG-GC- B429PVQK - 2 шт.</p> <p>Бокс микробиологической безопасности SC2-6A1 - 1 шт.</p> <p>Облучатель УФ - бактерицидный трехламповый с автоматическим управлением и световой индикацией, напольный передвижной, для обеззараживания воздуха помещений ОБН-04-"Я-ФП" - 1 шт.</p>	

<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. L, Этаж 8, каб. L807</p> <p>Специализированная учебно- научная лаборатория микробиологического профиля</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Презиционные весы AR 0640 - 1 шт.</p> <p>Весы Ohaus SCOUT SPX622 - 1 шт.</p>	
<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. L, Этаж 8, каб. L808</p> <p>Специализированная учебно- научная лаборатория микробиологического профиля</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Шкаф сушильный IC-200 - 1 шт.</p> <p>Автоклав в комплекте - 1 шт.</p> <p>Шкаф суховоздушный - 1 шт.</p>	
<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. L, Этаж 8, каб. L812</p> <p>Специализированная учебно- научная лаборатория микробиологического профиля</p>	<p>Оборудование:</p> <p>Холодильник “Stinol” - 1 шт.</p> <p>Шкаф для хранения реактивов ЛАБ-PRO ШМР 60.50.195 - 1 шт.</p> <p>Микроскоп люминисцентный Микмед-2 вар. 11 в спец. комплектации Конденсор А=0,9 - обычный - 1 шт.</p> <p>Автоклав, 85 л, 3870MLV - 1 шт.</p>	
<p>690922, Приморский край, г.Владивосток, остров Русский, полуостров Саперный, поселок Аякс, 10, корп. L, Этаж 8, каб. L811</p> <p>Специализированная учебно- научная лаборатория микробиологического профиля</p>	<p>Шкаф холодильный фармацевтический “Бирюса” 550К - 1 шт.</p> <p>Бокс микробиологической безопасности SC2-4A1 - 1 шт.</p> <p>Бокс микробиологической безопасности SC2-6A1 - 1 шт.</p> <p>Термоциклер для амплификации нуклеиновых</p>	

<p>кислот T100 (T100 Thermal Cycler) “BioRad” 1861096 - 1 шт.</p> <p>Система инновационная для ПЦР анализа в реальном времени с системой ввода данных для анализа, система LightCycler - 1 шт.</p> <p>Микроцентрифуга “Микроспин” - 1 шт.</p> <p>Центрифуга CM-50 для микропробирок - 1 шт.</p> <p>Микротермостат “Тном” - 1 шт.</p> <p>Vortex V-1 plus - 1 шт.</p> <p>Холодильник “Stinol” - 1 шт.</p>

VIII. ФОНДЫ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Перечень форм оценивания, применяемых на различных этапах формирования компетенций в ходе освоения дисциплины (модуля)

Устный опрос:

1. Собеседование (УО-1)
2. Коллоквиум – учебное занятие в виде коллективного собеседования (УО-2)

Письменные работы:

1. Письменный (или компьютерный) тест (ПР-1)
2. Письменная контрольная работа (ПР-2)
3. Реферат (ПР-4)
4. Лабораторная работа (ПР-7)

№ п/п	Контролируемые модули /разделы / темы дисциплины	Коды и этапы формирования компетенций	Оценочные средства - наименование	
			текущий контроль	промежуточная аттестация
			роль	

<p>Тема 1. Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики и микроорганизмов</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и геной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах геной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной</p>	<p>УО -2</p>	<p>УО-1</p>
--	--	--	------------------	-------------

			<p>биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 2. Молекулярные основы наследственности: обзор</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной</p>	<p>УО -2; ПР- 7</p>	УО-1	

			<p>литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 3. Организация генома бактерий и бактериофагов. Плазмиды бактерий.</p> <p>Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными</p>	<p>УО -2;</p> <p>ПР-1;</p> <p>ПР-4;</p> <p>ПР-7</p>	УО-1	

	<p>учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций Умеет работать с научной литературой Владеет навыками работы с ПК Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 4. Мутации и у микроорганизмов</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических)</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах</p>	<p>УО -2; ПР-1; ПР-4; ПР-7</p>	<p>УО-1</p>

	<p>мероприятиях ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>биотехнологии и генной инженерии Знает современные характеристики и функции генома Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности. Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций Умеет работать с научной литературой Владеет навыками работы с ПК Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
<p>Тема 5. Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов</p>	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p> <p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области</p>	<p>УО -2; ПР- 2; ПР- 7</p>	<p>УО-1</p>

	<p>научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
экзамен	<p>ПК-4.1 Определяет видовую принадлежность водных биоресурсов, пользуется определителями</p> <p>ПК-4.3 Выполняет сбор, фиксацию, хранение, этикетирование, документирование материалов полевых исследований, использует необходимые приборы и оборудование с соблюдением требований охраны труда при их эксплуатации</p>	<p>Знает разнообразие биологических объектов; особенности прокариотических форм жизни; принципы работы современных приборов и аппаратуры; приемы и методы работы в лабораторных условиях</p> <p>Умеет обосновывать значение биоразнообразия прокариотических форм жизни для сохранения биосферы, медицинское и промышленное значение микроорганизмов; эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование при проведении научных исследований в области генетики микроорганизмов и биотехнологии</p> <p>Владеет базовыми представлениями о роли генетических механизмов в поддержании высокого биоразнообразия микроорганизмов и</p>		УО-1

		<p>ПК-5.1 Готовит полученные научные (научно-производственные) результаты к публикации в рецензируемых научных изданиях</p> <p>ПК-5.2 Принимает участие в научных дискуссиях на научных (научно-практических) мероприятиях</p> <p>ПК-5.3 Использует в профессиональной деятельности отечественные и зарубежные базы данных и системы учета научных (научно-производственных) результатов</p>	<p>их экологической пластичности; основами лабораторной и микробиологической техники; основами работы с ДНК</p> <p>Знает современные перспективные направления микробиологических исследований и возможные области применения полученных результатов</p> <p>Умеет ориентироваться в современных достижениях и открытиях в области генетики бактерий и биотехнологии</p> <p>Владеет современными представлениями об методах биотехнологии и генной инженерии</p> <p>Знает современные характеристики и функции генома</p> <p>Умеет применять современные представления о геномике в практической деятельности.</p> <p>Владеет современными представлениями об основах генной инженерии, молекулярного моделирования.</p> <p>Знает основы оформления научных публикаций</p> <p>Умеет работать с научной литературой</p> <p>Владеет навыками работы с ПК</p> <p>Знает теорию и методы современной биологии Умеет применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p> <p>Владеет: способностью применять на практике базовые общепрофессиональные знания теории и методов современной биологии</p>		
--	--	--	--	--	--

Устный опрос

Устный опрос позволяет оценить знания и кругозор студента, умение логически построить ответ, владение монологической речью и иные коммуникативные навыки.

Обучающая функция состоит в выявлении деталей, которые по каким-то причинам оказались недостаточно осмысленными в ходе учебных занятий и при подготовке к зачёту.

Собеседование (УО-1) – средство контроля, организованное как специальная беседа преподавателя с обучающимся на темы, связанные с изучаемой дисциплиной, и рассчитанное на выяснение объема знаний обучающегося по определенному разделу, теме, проблеме и т.п.

Коллоквиум (УО-2) – продукт самостоятельной работы обучающегося, представляющий собой публичное выступление по представлению полученных результатов решения определенной учебно-практической, учебно-исследовательской или научной темы.

Письменные работы

Письменный ответ приучает к точности, лаконичности, связности изложения мысли. Письменная проверка используется во всех видах контроля и осуществляется как в аудиторной, так и во внеаудиторной работе.

Письменный (или компьютерный) тест (ПР-1) – средство проверки умений применять полученные знания по заранее определенной методике для решения задач или заданий по модулю или дисциплине.

Письменная контрольная работа (ПР-2) – работы в форме традиционных письменных ответов на ряд вопросов по пройденной теме, изложенной в лекциях и обсужденной на коллоквиумах.

Реферат (ПР-4) – представляет собой краткое изложение проблемы практического или теоретического характера с формулировкой определенных выводов по рассматриваемой теме.

Лабораторная работа (ПР-7) - это форма организации учебного процесса, когда студенты по заданию и под руководством преподавателя самостоятельно проводят опыты, измерения, элементарные исследования на основе специально разработанных заданий.

Текущая аттестация по дисциплине (модулю) «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов»

Текущая аттестация студентов по дисциплине «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов» проводится в соответствии с локальными нормативными актами ДВФУ и является обязательной.

Текущая аттестация по дисциплине проводится в форме контрольных мероприятий устного ответа и выполнения лабораторных работ по оцениванию фактических результатов обучения студентов и осуществляется ведущим преподавателем.

