

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

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

**БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО – ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
В СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

**Кафедра физиологии растений и теории эволюции
биологического факультета**

Образовательная программа
06.04.01 Биология

Профиль подготовки:
Физиология растений
Уровень высшего образования:
магистратура
Форма обучения:
очная

Статус дисциплины: вариативная

Махачкала, 2016

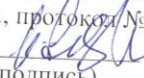
Рабочая программа дисциплины «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» составлена в 2016 году в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 06.04.01 «Биология» (уровень магистратура)

от «23» сентября 2015г. № 1052.

Разработчик(и): Алиева З.М., к.б.н., доцент кафедры физиологии растений и теории эволюции 

Рабочая программа дисциплины одобрена:
на заседании кафедры физиологии растений и теории эволюции
от «18» 09 2016г., протокол № 6

Зав. кафедрой  Алиева З.М.
(подпись)

на заседании Методической комиссии биологического факультета от «4»
марта 2016г., протокол № 4.
Председатель  Раджиева И.Х.
(подпись)

Рабочая программа дисциплины согласована с учебно-методическим управлением
« » 20 г. 
(подпись)

Аннотация рабочей программы дисциплины

Дисциплина «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» входит в вариативную часть дисциплины по выбору образовательной программы магистратуры по направлению 06.04.01 «Биология». Дисциплина реализуется на биологическом факультете кафедрой физиологии растений и теории эволюции. Содержание дисциплины охватывает круг вопросов, связанных с изучением фундаментальных достижений современной биологии растений. Дисциплина нацелена на формирование следующих общепрофессиональных компетенций выпускника: – ОПК-4 (способность самостоятельно анализировать имеющуюся информацию, выявлять фундаментальные проблемы, ставить задачу и выполнять полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств, нести ответственность за качество работ и научную достоверность результатов); ОПК-7 (готовность творчески применять современные компьютерные технологии при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач); ОПК-9 (способность профессионально оформлять, представлять и докладывать результаты научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам); профессиональных компетенций ПК-4 (способность генерировать новые идеи и методические решения). Преподавание дисциплины предусматривает проведение следующих видов учебных занятий: лекция, лабораторные занятия, самостоятельная работа. Рабочая программа дисциплины предусматривает проведение следующих видов контроля успеваемости: промежуточный контроль осуществляется путем проведения на каждом занятии письменных (в том числе тестовых) и устных опросов, а также 2 коллоквиумов. Итоговая оценка формируется по результатам промежуточного контроля итогового зачета

Объем дисциплины составляет 2 зачетных единицы, 72 часа.

Семестр	Учебные занятия						СРС	Форма промежуточной аттестации (зачет, дифференцированный зачет, экзамен)
	в том числе							
	Контактная работа обучающихся с преподавателем							
	Все го	из них						
	Лекции	Лабораторные занятия	Практические занятия	КСР	консультации			
9	72	8	0	28			36	зачет

1. Цели освоения дисциплины

Целью дисциплины «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» состоит в формировании систематизированных знаний и представлений о принципах и сфере конкретного применения методов молекулярно-генетических исследований; получении целостных представлений об информативности современных методов молекулярно-генетических исследований; формировании понимания важности и необходимости использования современных методов молекулярно-генетических исследований в решении комплексных проблем в любых разделах современной биологии.

Задачи: изучение методов, лежащих в основе молекулярного клонирования, геномики, транскриптомики, протеомики (выделение и анализ ДНК, РНК, белков; полимеразная цепная реакция; синтез ДНК; секвенирование; полимеразная цепная реакция в реальном времени), изучение методов исследования экспрессии генов (Саузерн-гибридизация, Нозерн-гибридизация, Вестерн-гибридизация, иммуноблоттинг); получение системных представлений о связи методов биоинформатики и молекулярно-биологических баз данных с методами молекулярно-генетических исследований

2. Место дисциплины в структуре ООП магистратура

Дисциплина относится к вариативной части и опирается на дисциплины «Биохимия», «Цитология», «Генетика», «Микробиология», «Молекулярная биология». Необходима для освоения дисциплин «Основные регуляторные системы метаболизма», «Сигнальные системы клетки», «Молекулярная биология белков», «Молекулярная биология нуклеиновых кислот», научно-исследовательская практика по профилю.

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

Компетенции	Формулировка компетенции из ФГОС ВО	Планируемые результаты обучения (показатели достижения заданного уровня освоения компетенций)
ОПК-4	способность самостоятельно анализировать имеющуюся информацию, выявлять фундаментальные проблемы, ставить задачу и выполнять полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств, нести ответственность за качество работ и научную достоверность результатов	<i>Знать:</i> современные фундаментальные проблемы в области с целью постановки задачи и выполнения полевых, лабораторных биологических исследований с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств; <i>Уметь:</i> анализировать имеющуюся информацию, выявлять фундаментальные проблемы и выполнять полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач по специализации; <i>Владеть:</i> методами полевых, лабораторных биологических исследований, современной аппаратурой и вычислительными средствами.
ОПК-7	готовность творчески применять современные компьютерные технологии при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач	<i>Знать:</i> принципы работы и эксплуатации современных компьютерных технологий и их применения при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач; <i>Уметь:</i> творчески применять современные компьютерные технологии при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач; <i>Владеть:</i> современными компьютерными технологиями с целью их применения при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач.

ОПК-9	Способность профессионально оформлять, представлять и докладывать результаты научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам	<p><i>Знать:</i> правила профессионального оформления и представления научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам;</p> <p><i>Уметь:</i> профессионально оформлять и докладывать результаты научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам;</p> <p><i>Владеть:</i> навыками профессионального оформления и представления научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам.</p>
ПК-4	Способность генерировать новые идеи и методические решения	<p><i>Знать:</i> учебную, научную и методическую литературу по профилю магистратуры;</p> <p><i>Уметь:</i> логически мыслить, делать обобщения и выводы на основе собственных исследований и литературных данных;</p> <p><i>Владеть:</i> современными методами постановки и проведения биохимического и молекулярно-генетических экспериментов;</p>

4. Объем, структура и содержание дисциплины.

