

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ** Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова» (КБГУ)

Институт химии и биологии

Кафедра биологии, геоэкологии и молекулярно-генетических основ живых систем

СОГЛАСОВАНО
Руководитель образовательной
программы
_____ **А.Ю.Паритов**

« _____ » _____ **20** _____ г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор института
_____ **А.М. Хараев**

« _____ » _____ **20** _____ г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

Б1.В.04. «Технология ПЦР анализа»

Направление подготовки
06.03.01 Биология
(код и наименование направления подготовки)

Профиль подготовки
Биология клетки, «Биоэкология»
(наименование профиля)

Квалификация (степень) выпускника
БАКАЛАВР

Форма обучения
очная

Нальчик 2020

Рабочая программа дисциплины «Технология ПЦР анализа»
/сост. З.И. Боготова – Нальчик: КБГУ, 2020. - 24 с.

Рабочая программа предназначена для преподавания дисциплины по выбору *вариативной* части студентам *очной формы обучения* по направлению подготовки 06.03.01 Биология, 6 семестра, 3 курса.

Рабочая программа составлена с учетом Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, утвержденного приказом Министерства образования и науки Российской Федерации «07» августа 2014 г. № 944.

Составитель _____ **З.И. Боготова**
(подпись)

3.1. Цели и задачи освоения дисциплины (модуля)

Цели дисциплины ознакомление студентов с основными принципами, методологией полимеразной цепной реакции (ПЦР) - метода молекулярной генетики, широко используемого как в науке, так и в практике.

Задачи изучения дисциплины:

- освоение теоретических основ полимеразной цепной реакции;
- приобретение студентами навыков работы с современным оборудованием для проведения молекулярно-генетических исследований;
- овладение студентами методом полимеразной цепной реакции.

3.2. Место дисциплины в структуре ОПОП ВО

Преподавание курса «Технология ПЦР-анализа» является одним из этапов подготовки дипломированных бакалавров биологов.

Программа курса составлена с учетом требований типовой программы учебных дисциплин для высших учебных заведений. Дисциплина «Технология ПЦР анализа» относится к дисциплинам по выбору вариативной части профессионального цикла Б1.В.04 и преподается в течение 6 семестра на 3 курсе бакалавриата студентам очной формы обучения.

На изучение курса отводится 108 часов (3 з.е.), из них контактной работы 68 часов – лекции – 34, лабораторных - 34 и для самостоятельной работы 13 часов, заканчивается экзаменом – 27 часов.

Основные знания, необходимые для изучения дисциплины:

- цитология;
- генетика;
- молекулярная биология;
- молекулярная генетика.

3.3. Требования к результатам освоения содержания дисциплины

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО и ОПОП ВО по данному направлению подготовки:

обще профессиональных (ОПК): **ОПК-7** – способность применять базовые представления об основных закономерностях и современных достижениях генетики и селекции, о геномике, протеомике;

профессиональными компетенциями: **ПК-1** – способность эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ.

В результате освоения дисциплины обучающийся должен:

- **получить представление** о методе ПЦР-анализа, технологии его проведения.

Знать:

- Смысл ПЦР. Механизм проведения ПЦР.
- Стадии постановки и этапы ПЦР.
- О разных видах ПЦР.
- ПЦР с использованием флуоресцентной метки.
- ПЦР в реальном времени.

Уметь:

- правильно подготовить рабочее место для проведения ПЦР.
- производить расчеты по определению температуры отжига праймеров.
- производить расчеты по определению количества прямого и обратного праймеров.
- оптимизировать условия проведения ПЦР реакции.

Владеть:

- методами проподготовки биологического материала для дальнейшего его использования при проведении ПЦР-анализа;
- методами постановки ПЦР анализа;
- методами электрофоретической детекции продуктов амплификации;

3.4. Содержание и структура дисциплины (модуля)**Содержание разделов дисциплины****Содержание разделов дисциплины**

№ раздела	Наименование раздела	Содержание раздела	Форма текущего контроля
1	2	3	4
1	Раздел 1. История развития метода ПЦР. Эволюция ПЦР. Виды ПЦР.	В этом разделе рассматриваются основные этапы рождения ПЦР. Смысл полимеразной цепной реакции (ПЦР). Существующие на сегодня виды ПЦР.	Т, К
2	Раздел 2. Принципы организации ПЦР-лаборатории и оборудование для ее организации.	В данном разделе обсуждаются вопросы по лабораторному оборудованию и принципам организации лаборатории пригодной для проведения ПЦР. Основные требования для проведения ПЦР, основные нормативные документы, регламентирующие работу в ПЦР-лаборатории.	Т, К, ЛР
3	Раздел 3. Основные компоненты реакционной смеси	В этом разделе рассматриваются основные компоненты реакции. Синтетические олигонуклеотиды. Состав буфера. Роль ионов магния. Дезоксинуклеотидтрифосфаты, термостабильные бактериальные полимеразы, особенности применения.	Т, К, ЛР
4	Раздел 4. Основные этапы проведения амплификации. Стадии проведения ПЦР-анализа.	Этот раздел посвящен рассмотрению стадий проведения ПЦР-анализа, подробному анализу основных этапов постановки амплификации: плавление ДНК, отжиг олигонуклеотидных праймеров, стадия элонгации. Основные стадии постановки ПЦР-анализа.	Т, К, ЛР
5	Раздел 5. Разновидности ПЦР, альтернативные способы амплификации нуклеиновых кислот	В этом разделе рассматриваются разновидности ПЦР (аллель-специфическая ПЦР, зонды типа «висячий замок», иммуно ПЦР и др.).	Т, К, ЛР

