



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



ПРОГРАММА ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ

БАЗОВЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ
В ИССЛЕДОВАНИИ РАСТЕНИЙ

г. Москва, 2023

РАЗДЕЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОГРАММЫ

1.1. Цель реализации программы

Программа предполагает теоретическую и практическую подготовку в области методов молекулярной биологии применительно к исследованию растений. Слушатели смогут узнать принципы молекулярного анализа нуклеиновых кислот, на практике ознакомившись с методами выделения ДНК, ПЦР, гель-электрофореза и другими манипуляциями.

Совершенствуемые и/или приобретаемые компетенции и планируемые результаты обучения

№	Приобретаемые и/или совершенствуемые компетенции	Код компетенции	Знать/Уметь
1.	Способен планировать и проводить исследования в области молекулярной биологии и биотехнологии растений, работать с базами данных аминокислотных и нуклеотидных последовательностей.	ОПК	Знать основные принципы организации научных исследований в области молекулярной биологии и биотехнологии растений. Знать основные правила организации лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии для проведения работ с различными видами растений. Уметь планировать эксперимент, в соответствии с информацией из отечественных и зарубежных баз данных.
2.	Способен использовать методы молекулярной биологии, генетической инженерии и биотехнологии растений на практике.	ПКос	Знать особенности применения методов молекулярной биологии в исследовании растений.
3	Способен использовать современное оборудование при проведении работ по молекулярной биологии, генетической инженерии и биотехнологии растений.	ПКос	Знать методические подходы для реализации исследований и коммерческих проектов в области молекулярной биологии растений. Уметь использовать современное оборудование для проведения работ молекулярной биологии, генетической инженерии и биотехнологии растений.

РАЗДЕЛ 2. СОДЕРЖАНИЕ ПРОГРАММЫ

2.1. Учебный план программы повышения квалификации

«Базовые методы молекулярной биологии в исследовании растений»

Категория слушателей: преподаватели средних общеобразовательных школ, учреждений СПО, вузов, центров для одаренных детей, студенты, аспиранты биологического, сельскохозяйственного и фармацевтического направления

Форма обучения: очно-заочная с использованием дистанционных образовательных технологий

Срок освоения: 4 недели.

Трудоемкость программы: 72 академических часа.

№ п/п	Наименование разделов, тем	Всего ак. ч.	В том числе		Формы аттестации, контроля
			Практические занятия	Лекции	
1	Раздел 1 Введение в молекулярную биологию	6	-	6	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
2	Раздел 2 Общие аспекты выделения и очистки нуклеиновых кислот. Особенности выделения геномной ДНК из растительных клеток и тканей	10	8	2	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
3	Раздел 3 Организация генома растений. Ядерный и цитоплазматический геном	11	8	3	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
4	Раздел 4 Полимеразная цепная реакция – принцип метода и основные параметры.	10	8	2	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
5	Раздел 5 Электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле	7	6	1	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование

6	Раздел 6 Секвенирование нуклеиновых кислот	2	-	2	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
7	Раздел 7 Генетическая инженерия растений	10	6	4	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
8	Раздел 8 Инструменты биоинформатики в исследовании растений	16	12	4	Выполнение индивидуальных заданий, выходное тестирование
Итого		72			-
Итоговая аттестация		Зачёт			

2.2. Учебно-тематический план программы повышения квалификации «Базовые методы молекулярной биологии в исследовании растений»

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
1.	Раздел 1 Введение в молекулярную биологию				
	Строение и функция нуклеиновых кислот и базовые аспекты современной молекулярной биологии	Лекция № 1. (2 ак. ч.)	Предмет, цели и задачи молекулярной биологии. Строение и функции нуклеиновых кислот и механизмы передачи генетической информации.	O.B. Поливанова	Знать основные процессы, связанные с передачей генетической информации в клетке; молекулярную структуру генов, актуальные направления исследований в области молекулярной биологии, генетиче-

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
					ской инженерии и биотехнологии растений с применением современных методов; правила организации работы лаборатории молекулярной биологии растений и технику безопасности
2.	Раздел 2 Экстракция нуклеиновых кислот				
	Общие аспекты выделения и очистки нуклеиновых кислот. Особенности выделения геномной ДНК из растительных клеток и тканей	Лекция № 4. (2 ак. ч.)	Основные этапы экстракции нуклеиновых кислот. Жидкофазные и твердофазные методы выделения ДНК и РНК. Особенности выделения ДНК из различных растительных тканей. Подбор протокола экстракции ДНК для выбранного растительного объекта. Методы концентрирования и очистки нуклеиновых кислот. Контроль качества ДНК и РНК.	О.Б. Поливанова	Знать теоретическую основу методов выделения ДНК и РНК из растительных объектов.
	Приготовления буферных растворов для выделения и очистки ДНК из растительных объектов	Практическое занятие № 1. (2 ак. ч.)	Подбор протокола для экстракции нуклеиновых кислот из выбранного растительного объекта. Приготовление буферных растворов для экстракции и очистки ДНК в соответствии с подобранным протоколом	О.Б. Поливанова	Уметь подобрать протокол выделения ДНК или РНК для требуемого объекта исследований. Уметь приготовить необходимые для выделения и очистки ДНК и РНК буферные растворы, материалы и оборудование