По каждому объекту дается характеристика процедур оценивания в привязке к используемым оценочным средствам.

Оценочные средства для текущего контроля

Практические занятия

Практическое занятие №1. Тема: «Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики микроорганизмов»

1. Основные этапы развития достижений в области генетики микроорганизмов.
2. Теория «один ген – один фермент».
3. Проблема «адаптивных» мутаций у микроорганизмов.
4. Эксперименты Д. Бидла и Е. Татума
5. Исследования С. Лурия и М. Дельбрюка, Х. Ньюкомба, Д. Ледерберга, их значение для формирования научных подходов в генетике микроорганизмов.
6. Значение работ Д. Уотсона, Ф. Крика, Д. Ледерберга, В. Хейса, О. Эвери, А. Херши, Ж. Моно, Ф. Жакоба, С. Бензера и др. для развития генетики микроорганизмов.
7. Развитие генетики микроорганизмов в России. Б. Хесин и его школа.

Практическое занятие №2. Тема: «Молекулярные основы наследственности»

1. Химический состав и структура ДНК. Транскрипция и трансляция ДНК. Репарация ДНК. Ингибиторы транскрипции и трансляции
2. Строение ДНК и РНК полимераз
3. Обратная транскрипция. Регуляция экспрессии генов.
4. Лактозный оперон. Триптофановый оперон.
5. Острова патогенности
6. Иммунная система бактерий
7. Система секреции бактерий

Практическое занятие №3. Тема: «Организация генома бактерий и

бактериофагов»

1. Признаки, характеризующие организацию генома прокариот, его отличие от генома эукариот.
2. Методы секвенирования нуклеотидных последовательностей (метод Сенгера и Максама-Гилберта) Стратегия секвенирования геномов прокариот. Нуклеоид бактерий.
3. Амплификация нуклеотидных последовательностей в хромосомах бактерий.
4. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома. Основные особенности геномов фагов.
5. Использование фагов для конструирования геномов.
6. РНК - геном бактериофагов. Жизненный цикл РНК-фагов на примере MS2.
7. Репликация фаговой РНК.
8. ДНК – геном бактериофагов (на примере T4 и T7). Особенности экспрессии.
9. Бактериофаги с кольцевыми ДНК - геномами.
10. Литический и лизогенный жизненный цикл бактериофага (на примере лямбда фага)

Практическое занятие №3 (продолжение). Тема: «Плазмиды бактерий»

1. Размеры, форма плазмидной ДНК. Идентификация плазмид. Частота встречаемости плазмидной ДНК в клетках бактерий.
2. Типы плазмид, их значение. F-, R-, RTF-факторы, плазмиды биodeградации. Несовместимость.
3. Репликация плазмид. Взаимодействие плазмид с хромосомами бактерий. Рекомбинация между плазмидной ДНК.
4. Роль плазмид в эволюции бактерий.
5. Использование плазмид в генетическом анализе и конструировании бактерий.

Практическое занятие №3(продолжение). Тема: «Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий»

1. Открытие МГЭ бактерий.
2. Способы идентификации МГЭ бактерий, их распространенность у бактерий.

3. Типы МГЕ бактерий: инсерционные последовательности (IS), транспозоны (Tn – элементы). Механизмы перемещения МГЕ у бактерий.
4. Роль МГЕ в адаптациях бактерий, изменчивости их генома, межвидовом переносе генов и эволюции геномов.
5. Значение МГЕ для конструирования бактерий.

Практическое занятие №4. Тема: «Мутации у микроорганизмов»

1. История развития представлений о мутационном процессе у бактерий.
2. Спонтанные мутации, частота мутирования.
3. Обратимость мутационного процесса.
4. Супрессорные мутации. Индуцированный мутагенез, его механизмы.
5. Факторы индуцирования мутаций. Отбор мутантов.
6. Точечные мутации (минсенси и нонсенси мутации)

Практическое занятие №5. Тема: «Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов»

1. Механизмы генетической рекомбинации у бактерий: общая гомологичная рекомбинация, сайт-специфическая рекомбинация, негомологичная рекомбинация. Способы рекомбинации.
2. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Роль конъюгации в эволюции бактерий.
3. Генетическая трансформация и трансфекция у бактерий. Открытие генетической трансформации у бактерий. Распространенность трансформации у бактерий в природе. Роль генетической трансформации в горизонтальном переносе генов.
4. Значение трансформации и трансфекции в экспериментах по генной инженерии.
5. Трансдукция у бактерий, ее открытие. Неспецифическая трансдукция. Специфическая трансдукция.Abortивная трансдукция. Трансдукция плазмидной ДНК. Генетическое картирование с помощью трансдукции. Роль трансдукции в генетическом конструировании и изменчивости бактерий.
6. Рестрикция и модификация. Механизмы. Ферменты. Значение.

7. Генетическая рекомбинация у бактериофагов, ее открытие. Роль рекомбинации в изменчивости бактериофагов. Генетические карты бактериофагов.

Лабораторные работы

Лабораторная работа № 1 Выделение геномной и плазмидной ДНК согласно протоколу коммерческих наборов. Например, выделение бактериальной ДНК с помощью спин-колонок производителя БиолабМикс

Ход работы.

Состав набора

PBS

Буфер для лизиса LB

Буфер для промывки WB1

Буфер для промывки WB2

Буфер для элюции EB 5

Протеиназа K, раствор

Буфер для растворения лизоцима

Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца

Грамотрицательные бактерии.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более $1 \cdot 10^8$ клеток) в одноразовую микропробирку.
2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 гsf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 150 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при температуре 56°C .
6. Добавить к образцу 500 мкл буфера для нанесения на колонку LB.
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-

25 0С).

Грамположительные бактерии

Подготовка раствора лизоцима:

- К навеске лизоцима чистым одноразовым наконечником добавить необходимый объём буфера для растворения лизоцима (входит в состав набора).
- Тщательно перемешать на вортексе.
- Инкубировать 30 мин при Tкомн (15-25 0С), периодически перемешивая до полного растворения лизоцима.
- Хранить при -20 0С.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более $1 \cdot 10^8$ клеток) в одноразовую микропробирку.
2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 gcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в буфере для растворения лизоцима (50 mM Tris-HCl (pH 8), 10 mM EDTA (pH 8), 50% глицерин).

Примечание: лизоцим не входит в набор, буфер для растворения лизоцима поставляется вместе с набором. Раствор лизоцима хранить в буфере для растворения лизоцима не более 6 месяцев при -20 0С.

4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 10 мин при Tкомн (15-25 0С).
5. Чистым одноразовым наконечником добавить 50 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы К.
6. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
7. Инкубировать 10 мин при температуре 56°C .
8. Добавить к образцу 600 мкл буфера для лизиса LB.
9. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким

центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25 0C).

Нанесение на колонку

1. Перенести 800 мкл лизата на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
2. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: Если объём лизата больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование. Если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование увеличив время и/или скорость центрифугирования, не добавляя новую порцию буфера LB.

Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.
2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.
3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера WB2.

Элюция ДНК

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл (не входит в состав набора). Плотно прижать колонку к пробирке.
2. Нанести на центр фильтра колонки от 60 до 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25 0C). Центрифугировать 1 мин, 10000 gcf.

□ При увеличении объёма элюции увеличивается количество ДНК и снижается концентрация ДНК. Количество ДНК при элюции объёмами 60 и 200 мкл может различаться в 1.5-2 раза.

□ Вторая элюция новой аликвотой буфера для элюции EB или повторное нанесение элюата на колонку позволяет дополнительно увеличить количество ДНК.

□ Буфер для элюции содержит 0.01 M Tris•HCl (pH 8.0). Элюировать образец

также можно TE буфером (0.01 М Tris-HCl, 0.001 М EDTA, pH 8.0-8.5) либо водой (pH 8.0-8.5, pH доводить раствором NaOH).

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20 °С. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1-1 мМ.

Примечание: EDTA может ингибировать ферментативные реакции, например, ПЦР.

10. Анализ выделенной ДНК

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК при $\lambda = 260$ нм.

Посчитать концентрацию ДНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

*$A_{260} * \text{разбавление} * 50$ мкг/мл.*

Характерные соотношения оптической плотности $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.