6	Раздел 6. Проблемы, возникающие при постановке ПЦР	В этом разделе рассматриваются вопросы возникающих при постановке ПЦР, контаминация, внутренние контроли.	Т, К, ЛР
7	Раздел 7. Количественная ПЦР	В этом разделе рассматриваются ПЦР в реальном времени, системы детекции продуктов амплификации.	Т, К, ЛР
8	Раздел 8. Применение ПЦР в различных отраслях.	Данный раздел посвящен вопросам использования ПЦР-технологий в различных отраслях сферы жизни человека. Лабораторная клиническая диагностика, микробиология, ветеринария, пивоварение и другие биотехнологические отрасли. Применение ПЦР-метода для разных видов научно-исследовательской работы.	К, Р, ЛР

Структура дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетных единицы (108 часов)

Вид работы	Всего
Общая трудоемкость	108
Контактная работа:	68
<i>Лекции (Л)</i>	34
<i>Практические занятия (ПЗ)</i>	
<i>Лабораторные работы (ЛР)</i>	34
Самостоятельная работа:	13
Курсовой проект (КП), курсовая работа (КР)	
Расчетно-графическое задание (РГЗ)	
Реферат (Р)	
Эссе (Э)	
Самостоятельное изучение разделов	
Контрольная работа (К)	
Самоподготовка (проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий, подготовка к лабораторным и практическим занятиям, коллоквиумам, рубежному контролю и т.д.),	
Подготовка и сдача экзамена	27
Вид итогового контроля (зачет, экзамен)	экзамен

ЛЕКЦИИ

Тематический план лекций по курсу «Технология ПЦР анализа»

№ п/п	Тема	Литература
1.	Раздел 1. История развития метода ПЦР.	Горбунова В.Н. и др. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных болезней. – С-П. Специальная литература,
	Тема 1. Исторические	

	предпосылки создания метода ПЦР. Эволюция ПЦР. Виды ПЦР.	1997. – 287 с. Горбунова В.Н. Молекулярные основы медицинской генетики. – С-П. – 1999. – 210 с. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика: учебное пособие. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. - 2007. - 480 с. ISBN-5-379-00375-3
2	Раздел 3. Основные компоненты реакционной смеси	Гены. Под ред. Льюина. Издательство: Бинوم. Лаборатория знаний. Бинوم пресс – 2011. - 951 с. ISBN: 978-5-94774-794-2
	Тема 2. Основные компоненты реакционной смеси.	Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. — Москва: Мир, 2002. — 589 с. — ISBN 5030033289
	Тема 3. Критические компоненты реакции.	Кишкун А.А. Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 704 с.: ил. ISBN: 978-5-9704-1798-0
3	Раздел 4. Основные этапы проведения амплификации. Стадии проведения ПЦР-анализа.	Примроуз С.. Геномика. Роль в медицине. Издательство: БИНОМ. Лаборатория знаний. Бинوم пресс – 2010 г. – 277 с. - ISBN: 978-5-94774-500-9
	Тема 4. Основные этапы проведения амплификации.	ПЦР в реальном времени. Издательство: "Бинум. Лаборатория знаний" - 2009.- 224 с.
	Тема 5. Стадии проведения ПЦР-анализа.	Сингер М. Гены и геномы. / М.Сингер, П. Берг //М.: Мир, 2002.
4	Раздел 5. Разновидности ПЦР, альтернативные способы амплификации нуклеиновых кислот	Арчаков А.М. Постгеномные технологии и молекулярная медицина. / А.М Арчаков //Вестник РАН, 2004. – Т. 74. - № 5. С.423-428.
	Тема 6. Разновидности ПЦР реакции.	Кулмамабетова Г. Современные проблемы биологии, ЕНУ, Астана, 2012 Электронный учебник.
	Тема 7. Одновременная амплификация последовательностей целого генома. Альтернативные способы амплификации.	Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. – М.: Мир. – 1984..
	Тема 8. Твердофазная ПЦР.	Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков: Учебник. МГУ, Наука. - Москва - 2005. - 336 с. ISBN: 5-211-04971-3
5	Раздел 6. Проблемы, возникающие при постановке ПЦР.	Сулимова Г.Е., Удина И.Г., Зинченко В.В. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции. – М: Макс Пресс, 2006. – 80 с.
	Тема 9. Проблемы, возникающие при постановке ПЦР реакции.	7 Чемерис А. В. Секвенирование ДНК /А.В.Чемерис, Э.Д.Ахунов, В.А.Вахитов. - М.: Наука, 1999.
	Тема 10. Контроль за прохождением реакции амплификации.	. Mullis K.B., Faloona F.A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction // Methods Enzymol. – 1987 – V. 155. – P. 335–350.
6	Раздел 7. Количественная ПЦР	
	Тема 11. Количественная ПЦР в реальном времени.	
7	Раздел 8. Применение ПЦР в различных отраслях.	
	Тема 12. Применение ПЦР в различных отраслях.	