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

4.2. Структура дисциплины

№ п/п	Раздел Дисциплины	Се м- р	Неделя сем-ра	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу студентов и трудоемкость в часах				Форма текущего контроля успеваемости (по нед.сем-ра) Форма промежут. атт-ции (по сем-рам)
				Лекции	Практ. и сем.	Лаб.	Сам.раб.	
Модуль 1. Генная инженерия, анализ генома и его экспрессии								
1	Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации.	9	1-2	2	2		2	Устный опрос
2	Генетически трансформированные корни как модельная система для изучения физиологических и биохимических процессов корневой	9	3-4		2		4	Устный, письменный опрос

	системы целого растения							
3	Инсерционные мутанты <i>Arabidopsis thaliana</i> и их использование для изучения функции гена. Полимеразная цепная реакция.	9	5-6	2	2		4	Устный опрос, тестовый опрос
4	Применение гидрогелевых биочипов для идентификации генно-модифицированных источников. Определение относительного количества транскриптов растительных генов методом нозерн-блот-гибридизации.	9	7-8		2		4	Устный опрос, тестовый опрос
5	Изучение регуляции экспрессии растительных генов с использованием метода run-on транскрипции.	9	9-10		2		2	Устный опрос, Коллоквиум
6	Исследование транскрипции генов с помощью ДНК микрочипов. ПЦР в режиме реального времени на аппаратах отечественного производств.				4		2	Устный опрос, тестовый опрос
	Итого 1			4	14	0	18	
Модуль 2. Белковая химия и гистохимия. Биологически активные соединения и трансдукция сигналов								
7	Количественное определение содержания белка.	9	11-12	2	2		4	Устный опрос, тестовый опрос
8	Экспрессия целевых (рекомбинантных) белков в бактериях.	9	13-14	2	2		4	Устный опрос, тестовый опрос
9	Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений.	9	14-15		4		2	Устный опрос, тестовый опрос

10	Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани.	9	15-16		2		4	Устный опрос, тестовый опрос
11	Определение свободных и связанных полиаминов в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.	9	16-17		2		2	Устный опрос, Коллоквиум
12	Анализ гормон-рецепторного взаимодействия радиолигандным методом.				2		2	
Итого 2				4	14		18	
Всего				8	28		36	Зачет

4.3. Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам)

Лекционные занятия (8 часов)

Тема, код компетенции	№ занятия	Содержание лекционных занятий и ссылки на рекомендованную литературу	Число часов	
			Всего 8	В интеракт форме 4
Тема 1. Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации. (ОПК-4,7,9. ПК-4)	1	Получение генов и подбор вектор. Векторы для трансформации растений. Перенос ДНК в клетки растений. Отбор трансформированных растений. Доказательство трансгенности трансформированных растений. Экспрессия интродуцированных генов. Наследование трансгенов. Преимущества транспластомной трансформации. Методы получения транспластомных растений. Получение транспластомных растений табака методом баллистической трансформации. Литература: 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003	2	
Тема 2. Инсерционные мутанты Arabidopsis	2	Получение семян инсерционных мутантов. Получение анализирующих праймеров. ПЦР: Теория и		2

<p>thaliana и их использование для изучения функции гена. Полимеразная цепная реакция. (ОПК4,7,9)</p>		<p>применение. Стратегия подбора праймеров. Выбор последовательностей для амплификации. Подходы к анализу генов. Стратегия подбора праймеров для анализа экспрессии генов. Сравнение последовательностей ДНК и белков. Литература: 1. Малышенко С.И., 2003 2. Баят Ф., 2010 3.Ежова Т.А., 2003 4. Патрушев Л.И., 2004 5. Щелкунов С.Н., 2004</p>		
<p>Тема 3 Количественное определение содержания белка. (ОПК-9, ПК-4)</p>	3	<p>Выбор метода определения белка. Метод Lowry. Метод Bredford. Определение белка с ВСА реагентом. Подготовка белкового образца. Одномерный электрофорез в присутствии ДДС-Na. Вестерн-блот-гибридизация. Разделение белков при помощи электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия и двумерный электрофорез. Литература 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Патрушев Л.И., 2004 6. Щелкунов С.Н., 2004</p>	2	
<p>Тема 4 Экспрессия целевых (рекомбинантных) белков в бактериях. (ОПК-4,7,9. ПК-4)</p>	4	<p>Выбор систем векторов экспрессии векторов экспрессии E. coli, анализ последовательности ДНК, кодирующей целевой белок, подбор праймеров к выбранному участку гена. Создание плазмидных конструкций с геном, кодирующем целевой белок, и трансформация данными конструкциями штаммов-продуцентов E. coli. Гистохимическая (in situ) локализация активности ферментов углеводного метаболизма в растительных тканях. Литература: 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006</p>	2	

Практические занятия (28 ч.)

Тема, код компетенции	№ занятия	Содержание практических занятий и ссылки на рекомендованную литературу	Число часов	
			Всего 28	В интеракт форме 8
Тема 1. Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации и транспластомных растений табака методом баллистической трансформации (ОПК-4,7,9. ПК-4)	1	1. Векторы для трансформации растений. Перенос ДНК в клетки растений. 2. Отбор трансформированных растений. Доказательство трансгенности трансформированных растений. 3. Экспрессия интродуцированных генов. Наследование трансгенов. 4. Преимущества транспластомной трансформации. Методы получения транспластомных растений. Литература: 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003	2	
Тема 2. Генетически трансформированные корни как модельная система для изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого (ОПК4,7,9. ПК-4)	2	1. Генетическая трансформация растений с помощью pRi-ДНК . 2. Способы проведения трансформации 3. Методика выявления активности GUS. Литература: 1 Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006 7. Даниленко .Г., 2003.	2	
Тема 3 Инсерционные мутанты <i>Arabidopsis thaliana</i> и их использование для изучения функции гена. Полимеразная цепная реакция. (ОПК4,7,9)	3	1. Получение семян инсерционных мутантов. 2. Получение анализирующих праймеров. 3. ПЦР: Теория и применение. Стратегия подбора праймеров. 4. Выбор последовательностей для амплификации. 5. Подходы к анализу генов. 6. Стратегия подбора праймеров для анализа экспрессии генов. 7. Сравнение последовательностей ДНК и белков Литература: 1. Малышенко С.И., 2003 2. Баят Ф., 2010	2	

		3.Ежова Т.А., 2003 4. Патрушев Л.И., 2004 5. Щелкунов С.Н., 2004		
Тема 4 Применение гидрогелевых биочипов для идентификации генно-модифицированных источников. Определение относительного количества транскриптов растительных генов методом нозерн-блот-гибридизации. (ОПК7,9)	4	1.Выделение РНК. 2.Измерение концентраций РНК. 3.Денатурирующий электрофорез РНК в агарозном геле. 4.Пренос РНК с геля на мембрану. 5.Синтез меченых проб. 6. Нозерн-гибридизация Литература: 1 Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006 7. Даниленко .Г., 2003. 8. Зарипова Н.Р., 2008.	2	
Тема 5 Изучение регуляции экспрессии растительных генов с использованием метода run-on транскрипции. (ОПК-7,9)	5	1.Транскрипция in vitro. 2. Выделение Р-меченых вновь синтезированных транскриптов. 3.Подготовка мембран с фрагментами изучаемых генов. 4.ДНК-РНК-гибридизация, анализ полученных данных. 5.Определение относительного содержания транскриптов генов растений с помощью ОТ-ПЦР. Литература: 1 Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006. 7. Зубо Я.О., 2008	2	
Тема 6 Исследование транскрипции генов с помощью ДНК микрочипов. ПЦР в режиме реального времени на аппаратах отечественного производств. (ОПК-4,7,9)	6	1.Выделение РНК. 2.Анализ экспрессии генов с помощью ДНК-микрочипов. 3.Дизайн праймеров. 4.Программирование аплификатора. 5.QTL - анализ и его применение в физиологических исследованиях. Литература: 1 Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006.	4	2