Лабораторная работа №2 ПЦР-амплификация

Амплификация фрагментов ДНК с использованием коммерческих наборов. На примере использования реагентов производства БиолабМикс

В состав БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) реакционной смеси входят все необходимые компоненты для проведения ПЦР (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

высокопроцессивная рекомбинантная Taq ДНК-полимераза,

смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов,

ПЦР буфер

Mg²⁺

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь, осторожно и тщательно перемешайте.
2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавьте следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×)	25	1×
Прямой праймер	переменный	0,1 – 300 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1 – 300 нМ
ДНК-матрица	переменный	10 пг – 1 мкг
Стерильная вода	до 50 мкл	

4. Проведите ПЦР, используя рекомендованный режим:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5-7 мин	1
Денатурация	95	15 – 30 сек	25 - 40
Отжиг	50 – 68 (Tm-5)	15 - 30 сек	
Элонгация	72	1 мин/т.п.о.	
Финальная элонгация	72	5 – 15 мин	1

Tm - температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета Tm можно воспользоваться формулой: Tm (°C) = 2 x (A+T) + 4 x (G+C).

5. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

Примечание: для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1xTAE буфер с бромистым этидием.

Примечание: Подвижность красителей в 0.5 – 1.5% агарозном геле

Ксилен цианол	Бромфеноловый синий	Orange G	Тартразин
10000 – 4000 п.о.	500-400 п.о.	<100 п.о.	<20 п.о.

Пример

Для амплификации необходимого ДНК фрагмента используйте набор реагентов «БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×)» фирмы «Biolabmix» (Россия) согласно протоколу с добавлением универсальных бактериальных праймеров 27F 5' – AGAGTTTGATCMTGGCTCAG – 3' и 1350R 5'– GACGGGCGGTGTGTACAAG – 3'. Амплификацию проводите с использованием следующего режима: 94 °С – 4 мин (1 цикл); 94 °С – 60 сек, 48 °С – 60 сек, 72 °С – 90 сек (5 циклов); 92 °С – 60 сек, 50 °С – 110 сек, 72 °С – 90 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 52 °С – 60 сек, 72 °С – 60 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 54 °С – 60 сек, 72 °С – 110 сек (10 циклов); 72°С – 10 мин (1 цикл) [5]. Полученные ампликоны разделите в агарозном геле (1%-ном) с добавлением этидиум бромид в электрофорезной камере (при напряженности поля около 2

В/см), результаты учитывайте на трансиллюминаторе под ультрафиолетовым излучением. Продукты амплификации нужной длины вырежьте из геля и экстрагируйте ДНК с помощью набора реагентов для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей «ColGen» фирмы «Синтол» (Россия) согласно протоколу.

Лабораторная работа № 2 (продолжение) Подготовка образцов к секвенированию по методу Сенгера

После выделения из геля и очистки, ПЦР-продукты используйте набор реагентов Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) для подготовки нуклеотидных последовательностей к прочтению на Секвенаторе согласно протоколу.

Лабораторная работа № 3 Анализ нуклеотидных последовательностей ДНК

1. Ручная корректировка файла с хроматограммой и последовательностью в программе BioEdit

- Корректировка нуклеотидной последовательности, замена вырожденных букв и N

- Сборка последовательности из двух и более фрагментов

2. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей

- Сравнительный анализ заданной последовательности с помощью пакета программ FASTA

- Сравнительный анализ заданной последовательности с помощью пакета программ BLAST

3. Выравнивание последовательностей в программе ClustalX

4. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей

- Выравнивание последовательностей в программе Mega 7(X)

- Работа в программе Mega. Проведение филогенетического анализа

- Работа в программе Mega. Корректировка филогенетического дерева

Лабораторная работа №4 Трансформация *E. Coli* (5 ч)

Метод PEG-DMSO

Использовать охлаждённый TSS буфер и охлаждённые пробирки.

Состав TSS буфера на 1 ml:

PEG 4000 – 0,1 g

MgCl₂ – 30 µl (1M)

DMSO – 50 µl

LB et to 1 ml

- 14) Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- 15) Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- 16) Развести культуру в 10-100 раз (на одну пробу необходимо культуры 2-10 ml) и подрастить до OD₆₀₀=0,4-0,6
- 17) Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- 18) Слить супернатант и ресуспендировать осадок в необходимом объёме TSS буфера (на одну пробу необходимо 100 µl)
- 19) Добавить плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- 20) Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- 21) Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- 22) Добавить LB 900 µl
- 23) Подрашивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- 24) Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- 25) Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- 26) Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)

Метод CaCl₂

- Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки

- Развести культуру в 10-100 раз в 50 ml жидкой LB и подрастить до OD600=0,4-0,6
- Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- Слить супернатант и ресуспендировать в 25 ml холодного 0.1 M CaCl₂
- Инкубировать на льду 1 час
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, клетки ресуспендировать в 4 ml 0,1 M CaCl₂ + 15% глицерина, разделить на аликвоты по 500 µl
- Добавить к аликвотам плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- Добавить LB 900 µl
- Подращивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)
- **Метод CaCl₂ + MgCl₂**
- Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- Развести культуру в 10-100 раз в 50 ml жидкой LB и подрастить до OD600=0,4-0,6
- Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- Слить супернатант и ресуспендировать в 15 ml холодного 0.1 M MgCl₂
- Инкубировать на льду 10 мин
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C

- Супернатант слить, ресуспендировать в 15 ml 0.1 M CaCl₂
- Инкубировать на льду 30 мин
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, ресуспендировать в 4 ml 0.1 M CaCl₂ + 20% глицерина, разделить на аликвоты по 500 µl
- Добавить к аликвотам плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- Добавить LB 900 µl
- Подрачивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)

Тематика рефератов

1. Использование генетически модифицированных микроорганизмов для производства лекарственных препаратов.
2. Использование генетически модифицированных микроорганизмов для биоремедиации загрязненных сред.
3. Промышленный синтез белков при участии рекомбинантных микроорганизмов.
4. Гены биодegradации ксенобиотиков и их распространение в загрязненных средах.
5. Генетические механизмы металлоустойчивости у бактерий.
6. Гены антибиотикорезистентности у бактерий.
7. lux-гены и их использование в мониторинговых исследованиях.
8. Полимеразная цепная реакция, принципы и ее использование.

9. Системы ДНК-диагностики. Гибридизационные зонды.

10. Генная терапия наследственных заболеваний человека и использование вирусных систем доставки генов.

Тест №1. (возможен в форме устного опроса):

1. объектом исследования генетики микроорганизмов служат:

- а) только бактерии
- б) грибы
- в) бактерии, вирусы, микроскопические грибы и водоросли
- г) растения и человек

2. методические особенности микроорганизмов по сравнению с растениями и животными:

- а) быстрый рост, более простая организация
- б) медленный рост, более сложная организация
- в) быстрый рост, более сложная организация
- г) медленный рост, более простая организация

3. Особая форма полового процесса у бактерий это –

- а) трансформация
- б) трансфекция
- в) трансдукция
- г) конъюгация

4) Австрийский биолог и ботаник, сыгравший огромную роль в развитии представления о наследственности

- а) Фридрих Мишер
- б) Грегор Мендель
- в) Маклин Маккарти

5) Американские ученые, которым удалось разгадать, как устроена молекула ДНК.

- а) Львов и Моно
- б) Левин и Жакоб

в) Уотсон и Крик

Тест №2 (возможен в форме устного опроса):

1. Состав ДНК:

- а) Остатки азотной кислоты, Рибоза, Азотистые основания
- б) Остатки серной кислоты, Дезоксирибоза, Азотистые основания
- в) Остатки соляной кислоты, Рибоза, Азотистые основания
- г) Остатки фосфорной кислоты, Дезоксирибоза, Азотистые основания

2. Основные нуклеотиды, входящие в состав ДНК:

- а) Аденин, Урацил, Цитозин, Тимин
- б) Аденин, Гуанин, Цитозин, Урацил
- в) Аденин, Гуанин, Цитозин, Тимин
- г) Аденин, Тимин, Цитозин, Урацил

3. Основные свойства двойной спирали ДНК:

- а) Нерегулярность, Антипараллельность, Комплементарность, Наличие регулярной вторичной структуры
- б) Регулярность, Антипараллельность, Комплементарность, Наличие регулярной вторичной структуры
- в) Нерегулярность, Антипараллельность, Комплементарность, Наличие регулярной первичной структуры
- г) Нерегулярность, Параллельность, Комплементарность, Наличие регулярной вторичной структуры

4. Репликация происходит по:

- а) полуконсервативному механизму
- б) консервативному механизму

5) Особая функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК:

- а) Элонгация
- б) Экспрессия
- в) Репликация

г) Репарация

Тест №3 (возможен в форме устного опроса):

1) Бактерии являются гаплоидными организмами:

- а) гаплоидными организмами
- б) диплоидными организмами
- в) тетраплоидными организмами
- г) аллоплоидными организмами

2) Небольшие цитоплазматические кольцевые молекулы ДНК, в несколько тысяч пар нуклеотидов, содержат несколько десятков генов:

- а) Нуклеотиды
- б) Плазмиды
- в) Опероны
- г) Ампликоны

3) ПЦР это:

- а) Полимеразная циклическая реакция
- б) Полимерная цепная реакция
- в) Полимеразная цепная реактивация
- г) Полимеразная цепная реакция

4) Бактериофаги – вирусы:

- а) Бактерий
- б) Животных
- в) Растений
- г) Грибов

5) Репликаза, полимераза участвующая в превращении:

- а) РНК → ДНК
- б) ДНК → ДНК
- в) РНК → РНК
- г) ДНК → РНК

Тест №4 (возможен в форме устного опроса):

1) Полилинкер – :

а) место в плазмиде, где закодирована устойчивость к антибиотикам

б) место в плазмиде, содержащее большое количество сайтов для рестриктаз – место, куда можно перенести исследуемый ген

в) место в плазмиде, где закодировано место начала репликации плазмид

г) место в плазмиде, где закодированы основные регуляторные элементы

2) F-фактор или F-плазмида – :

а) клеточный элемент, необходимый для конъюгации

б) клеточный элемент, необходимый для трансформации

в) клеточный элемент, необходимый для трансдукции

г) клеточный элемент, необходимый для репликации

3) Отличительная черта F⁺ -клеток:

а) отсутствие половых пилей, отсутствие F-фактора

б) наличие половых пилей, наличие F-фактора

4) R-фактор – :

а) плазида, контролирующая деление бактериальных клеток

б) плазида, контролирующая репликацию других плазмид

в) плазида, контролирующая устойчивость к антибиотикам и др. антибактериальным препаратам

г) плазида, контролирующая репликацию ДНК

5) Модель «разведения репрессора» – :

а) контроль деления клеток бактерий

б) контроль размножения бактериофагов

в) контроль расщепления плазмид в клетке

г) контроль размножения плазмид в клетке

Тест №5 (возможен в форме устного опроса):

1) Рекомбинация бактерий – это:

а) особый тип деления бактерий

б) процесс перехода бактериофага с литического на лизогенный путь

развития

в) обмен участками бактериальных хромосом в результате конъюгации, трансформации или трансдукции

г) процесс репликации плазмидной ДНК в бактериальных клетках

2) IS-элементы – это:

а) инсерционные последовательности

б) интеграционные последовательности

в) инвертированные последовательности

г) интегрированные последовательности

3) Ферменты, необходимые для переноса мобильных генетических элементов:

а) полимеразы

б) транспозазы

в) ревертазы

г) рестриктазы

4) Биологическая роль МГЕ бактерий:

а) сохранение полуконсервативного механизма наследования генетического материала

б) регуляция ферментативной активности бактериальных клеток в зависимости от внешних условий

в) увеличение продолжительности жизни бактериальной клетки

г) представляют собой важный механизм изменчивости и обмена генетическим материалом

5) можно ли отнести плазмиду F-фактор к мобильным генетическим элементам:

а) да

б) нет

Тест №6 (возможен в форме устного опроса):

1) Мутация – это:

- а) стойкое изменение генотипа
- б) стойкое изменение фенотипа
- в) стойкое изменение активности ревертазы
- г) стойкое изменение ДНК зависимой РНК полимеразы

2) Чаще принято мутации делить на:

- а) ядерные, хромосомные, генные
- б) геномные, хромосомные, генные
- в) геномные, хлоропластные, генные
- г) геномные, хромосомные, плазмидные

3) Полиплоидизация – это:

- а) образование организмов или клеток, геном которых представлен гаплоидным набором хромосом
- б) изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору
- в) образование организмов или клеток, геном которых представлен более чем двумя наборами хромосом

4) Потеря генетического материала:

- а) дупликация
- б) инверсия
- в) делеция
- г) транслокация

5) Рекомбинация – это:

- а) возникновение новых последовательностей РНК в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул
- б) возникновение новых последовательностей белков в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул
- в) возникновение новых последовательностей углеводов в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул
- г) возникновение новых последовательностей ДНК в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул

Тест №7 (возможен в форме устного опроса):

1) Трансдукция – это:

а) процесс переноса бактериальной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом

б) процесс переноса плазмидной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом

в) процесс переноса бактериальной РНК из одной клетки в другую бактериофагом

г) процесс переноса бактериальной ДНК из одной клетки в другую с помощью плазмид

2) Специфическая трансдукция – это:

а) когда плазида встраивается только в один участок хромосомы *E. coli*

б) когда плазида встраивается в несколько участков хромосомы *E. coli*

в) когда бактериофаг встраивается в несколько участков хромосомы *E. coli*

г) когда бактериофаг встраивается только в один участок хромосомы *E. coli*

3) Эффективность трансформации определяется:

а) количеством колоний, выросших на чашке Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

б) количеством плазмид, полученных из выросших колоний на чашках Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

в) количеством белка, полученного из выросших колоний на чашках Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

г) количеством тотальной ДНК, полученных из выросших колоний на чашках Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

4) Ауксотрофы – это:

а) микроорганизмы, способные расти на любых, без добавления специализированных веществ (отдельных аминокислот, витаминов).

б) микроорганизмы, утратившие способность синтезировать одно из веществ, необходимых для их роста (аминокислоту, витамин и др.)

в) особый тип вирусов

г) особый тип микроскопических грибов

5) Рестриктазы – это:

а) ферменты, катализирующие соединение фосфодиэфирных связей ДНК по определенным последовательностям ДНК

б) ферменты, катализирующие соединение пептидных связей белков

в) ферменты, катализирующие расщепление фосфодиэфирных связей ДНК по определенным последовательностям ДНК

г) ферменты, катализирующие расщепление пептидных связей белков

Итоговая контрольная работа

Вариант 1

1. Агробактерии. Основные этапы агробактериальной трансформации. Ti-плазмиды, структура.

2. Спонтанные мутации, частота мутирования у микроорганизмов.

3. Обратимость мутационного процесса. Супрессорные мутации.

Вариант 2

1. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Механизм конъюгации, значение. Использование конъюгации в генетическом конструировании бактерий.

2. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий

3. Регуляция экспрессии лактозного и трептофанового оперонов

Вопросы к экзамену

1. Предмет генетики микроорганизмов, предпосылки возникновения, ее

место среди других биологических дисциплин.

2. Особенности микроорганизмов как объектов генетических исследований.

3. Основные этапы развития достижений в области генетики микроорганизмов.

4. Значение генетики микроорганизмов.

5. Состав и структура ДНК.

6. Репликация ДНК прокариот.

7. Системы репарации ДНК.

8. Транскрипция у прокариот. Процессинг РНК.

9. Рибосомы прокариот. Трансляция мРНК.

10. Регуляция экспрессии лактозного оперона.

11. Регуляция экспрессии триптофанового оперона

12. Организация генетического аппарата у бактерий.

13. Признаки, характеризующие организацию генома прокариот, основные методы ее определения.

14. Генетические и физические карты, библиотеки геномов.

15. Стратегия секвенирования геномов прокариот.

16. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома.

17. Основные особенности геномов фагов.

18. Использование фагов для конструирования геномов.

19. РНК - геном бактериофагов. Жизненный цикл РНК-фагов на примере.

20. ДНК - геном бактериофагов (на примере).

21. Бактериофаг лямбда. Строение его генома, репликация ДНК.

22. Развитие фага лямбда. Механизмы индукции профага лямбда.

23. Плазмидная ДНК, организация, роль в бактериальной клетке.

Идентификация плазмид.

24. Типы плазмид, их значение, частота встречаемости, копияность.

25. F- факторы.

26. R-, RTF-факторы. Несовместимость.
27. Репликация плазмид. Роль плазмид в эволюции бактерий.
28. Использование плазмид в генетическом анализе и конструировании бактерий.
29. Типы МГЭ у бактерий и механизмы их перемещения.
30. Спонтанные мутации, частота мутирования у микроорганизмов. Обратимость мутационного процесса. Супрессорные мутации.
31. Индуцированный мутагенез, его механизмы.
32. Факторы индуцирования мутаций. Отбор мутантов.
33. Механизмы генетической рекомбинации у бактерий.
34. Способы рекомбинации.
35. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Механизм конъюгации, значение.
36. Конъюгационное картирование генов у бактерий.
37. Использование конъюгации в генетическом конструировании бактерий.
38. Генетическая трансформация и трансфекция у бактерий, механизмы.
39. Значение трансформации и трансфекции в экспериментах по генной инженерии.
40. Трансдукция у бактерий, ее открытие. Типы трансдукции.
41. Генетическое картирование с помощью трансдукции.
42. Роль трансдукции в генетическом конструировании и изменчивости бактерий.
43. Рестрикция и модификация. Механизмы. Ферменты. Значение.
44. Молекулярное клонирование, его применение.
45. Генетическая рекомбинация у бактериофагов.
46. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Дальневосточный федеральный университет»
(ДВФУ)
ИНСТИТУТ МИРОВОГО ОКЕАНА (ШКОЛА)