Лабораторные работы

№ ЛР	№ Раздела	Наименование лабораторных работ	Кол-во часов
1		3	4
	2	Устройство и оснащение ПЦР-лаборатории.	
1	2	Лабораторное оборудование для пре-ПЦР территорий.	2
2	2	Лабораторное оборудование для ПЦР территорий.	2
3	2	Лабораторное оборудование для пост-ПЦР.	2
	3	Основные компоненты реакционной смеси	
4	3	Реагенты, оказывающие влияние на ПЦР реакцию	2
5	3	Расчеты по определению температуры отжига праймеров и расчеты по определению количества прямого и обратного праймеров	2
	4	Основные этапы проведения амплификации. Стадии проведения ПЦР-анализа.	
6	4	Выделение генетического материала из различных биологических образцов	4
7	4	Программирование амплификатора. Амплификация специфического фрагмента	4
8	4	Детекция и визуализация продуктов амплификации в гелях	4
	6	Проблемы, возникающие при постановке ПЦР	
9	6	Организация мер по предотвращению и устранению контаминации	2
10	6	Контроль ПЦР. Ошибки ПЦР.	2
	7	Количественная ПЦР	
11	7	Оборудование для ПЦР «в реальном времени»	4
	8	Применение ПЦР в различных отраслях.	
12	8	Перспективы практического использования ПЦР-диагностики	4
		Итого	34

Тематический план лабораторных работ по курсу «Технология ПЦР-анализа».

№ п/п	Тема	Литература	Оборудование
1.			
1	Лабораторное оборудование для пре-ПЦР территорий.	Кишкун А.А. Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 704 с.: ил. ISBN: 978-5-9704-1798-0 Оберемок В. В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода. - Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. – Симферополь. - 2008. – 35 с.	1. Методические материалы. 2. Инструкции по техническим характеристикам лабораторного оборудования. 3. ПЦР-лаборатория с оборудованием.
2	Лабораторное оборудование для ПЦР территорий.		
3	Лабораторное оборудование для пост-ПЦР.		
4	Реагенты, оказывающие влияние на ПЦР реакцию	Боготова З.И. и др. Молекулярно-генетические методы и эволюция	1. Методические материалы.

5	Расчеты по определению температуры отжига праймеров и расчеты по определению количества прямого и обратного праймеров	живых систем. Метод. рекомендации к лабораторным работам, Нальчик 2011, КБГУ – 38 с. Оберемок В. В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода. - Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. – Симферополь. - 2008. – 35 с. Сулимова Г.Е., Удина И.Г., Зинченко В.В. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции. – М: Макс Пресс, 2006. – 80 с.	2. калькуляторы.
6	Выделение генетического материала из различных биологических образцов	Боготова З.И. и др. Молекулярно-генетические методы и эволюция живых систем. Методические рекомендации к лабораторным работам, Нальчик 2011, КБГУ – 38 с. Оберемок В. В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода. - Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. – Симферополь. - 2008. – 35 с. Сулимова Г.Е., Удина И.Г., Зинченко В.В. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции. – М: Макс Пресс, 2006. – 80 с.	1. ПЦР-лаборатория с оборудованием. 2. Различные биологические образцы. 3. Расходные материалы.
7	Программирование амплификатора. Амплификация специфического фрагмента.	полимеразной цепной реакции. – М: Макс Пресс, 2006. – 80 с.	1. Методические материалы. 2. ПЦР-лаборатория с оборудованием. 3. Образцы ДНК.
8	Детекция и визуализация продуктов амплификации в гелях		1. ПЦР-лаборатория с оборудованием. 2. Методические материалы. 3. Амплификаты
9	Организация мер по предотвращению и устранению контаминации	Кишкун А.А. Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 704 с.: ил. ISBN: 978-5-9704-1798-0	1. ПЦР-лаборатория с оборудованием. 2. Методические материалы.
10	Контроль ПЦР. Ошибки ПЦР.	Оберемок В. В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода. - Таврический	

		<p>национальный университет им. В.И. Вернадского. – Симферополь. - 2008. – 35 с.</p> <p>Патрушев Л.И. искусственные генетические системы. - Москва. Наука.- 2004 - 515 с.</p> <p>Зорина В.В. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методическое пособие. ДНК-технология –Москва.- 2012 г. www.dna-technology.ru</p>	
11	Оборудование для ПЦР «в реальном времени»	<p>Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. — Москва: Мир, 2002. — 589 с. — ISBN 5030033289</p> <p>Патрушев Л.И. искусственные генетические системы. - Москва. Наука.- 2004 - 515 с.</p> <p>ПЦР в реальном времени. Издательство: "Бином. Лаборатория знаний" - 2009.- 224 с.</p> <p>ПЦР в реальном времени. Издательство: "Бином. Лаборатория знаний" - 2009.- 224 с.</p>	<p>1.ПЦР-лаборатория с оборудованием.</p> <p>2. Методические материалы.</p>
12	Перспективы практического использования ПЦР-диагностики	<p>Зорина В.В. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методическое пособие. ДНК-технология –Москва.- 2012 г. www.dna-technology.ru</p> <p>Оберемок В. В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода. - Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. – Симферополь. - 2008. – 35 с.</p>	1. Методические материалы.

Практические занятия (семинары) не предусмотрены

Курсовой проект (курсовая работа) не предусмотрены

4.6 Самостоятельное изучение разделов дисциплины

№ раздела	Вопросы, выносимые на самостоятельное изучение	Кол-во часов
1	2	3
2	Нуклеиновые кислоты. Структура и значение. Транскрипция, трансляция, синтез белков.	2
5	Амплификация последовательностей с неизвестной первичной	2

	структурой	
6	Санитарно-эпидемиологические требования к работе в ПЦР-лаборатории	4
7	Развитие ПЦР «в реальном времени» как диагностического инструмента.	2
8	ПЦР и диагностика наследственных заболеваний	3
	Итого	13

3.5. Оценочные материалы для текущего и рубежного контроля успеваемости и промежуточной аттестации

В ходе семестра проводятся 3 рубежных текущих контроля, оцениваемых по 6 баллов.