<p>Тема 7 Количественное определение содержания белка. (ОПК-9, ПК-4)</p>	7	<p>1. Выбор метода определения белка. Метод Lowry. 2. Метод Bredford. Определение белка с ВСА реагентом. 3. Подготовка белкового образца. 4. Одномерный электрофорез в присутствии ДДС-Na. 5. Разделение белков при помощи электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия и двумерный электрофорез. 6. Вестерн-блот-гибридизация. Литература 1. Малышенко С.И., 2003 2. Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Патрушев Л.И., 2004 6. Щелкунов С.Н., 2004</p>		2
<p>Тема 8 Экспрессия целевых (рекомбинантных) белков в бактериях. (ОПК-4,7,9, ПК-4)</p>	8	<p>1. Выбор систем векторов экспрессии векторов экспрессии E. coli, анализ последовательности ДНК, кодирующей целевой белок, подбор праймеров к выбранному участку гена. 2. Создание плазмидных конструкций с геном, кодирующем целевой белок, и трансформация данными конструкциями штаммов-продуцентов E. coli. 3. Гистохимическая (in situ) локализация активности ферментов углеводного метаболизма в растительных тканях. Литература: 1. Малышенко С.И., 2003 2. Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006</p>	2	
<p>Тема 9 Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений. (ОПК-4,7,9, ПК-4)</p>	9	<p>1. Растительный материал и условия выращивания. 2. Получение срезов и фиксация. 3. Микроскопия. 4. Оценка влияния фиксации на активность ферментов. 5. Количественное определение в растениях ИУК, цитокининов, абсцизовой кислоты и гиббереллинов иммуноферментным методом. Литература:</p>	4	2

		<ol style="list-style-type: none"> 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006 		
<p>Тема 10 Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани. (ОПК-4,9, ПК-4)</p>	10	<ol style="list-style-type: none"> 1.Синтез иммуногенных конъюгатов для производства антисывороток. 2.Синтез конкурентных конъюгатов для сенсбилизации планшет. 3.Процедура иммунизации и получение антисыворотки. 4.Определение выделения и содержания этилена в растениях. <p>Литература:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006 7. Еремин С.А., 1988 8. Котова Л.М., 2004 		2
<p>Тема 11 Определение свободных и связанных полиаминов в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. (ОПК-9, ПК-4)</p>	11	<ol style="list-style-type: none"> 1.Определение содержания свободных, HClO_4 - растворимых и нерастворимых каньюгированных ПА. 2.Экстракция 5% HClO_4 свободных, растворимых каньюгированных ПА и получение фракции нерастворимых связанных ПА. 3.Гидролиз конъюгатов ПА. 4. Методы оценки содержания активных форм кислорода, низкомолекулярных антиоксидантов и активностей основных антиоксидантных ферментов <p>Литература:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Малышенко С.И., 2003 2 Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006 7. Еремин С.А., 1988 8. Котова Л.М., 2004. 9. Кузнецов Вл.В., 2006. 	2	
<p>Тема 12 Анализ гормон-рецепторного взаимодействия радиолигандным методом. (ОПК-4,7,9,)</p>	12	<ol style="list-style-type: none"> 1.Инкубация образца с радиоактивным лигандом до достижения равновесия. 2.Разделение свободной и связанной радиоактивности. 3.Измерение количества связанной радиоактивности. 4.Математический, графический или 	2	

	<p>компьютерный анализ результатов.</p> <p>5. Применение трансгенных бактерий для изучения мембранных рецепторов.</p> <p>Литература:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Малышенко С.И., 2003 2. Баят Ф., 2010 3. Данилова С.А., 2007 4. Шевелуха В.С., 2003 5. Гришунина Е.В., 2006 6. Фещенко Н.Ф., 2006 7. Еремин С.А., 1988 8. Котова Л.М., 2004. 9. Кузнецов Вл.В., 2006. 		
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

Модуль 1. Генная инженерия, анализ генома и его экспрессии

Тема 1. Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации.

Введение. Получение транспластомных растений табака методом баллистической трансформации. Ген. Вектор. Промоторы. Виды промоторов. Терминатор. Получение генов и подбор вектор. Векторы для трансформации растений. Перенос ДНК в клетки растений. Отбор трансформированных растений. Доказательство трансгенности трансформированных растений. Экспрессия интродуцированных генов. Наследование трансгенов. Преимущества транспластомной трансформации. Методы получения транспластомных растений. Приготовление агробактериального газона. Трансформация табака. Получение трансгенных растений рапса. Трансформация картофеля, кукурузы. Проверка наследуемости встроенных генов у трансформированных растений. Трансформация методом цветочного погружения. Преимущества транспластомной трансформации. Методы получения транспластомных растений. Принцип метода баллистической трансформации. Вектор для трансформации. Подготовка золотых частиц. Нанесение ДНК на золотые частицы. Обстрел листьев. Селекция трансформантов. Молекулярный анализ наличия перенесенных генов.

Тема 2. Генетически трансформированные корни как модельная система для изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого растения.

Применение конструкций ДНК с репортерными генами в физиологии растений. Генетическая трансформация растений с помощью рRi-ДНК. Подготовка бактерий. Способы проведения трансформации. Методика выявления активности GUS. Количественное определение в клеточных экстрактах. Гистохимическое определение активности GUS в тканях растения. Гены GFP и других автофлуоресцентных белков. Методика обнаружения флуоресценции GFP.

Тема 3. Инсерционные мутанты *Arabidopsis thaliana* и их использование для изучения функции гена. Полимеразная цепная реакция.

Принцип метода. Получение семян инсерционных мутантов. Получение анализирующих праймеров. ПЦР - Теория и применение. Стратегия подбора праймеров. Выбор последовательностей для амплификации. Подходы к анализу генов. использование интронов. Подбор праймеров. Размер ампликона. Температура отжига праймера. Нуклеотидный состав. Длина праймеров. Величина диапазона параметра. Выбор параметра оценки связывания праймера с ДНК. Палиндромы и шпильки и повторы. Состав ампликона. Отборка условий ПЦР для пар праймеров. Стратегия подбора праймеров для анализа экспрессии генов. Сравнение последовательностей ДНК и белков. Парное сравнение. BLAST. Множественное выравнивание. Виртуальная трансляция.

Тема 4. Применение гидрогелевых биочипов для идентификации генно-модифицированных источников. Определение относительного количества транскриптов растительных генов методом нозерн-блот-гибридизации.

Саузерн-блот-гибридизация. Выделение растительной геномной ДНК. Обработка ДНК ферментами рестрикции, гель-электрофорез и перенос ДНК с геля на мембрану. Подготовка меченой пробы и гибридизация. Особенности применения метода. Выделение РНК. Измерение концентраций РНК. Денатурирующий электрофорез РНК в агарозном геле. Пренос РНК с геля на мембрану. Синтез меченых проб. Нозерн-гибридизация.

Тема 5 Изучение регуляции экспрессии растительных генов с использованием метода run-on транскрипции.