УТВЕРЖДАЮ
Директор Института Мирового
океана (школы)
_____ К.А. Винников
_____ « ____ » _____ 20 ____

КЛЮЧИ

правильных ответов, включая критерии
оценки, к ФОНДУ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

по дисциплине «Молекулярная генетика и геномика микроорганизмов»

*Направление подготовки 06.04.01 Биология, магистерская программа
«Морская микробиология»*

Форма подготовки очная

Вопросы к экзамену

1. Предмет генетики микроорганизмов, предпосылки возникновения, ее место среди других биологических дисциплин.
2. Особенности микроорганизмов как объектов генетических исследований.
3. Основные этапы развития достижений в области генетики микроорганизмов.
4. Значение генетики микроорганизмов.
5. Состав и структура ДНК.
6. Репликация ДНК прокариот.
7. Системы репарации ДНК.
8. Транскрипция у прокариот. Процессинг РНК.
9. Рибосомы прокариот. Трансляция мРНК.
10. Регуляция экспрессии лактозного оперона.
11. Регуляция экспрессии триптофанового оперона
12. Организация генетического аппарата у бактерий.
13. Признаки, характеризующие организацию генома прокариот, основные методы ее определения.
14. Генетические и физические карты, библиотеки геномов.
15. Стратегия секвенирования геномов прокариот.
16. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома.
17. Основные особенности геномов фагов.

18. Использование фагов для конструирования геномов.
19. РНК - геном бактериофагов. Жизненный цикл РНК-фагов на примере.
20. ДНК - геном бактериофагов (на примере).
21. Бактериофаг лямбда. Строение его генома, репликация ДНК.
22. Развитие фага лямбда. Механизмы индукции профага лямбда.
23. Плазмидная ДНК, организация, роль в бактериальной клетке.

Идентификация плазмид.

24. Типы плазмид, их значение, частота встречаемости, копияность.
25. F- факторы.
26. R-, RTF-факторы. Несовместимость.
27. Репликация плазмид. Роль плазмид в эволюции бактерий.
28. Использование плазмид в генетическом анализе и конструировании

бактерий.

29. Типы МГЭ у бактерий и механизмы их перемещения.
30. Спонтанные мутации, частота мутирования у микроорганизмов.

Обратимость мутационного процесса. Супрессорные мутации.

31. Индуцированный мутагенез, его механизмы.
32. Факторы индуцирования мутаций. Отбор мутантов.
33. Механизмы генетической рекомбинации у бактерий.
34. Способы рекомбинации.

35. Конъюгация, открытие конъюгации у E. coli. Механизм конъюгации, значение.

36. Конъюгационное картирование генов у бактерий.
37. Использование конъюгации в генетическом конструировании бактерий.
38. Генетическая трансформация и трансфекция у бактерий, механизмы.
39. Значение трансформации и трансфекции в экспериментах по генной

инженерии.

40. Трансдукция у бактерий, ее открытие. Типы трансдукции.
41. Генетическое картирование с помощью трансдукции.
42. Роль трансдукции в генетическом конструировании и изменчивости

бактерий.

43. Рестрикция и модификация. Механизмы. Ферменты. Значение.

44. Молекулярное клонирование, его применение.

45. Генетическая рекомбинация у бактериофагов.

46. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий

Ключи правильных ответов (включая критерии оценки) к устному ответу:

Таблица – Критерии выставления оценки на экзамене

Оценка	Требования
«5 баллов»	ставится тогда, когда студент свободно владеет материалом и не допускает ошибок при ответе на вопросы экзаменационного билета, кроме того легко ориентируется в материале изучаемой дисциплины, что отмечается в ответах на дополнительные вопросы.
«4 балла»	ставится тогда, когда студент знает весь изученный материал; но допускает некоторые неточности в ответах на вопросы экзаменационного билета и на дополнительные вопросы, которые задает преподаватель, но при этом может исправить ошибку при задавании ему наводящих вопросов.
«3 балла»	ставится тогда, когда студент испытывает затруднения при ответе на вопросы экзаменационного билета, плохо отвечает на дополнительные вопросы преподавателя.
«2 балла»	ставится тогда, когда студент не владеет материалам изучаемой дисциплины и не отвечает на дополнительные вопросы преподавателя.

2. Оценочные средства для текущей аттестации

Практическое занятие №1. Тема: «Предмет, этапы развития и значение исследований в области молекулярной генетики микроорганизмов»

1. Основные этапы развития достижений в области генетики микроорганизмов.

2. Теория «один ген – один фермент».

3. Проблема «адаптивных» мутаций у микроорганизмов.
4. Эксперименты Д. Бидла и Е. Татума
5. Исследования С. Лурия и М. Дельбрюка, Х. Ньюкомба, Д. Ледерберга, их значение для формирования научных подходов в генетике микроорганизмов.
6. Значение работ Д. Уотсона, Ф. Крика, Д. Ледерберга, В. Хейса, О. Эвери, А. Херши, Ж. Моно, Ф. Жакоба, С. Бензера и др. для развития генетики микроорганизмов.
7. Развитие генетики микроорганизмов в России. Б. Хесин и его школа.

Практическое занятие №2. Тема: «Молекулярные основы наследственности»

1. Химический состав и структура ДНК. Транскрипция и трансляция ДНК. Репарация ДНК. Ингибиторы транскрипции и трансляции
2. Строение ДНК и РНК полимераз
3. Обратная транскрипция. Регуляция экспрессии генов.
4. Лактозный оперон. Триптофановый оперон.
5. Островки патогенности
6. Иммунная система бактерий
7. Система секреции бактерий

Практическое занятие №3. Тема: «Организация генома бактерий и бактериофагов»

1. Признаки, характеризующие организацию генома прокариот, его отличие от генома эукариот.
2. Методы секвенирования нуклеотидных последовательностей (метод Сенгера и Максама-Гилберта) Стратегия секвенирования геномов прокариот. Нуклеоид бактерий.
3. Амплификация нуклеотидных последовательностей в хромосомах бактерий.
4. Бактериофаги как простейшая модель для изучения функционирования и строения генома. Основные особенности геномов фагов.
5. Использование фагов для конструирования геномов.
6. РНК - геном бактериофагов. Жизненный цикл РНК-фагов на примере MS2.
7. Репликация фаговой РНК.

8. ДНК – геном бактериофагов (на примере Т4 и Т7). Особенности экспрессии.
9. Бактериофаги с кольцевыми ДНК - геномами.
10. Литический и лизогенный жизненный цикл бактериофага (на примере лямбда фага)

Практическое занятие №3 (продолжение). Тема: «Плазмиды бактерий»

1. Размеры, форма плазмидной ДНК. Идентификация плазмид. Частота встречаемости плазмидной ДНК в клетках бактерий.
2. Типы плазмид, их значение. F-, R-, RTF-факторы, плазмиды биodeградации. Несовместимость.
3. Репликация плазмид. Взаимодействие плазмид с хромосомами бактерий. Рекомбинация между плазмидной ДНК.
4. Роль плазмид в эволюции бактерий.
5. Использование плазмид в генетическом анализе и конструировании бактерий.

Практическое занятие №3(продолжение). Тема: «Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий»

1. Открытие МГЭ бактерий.
2. Способы идентификации МГЭ бактерий, их распространенность у бактерий.
3. Типы МГЭ бактерий: инсерционные последовательности (IS), транспозоны (Tn – элементы). Механизмы перемещения МГЭ у бактерий.
4. Роль МГЭ в адаптациях бактерий, изменчивости их генома, межвидовом переносе генов и эволюции геномов.
5. Значение МГЭ для конструирования бактерий.

Практическое занятие №4. Тема: «Мутации у микроорганизмов» (1 час)

1. История развития представлений о мутационном процессе у бактерий.
2. Спонтанные мутации, частота мутирования.
3. Обратимость мутационного процесса.
4. Супрессорные мутации. Индуцированный мутагенез, его механизмы.
5. Факторы индуцирования мутаций. Отбор мутантов.
6. Точечные мутации (минсенси и нонсенси мутации)

Практическое занятие №5. Тема: «Генетическая рекомбинация у бактерий и бактериофагов»

1. Механизмы генетической рекомбинации у бактерий: общая гомологичная рекомбинация, сайт-специфическая рекомбинация, негомологичная рекомбинация. Способы рекомбинации.
2. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Роль конъюгации в эволюции бактерий.
3. Генетическая трансформация и трансфекция у бактерий. Открытие генетической трансформации у бактерий. Распространенность трансформации у бактерий в природе. Роль генетической трансформации в горизонтальном переносе генов.
4. Значение трансформации и трансфекции в экспериментах по генной инженерии.
5. Трансдукция у бактерий, ее открытие. Неспецифическая трансдукция. Специфическая трансдукция.Abortивная трансдукция. Трансдукция плазмидной ДНК. Генетическое картирование с помощью трансдукции. Роль трансдукции в генетическом конструировании и изменчивости бактерий.
6. Рестрикция и модификация. Механизмы. Ферменты. Значение.
7. Генетическая рекомбинация у бактериофагов, ее открытие. Роль рекомбинации в изменчивости бактериофагов. Генетические карты бактериофагов.