Раздел 1. История развития метода ПЦР. Эволюция ПЦР. Виды ПЦР.

Раздел 2. Принципы организации ПЦР-лаборатории и оборудование для ее организации.

Раздел 3. Основные компоненты реакционной смеси.

Освоение тем раздела завершается формированием у студента следующих компетенций:

ОПК-7 – способностью применять базовые представления об основных закономерностях и современных достижениях генетики и селекции, о геномике, протеомике;

Средства оценивания компетенций

Компетенции по первым трем разделам оцениваются на письменном коллоквиуме, на лабораторных занятиях, а также с помощью процедуры компьютерного тестирования.

Вопросы на коллоквиум

История развития метода ПЦР.

Стандартная ПЦР. Дать характеристику этого вида ПЦР.

«Вложенная ПЦР». Дать характеристику этого вида ПЦР.

Инвертированная ПЦР. Дать характеристику этого вида ПЦР.

ПЦР с обратной транскрипцией. Дать характеристику этого вида ПЦР.

RAPD ПЦР. Дать характеристику этого вида ПЦР.

ПЦР длинных фрагментов. Дать характеристику этого вида ПЦР.

Перечислить рабочие зоны ПЦР-лаборатории. Дать характеристику проподготовочной зоны.

Множественная ПЦР. Дать характеристику этого вида ПЦР.

Перечислить основные компоненты реакционной смеси. Описать термофильные ДНК-полимеразы.

Перечислить рабочие зоны ПЦР-лаборатории. Дать характеристику зоны проведения ПЦР.

Гнездовая ПЦР. Дать характеристику этого вида ПЦР.

Перечислить основные компоненты реакционной смеси. Описать праймеры.

Перечислить рабочие зоны ПЦР-лаборатории. Дать характеристику зоны детекции.

Ассиметричная ПЦР. Дать характеристику этого вида ПЦР.

Перечислить основные компоненты реакционной смеси. Описать дезоксинуклеотидтрифосфаты и ионы магния.

Нуклеиновые кислоты. Структура и значение.

Реагенты, оказывающие влияние на ПЦР реакцию.
Критические компоненты реакции.

Типовые тестовые задания

I:

S: Основной единицей наследственности является:

- : ядро клетки
- : митохондриальная ДНК
- : геном
- +: ген

I:

S: Прокариоты – это:

- +: одноклеточные организмы, имеющие неоформленное ядро
- : клетки многоклеточного организма без ядер
- : дефектные ядра одноклеточных организмов
- : голые одиночные нуклеоиды бактерий

I:

S: Увеличение числа полных наборов хромосом:

- : гаплоидия
- : гетерозис
- +: полиплоидия
- : гетероплоидия

I:

S: Восстановление молекулы ДНК называется

- +: ренатурация
- : релаксация
- : рекомбинация
- : репарация

I:

S: Одноклеточные организмы, имеющие оформленное ядро:

- : пластиды
- : прокариоты
- : бактериофаги
- +: эукариоты

I:

S: Процесс, сущность которого составляет синтез мРНК на матрице ДНК, получил название:

- : трансляция
- +: транскрипция
- : рекомбинация
- : репликация

I:

S: Три рядом находящихся основания, обеспечивающих включение одного аминокислотного остатка в полипептидную цепь, либо сигнал начала или завершения транскрипции, называется:

- : оперон
- +: кодон
- : тРНК
- : гистон

I:

S: Органеллы, на которых осуществляется синтез полипептидной цепи называются:

- : митохондриями

- : пластидами
- +: рибосомами
- : центросомами

I:

S: Обмен гомологичными участками хромосом называется:

- : репарацией
- : транскрипцией
- +: кроссинговер
- : редупликацией

I:

S: Впервые выделил ДНК:

- : Т.Морган
- : Г.Мендель
- +: Ф. Мишер
- : А.Серебровский

I:

S: Процесс синтеза полипептидных цепей при посредстве мРНК называется:

- +: трансляция
- : транскрипция
- : репарация
- : репликация

I:

S: Пиримидиновые основания - это:

- : аденин
- +: тимин
- +: цитозин
- : гуанин

I:

S: Экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты:

- : ПДРФ
- : VNTR
- : SNP
- +: ПЦР

I:

S: Полимеразная цепная реакция была открыта в 1983 году

- +: К.Маллисом
- : Х.Хорана
- : Х.Клеппе
- : Т.Морганом

I:

S: В обычном ПЦР-процессе длина копируемых ДНК-участков составляет не более

- : 500 пар оснований
- : 50 пар оснований
- : 100 пар оснований
- +: 3000 пар оснований

I:

S: Геном человека состоит примерно из оснований

- : 1 млрд пар
- +: 3 млрд пар
- : 30 млрд пар

- : 300 млрд пар
- I:
- S: Прибор, используемый при проведении ПЦР:
- : дистиллятор
- +: амплификатор
- : термостат
- : спектрофотометр

Раздел 4. Основные этапы проведения амплификации. Стадии проведения ПЦР-анализа.

Раздел 5. Разновидности ПЦР, альтернативные способы амплификации нуклеиновых кислот.

Раздел 6. Проблемы, возникающие при постановке ПЦР.

Средства оценивания компетенций

Компетенции по следующим трем разделам оцениваются на устном коллоквиуме, на лабораторных занятиях, а также с помощью процедуры компьютерного тестирования.