Определение относительного содержания транскриптов генов растений с помощью ОТ-ПЦР. Выделение хлоропластов. Транскрипция *in vitro*. Выделение Р-меченых вновь синтезированных транскриптов. Подготовка мембран с фрагментами изучаемых генов. ДНК-РНК-гибридизация, анализ полученных данных. Выделение РНК. Реакция ОТ и ПЦР. Электрофорез в агарозном геле. Методы оценки и характеристики роста культур клеток высших растений. Основные принципы характеристики ростовых процессов и используемые параметры: Индекс роста, скорость роста, экономический коэффициент. Кривая роста и определение длительности фаз роста. Особенности характеристики роста.

Тема 6 Исследование транскрипции генов с помощью ДНК микрочипов. ПЦР в режиме реального времени на аппаратах отечественного производства.

Выделение РНК. Анализ экспрессии генов с помощью ДНК-микрочипов. Дизайн праймеров. Программирование аплификатора. Генетические маркеры. Картирующие популяции. Использование метода в физиологических исследованиях.

Модуль 2. Белковая химия и гистохимия. Биологически активные соединения и трансдукция сигналов

Тема 7.

Количественное определение содержания белка.

Разделение белков при помощи электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия и двумерный электрофорез. Вестерн-блот-гибридизация. Выбор метода определения белка. Метод Lowry. Метод Bradford. Определение белка с ВСА реагентом. Подготовка белкового образца. Одномерный электрофорез в присутствии ДДС-Na.

Тема 8.

Экспрессия целевых (рекомбинантных) белков в бактериях.

Гистохимическая (*in situ*) локализация активности ферментов углеводного метаболизма в растительных тканях. Выбор систем векторов экспрессии векторов экспрессии *E. coli*, анализ последовательности ДНК, кодирующей целевой белок, подбор праймеров к выбранному участку гена. Создание плазмидных конструкций с геном, кодирующем целевой белок, и трансформация данными конструкциями штаммов-продуцентов *E. coli*.

Тема 9.

Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений.

Количественное определение в растениях ИУК, цитокининов, абсцизовой кислоты и гиббереллинов иммуноферментным методом. Растительный материал и условия выращивания. Получение срезов и фиксация. Микроскопия. Оценка влияния фиксации на активность ферментов.

Тема 10.

Количественное определение индолил-3- уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани.

Определение выделения и содержания этилена в растениях. Синтез иммуногенных конъюгатов для производства антисывороток. Синтез конкурентных конъюгатов для сенсбилизации планшет. Процедура иммунизации и получение антисыворотки.

Тема 11.

Определение свободных и связанных полиаминов в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Методы оценки содержания активных форм кислорода, низкомолекулярных антиоксидантов и активностей основных антиоксидантных ферментов. Определение содержания свободных, HClO₄ - растворимых и нерастворимых каньюгированных ПА. Экстракция 5% HClO₄ свободных, растворимых каньюгированных ПА и получение фракции нерастворимых связанных ПА. Гидролиз конъюгатов ПА.

Тема 12.

Анализ гормон-рецепторного взаимодействия радиолигандным методом.

Применение трансгенных бактерий для изучения мембранных рецепторов. Инкубация образца с радиоактивным лигандом до достижения равновесия. Разделение свободной и связанной радиоактивности. Измерение количества связанной радиоактивности. Математический, графический или компьютерный анализ результатов.

5. Образовательные технологии

В учебном процессе используются компьютерные программы, разбор конкретных ситуаций. Внеаудиторная работа связана с проработкой литературы для подготовки к практическим занятиям. Удельный вес интерактивных форм подготовки составляет 40 %. При проведении лекций для активизации восприятия и обратной связи практикуется устный опрос, позволяющий магистрантам проявить свои интересы и эрудицию, это оценивается при выводе итоговой оценки на зачете. Во время устного опроса преподаватель периодически задает вопросы студентам, апеллируя к ранее полученным знаниям. Активность студентов оценивается. При проведении занятий используется проектор. Предусмотрены встречи с экспертами и специалистами.

Тема	Методы	Лекций (час)	Практические занятия (час)	Лабораторные занятия (час)	Всего
Инсерционные мутанты <i>Arabidopsis thaliana</i> и их использование для изучения функции гена.	Коллективная работа	2			
Количественное определение содержания белка.	Дискуссия	2			
Исследование транскрипции генов с помощью ДНК микрочипов. ПЦР в режиме реального времени на аппаратах отечественного производств.	Дискуссия		2		4

Разделение белков при помощи электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия и двумерный электрофорез.	Работа в команде		2		
Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений.	учебная мини-конференция, работа в команде		2		4
Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани.	учебная мини-конференция		2		
	Итого интерактивных занятий	4	8		12 (40%)

6. Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов.

При изучении дисциплины «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» предусматривается самостоятельная работа студентов (СРС). Она включает, помимо изучения материалов лекций и вопросов, обсуждаемых на практических занятиях, детальную проработку отдельных вопросов по некоторым разделам дисциплины. Она в целом ориентирована на анализ литературы и умение применять полученные знания при решении профессиональных задач. В перечень вопросов, выносимых на зачет, включены и вопросы, рекомендованные для самостоятельного изучения. Такая работа дает возможность студентам получить навыки работы с конспектом лекций, рекомендуемой литературой, а также анализировать полученные данные, связывать имеющиеся знания с новыми, усваивать методы изучения объектов и правильного оформления результатов исследований, овладевать методами и структурой изложения (как в письменной, так и в устной форме). Самостоятельная работа студентов составляет около 50% от общего количества часов (36 ч. из 72 ч. общей трудоемкости).

Задания, предусмотренные для самостоятельного выполнения, решаются письменно и сдаются преподавателю на проверку в конце модуля (задачи), а также сдаются в устной форме в виде зачета по самостоятельной работе или реферата

Цель самостоятельной работы студентов (СРС) - научить студента осмысленно и самостоятельно работать сначала с учебным материалом, затем с научной информацией, заложить основы самоорганизации и самовоспитания с тем, чтобы привить умение в дальнейшем непрерывно повышать свою квалификацию. При изучении дисциплины «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» организация самостоятельной работы включает формы: внеаудиторная СРС; аудиторная СРС, которая осуществляется под непосредственным руководством преподавателя; творческая, в том числе научно-исследовательская работа.

Аудиторная самостоятельная работа реализуется при проведении практических занятий, семинаров, выполнении лабораторного практикума и во время чтения лекций. На

практических и семинарских занятиях различные виды самостоятельной работы позволяют сделать процесс обучения более интересным и поднять активность значительной части студентов в группе.

