МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ – МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»
(ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР КОМПЕТЕНЦИЙ

УТВЕРЖДАЮ
И.о. проректора по учебно-методической и воспитательной работе
_____ Е.В. Хохлова
«_22_» _ноября_ 2021 г.

ПРОГРАММА ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ

Применение NGS секвенирования в селекции картофеля

Москва, 2021

РАЗДЕЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОГРАММЫ

1.1. Цель реализации программы

Развитие профессиональных компетенций в области теоретических и практических знаний, а также развитие способностей к обоснованию и принятию конкретных технологических решений в ходе выполнения программ по селекции картофеля с применением высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот.

Совершенствуемые и/или приобретаемые компетенции и планируемые результаты обучения

№	Приобретаемые и/или совершенствуемые компетенции	Код компетенции	Знать/Уметь
1.	Компетенция 1 (приобретаемая в результате обучения)	ПКос, ОПК	Знать теоретические основы современных методов определения последовательностей нуклеиновых кислот. Знать основные принципы современных технологий создания библиотек фрагментов ДНК для осуществления высокопроизводительного секвенирования. Знать принципы планирования экспериментов с использованием высокопроизводительного секвенирования. Знать базовые технологические принципы работы оборудования, предназначенного для проведения высокопроизводительного секвенирования. Знать принципы осуществления высокопроизводительного секвенирования геномов растительных организмов, таргетного секвенирования, секвенирования транскриптома растений. Знать принципы обработки и хранения информационных данных, полученных в результате высокопроизводительного секвенирования
2.	Компетенция 2 (приобретаемая в результате обучения)	ПКос, ОПК	Уметь осуществлять пробоподготовку, оценивать применимость препаратов нуклеиновых кислот для NGS, уметь принимать технологические решения по выбору оптимальных методов создания библиотек при работе с геномом картофеля. Уметь разрабатывать оптимальные пути проведения ис ледований с применением NGS. Уметь осуществлять таргетное секвенирование для оценки хозяйственно-ценных детерминант селекционного материала картофеля. Уметь обрабатывать информационные данные, полученные в результате высокопроизводительного секвенирования.

РАЗДЕЛ 2. СОДЕРЖАНИЕ ПРОГРАММЫ

2.1. Учебный план программы повышения квалификации

«Применение NGS секвенирования в селекции картофеля»

Категория слушателей: сотрудники организаций, осуществляющих работы в области селекции картофеля.

Форма обучения: очная с применением информационных образовательных технологий

Срок освоения: от 2 недель до 4 недель.

Трудоемкость программы: 72 академических часа.

№ п/п	Наименование разделов, тем	Всего ак. ч.	В том числе		Формы аттестации, контроля
			Самостоятельная работа (практическая работа)	Лекции	
1	Тема 1 «Методы определения последовательности нуклеиновых кислот	4	0	4	Выходное тестирование
2	Тема 2 «Технологии создания библиотек фрагментов ДНК для высокопроизводительного секвенирования»	26	22	4	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
3	Тема 3 «Принципы планирования экспериментов с использованием высокопроизводительного секвенирования»	6	4	2	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
4	Тема 4 «Основные технологии осуществления высокопроизводительного секвенирования»	4	0	4	Выходное тестирование
5	Тема 5 «Применение высокопроизводительного секвенирования для анализа геномов эукариотических организмов»	16	8	8	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
6	Тема 6 «Принципы обработки данных высокопроизводительного секвенирования»	16	10	6	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
7	Итого	72	44	28	-
Итоговая аттестация		Зачёт			

2.2. Учебно-тематический план программы повышения квалификации

«Применение NGS секвенирования в селекции картофеля»