Вопросы на коллоквиум

- Молекулярно-генетические методы исследования.
- Материал для выделения нуклеиновых кислот.
- Первый этап проведения молекулярно-генетических исследований.
- Методы выделения ДНК.
- Критерии выбора наиболее подходящей методики выделения и очистки нуклеиновых кислот.
- Основные этапы выделения ДНК.
- Этап процедуры лизиса клеток при выделении ДНК.
- Группа химических соединений – детергенты. Функция. Значение.
- Группа химических соединений – хаотропные вещества. Функция. Значение.
- Химические вещества, позволяющие проводить очистку раствора ДНК от разрушенных белков при выделении ДНК.
- Химические соединения для осаждения ДНК.
- Температурные режимы хранения и транспортировки ДНК.
- Полимеразная цепная реакция. Принцип метода.
- Параметры температурных циклов ПЦР.
- Детекция и визуализация продуктов амплификации в полиакриламидных гелях.
- Детекция и визуализация продуктов амплификации в агарозных гелях.
- Разновидности ПЦР: аллель-специфическая ПЦР.
- Альтернативные способы амплификации нуклеиновых кислот.
- Проблемы, возникающие при постановке ПЦР.
- Причины образования дополнительных неспецифических продуктов.
- Контаминация. Основные виды контаминации.
- Организация мер по предотвращению и устранению контаминации.
- Контроль ПЦР. Ошибки ПЦР.
- Электрофорез. Виды электрофореза.
- Твердофазная ПЦР. Разновидности.

Типовые тестовые задания

- I:
- S: В качестве биоматериала для выделения ДНК может выступать:
- : листья

- : титан
- +: кровь
- : нитинол

I:

S: В качестве биоматериала для выделения ДНК может выступать:

- : листья
- : титан
- +: сперма
- : нитинол

I:

S: В качестве биоматериала для выделения ДНК может выступать:

- : листья
- : титан
- +: слюна
- : нитинол

I:

S: В качестве биоматериала для выделения ДНК может выступать:

- : листья
- : титан
- +: волосы
- : нитинол

I:

S: В качестве биоматериала для выделения ДНК может выступать:

- : листья
- : титан
- +: зубы
- : нитинол

I:

S: Агароза используют при:

- : выделения ДНК
- : секвенировании
- : амплификации
- +: электрофорезе

I:

S: Молекула ДНК заряжена:

- : отрицательным зарядом
- : не имеет заряда
- : нет правильного ответа
- +: положительным зарядом

I:

S: В электрическом поле на геле быстрее двигаются:

- : тяжелые фрагменты
- : тяжелые и легкие фрагменты
- : фрагменты не движутся
- +: легкие фрагменты

I:

S: Разделение фрагментов по их молекулярной массе на геле под действием электрического тока называется:

- : амплификацией
- : секвенированием
- : фентрифкированием

+ : электрофорезом

I:

S: В электрическом поле медленнее движутся

+ : тяжелые фрагменты

- : тяжелые и легкие фрагменты

- : фрагменты не движутся

- : легкие фрагменты

I:

S: Химическое вещество, способное встраиваться в двухцепочечную ДНК и флуоресцировать под ультрафиолетовыми лучами:

- : этиленгликоль

- : полиакриламид

- : агароза

+ : бромистый этидий

I:

S: Детекция:

- : синтез

- : объединение

- : нарушение

+ : обнаружение

I:

S: Лизирующий раствор используется при:

+ : выделении ДНК

- : амплификации

- : секвенировании

+ : все ответы верны

I:

S: Элементарные строительные единицы ДНК, используемые полимеразой в репликации:

- : барбитураты

- : нуклеотиды

- : нуклеусы

+ : нуклеотидтрифосфаты

I:

S: Канцероген – вещество, способное вызывать

- : увеличение количества копий

- : повышение температуры

- : анемию

+ : раковые заболевания

Раздел 7. Количественная ПЦР.

Раздел 8. Применение ПЦР в различных отраслях.

Средства оценивания компетенций

Компетенции по следующим разделам оцениваются на устном коллоквиуме, на лабораторных занятиях, написание рефератов, а также с помощью процедуры компьютерного тестирования.

Вопросы на коллоквиум

Количественная ПЦР.

Оборудование для ПЦР «в реальном времени».

Перечислить подходы, используемые количественной ПЦР.

Система TagMan. Описать технологию системы.

Система «молекулярных маяков». Описать технологию системы.

Строение зонда «молекулярных маяков»

Технология метода количественной ПЦР системы FRET.

Принцип системы флуоресцентных красителей, связывающихся с ДНК.

Праймеры типа «Скорпион». Строение.

Разновидности праймеров типа «Скорпион».

Основные методы, используемые для одновременной амплификации последовательностей целого генома.

Альтернативные способы амплификации нуклеиновых кислот *in vitro*.

Основа лигазной цепной реакции.

Аллель-специфическая ПЦР. Принцип метода.

Возможности лабораторной диагностики инфекционных болезней.

Генотипирование микроорганизмов с использованием ПЦР.

Применение ПЦР в ветеринарии.

Применение ПЦР в пивоварении и других биотехнологических отраслях.

ДНК-диагностика наследственных заболеваний. Место в ней ПЦР.

Применение ПЦР для разных видов научно-исследовательской работы.