Виды и порядок выполнения самостоятельной работы:

1. Изучение рекомендованной литературы
2. Поиск дополнительного материала
3. Подготовка реферата (до 5 страниц), презентации и доклада (10-15 минут)
4. Самостоятельная лабораторная работа по заранее выбранной теме
5. Подготовка к зачету

Для освоения дисциплины «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» необходимы следующие виды внеаудиторной самостоятельной работы:

1. Конспектирование, реферирование литературы.
2. Решение задач
3. Работа с лекционным материалом: проработка конспекта лекций, работа на полях конспекта с терминами
4. Подготовка к семинарам (см «Планы практических занятий»)
5. Подготовка к практическим занятиям. Оценка предварительной подготовки студента к практическому занятию делается путем экспресс - опроса в течение 5-10 минут. Для подготовки необходимо заранее ознакомиться и законспектировать материалы, необходимые для практической работы на занятии (см «Содержание занятий»)
6. Написание рефератов по заданным преподавателем темам (см «Темы рефератов»)
7. По результатам самостоятельной работы будет выставлена оценка. Она может быть учтена при выставлении итогового модульного балла или в конце семестра, на зачетной неделе

Разделы и темы, выносимые на самостоятельное изучение

Разделы и темы для самостоятельного изучения	Виды и содержание самостоятельной работы
Модуль 1. Генная инженерия, анализ генома и его экспрессии	
Тема 1. Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации. 1. Белковый комплекс репликационной вилки. 2. Репликон. 3. Процессинг РНК. 4. Регуляция экспрессии генов. Организация ДНК в структуре хромосомы. Рестрикционный анализ геномов. Гибридизация нуклеиновых кислот.	Обзор литературы по данной тематике, написание реферата, выполнение индивидуального задания
Тема 2. Генетически трансформированные корни как модельная система для изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого растения. 1. Ген как единица наследственной информации. 2. Скорость мутирования единичного гена.	Письменный опрос
Тема 3. Инсерционные мутанты <i>Arabidopsis thaliana</i> и их использование для изучения функции гена. Генетические базы данных.	Устный опрос, тестовый опрос

<p>Тема 4. Применение гидрогелевых биочипов для идентификации генно-модифицированных источников.</p> <p>Области применения ПЦР: диагностика инфекционных заболеваний и микробиологического загрязнения продовольствия, маркирование генов животных, выявления генетических заболеваний, паспортизации животных.</p>	<p>Письменный опрос, выполнение индивидуального задания</p>
<p>Тема 5. Изучение регуляции экспрессии растительных генов с использованием метода <i>gus-on</i> транскрипции.</p> <p>1. Биологическая роль систем рестрикции. 2. Использование рестрикции для клонирования и создания молекулярных маркеров.</p>	<p>Письменный опрос, тестовый опрос</p>
<p>Модуль 2. Белковая химия и гистохимия. Биологически активные соединения и трансдукция</p>	
<p>Тема 6. Количественное определение содержания белка.</p> <p>1. Разделение и анализ фрагментов ДНК в агарозном геле. Параметры определяющие скорость прохождения фрагментов ДНК в агарозном геле. Маркеры молекулярного веса ДНК (маркеры размеров фрагментов ДНК). 2. Клонирование ДНК <i>in vivo</i>. Методы трансформации плазмидами. Получение геномной библиотеки с помощью плазмидных векторов. Рекомбинантная ДНК. 3. Клонирование и экспрессирующие векторы</p>	<p>Обзор литературы по данной тематике, написание реферата, выполнение индивидуального задания</p>
<p>Тема 7. Экспрессия целевых (рекомбинантных) белков в бактериях.</p> <p>1. Библиотеки кДНК. 2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Основные принципы ПЦР. Компоненты и этапы ПЦР. 3. Методы секвенирования: секвенирование ДНК по Максому и Гилберту (метод химической дегградации); секвенирование ДНК по Сэнгеру, современные методы секвенирования: пиросеквенирование и полони-секвенирование</p>	<p>Решение задач</p>
<p>Тема 8. Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений.</p> <p>1. открытия в молекулярной биологии (Джеймс Уотсон, Френсис Крик, Розалин Франклин, Эрвин Чаргафф, Har Gobind Khorana, Robert William, Holley Marshall, Warren Nirenberg, Kary Mullis, Michael Smith.</p>	<p>Мини-конференция</p>

<p>2. Молекулярное маркирование: RFLP, RAPD, SSRs, AFLP</p> <p>3. Биоинформатика. Определение понятия биоинформатика и что в себя включает эта область исследований. Базы данных. NCBI (BLASTp, BLASTn, BLASTx, TBLASTx). Примеры использования биоинформатики</p>	
<p>Тема 9. Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани</p> <p>1. Методы детекции ГМО в образцах растительного происхождения.</p> <p>2. Биоэтика: понятие и значение. Формирование биоэтики как науки.</p> <p>3. Международные организации и правовое регулирование биоэтических проблем.</p>	Устный опрос

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

7.1. Перечень компетенций с указанием этапов их формирования в процессе освоения образовательной программы.

Компетенция	Знания, умения, навыки	Процедура освоения
<p>ОПК-4 способность самостоятельно анализировать имеющуюся информацию, выявлять фундаментальные проблемы, ставить задачу и выполнять полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств, нести ответственность за качество работ и научную достоверность результатов</p>	<p><i>Знать:</i> современные фундаментальные проблемы в области с целью постановки задачи и выполнения полевых, лабораторных биологических исследований с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств; <i>Уметь:</i> анализировать имеющуюся информацию, выявлять фундаментальные проблемы и выполнять полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач по специализации; <i>Владеть:</i> методами полевых, лабораторных биологических исследований, современной аппаратурой и вычислительными средствами.</p>	<p>Письменный опрос (Тема 1) Тестирование (Тема 2)</p>

<p>ОПК-7 готовность творчески применять современные компьютерные технологии при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач</p>	<p><i>Знать:</i> принципы работы и эксплуатации современных компьютерных технологий и их применения при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач; <i>Уметь:</i> творчески применять современные компьютерные технологии при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач; <i>Владеть:</i> современными компьютерными технологиями с целью их применения при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач.</p>	<p>Письменный опрос, устный опрос</p>
<p>ОПК-9 способность профессионально оформлять, представлять и докладывать результаты научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам</p>	<p><i>Знать:</i> правила профессионального оформления и представления научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам; <i>Уметь:</i> профессионально оформлять и докладывать результаты научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам; <i>Владеть:</i> навыками профессионального оформления и представления научно-«»ских и производственно-технологических работ по утвержденным формам.</p>	<p>Письменный опрос, устный опрос</p>
<p>ПК-4 способность генерировать новые идеи и методические решения</p>	<p><i>Знать:</i> учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» ; <i>Уметь:</i> логически мыслить, делать обобщения и выводы на основе собственных исследований и литературных данных; <i>Владеть:</i> современными методами постановки и проведения биохимического и молекулярно-генетического эксперимента;</p>	<p>Письменный опрос, устный опрос</p>

7.2. Описание показателей и критериев оценивания компетенций, описание шкал оценивания.

ОПК-4

Схема оценки уровня формирования компетенции «ОПК-4

способность самостоятельно анализировать имеющуюся информацию, выявлять фундаментальные проблемы, ставить задачу и выполнять полевые, лабораторные биологические исследования при решении конкретных задач с использованием современной аппаратуры и вычислительных средств, нести ответственность за качество работ и научную достоверность результатов».