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Планируемый результат
1	2	3	4	5
1.	Тема 1. Методы определения последовательности нуклеиновых кислот	Лекция 1. (2 ак. ч.)	Метод Максама-Гилберта, метод Сэнгера, секвенирование путем гибридизации на твердой фазе, определение нуклеотидной последовательности с помощью метода MALDI-TOF, секвенирование лигированием, пиросеквенирование, полупроводниковое секвенирование, секвенирование путем регистрации присоединяемого нуклеотида по отщепляемой метке.	Знать теоретические основы современных методов определения последовательностей нуклеиновых кислот
		Лекция № 2. (2 ак. ч.)	Обзор методов, основанных на детекции сигнала одной молекулы ДНК: секвенирование при помощи электронного микроскопа, использование обратимых терминирующих нуклеотидов на одиночных молекулах ДНК, нанопоровое секвенирование, секвенирование методом спектроскопии комбинационного рассеяния.	
2.	Тема 2. Технологии создания библиотек фрагментов ДНК для высокопроизводительного секвенирования	Лекция № 3. (2 ак. ч.)	Основные алгоритмы проведения NGS-севенирования. Основные типы библиотек фрагментов ДНК для NGS-секвенирования и алгоритмы их создания. Обычная (paired-end) и инвертированная (mate-pair) библиотеки фрагментов. Этап изоляции и очистки ДНК. Требования к степени чистоты препаратов ДНК для NGS-секвенирования. Физические и энзиматические способы фрагментации высокомолекулярной ДНК. Оценка длин фрагментов ДНК.	Знать основные принципы технологий создания библиотек фрагментов ДНК для осуществления высокопроизводительного секвенирования
		Лекция № 4. (2 ак. ч.)	Присоединение адаптеров. Оценка эффективности присоединения адаптеров. Предварительная амплификация библиотек. Отбор фрагментов необходимого молекулярного размера. Метка образцов	

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Планируемый результат
1	2	3	4	5
			специфичными адаптерами (баркодирование). Клональная амплификация фрагментов ДНК. Создание библиотеки методом мостиковой ПЦР. Создание библиотеки путем проведения ПЦР на микросферах (комбинация эмульсионной ПЦР и пиросеквенирования).	
		Самостоятельная работа (практическая работа № 1). (8 ак. ч.)	Изоляция нуклеиновых кислот из растений для осуществления высокопроизводительного секвенирования (на примере гибридной экспериментальной популяции картофеля)	Уметь осуществлять пробоподготовку, оценивать применимость препаратов нуклеиновых кислот для NGS, уметь принимать технологические решения по выбору оптимальных методов создания библиотек при работе с геномом картофеля.
		Самостоятельная работа (практическая работа № 2). (2 ак. ч.)	Флуоресцентная концентрации и чистоты препаратов нуклеиновых кислот, имеющихся в микроколичествах, с помощью спектрофотометров Qubit и Quantus.	
		Самостоятельная работа (практическая работа № 3). (4 ак. ч.)	Определения концентрации нуклеиновых кислот с помощью количественной ПЦР	
		Самостоятельная работа (практическая работа № 4). (8 ак. ч.)	Создания библиотеки фрагментов ДНК для таргетного высокопроизводительного секвенирования (на примере гибридной экспериментальной популяции картофеля): фрагментация ДНК, отбор фрагментов необходимого молекулярного размера, присоединение адаптеров, штрих-кодирование, лигирование, проведение ПЦР.	
3.	Тема 3. Принципы планирования экспериментов с использованием высокопроизводительного секвенирования	Лекция № 5. (2 ак. ч.)	Рандомизация. Подходы для снижения систематической ошибки. Учет влияния адаптеров и баркодирования на результаты NGS. Расчет необходимого количества биологических и аналитических повторностей. Использование повторностей для определения чувствительности и специфичности методов поиска полиморфизма последовательностей ДНК. Учет и борьба с основными типами ошибок на этапах пробоподготовки, подготовки библиотеки фрагментов ДНК, на этапе секвенирования	Знать основные принципы планирования экспериментов с использованием высокопроизводительного секвенирования