Типовые тестовые задания

I:

S: Количественное определение содержания продукта ПЦР в реакционной смеси в каждом цикле реакции лежит в основе:

+: ПЦР в реальном времени

-: ПЦР на стекле

-: ПЦР *in situ*

-: все ответы верны

I:

S: ПЦР в реальном времени позволяет определять:

+: количество матрицы в пробе

-: количество праймера в пробе

-: количество полимеразы в пробе

-: все ответы верны

I:

S: Система TaqMan использует

-: 5'—3'-эндонуклеазную активность Taq-полимеразы

-: 3'—5'-экзонуклеазную активность Taq-полимеразы

+: 5'—3'-экзонуклеазную активность Taq-полимеразы

-: не использует ничего

I:

S: Олигонуклеотидный зонд в системе TaqMan мечен по 5-концу

-: гасителем

-: фосфором

+: флуорофором

-: ничем не мечен

I:

S: Олигонуклеотидный зонд в системе TaqMan мечен по 3-концу

+: гасителем

-: фосфором

-: флуорофором

-: ничем не мечен

I:

S: В методе преамплификации с удлинением праймеров используют:

-: два праймера по 20 п.о.

+: вырожденных коротких праймеров

-: олигонуклеотидный зонд

-: все ответы верны

I:

S: Артефактом при реализации метода преамплификации с удлинением праймеров является:

+: образование димеров праймеров

-: образование высокомолекулярных шмиров

-: получение низкой концентрации продукта ПЦР

-: нет правильного ответа

I:

S: ПЦР со случайными мечеными праймерами использует:

+: смесь всевозможных 9-звенных олигонуклеотидных праймеров

-: смесь всевозможных 15-звенных олигонуклеотидных праймеров

-: смесь всевозможных 22-звенных олигонуклеотидных праймеров

-: нет правильного ответа

I:

S: Способность ДНК-лигаз восстанавливать фосфодиэфирные связи в одноцепочечных разрывах двухцепочечных молекул ДНК используется в:

+: лигазной цепной реакции

-: полиеразной цепной реакции

-: секвенировании

-: все ответы верны

I:

S: ПЦР находит применение в:

+: ветеринарии

-: металлургии

-: энергетике

-: все ответы не верны

I:

S: ПЦР находит применение в:

+: ДНК-диагностике наследственных заболеваний

-: металлургии

-: энергетике

-: все ответы не верны

I:

S: В ветеринарии проводят ПЦР-диагностику:

+: вирусных болезней животных

-: паразитарных болезней животных

-: биохимический анализ крови

-: все ответы не верны

I:

S: В ветеринарии проводят ПЦР-диагностику:

+: бактериальных болезней животных

-: паразитарных болезней животных

-: биохимический анализ крови

-: все ответы не верны

I:

S: При генотипировании микроорганизмов с применением ПЦР используют:

+: бактериальные повторы

-: вирусные повторы

-: оба ответа верны

-: нет правильного ответа

Примерный перечень тем рефератов студентов.

1. Строение нуклеиновых кислот. Основные информационные процессы – транскрипция, сплайсинг, трансляция. Генетический код.
2. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Возможности.
3. Методы детекции точковых мутаций.
4. Секвенирование. Капиллярный электрофорез.
5. Выделение ДНК из трудных источников.
6. Внедрение ПЦР в службу крови: проблемы и перспективы.
7. Перспективы практического использования ПЦР-диагностики.

Перечень вопросов для подготовки к экзамену

Примерный перечень вопросов к экзамену

1. Этапы рождения ПЦР.
2. Смысл полимеразной цепной реакции (ПЦР).
3. Виды ПЦР.
4. Основные компоненты реакции. Синтетические олигонуклеотиды.
5. Основные компоненты реакции. Состав буфера. Роль ионов магния.
6. Основные компоненты реакции. Дезоксинуклеотидтрифосфаты.
7. Основные компоненты реакции. Термостабильные бактериальные полимеразы, особенности применения.
8. Типичные ошибки при проведении ПЦР.
9. Стадии проведения ПЦР-анализа. Выделение нуклеиновых кислот из различных биологических материалов.
10. Стадии проведения ПЦР-анализа. Проведение амплификации.
11. Детекция продуктов амплификации в полиакриламидных гелях.
12. Детекция продуктов амплификации в агарозных гелях.
13. Этапы проведения амплификации. Плавление ДНК.
14. Этапы проведения амплификации. Отжиг олигонуклеотидных праймеров.
15. Этапы проведения амплификации. Стадия элонгации.
16. Роль GC состава ДНК-матрицы для поведения ПЦР.
17. ПЦР с флуоресцентной схемой детекции результата. ПЦР в реальном времени.
18. ПЦР с флуоресцентной схемой детекции результата. ПЦР с детекцией по «конечной точке» (End Point).
19. Лабораторному оборудованию и принципам организации лаборатории пригодной для проведения ПЦР.
20. Основные требования для проведения ПЦР.
21. Основные нормативные документы, регламентирующие работу в ПЦР-лаборатории.
22. ПЦР-технологии и лабораторная клиническая диагностика.
23. ПЦР-технологии и микробиология.
24. ПЦР-технологии и ветеринария.
25. ПЦР-технологии и пивоварение и другие биотехнологические отрасли.
26. Применение ПЦР-метода для разных видов научно-исследовательской работы.
28. Нуклеиновые кислоты ДНК и РНК: структура и значение

29. Расчет по определению температуры отжига праймеров.
30. Расчет по определению количества прямого и обратного праймеров.
31. Определение концентраций веществ в ПЦР-смеси
32. Программирование амплификатора.
33. Организация мер по предотвращению и устранению контаминации.
34. Работы Карри Малиса – первооткрывателя ПЦР.
35. Элементы Пельтье – основной компонент современных ПЦР амплификаторов.
36. ПЦР диагностика особоопасных инфекций.
37. Возможности лабораторной диагностики инфекционных болезней, место ПЦР.
38. Генотипирование микроорганизмов с использованием ПЦР
39. ДНК-диагностика наследственных заболеваний. Место в ней ПЦР.
40. RAPD-PCR анализ – разновидность ПЦР.