Уровень	Показатели (что обучающийся должен продемонстрировать)	Оценочная шкала		
		Удовлетворительно	Хорошо	Отлично
Пороговый	Должен знать основные понятия биохимии и молекулярно-генетической биологии.	Показывает слабые знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Допускает неточности при демонстрации знаний основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Демонстрирует безошибочные знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии.; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.
Базовый	Должен знать основные понятия биохимии и молекулярно-генетической биологии. Уметь обобщать и анализировать явления	Показывает слабые знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Допускает неточности при демонстрации знаний понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Демонстрирует безошибочные знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.
Продвинутый	Должен знать основные понятия биохимии и	Показывает слабые знания основных	Допускает неточности при	Демонстрирует безошибочные знания

	молекулярно-генетической биологии. Уметь обобщать и анализировать явления	понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	демонстрации знаний основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.
--	------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ОПК – 7

Схема оценки уровня формирования компетенции «ОПК – 7

готовность творчески применять современные компьютерные технологии при сборе, хранении, обработке, анализе и передаче биологической информации для решения профессиональных задач».

Уровень	Показатели (что обучающийся должен продемонстрировать)	Оценочная шкала		
		Удовлетворительно	Хорошо	Отлично
Пороговый	Должен знать современную естественно-научную картину мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии.	Слабо знает особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	Хорошо знает особенности современной естественно-научной картины мира. Методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	В совершенстве умеет связывать особенности современной естественно-научной картины мира. Методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.

Базовый	Должен знать современную естественно-научную картину мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	Слабо знает особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	Хорошо знает особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	В совершенстве умеет связывать особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.
Продвинутый	Должен знать современную естественно-научную картину мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии. Владеть методами экспериментального исследования в области биохимии и молекулярной биологии	Слабо знает особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	Хорошо знает особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии.	В совершенстве умеет связывать особенности современной естественно-научной картины мира. Основные методы исследования в молекулярной биологии. Роль биохимических и молекулярно-генетических методов в биологии. Владеет методами экспериментального исследования в области биохимии и молекулярной биологии

ОПК-9

Схема оценки уровня формирования компетенции «ОПК – 9

способность профессионально оформлять, представлять и докладывать результаты научно-исследовательских и производственно-технологических работ по утвержденным формам»

Уровень	Показатели (что обучающийся должен продемонстрировать)	Оценочная шкала		
		Удовлетворительно	Хорошо	Отлично
Пороговый	Должен знать основные понятия биохимии и молекулярно-генетической биологии.	Показывает слабые знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Допускает неточности при демонстрации знаний основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Демонстрирует безошибочные знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии.; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.
Базовый	Должен знать основные понятия биохимии и молекулярно-генетической биологии. Уметь обобщать и анализировать явления	Показывает слабые знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Допускает неточности при демонстрации знаний понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	Демонстрирует безошибочные знания основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.
Продвинутый	Должен знать основные понятия биохимии и молекулярно-	Показывает слабые знания основных понятий	Допускает неточности при демонстрации	Демонстрирует безошибочные знания основных

	генетической биологии. Уметь обобщать и анализировать явления	биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	знаний основных понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.	понятий биохимии и молекулярно-генетической биологии; слабое знание основных современных биохимических и молекулярно-генетических методов.
--	------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ПК –4

Схема оценки уровня формирования компетенции «ПК – 4
способность генерировать новые идеи и методические решения»

Уровень	Показатели (что обучающийся должен продемонстрировать)	Оценочная шкала		
		Удовлетворительно	Хорошо	Отлично
Пороговый	Знать: учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	Слабо знает учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	Хорошо знает основы учебной, научной и методической литературы по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	В совершенстве знает основы учебной, научной и методической литературы по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений». Владеет методами биохимической и молекулярно-генетической биологии.
Базовый	Знать: учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-	Слабо знает основы учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и	Хорошо знает основы учебную, научную и методическую литературу по дисциплине	В совершенстве учебной, научной и методической литературы по дисциплине «биохимически

	генетические методы в современной биологии растений»	молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	«биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	е и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений». Владеет методами биохимической и молекулярно-генетической биологии.
Продвинутой	Знать: учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	Слабо знает основы учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	Хорошо знает основы учебную, научную и методическую литературу по дисциплине «биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений»	В совершенстве знает основы проектирования, выполнения полевых и лабораторных биологических, экологических исследований, использовать современную аппаратуру и вычислительные комплексы. Владеет: методами микроскопии, культивирования биологических объектов

Если хотя бы одна из компетенций не сформирована, то положительная оценка по дисциплине быть не может.

7.3. Типовые контрольные задания

7.3.1. Вопросы для текущего контроля знаний.

Занятие 1. Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации.

Вопросы к теме.

1. Получение трансплазмидных растений табака методом баллистической трансформации.
2. Получение генов и подбор вектор. Векторы для трансформации растений. Перенос ДНК в клетки растений.
3. Экспрессия интродуцированных генов. Наследование трансгенов.

4. Преимущества транспластомной трансформации. Приготовление агробактериального газона.
5. Проверка наследуемости встроенных генов у трансформированных растений.
6. Трансформация методом цветочного погружения. Преимущества транспластомной трансформации.
7. Методы получения транспластомных растений. Принцип метода баллистической трансформации.

Занятие 2. Генетически трансформированные корни как модельная система для изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого растения.

Вопросы к теме.

1. Применение конструкций ДНК с репортерными генами в физиологии растений.
2. Генетическая трансформация растений с помощью rRi-ДНК. Подготовка бактерий. Способы проведения трансформации.
3. Методика выявления активности GUS. Количественное определение в клеточных экстрактах.
4. Гистохимическое определение активности GUS в тканях растения.
5. Гены GFP и других автофлуоресцентных белков.
6. Методика обнаружения флуоресценции GFP.
- 7.

Занятие 3. Инсерционные мутанты *Arabidopsis thaliana* и их использование для изучения функции гена. Полимеразная цепная реакция.

Вопросы к теме.

1. Получение семян инсерционных мутантов.
2. Получение анализирующих праймеров.
3. ПЦР - Теория и применение.
4. Стратегия подбора праймеров. Выбор последовательностей для амплификации. Подходы к анализу генов использование интронов.
5. Подбор праймеров. Размер ампликона. Температура отжига праймера. Нуклеотидный состав. Длина праймеров. Величина диапазона параметра.
6. Выбор параметра оценки связывания праймера с ДНК. Палиндромы и шпильки и повторы. Состав ампликона.
7. Отборка условий ПЦР для пар праймеров. Стратегия подбора праймеров для анализа экспрессии генов.

Занятие 4. Применение гидрогелевых биочипов для идентификации генно-модифицированных источников.

Вопросы к теме.