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Планируемый результат
1	2	3	4	5
		Самостоятельная работа (практическая работа № 5). (4 ак. ч.)	Выполнение разработки оптимального алгоритма проведения эксперимента по высокопроизводительному секвенированию (на примере гибридной экспериментальной популяции картофеля)	Уметь разрабатывать оптимальные пути проведения ис ледований с применением NGS
4.	Тема 4. Основные технологии осуществления высокопроизводительного секвенирования	Лекция № 6. (2 ак. ч.)	Технология 454 LIFE SCIENCES (комбинация эмульсионной ПЦР и пиросеквнирования), приборная база Genome Sequencer FLX+ и Sequencer Junior (компания Roche). Технология SOLiD (комбинация эмульсионной ПЦР и секвенирования лигированием). Приборная база SOLiD 5500xl (Thermo Fisher Scientific).	Знать базовые технологические принципы работы оборудования, предназначенного для проведения высокопроизводительного секвенирования
		Лекция № 7. (2 ак. ч.)	Технология компании Illumina (мостиковая ПЦР и секвенирование синтезом). Приборная база MiSeq, HiSeq, NexSeq (Illumina). Приборная база ION PROTON и ION PGM (комбинация эмульсионной ПЦР и полупроводникового секвенирования). Приборные базы PacBio и HeliScope (секвенирование синтезом одиночных молекул)	
5.	Тема 5. Применение высокопроизводительного секвенирования для анализа геномов эукариотических организмов.	Лекция № 8. (2 ак. ч.)	Общие аспекты секвенирования сложных геномов. Секвенирование эукариотических геномов de novo. Повторное секвенирование. Фазирование при ресеквенировании диплоидных геномов. Секвенирование генома отдельной клетки.	Знать общие принципы осуществления высокопроизводительного секвенирования геномов растительных организмов, таргетного секвенирования, секвенирования транскриптома.
		Лекция № 9. (2 ак. ч.)	Секвенирование транскриптомов эукариот. Требование к методам изоляции и очистки РНК. Осуществление обратной транскрипции. Подготовка библиотеки кДНК для NGS. Секвенирование малых РНК. Секвенирование белок-кодирующих РНК. Нормализация библиотеки кДНК перед секвенированием. Приготовление библиотеки кДНК из малого количества РНК (транскриптом одной клетки). Влияние амплификации на представленность транскрипта, искажение профиля транскрипции.	

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Планируемый результат
1	2	3	4	5
		Лекция № 10. (2 ак. ч.)	Таргетное секвенирование. Параметры методов целевого обогащения: эффективность обогащения, однородность покрытия целевых районов, воспроизводимость, стоимость, количество ДНК, необходимого для проведения эксперимента. Обогащение библиотеки фрагментов на основе классической и мультиплексной ПЦР. Технология Ion AmpliSeq. Эмульсионная ПЦР, технология RainStorm.	
		Лекция № 11. (2 ак. ч.)	Подходы целевого обогащения, основанные на применении микрофлюидных чипов. Обогащение при помощи гибридизации с пробой. Гибридизация на твердой фазе. Обогащение в растворе с последующим переносом на твердую фазу. Гибридизация в растворе с отбором методом ПЦР. Обогащение библиотеки белок-связывающими последовательностями хроматина.	
		Самостоятельная работа (практическая работа № 6). (8 ак. ч.)	Выполнение высокопроизводительного таргетного секвенирования на хозяйственно-ценных детерминант селекционного материала картофеля	Уметь осуществлять таргетное секвенирование
6.	Тема 6. Принципы обработки данных высокопроизводительного секвенирования	Лекция № 12. (2 ак. ч.)	Оценка качества первичных данных. Наиболее распространенные программы и форматы файлов для хранения и обработки данных NGS-секвенирования. Принципы сборки геномов de novo. Расчет степени покрытия секвенированного генома. Алгоритмы сборки контигов. Фильтрация ошибок секвенирования. Проблема повторяющихся последовательностей. Оценка распределения длины прочтенных фрагментов. Учет искажений при секвенировании генома отдельных клеток. Объединение контигов в скэффолды.	Знать принципы обработки и хранения информационных данных, полученных в результате высокопроизводительного секвенирования
		Лекция № 13. (2 ак. ч.)	Учет вариаций последовательностей в близкородственных геномах в ходе ресеквенирования генома. Картирование прочтений при повторном секвенировании. Поиск однонуклеотидного полиморфизма	

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Планируемый результат
1	2	3	4	5
			(SNP). Поиск структурных вариаций: протяженных вставок, делеций, инверсий и транслокаций. Аннотация обнаруженных вариаций с использованием баз данных.	
		Лекция № 14. (2 ак. ч.)	Вычислительное оборудование и программные решения для обработки данных NGS. Локальные центры хранения и обработки данных: архитектура и программные решения. Наиболее распространенное программное обеспечение для центра обработки данных NGS. Сетевые сервисы и простые решения: SOAP Stack, Bowtie, Blast. Многоядерные кластеры. Распределенные вычисления в облаке. MapReduce и MPI. Облачные решения Amazon Cloud Stack и Microsoft Azure. Специализированные проекты: Nessus PHP Interface, Galaxy Project, Postparser.net, CLC Bio, Knome.	
		Самостоятельная работа (практическая работа № 7). (10 ак. ч.)	Вычислительная обработка результатов таргетного секвенирования для оценки хозяйственно-ценных детерминант селекционного материала картофеля.	Уметь обрабатывать информационных данных, полученных в результате высокопроизводительного секвенирования