3.6. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности:

Результаты обучения (компетенции)	Основные показатели оценки результатов	Вид оценочного материала
способность применять базовые представления об основных закономерностях и современных достижениях генетики и селекции, о геномике, протеомике. (ОПК - 7)	<p>Владеть: базовыми представлениями об основных закономерностях генетики и селекции</p> <p>Уметь: Связывать генетическую информацию с цитологическими основами наследственности и положениями хромосомной теории. Связывать данные генетики с другими разделами, использовать достижения генетики в решении фундаментальных и прикладных задач. Решать типовые задачи, используя знания о закономерности наследования признаков</p> <p>Знать: Закономерности наследования признаков, механизмы наследственности и изменчивости генетического материала Современные достижения генетики, геномики, протеомики</p>	<p>Текущий контроль успеваемости</p> <p>Промежуточная аттестация</p> <p>Рубежный контроль</p>
способность эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ (ПК-1)	<p>Владеть: Навыками работы с биологическими объектами, определителями и методами, современной аппаратурой и оборудованием</p>	

	<p>Уметь: проводить и анализировать биологический эксперимент</p> <p>Знать: приемы постановки биологического эксперимента</p>	
--	---	--

3.7. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

Основная литература

1. Коничев А.С. Молекулярная биология. М.: Академия, 2008.
2. Кузнецов Вл.В., Кузнецов В.В., Романов Г.А. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. "Бином. Лаборатория знаний" Издательство: 978-5-9963-0978-8. ISBN:2012 Год: 487 с. ЭБС «Консультант студента».
3. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. ПЦР в реальном времени. "Бином. Лаборатория знаний" Издательство: 978-5-9963-0600-8. ISBN: 2011 Год: 3-е изд. Издание: 223 с. ЭБС «Лань».
4. Примроуз С. Геномика. Роль в медицине. [Электронный ресурс]/ Примроуз С.; пер. с англ. – 2-е изд. (эл.) – М. – Издательство: БИНОМ. Лаборатория знаний. Бином – 2014 г. – 277 с. - ISBN: 978-5-9963-2309-8 ЭБС «Консультант студента».

Дополнительная литература

1. Горбунова В.Н. и др. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных болезней. – С-П. Специальная литература, 1997. – 287 с.
2. Горбунова В.Н. Молекулярные основы медицинской генетики. – С-П. – 1999. – 210 с.
3. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. — Москва: Мир, 2002. — 589 с. — ISBN 5030033289
4. Калмыкова М.С., Калмыков М.В., Белоусова Р.В. Основы полимеразной цепной реакции с разными форматами детекции. "Лань" Издательство: 978-5-8114-0977-8. ISBN: 2009 Год: 1-е изд. Издание: 80 стр. ЭБС «Лань».
5. Кишкун А.А. Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 704 с.: ил. ISBN: 978-5-9704-1798-0
6. ПЦР в реальном времени. Издательство: "Бином. Лаборатория знаний" - 2009.- 224
7. Сингер М. Гены и геномы. / М.Сингер, П. Берг //М.: Мир, 2002.
8. Арчаков А.М. Постгеномные технологии и молекулярная медицина. / А.М Арчаков //Вестник РАН, 2004. – Т. 74. - № 5. С.423-428.
9. Кулмамабетова Г. Современные проблемы биологии, ЕНУ, Астана, 2012
Электронный учебник.
10. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. – М.: Мир. – 1984..
11. Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков: Учебник. МГУ, Наука. - Москва - 2005. - 336 с. ISBN: 5-211-04971-3
12. Чемерис А. В. Секвенирование ДНК /А.В.Чемерис, Э.Д.Ахунов, В.А.Вахитов. - М.: Наука, 1999.
13. Mullis K.B., Faloona F.A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction // Methods Enzymol. – 1987 – V. 155. – P. 335–350.
14. Сулимова Г.Е., Удина И.Г., Зинченко В.В. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции. – М: Макс Пресс, 2006. –

Периодические издания

1. Биомедицина
2. Генетика
3. Доклады Российской Академии наук
4. Известия РАН. Серия биологическая
5. Медицинская генетика
6. Молекулярная биология

Интернет-ресурсы

Учебные интернет-ресурсы:

[http:// iprbookshop.ru](http://iprbookshop.ru) ЭБС “IPRbooks” – учебные, научные и периодические издания для вузов и СПО.

<https://nab.rf> – национальная и электронная библиотека РГБ. Полнотекстовые и электронные информационные ресурсы, а также единый сводный каталог фонда.

[http:// polpred.com](http://polpred.com) – Обзор СМИ.

<http://lib.kbsu.ru> – ЭБС КБГУ электронный каталог фонда (полнотекстовая БД).

<http://www.diss.rsl.ru> – электронная библиотека диссертаций РГБ.

<http://www.viniti.ru> – электронный Банк данных реферативных журналов ВИНТИ РАН по широкому спектру наук.

<http://www.isiknowledge.com> – “Web of Science” (WOS) аналитическая и цитатная база данных.

<http://scopus.com> – Skivers Scopus издательства Эльзевир. Наука и технологии. Аналитические БД.

www.elibrary.ru – Российские и зарубежные научные журналы.