1. Саузерн-блот-гибридизация.
2. Выделение растительной геномной ДНК.
3. Обработка ДНК ферментами рестрикции, гель-электрофорез и перенос ДНК с геля на мембрану.
4. Подготовка меченой пробы и гибридизация. Особенности применения метода. Выделение РНК. Измерение концентраций РНК.
5. Денатурирующий электрофорез РНК в агарозном геле. Перенос РНК с геля на мембрану.
6. Синтез меченых проб.
7. Нозерн-гибридизация.

Занятие 5. Изучение регуляции экспрессии растительных генов с использованием метода *chip-on* транскрипции.

Вопросы к теме.

1. Определение относительного содержания транскриптов генов растений с помощью ОТ-ПЦР.
2. Выделение хлоропластов.
3. Выделение Р-меченых вновь синтезированных транскриптов.
4. Подготовка мембран с фрагментами изучаемых генов. ДНК-РНК-гибридизация, анализ полученных данных.
5. Выделение РНК. Реакция ОТ и ПЦР.
6. Электрофорез в агарозном геле. Методы оценки и характеристики роста культур клеток высших растений.
7. Основные принципы характеристики ростовых процессов и используемые параметры: Индекс роста, скорость роста, экономический коэффициент. Кривая роста и определение длительности фаз роста. Особенности характеристики роста.

Занятие 6. Исследование транскрипции генов с помощью ДНК микрочипов. ПЦР в режиме реального времени на аппаратах отечественного производства.

Вопросы к теме.

1. Выделение РНК.
2. Анализ экспрессии генов с помощью ДНК-микрочипов.
3. Дизайн праймеров.
4. Программирование амплификатора.
5. Генетические маркеры.
6. Картирующие популяции.
7. Использование метода в физиологических исследованиях.

Занятие 7. Количественное определение содержания белка.

Вопросы к теме.

1. Разделение белков при помощи электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия и двумерный электрофорез.
2. Вестерн-блот-гибридизация.
3. Выбор метода определения белка.
4. Метод Lowry. Метод Bradford.
5. Определение белка с BCA реагентом. Подготовка белкового образца.
6. Одномерный электрофорез в присутствии ДДС-Na.

Занятие 8. Экспрессия целевых (рекомбинантных) белков в бактериях.

Вопросы к теме.

1. Гистохимическая (*in situ*) локализация активности ферментов углеводного метаболизма в растительных тканях.
2. Выбор систем векторов экспрессии векторов экспрессии *E. coli*, анализ последовательности ДНК, кодирующей целевой белок, подбор праймеров к выбранному участку гена.
3. Создание плазмидных конструкций с геном, кодирующем целевой белок, и трансформация данными конструкциями штаммов-продуцентов *E. coli*.

Занятие 9. Гистохимические методы определения локализации тяжелых металлов и стронция в тканях высших растений.

Вопросы к теме.

1. Количественное определение в растениях ИУК, цитокининов, абсцизовой кислоты и гиббереллинов иммуноферментным методом.

2. Растительный материал и условия выращивания.
3. Получение срезов и фиксация.
4. Микроскопия.
5. Оценка влияния фиксации на активность ферментов.

Занятие 10. Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галайдфеноксикислот в одном образце растительной ткани.

Вопросы к теме.

1. Определение выделения и содержания этилена в растениях.
2. Синтез иммуногенных конъюгатов для производства антисывороток.
3. Синтез конкурентных конъюгатов для сенсibilизации планшет.
4. Процедура иммунизации и получение антисыворотки.

Занятие 11. Определение свободных и связанных полиаминов в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Вопросы к теме.

1. Методы оценки содержания активных форм кислорода, низкомолекулярных антиоксидантов и активностей основных антиоксидантных ферментов.
2. Определение содержания свободных, HClO_4 - растворимых и нерастворимых каньогированных ПА.
3. Экстракция 5% HClO_4 свободных, растворимых каньогированных ПА и получение фракции нерастворимых связанных ПА.
4. Гидролиз конъюгатов ПА.

Занятие 12. Анализ гормон-рецепторного взаимодействия радиолигандным методом.

Вопросы к теме.

1. Применение трансгенных бактерий для изучения мембранных рецепторов.
2. Инкубация образца с радиоактивным лигандом до достижения равновесия.
3. Разделение свободной и связанной радиоактивности.
4. Измерение количества связанной радиоактивности.
5. Математический, графический или компьютерный анализ результатов.

7.3.2. Примерная тематика рефератов:

1. Развитие учения о минеральном питании растений.
2. Д.А.Сабинин и развитие представлений о физиологии минерального питания растений.
3. Вариабельность в потребности и накоплении минеральных элементов у видов растений и в зависимости от условий.
4. Потоки питательных веществ в почве.
5. Солеустойчивость. Состав и структура почвы.
6. Ион-транспортные системы растений
7. Синтетическая и выделительная функции корневой системы.
8. Круговорот азота в природе.
9. Калий, как активатор ферментных систем
10. Толерантность растений к их избытку и недостатку микроэлементов

7.3.3. Перечень вопросов, выносимых на зачет

- 1) Подчиняется ли РНК правилу комплементарности Чаргаффа?
- 2) Как проходит синтез отстающей цепи ДНК?
- 3) В каком месте начинается и заканчивается синтез ДНК?
- 4) Какова скорость движения репликативных вилок у прокариот и эукариот?

- 5) В чем проявляется экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы?
 - 6) Как организованы гены, кодирующие рРНК и гистоны?
 - 7) Что означает С-генама парадокс?
 - 8) Как можно получить высокий уровень экспрессии вставленного гена?
 - 9) Как бактерии могут быть использованы для получения протеина животного или человека?
 - 10) При каких условиях рестриктаза не подходит для клонирования фрагмента чужеродной ДНК?
 - 11) Как можно выделить определенную последовательность ДНК из геномной ДНК?
 - 12) Будет ли зависеть ПЦР продукт от: а) направленности праймеров, б) сиквенса праймеров, в) температуры плавления праймеров?
 - 13) Как трансгенные мыши могут быть использованы в качестве модели для изучения заболеваний человека и животных?
 - 14) Будет ли наследоваться ген, если его путем микроинъекции ввести в ядро соматической клетки?
 - 15) Для получения лекарственных препаратов обязательно ли получение трансгенного животного или можно ограничиться получением трансгенных органов или тканей?
 - 16) Какие методы используют для введения чужеродной ДНК в эукариотическую клетку?
 - 17) Как долго животная клетка может жить в культуре вне организма?
 - 18) Сколько раз могут делиться клетки введенные в культуру *in vitro*?
 - 19) Чем отличается нормальная диплоидная клеточная линия от раковой?
 - 20) Что такое клеточная адгезия?
 - 21) Как Вы понимаете апоптоз?
 - 22) Чем отличаются трансгенные растения от цисгенных?
 - 23) В чем сходства и отличия каллусных клеток от соматических клеток растения?
 - 24) Какую систему молекулярного маркирования будете использовать при наличии ДНК-зонда?
 - 25) Структура нуклеиновых кислот.
 - 26) Синтез ДНК: вилка репликации, «ведущая» и «отстающая» нити при репликации.
- Фрагменты Оказаки.
- 27) Комплекс белков в репликационной вилке.
 - 28) Репликоны эукариот. Скорость движения репликативных вилок у прокариот и эукариот. ДНК-полимеразы эукариот. Экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы
 - 29) Нуклеосома как единица структурной организации хроматина. Октамер гистонов в составе нуклеосомы. Линкер и линкерный гистон.
 - 30) Механизмы репарации. Основные ферменты, участвующие в репарации.
 - 31) Эксцизионная репарация.
 - 32) Механизм репарации неправильно спаренных нуклеотидов (mismatch репарация).
Выбор репарируемой нити ДНК.
 - 33) Скорость мутирования единичного гена. Методы определения.
 - 34) РНК-полимеразы эукариот I, II и III. Участие разных полимераз в транскрипции разных клеточных РНК.
 - 35) Инициация транскрипции РНК полимеразой II эукариот.
 - 36) Кепирование, сплайсинг и полиаденилирование транскриптов, синтезируемых полимеразой II.
 - 37) Синтез белка. Генетический код. Открытые и закрытые рамки считывания. Кодон и антикодон. Строение рибосомы.