Таблица – Критерии оценки ответа на семинаре

Уровень освоения	Критерии оценки результатов обучения	Кол-во баллов
<i>Повышенный</i>	Ответ показывает прочные знания основных процессов изучаемой предметной области, отличается глубиной и полнотой раскрытия темы; владение терминологическим аппаратом; умение объяснять сущность, явлений, процессов, событий, делать выводы и обобщения, давать аргументированные ответы, приводить примеры; свободное владение монологической речью, логичность и последовательность ответа; умение приводить примеры современных проблем изучаемой области	<i>100 – 86</i>

<i>Базовый</i>	Ответ, обнаруживающий прочные знания основных процессов изучаемой предметной области, отличается глубиной и полнотой раскрытия темы; владение терминологическим аппаратом; умение объяснять сущность, явлений, процессов, событий, делать выводы и обобщения, давать аргументированные ответы, приводить примеры; свободное владение монологической речью, логичность и последовательность ответа. Однако допускается одна-две неточности в ответе	85 – 76
<i>Пороговый</i>	Ответ, свидетельствующий в основном о знании процессов изучаемой предметной области, отличающийся недостаточной глубиной и полнотой раскрытия темы; знанием основных вопросов теории; слабо сформированными навыками анализа явлений, процессов, недостаточным умением давать аргументированные ответы и приводить примеры; недостаточно свободным владением монологической речью, логичностью и последовательностью ответа. Допускается несколько ошибок в содержании ответа; неумение привести пример развития ситуации, провести связь с другими аспектами изучаемой области	75 – 61
<i>Уровень не достигнут</i>	Ответ, обнаруживающий незнание процессов изучаемой предметной области, отличающийся неглубоким раскрытием темы; незнанием основных вопросов теории, несформированными навыками анализа явлений, процессов; неумением давать аргументированные ответы, слабым владением монологической речью, отсутствием логичности и последовательности. Допускаются серьезные ошибки в содержании ответа; незнание современной проблематики изучаемой области	60 – 0

Тематика рефератов

1. Использование генетически модифицированных микроорганизмов для производства лекарственных препаратов.
2. Использование генетически модифицированных микроорганизмов для биоремедиации загрязненных сред.
3. Промышленный синтез белков при участии рекомбинантных микроорганизмов.
4. Гены биodeградации ксенобиотиков и их распространение в загрязненных средах.
5. Генетические механизмы металлоустойчивости у бактерий.
6. Гены антибиотикорезистентности у бактерий.
7. lux-гены и их использование в мониторинговых исследованиях.

8. Полимеразная цепная реакция, принципы и ее использование.
9. Системы ДНК-диагностики. Гибридизационные зонды.
10. Генная терапия наследственных заболеваний человека и использование вирусных систем доставки генов.

Критерии оценки реферата

Оценка	Требования
<i>«зачтено»</i>	Студент владеет навыками самостоятельной работы по теме исследования, реферировать литературные источники; методами анализа теоретических и/или практических аспектов изучаемой области. Реферат характеризуется смысловой цельностью, связностью и последовательностью изложения. Студент умеет обобщать фактический материал, делать самостоятельные выводы. Работа соответствует требованиям и выполнена в установленные сроки.
<i>«не зачтено»</i>	Не раскрыта структура и теоретическая составляющая темы. Студент не умеет обобщать фактический материал, делать самостоятельные выводы, не владеет навыком реферировать литературные источники. Реферат не выполнен.

Лабораторные работы

Лабораторная работа № 1 Выделение геномной и плазмидной ДНК согласно протоколу коммерческих наборов. Например, выделение бактериальной ДНК с помощью спин-колонок производителя БиолабМикс

Ход работы.

Состав набора

PBS

Буфер для лизиса LB

Буфер для промывки WB1

Буфер для промывки WB2

Буфер для элюции EB 5

Протеиназа K, раствор

Буфер для растворения лизоцима

Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца

Грамотрицательные бактерии.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более $1 \cdot 10^8$ клеток) в одноразовую микропробирку.

2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 gcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 150 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при температуре 56 ° С.
6. Добавить к образцу 500 мкл буфера для нанесения на колонку LB.
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25 0C).

Грамположительные бактерии

Подготовка раствора лизоцима:

- К навеске лизоцима чистым одноразовым наконечником добавить необходимый объём буфера для растворения лизоцима (входит в состав набора).
- Тщательно перемешать на вортексе.
- Инкубировать 30 мин при Tкомн (15-25 0C), периодически перемешивая до полного растворения лизоцима.
- Хранить при -20 0C.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более $1 \cdot 10^8$ клеток) в одноразовую микропробирку.
2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 gcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в буфере для растворения лизоцима (50 mM Tris-HCl (pH 8), 10 mM EDTA (pH 8), 50% глицерин).

Примечание: лизоцим не входит в набор, буфер для растворения лизоцима поставляется вместе с набором. Раствор лизоцима хранить в буфере для

растворения лизоцима не более 6 месяцев при -20 0С.

4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 10 мин при Tкомн (15-25 0С).
5. Чистым одноразовым наконечником добавить 50 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
6. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
7. Инкубировать 10 мин при температуре 56⁰ С.
8. Добавить к образцу 600 мкл буфера для лизиса LB.
9. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25 0С).

Нанесение на колонку

1. Перенести 800 мкл лизата на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
2. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: Если объём лизата больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование. Если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование увеличив время и/или скорость центрифугирования, не добавляя новую порцию буфера LB.

Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.
2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 12000 gcf. Удалить фильтрат.
3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера WB2.

Элюция ДНК

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл (не входит в состав набора). Плотно прижать колонку к пробирке.

2. Нанести на центр фильтра колонки от 60 до 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25 °C). Центрифугировать 1 мин, 10000 gcf.

□ При увеличении объёма элюции увеличивается количество ДНК и снижается концентрация ДНК. Количество ДНК при элюции объёмами 60 и 200 мкл может различаться в 1.5-2 раза.

□ Вторая элюция новой аликвотой буфера для элюции EB или повторное нанесение элюата на колонку позволяет дополнительно увеличить количество ДНК.

□ Буфер для элюции содержит 0.01 M Tris•HCl (pH 8.0). Элюировать образец также можно TE буфером (0.01 M Tris-HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0-8.5) либо водой (pH 8.0-8.5, pH доводить раствором NaOH).

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20 °C. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1-1 mM.

Примечание: EDTA может ингибировать ферментативные реакции, например, ПЦР.

10. Анализ выделенной ДНК

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК при $\lambda = 260$ нм.

Посчитать концентрацию ДНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

*$A_{260} * \text{разбавление} * 50$ мкг/мл.*

Характерные соотношения оптической плотности $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.

Лабораторная работа №2 ПЦР-амплификация

Амплификация фрагментов ДНК с использованием коммерческих наборов. На примере использования реагентов производства БиолабМикс

В состав БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) реакционной смеси входят все необходимые компоненты для проведения ПЦР (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

высокопроцессивная рекомбинантная Taq ДНК-полимераза,

смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов,

ПЦР буфер

Mg²⁺

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь, осторожно и тщательно перемешайте.
2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавьте следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×)	25	1×
Прямой праймер	переменный	0,1 – 300 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1 – 300 нМ
ДНК-матрица	переменный	10 пг – 1 мкг
Стерильная вода	до 50 мкл	

4. Проведите ПЦР, используя рекомендованный режим:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5-7 мин	1
Денатурация	95	15 – 30 сек	25 - 40
Отжиг	50 – 68 (Tm-5)	15 - 30 сек	
Элонгация	72	1 мин/т.п.о.	
Финальная элонгация	72	5 – 15 мин	1

T_m - температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета T_m можно воспользоваться формулой: T_m (°C) = 2 x (A+T) + 4 x (G+C).

5. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

Примечание: для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1xTAE буфер с бромистым этидием.

Примечание: Подвижность красителей в 0.5 – 1.5% агарозном геле

Ксилен цианол	Бромфеноловый синий	Orange G	Тартразин
10000 – 4000 п.о.	500-400 п.о.	<100 п.о.	<20 п.о.