<http://elibrary.ru> - База данных Science Index (РИНЦ).

www.studmedlib.ru – электронная библиотека технического профиля.

www.medcollegelib.ru – ЭБС

Дополнительные

1. [Биотехнология - состояние и перспективы](#)
2. [Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН](#)
3. [База данных Pubmed статей в биологических журналах](#)
4. База генетических данных UK CROPNET по разным сельскохозяйственным культурам
5. [Всероссийский научно-исследовательский институт им. Н.И. Вавилова \(ВИР\)](#)
6. [Обзор NCBI с сайта molbiol](#)
7. [GENRES](#) Информация по генетическим ресурсам различных культур

Учебно-методические пособия:

1. Боготова З.И. и др. Молекулярно-генетические методы и эволюция живых систем. Методические рекомендации к лабораторным работам, Нальчик 2011, КБГУ – 38 с.
2. Оберемок В. В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода. – Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. – Симферополь. - 2008. – 35 с.

3.8. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Лекционные занятия проводятся в 307 аудитории с интерактивной доской, а практические занятия проводятся в специализированных лабораториях 103, 323, Медико-

биологический центр.

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой (компьютерные классы, а также компьютеризированные рабочие места Научно-технической библиотеки) с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду университета. Также используются: продукты MICROSOFT (Desktop Education ALNG LicSaPk OLVs Academic Edition Enterprise), подписка (Open Value Subscription) № V 2123829 Kaspersky Endpoint Security Стандартный Russian Edition № лицензии 17E0-180427-050836-287-197 AltLinux (Альт Образование 8) № AAA.0252.00 Academic MathCAD License Продукты AUTODESK, архиватор 7z, файловый менеджер Far Manager, Adobe Reader (свободное распространение) и т.д.

№ п/п	Наименование единицы	Фирма-изготовитель, Страна-производитель	Назначение, основные характеристики
1	Центрифуга MIKRO 20 (200)R, 24×0.2-2.0 мл, до 18,626 g	Hettich, Германия	Центрифугирование, прободготовка образцов и стандартных лабораторных приложений
2	Мини центрифуга/вортекс Combi-spin,	Hettich, Германия	Центрифугирование на 2400 об/мин, с крышкой прободготовка образцов и стандартных лабораторных приложений
3	Цифровой термостат типа «Dry Block»	BIOSAN, Латвия	Поддержание постоянной температуры (25-120 °C), с алюминиевым блоком А-103
4	Роторный гомогенизатор с цифровым дисплеем Crusher M	Heidolph, Германия	Гомогенизация, 5000-26000 об/мин. В комплекте с держателем и зажимом.
5	Отсасыватель медицинский	Россия	Отсасывание
6	ПЦР-бокс	Россия	Бактерицидный проточный рециркулятор, обеспечивающий постоянное обеззараживание внутри бокса с УФ-рециркулятором, таймером, н/сталь, ударопрочное стекло
7	Система для ПЦР в реальном времени iQ5	BioRad, США	Амплификация в реальном времени, предназначенная для автоматической детекции продуктов амплификации в режиме реального времени непосредственно в пробирке, возможностью количественного определения продукта
8	Источник бесперебойного питания APC UPS 3000 VA	APC, Россия	Обеспечение бесперебойного питания,
9	Аналитическая система БиоДок-Ит М-26Х	UVP, США	Анализ гелей, блотов, окрашенных флуорисцентными и видимыми красителями, печать, архивирование составление отчетов, аналоговая ПЗС-камера
10	Спектрофотометр	Германия	Для определения концентрации и качества

	BIOWAVE		НК, концентрацию белка, спектральный диапазон- 190-1100, ОП диапазон- 0-0,5 ед.
11	Вертикальная ячейка для электрофореза PROTEAN II xi,	BioRad, США	Анализ коротких фрагментов нуклеиновых кислот и белков методом электрофореза в полиакриламидном геле, 20 см, 1.0 мм спейсеры (4 шт) и гребенки на 15 лунок (2 шт).
12	Ячейка для горизонтального электрофореза Mini-Sub Cell GT,	BioRad, США	Анализ фрагментов нуклеиновых кислот и белков методом электрофореза в агарозном геле с УФ-прозрачной подложкой 7×10 см и подставкой для заливки
13	Низкотемпературный вертикальный морозильник	Sanyo, Япония	Хранение образцов при низких температурах, (-86), V 382
14	Весы аналитические,	Precisa, Швейцария	Взвешивание образцов, 220 г , точность 0,1 мг
15	Весы технические,	Ohaus Scout Pro, США	Взвешивание образцов, 2000 г / 0,1 г
16	Центрифуга 320R, с охлаждением, принадлежностями	UNIVERSAL, США	Центрифугирование, прободготовка образцов и стандартных лабораторных приложений
17	Автоматический анализатор для выделения ДНК и РНК	iPrep Purification Instrument, Япония	Для выделения ДНК, РНК, белков. 12 образцов за один прогон
18	Система очистки воды Direct-Q 3	Millipore, Франция	Предназначена для очистки и деионизации воды

ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ (ДОПОЛНЕНИЙ)

В рабочую программу по дисциплине «Технология ПЦР анализа» по направлению
подготовки 06.03.01 Биология на 2020-2021 учебный год

№	Элемент (пункт) РПД	Перечень вносимых изменений (дополнений)	Примечание

Обсуждена и рекомендована на заседании кафедры
протокол № _____ от " ____ " _____ 20__ г.

Заведующий кафедрой _____ Паритов А.Ю.