38) Рестрицирующие нуклеазы (рестриктазы). Типы рестриктаз. Сайты рестрикции. Биологическая роль систем рестрикции. Использование рестрикции для клонирования и создания молекулярных маркеров. Физическое картирование с помощью рестриктаз.

39) Выделение растительной ДНК. Лизис клеток, состав буфера для экстракции, депротеинизация и удаление примесей. Преципитация (осаждение) ДНК, очистка, сушка и растворение.

40) Гибридизация нуклеиновых кислот. Саузерн- и Нозерн-блоттинг.

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

Общий результат модуля выводится как интегральная оценка, складывающаяся из текущего контроля –40 % и промежуточного контроля - 60%.

Текущий контроль по дисциплине включает:

- посещение занятий- 1 балл за практическое занятие,
- ответы на практических занятиях - 85 баллов,
- выполнение лабораторных заданий –4балла,
- выполнение домашних (аудиторных) контрольных работ - 10 баллов.

Промежуточный контроль по дисциплине включает:

- письменная контрольная работа - 100 баллов, или - тестирование –100 баллов.

Получение 51 балла в среднем за три модуля позволяет получить зачет.

8. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины.

а) основная литература:

1. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Вл.В.Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012.

2. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж и др. Молекулярная биология клетки. – М.: Мир, 1994

3. Хрусталева Л. Биотехнология. Мультимедийные лекции для студентов зооинженерного факультета. РГАУ-МСХА, 2005.

4. Молекулярная биология: структура и биосинтез нуклеиновых кислот / Под ред. А.С.Спирина. – М. Высшая шк. 1990

б) дополнительная литература:

1. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000.

2. Уотсон Дж., Туз Дж. и Курц Д. Рекомбинантные ДНК. М.:Мир, 1986.

3. Глик Б.Р., Пастернак Д. – Молекулярная биотехнология. М. 2002.

4. Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. В 3-х томах, 1982, Мир.

5. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия: Учеб.-справ. пособие . 2-е изд, испр. и доп. – Новосибирск: Сиб унив. изд-во, 2004.

6. Фрешин Р. Культура животных клеток. Практическое руководство. М.: БИНОМ, 2011.

7. Албертс Б. Молекулярная биология клетки. / Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж и др. М.: Мир, 1994. Т.1-3.

8. Спирер Р.Е., Адамс Г.Д., Гриффитс Дж.Б. и др. Биотехнология клеток животных. М.: Агропромиздат, 1989. Т. 1, 2.

9. Фридлянская И.И. Получение моноклональных антител (гибридомная технология). // Методы культивирования клеток. Л.: Наука, 1988. С. 194 - 205.

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

сайты: <http://www.ebio.ru/index-4.html>

<http://www.atheism.ru/science/index>

<http://evolution.atheism.ru/library/contemporanitulhim>.

<http://www.b2science.org/>

<http://biology.asvu.ru/>

European Environment Agency (EEA) - <http://www.eea.europa.eu/>

<http://www.unep.org/infoterra/>

<http://www.ecoline.ru/>

Библиотека учебников по физиологии растений - <http://window.edu.ru/window/library>

Основные справочные и поисковые системы LibNet, MedLine, PubMed, Google, Yandex, Rambler

10. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины.

Изучение дисциплины сопровождается активными методами ее контроля:

- входной контроль знаний и умений студентов при начале изучения очередной дисциплины;
- текущий контроль, то есть регулярное отслеживание уровня усвоения материала на лекциях, практических и лабораторных занятиях; в том числе с использованием тестирования
- промежуточный контроль по окончании изучения раздела или модуля курса;
- самоконтроль, осуществляемый студентом в процессе изучения дисциплины при подготовке к контрольным мероприятиям;
- итоговый контроль по дисциплине в виде зачета или экзамена (может быть проведен в виде тестирования);
- контроль остаточных знаний и умений спустя определенное время после завершения изучения дисциплины.

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

Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по молекулярной биологии:

- обучение с использованием информационных технологий (персональные компьютеры, проектор, акустическая система, компьютерное тестирование, демонстрация мультимедийных материалов и т.д.);
- интернет-сервисы и электронные ресурсы (поисковые системы, электронная почта, профессиональные, тематические чаты и форумы, системы аудио и видео конференции, онлайн энциклопедии и справочники; электронные учебные и учебно-методические материалы).
- ЭБС Книгафонд, «Гарант», «Консультант»;
- <http://elibrary.ru> Научная электронная библиотека (крупнейший российский информационный портал в области науки, технологии, экономики, управления и образования, содержащий рефераты и полные тексты более 12 млн. научных статей и

публикаций). Электронная научная библиотека «e-library» обеспечивает полнотекстовый доступ к научным журналам с глубиной архива 10 лет. Доступ осуществляется по IP адресам университета).

Лицензионное ПО

ABBYYLingvox3, MVFoxPro 9.0, KasperskyEndpointSecurity 10 forwindows, MicrosoftAccess 2013, ProjectExpert

Свободно распространяемое ПО, установленное в лаборатории 53:

Adobe Reader xi, DBurnerXP, GIMP 2, Inkscape, 7-zip, Crystal Player, Expert, systems, Far Manager 3 x64, Free Pascal, FreeCommander, Google Chrome, Yandex, Java, Java Development Kit, K-Lite Codec Pack, Lazarus, Microsoft Silverlight, Microsoft XNA Game Studio 4.0 Refresh, NetBeans, Notepad++, OpenOffice 4.4.1, PascalABC.NET, PhotoScape, QuickTime, Ralink Wireless, Scratch, SharePoint, VIA, WinDjView, Алгоритм.

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

Дисциплина «Биохимические и молекулярно-генетические методы в современной биологии растений» обеспечена необходимой материально-технической базой: презентационным оборудованием, библиотекой с необходимой литературой, слайдами, компьютерными фильмами, презентациями.