Пример

Для амплификации необходимого ДНК фрагмента используйте набор реагентов «БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×)» фирмы «Biolabmix» (Россия) согласно протоколу с добавлением универсальных бактериальных праймеров 27F 5' – AGAGTTTGATCMTGGCTCAG – 3' и 1350R 5'– GACGGGCGGTGTGTACAAG – 3'. Амплификацию проводите с использованием следующего режима: 94 °С – 4 мин (1 цикл); 94 °С – 60 сек, 48 °С – 60 сек, 72 °С – 90 сек (5 циклов); 92 °С – 60 сек, 50 °С – 110 сек, 72 °С – 90 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 52 °С – 60 сек, 72 °С – 60 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 54 °С – 60 сек, 72 °С – 110 сек (10 циклов); 72° С – 10 мин (1 цикл) [5]. Полученные ампликоны разделите в агарозном геле (1%-ном) с добавлением этидиум бромид в электрофорезной камере (при напряженности поля около 2 В/см), результаты учитывайте на трансиллюминаторе под ультрафиолетовым излучением. Продукты амплификации нужной длины вырежьте из геля и экстрагируйте ДНК с помощью набора реагентов для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей «ColGen» фирмы «Синтол» (Россия) согласно протоколу.

Лабораторная работа № 2 (продолжение) Подготовка образцов к секвенированию по методу Сенгера

После выделения из геля и очистки, ПЦР-продукты используйте набор реагентов Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) для подготовки нуклеотидных последовательностей к прочтению на Секвенаторе согласно протоколу.

Лабораторная работа № 3 Анализ нуклеотидных последовательностей ДНК

1. Ручная корректировка файла с хроматограммой и последовательностью в программе BioEdit
 - Корректировка нуклеотидной последовательности, замена вырожденных букв и N
 - Сборка последовательности из двух и более фрагментов
2. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей

- Сравнительный анализ заданной последовательности с помощью пакета программ FASTA

- Сравнительный анализ заданной последовательности с помощью пакета программ BLAST

3. Выравнивание последовательностей в программе ClustalX

4. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей

- Выравнивание последовательностей в программе Mega 7(X)

- Работа в программе Mega. Проведение филогенетического анализа

- Работа в программе Mega. Корректировка филогенетического дерева

Лабораторная работа №4 Трансформация *E. Coli*

Метод PEG-DMSO

Использовать охлаждённый TSS буфер и охлаждённые пробирки.

Состав TSS буфера на 1 ml:

PEG 4000 – 0,1 g

MgCl₂ – 30 µl (1M)

DMSO – 50 µl

LB et to 1 ml

27) Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C

28) Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки

29) Развести культуру в 10-100 раз (на одну пробу необходимо культуры 2-10 ml) и подрастить до OD₆₀₀=0,4-0,6

30) Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C

31) Слить супернатант и ресуспендировать осадок в необходимом объёме TSS буфера (на одну пробу необходимо 100 µl)

32) Добавить плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min

33) Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec

34) Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min

35) Добавить LB 900 µl

36) Подращивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа

- 37) Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- 38) Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- 39) Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)

Метод CaCl₂

- Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- Развести культуру в 10-100 раз в 50 ml жидкой LB и подрастить до OD₆₀₀=0,4-0,6
- Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- Слить супернатант и ресуспендировать в 25 ml холодного 0.1 M CaCl₂
- Инкубировать на льду 1 час
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, клетки ресуспендировать в 4 ml 0,1 M CaCl₂ + 15% глицерина, разделить на аликвоты по 500 µl
- Добавить к аликвотам плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- Добавить LB 900 µl
- Подращивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду)

- **Метод CaCl₂ + MgCl₂**
- Посадить культуру на твёрдой LB, культивировать сутки при 37 °C
- Посадить ночник с твёрдой среды в 1 ml жидкой LB, культивировать при 37 °C сутки
- Развести культуру в 10-100 раз в 50 ml жидкой LB и подрастить до OD₆₀₀=0,4-0,6
- Центрифугировать культуру при 3000g 5 min при 4 °C
- Слить супернатант и ресуспендировать в 15 ml холодного 0.1 M MgCl₂
- Инкубировать на льду 10 мин
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, ресуспендировать в 15 ml 0.1 M CaCl₂
- Инкубировать на льду 30 мин
- Центрифугировать 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить, ресуспендировать в 4 ml 0.1 M CaCl₂ + 20% глицерина, разделить на аликвоты по 500 µl
- Добавить к аликвотам плазмиды/конструкции, инкубация на льду 30 min
- Heat shock на водяной бане при 42 °C 25-50 sec
- Остудить при комнатной температуре (RT=24 °C) 2 min → лёд на 3 min
- Добавить LB 900 µl
- Подращивать на термошейкере при 37 °C в течение 1 часа
- Центрифугировать при 3000g 5 min при 4 °C
- Супернатант слить так, чтобы осталось 100 µl LB. Ресуспендировать в этом объёме и растереть по чашке стеклянным шпателем до полного впитывания
- Инкубировать ночь при 37 °C крышкой вниз (чтобы конденсат не капал на среду).

Критерии оценки лабораторных работ

Оценка	Требования
	Студент выполняет лабораторную работу в полном объёме с соблюдением необходимой последовательности проведения

«зачтено»	измерений, правильно самостоятельно определяет цель работы; самостоятельно, рационально выбирает необходимое оборудование для получения наиболее точных результатов проводимой работы. Грамотно и логично описывает ход работы, правильно формулирует выводы, точно и аккуратно выполняет все записи, таблицы, рисунки, чертежи, графики, вычисления и т.п., умеет обобщать фактический материал. Допускается два/три недочёта или одна негрубая ошибка и один недочёт. Работа соответствует требованиям и выполнена в срок.
«не зачтено»	Студент выполнил работу не полностью, объём выполненной части не позволяет сделать правильные выводы; не определяет самостоятельно цель работы; в ходе работы допускает одну и более грубые ошибки, которые не может исправить, или неверно производит наблюдения, измерения, вычисления и т.п.; не умеет обобщать фактический материал. Лабораторная работа не выполнена.

Тест №1. (возможен в форме устного опроса):

1. объектом исследования генетики микроорганизмов служат:
 - а) только бактерии
 - б) грибы
 - в) бактерии, вирусы, микроскопические грибы и водоросли
 - г) растения и человек
2. методические особенности микроорганизмов по сравнению с растениями и животными:
 - а) быстрый рост, более простая организация
 - б) медленный рост, более сложная организация
 - в) быстрый рост, более сложная организация
 - г) медленный рост, более простая организация
3. Особая форма полового процесса у бактерий это –
 - а) трансформация
 - б) трансфекция
 - в) трансдукция
 - г) конъюгация
- 4) Австрийский биолог и ботаник, сыгравший огромную роль в развитии представления о наследственности
 - а) Фридрих Мишер
 - б) Грегор Мендель

в) Маклин Маккарти

5) Американские ученые, которым удалось разгадать, как устроена молекула ДНК.

а) Львов и Моно

б) Левин и Жакоб

в) Уотсон и Крик

Тест №2 (возможен в форме устного опроса):

1. Состав ДНК:

а) Остатки азотной кислоты, Рибоза, Азотистые основания

б) Остатки серной кислоты, Дезоксирибоза, Азотистые основания

в) Остатки соляной кислоты, Рибоза, Азотистые основания

г) Остатки фосфорной кислоты, Дезоксирибоза, Азотистые основания

2. Основные нуклеотиды, входящие в состав ДНК:

а) Аденин, Урацил, Цитозин, Тимин

б) Аденин, Гуанин, Цитозин, Урацил

в) Аденин, Гуанин, Цитозин, Тимин

г) Аденин, Тимин, Цитозин, Урацил

3. Основные свойства двойной спирали ДНК:

а) Нерегулярность, Антипараллельность, Комплементарность, Наличие регулярной вторичной структуры

б) Регулярность, Антипараллельность, Комплементарность, Наличие регулярной вторичной структуры

в) Нерегулярность, Антипараллельность, Комплементарность, Наличие регулярной первичной структуры

г) Нерегулярность, Параллельность, Комплементарность, Наличие регулярной вторичной структуры

4. Репликация происходит по:

а) полуконсервативному механизму

б) консервативному механизму

5) Особая функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК:

- а) Элонгация
- б) Экспрессия
- в) Репликация
- г) Репарация

Тест №3 (возможен в форме устного опроса):

1) Бактерии являются гаплоидными организмами:

- а) гаплоидными организмами
- б) диплоидными организмами
- в) тетраплоидными организмами
- г) аллоплоидными организмами

2) Небольшие цитоплазматические кольцевые молекулы ДНК, в несколько тысяч пар нуклеотидов, содержат несколько десятков генов:

- а) Нуклеотиды
- б) Плазмиды
- в) Опероны
- г) Ампликоны

3) ПЦР это:

- а) Полимеразная циклическая реакция
- б) Полимерная цепная реакция
- в) Полимеразная цепная реактивация
- г) Полимеразная цепная реакция

4) Бактериофаги – вирусы:

- а) Бактерий
- б) Животных
- в) Растений
- г) Грибов

5) Репликаза, полимеразы участвующая в превращении:

- а) РНК → ДНК
- б) ДНК → ДНК
- в) РНК → РНК
- г) ДНК → РНК

Тест №4 (возможен в форме устного опроса):

1) Полилинкер – :

- а) место в плазмиде, где закодирована устойчивость к антибиотикам
- б) место в плазмиде, содержащее большое количество сайтов для рестриктаз – место, куда можно перенести исследуемый ген
- в) место в плазмиде, где закодировано место начала репликации плазмид
- г) место в плазмиде, где закодированы основные регуляторные элементы

2) F-фактор или F-плазмида – :

- а) клеточный элемент, необходимый для конъюгации
- б) клеточный элемент, необходимый для трансформации
- в) клеточный элемент, необходимый для трансдукции
- г) клеточный элемент, необходимый для репликации

3) Отличительная черта F⁺ -клеток:

- а) отсутствие половых пилей, отсутствие F-фактора
- б) наличие половых пилей, наличие F-фактора

4) R-фактор – :

- а) плазида, контролирующая деление бактериальных клеток
- б) плазида, контролирующая репликацию других плазмид
- в) плазида, контролирующая устойчивость к антибиотикам и др. антибактериальным препаратам
- г) плазида, контролирующая репликацию ДНК

5) Модель «разведения репрессора» – :

- а) контроль деления клеток бактерий
- б) контроль размножения бактериофагов
- в) контроль расщепления плазмид в клетке

г) контроль размножения плазмид в клетке

Тест №5 (возможен в форме устного опроса):

1) Рекомбинация бактерий – это:

а) особый тип деления бактерий

б) процесс перехода бактериофага с литического на лизогенный путь развития

в) обмен участками бактериальных хромосом в результате конъюгации, трансформации или трансдукции

г) процесс репликации плазмидной ДНК в бактериальных клетках

2) IS-элементы – это:

а) инсерционные последовательности

б) интеграционные последовательности

в) инвертированные последовательности

г) интегрированные последовательности

3) Ферменты, необходимые для переноса мобильных генетических элементов:

а) полимеразы

б) транспозазы

в) ревертазы

г) рестриктазы

4) Биологическая роль МГЕ бактерий:

а) сохранение полуконсервативного механизма наследования генетического материала

б) регуляция ферментативной активности бактериальных клеток в зависимости от внешних условий

в) увеличение продолжительности жизни бактериальной клетки

г) представляют собой важный механизм изменчивости и обмена генетическим материалом

5) можно ли отнести плазмиду F-фактор к мобильным генетическим элементам:

- а) да
- б) нет

Тест №6 (возможен в форме устного опроса):

1) Мутация – это:

- а) стойкое изменение генотипа
- б) стойкое изменение фенотипа
- в) стойкое изменение активности ревертазы
- г) стойкое изменение ДНК зависимой РНК полимеразы

2) Чаще принято мутации делить на:

- а) ядерные, хромосомные, генные
- б) геномные, хромосомные, генные
- в) геномные, хлоропластные, генные
- г) геномные, хромосомные, плазмидные

3) Полиплоидизация – это:

- а) образование организмов или клеток, геном которых представлен гаплоидным набором хромосом
- б) изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору
- в) образование организмов или клеток, геном которых представлен более чем двумя наборами хромосом

4) Потеря генетического материала:

- а) дупликация
- б) инверсия
- в) делеция
- г) транслокация

5) Рекомбинация – это:

- а) возникновение новых последовательностей РНК в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул
- б) возникновение новых последовательностей белков в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул

в) возникновение новых последовательностей углеводов в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул

г) возникновение новых последовательностей ДНК в результате разрывов и последующих восстановлений ее молекул

Тест №7 (возможен в форме устного опроса):

1) Трансдукция – это:

а) процесс переноса бактериальной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом

б) процесс переноса плазмидной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом

в) процесс переноса бактериальной РНК из одной клетки в другую бактериофагом

г) процесс переноса бактериальной ДНК из одной клетки в другую с помощью плазмид

2) Специфическая трансдукция – это:

а) когда плазида встраивается только в один участок хромосомы *E. coli*

б) когда плазида встраивается в несколько участков хромосомы *E. coli*

в) когда бактериофаг встраивается в несколько участков хромосомы *E. coli*

г) когда бактериофаг встраивается только в один участок хромосомы *E. coli*

3) Эффективность трансформации определяется:

а) количеством колоний, выросших на чашке Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

б) количеством плазмид, полученных из выросших колоний на чашках Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

в) количеством белка, полученного из выросших колоний на чашках Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в

которой есть устойчивость к исп. маркеру

г) количеством тотальной ДНК, полученных из выросших колоний на чашках Петри с селективным маркером после добавления к клеткам 1 мкг плазмидной ДНК в которой есть устойчивость к исп. маркеру

4) Ауксотрофы – это:

а) микроорганизмы, способные расти на любых, без добавления специализированных веществ (отдельных аминокислот, витаминов).

б) микроорганизмы, утратившие способность синтезировать одно из веществ, необходимых для их роста (аминокислоту, витамин и др.)

в) особый тип вирусов

г) особый тип микроскопических грибов

5) Рестриктазы – это:

а) ферменты, катализирующие соединение фосфодиэфирных связей ДНК по определенным последовательностям ДНК

б) ферменты, катализирующие соединение пептидных связей белков

в) ферменты, катализирующие расщепление фосфодиэфирных связей ДНК по определенным последовательностям ДНК

г) ферменты, катализирующие расщепление пептидных связей белков

Критерии оценки тестовых заданий

Уровень освоения	Критерии оценки результатов	Кол-во баллов
<i>Повышенный</i>	Оценка «отлично» / «зачтено» выставляется студенту, если он глубоко и прочно усвоил программный материал, исчерпывающе, последовательно, четко и логически стройно его излагает, умеет тесно увязывать теорию с практикой, свободно справляется с задачами, вопросами и другими видами применения знаний, причем не затрудняется с ответом при видоизменении заданий, использует в ответе материал монографической литературы, правильно обосновывает принятое решение, владеет разносторонними навыками и приемами выполнения практических задач	100 – 86
<i>Базовый</i>	Оценка «хорошо» / «зачтено» выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, не допуская существенных неточностей в ответе на вопрос, правильно применяет теоретические положения при решении практических вопросов и задач, владеет необходимыми навыками и приемами их выполнения	85 – 76

<i>Пороговый</i>	Оценка «удовлетворительно» / «зачтено» выставляется студенту, если он имеет знания только основного материала, но не усвоил его деталей, допускает неточности, недостаточно правильные формулировки, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, испытывает затруднения при выполнении практических работ	75 – 61
<i>Уровень не достигнут</i>	Оценка «неудовлетворительно» / «не зачтено» выставляется студенту, который не знает значительной части программного материала, допускает существенные ошибки, неуверенно, с большими затруднениями выполняет практические работы. Как правило, оценка «неудовлетворительно» ставится студентам, которые не могут продолжить обучение без дополнительных занятий по соответствующей дисциплине	60 – 0

Итоговая контрольная работа

Вариант 1

1. Агробактерии. Основные этапы агробактериальной трансформации. Ti-плазмиды, структура.

2. Спонтанные мутации, частота мутирования у микроорганизмов.

3. Обратимость мутационного процесса. Супрессорные мутации.

Вариант 2

1. Конъюгация, открытие конъюгации у *E. coli*. Механизм конъюгации, значение. Использование конъюгации в генетическом конструировании бактерий.

2. Мобильные генетические элементы (МГЭ) бактерий

3. Регуляция экспрессии лактозного и трептофанового оперонов

Ключи правильных ответов (включая критерии оценки) к контрольной работе:

Таблица – Критерии оценки контрольной работы

Оценка	Требования
«5 баллов»	если ответ показывает глубокое и систематическое знание всего программного материала и структуры конкретного вопроса. Студент демонстрирует отчетливое и свободное владение концептуально-понятийным аппаратом, научным языком и терминологией соответствующей научной области. Логически корректное и убедительное изложение

	ответа.
«4 балла»	если он демонстрирует знание узловых проблем программы и основного содержания вопросов. В целом логически корректное, но не всегда точное и аргументированное изложение ответа.
«3 балла»	если он демонстрирует фрагментарные знания, поверхностные знания важнейших вопросов; стремление логически определенно и последовательно изложить ответ.
«2 балла»	за незнание, либо отрывочное представление о данной проблеме в рамках учебно-программного материала; неумение использовать понятийный аппарат; отсутствие логической связи в ответе