Раздел 3. *Формы аттестации и оценочные материалы*

Итоговое тестирование

Форма итоговой аттестации	Зачет как совокупность выполненных работ по темам
Требования к итоговой аттестации	Выполнение практической работы по заданию преподавателя
Критерии оценивания	Слушатель считается аттестованным при положительном оценивании практической работы
Оценка	Зачтено/не зачтено

Раздел 4. Материально-технические условия реализации программы

Для реализации программы используются ресурсы, размещенные в системе дистанционного обучения ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (sdo.timacad.ru), которые позволяют слушателям самостоятельно осваивать содержание программы или отдельных ее разделов, используются МООК, открытые

образовательные и интернет – ресурсы и платформы.

Наименование специализированных аудиторий, кабинетов, лабораторий	Вид занятий	Наименование оборудования, программного обеспечения
1	*2*	*3*
Аудитория	Лекции	Мультимедийное оборудование (компьютер с доступом в сеть Интернет, веб-камера)

5. Учебно-методическое обеспечение программы

Основная литература:

1. Ребриков Д.В. NGS: высокопроизводительное секвенирование / Д. В. Ребриков [и др.] ; под общей редакцией Д. В. Ребрикова. - М. : БИНОМ, 2014. - 235 с. - ISBN 978-5-9963-3024-9
2. Кильчевский А.В., Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 4. Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия / науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева - Минск : Белорус. наука, 2014. - 653 с. - ISBN 978-985-08-1791-4
3. Wang X. Next-generation sequencing data analysis**.** Boca Raton, Florida CRC Press, 2016 – 246 pp. ISBN: 978-1-4822-1788-9
4. Compeau P., Pevzner P. Bioinformatics Algorithms. An Active Learning Approach, 2015 -355 pp.
5. Mandoiu I., Zelikovsky A. Computational Methods for Next Generation Sequencing Data Analysis. 2016. – 464 pp. ISBN: 978-1-119-27218-2

Дополнительная литература:

1. Игнасимуту, С. Основы биоинформатики [Текст] / С. Игнасимуту; пер. с англ. А. А. Чумичкина. - М. : РХД, 2007. - 316 с. - (Биоинформатика и молекулярная биология). - Предм. указ.: с. 311-316. - Прил.: с. 260-282. - Библиогр.: с. 283-286. - ISBN 978-5-93972-620-7.
2. Леск, А. Введение в биоинформатику = Introduction to Bioinformatics [Текст] / А. Леск; пер. с англ. под ред. А. А. Миронова, В. К. Швядаса. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. - 318 с. : ил.- Парал. тит. л. англ. - ISBN 978-5-94774-501-6.
3. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений [Электронный ресурс] / под ред. Вл. В. Кузнецова, В. В. Кузнецова, Г. А. Романова. - Эл. изд. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. - 487 с. : ил. - (Методы в биологии). ISBN 978-5-9963-0978-8 http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=362497
4. Лукашов, В. В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ / В. В. Лукашов. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. - 256 с. : ил. - ISBN 978-5-9963-0114-0 http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=368970

Интернет-ресурсы:

1. Биоинформатика, геномика, протеомика, биософт, имейджинг. Научный портал по биоинформатике. Режим доступа: http://www.bioinformatix.ru/ (дата обращения: 02.09.2021)

6. Оценка качества освоения программы

Оценка качества освоения программы осуществляется на основе результатов итоговой аттестации. Слушатель считается аттестованным, если имеет положительные оценки (от «15» до «30» баллов) по всем разделам программы.

7. Образовательные технологии, используемые в процессе реализации программы

В программе используются ресурсы, размещенные в системе дистанционного обучения ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (sdo.timacad.ru), которые позволяют слушателям самостоятельно осваивать содержание программы или отдельных ее разделов, используются МООК, открытые образовательные и интернет – ресурсы и платформы.

8. Составитель программы

Алексеев Яков Игоревич к.б.н., директором по науке ООО «Синтол» _____
(подпись)

Утверждена в Институте непрерывного образования:

«29» ноября 2021 г.