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
	Выделение ДНК из растительной ткани	Практическое занятие № 2. (3 ак. ч.)	Выделение ДНК из растительной ткани в соответствии с выбранным протоколом. Контроль качества выделенных препаратов ДНК	О.Б. Поливанова	Уметь выделять ДНК из растительных объектов. Уметь осуществлять проверку качества препаратов ДНК с помощью наноспектровотометра и флюориметра

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
	Выделение и очистка РНК	Практическое занятие № 3. (3 ак. ч.)	Особенности выделения РНК, протокол очистки РНК, элиминация активности РНКаз, контроль качества выделенной РНК		Уметь выделять РНК из растительных объектов, уметь осуществлять проверку качества выделенной РНК, знать принципы очистки РНК
3.	Раздел 3 Организация геномов растений. Ядерный и цитоплазматический геном				
	Общие принципы организации геномов растений. Ядерный и цитоплазматический геном	Лекция № 5. (3 ак.ч.)	Организация геномов. Особенности организации геномов растений. Митохондрии и хлоропласты, и их геном. Функциональная геномика растений.	О.Б. Поливанова	Знать основные понятия, связанные функциональной геномикой растений, методы геномики растений, основные подходы в исследовании геномов растений, принципы организации ядерного и цитоплазматического генома растений.
	Выделение ядер из растительных	Практическое занятие № 4. (4 ак. ч.)	Выделение ядер из растительной ткани. Параметры оптимизации прото-	О.Б. Поливанова	Знать принцип выделения ядер из раститель-

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол- во ак. ч.	Содержание	Преподава- тель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
	тканей и экстракция высокомо- лекулярной ДНК из них.		кола выделения ядер. Экстракция высокомоле- кулярной ядерной ДНК из выделенных ядер (раз- мер фрагментов более 1000 пар оснований) твердофазными мето- дами. Контроль качества выделенной высокомоле- кулярной ДНК. Основы приготовления библиотек для секвенирования тре- тьего поколения		ных тканей и параметры оп- тимизации про- токола в зави- симости от вы- бора объекта исследования. Уметь выделять ядра и высоко- молекулярную ДНК из них, а также осу- ществлять про- верку качества выделенной ДНК. Знать ос- новы приготов- ления библио- тек для секве- нирования тре- тьего поколе- ния
	Выделение митохон- дрий и хло- ропластов из расти- тельный ткани и экстракция митохон- дриальной и хлоро- пластной ДНК	Практическое занятие № 5. (4 ак. ч.)	Выделение митохондрий и хлоропластов из расти- тельный ткани. Парамет- ры оптимизации прото- кола выделения митохон- дрий и хлоропластов из различных растительных объектов. Экстракция ми- тохондриальной и хлоро- пластной ДНК. Контроль качества выделенной ци- топлазматической ДНК. Основы приготовления библиотек для секвени- рования второго поколе- ния (платформа Illunina)	О.Б. Поли- ванова	Знать принцип выделения ми- тохондрий и хлоропластов из раститель- ных тканей и параметры оп- тимизации про- токола в зави- симости от вы- бора объекта исследования. Уметь выделять митохондрии, хлоропласти и ДНК из них, а также осу- ществлять про- верку качества выделенной ДНК. Знать ос- новы приготов- ления библио- тек для секве- нирования вто- рого поколения (платформа Il- lunina)

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
4	Раздел 4 Полимеразная цепная реакция – принцип метода и основные параметры.				
	Полимеразная цепная реакция – принцип метода, основные параметры, базовый протокол и оптимизация	Лекция № 6. (2 ак.ч.)	Принцип метода ПЦР. Задачи, которые можно решить с использованием ПЦР, в исследовании растений. Базовый протокол ПЦР – компоненты реакционной смеси и параметры термоциклирования. Подготовка к ПЦР – принципы подбора праймеров. Оптимизация ПЦР	О.Б. Поливанова	Знать области применения метода ПЦР в исследовании растений, основные параметры ПЦР и способы оптимизации
	Полимеразная цепная реакция	Практическое занятие № 6. (4 ак. ч.)	Подбор праймеров для ПЦР. Правила работы в лаборатории ПЦР анализа. Базовый протокол ПЦР.		Уметь проводить подбирать праймеры и планировать эксперимент с использованием ПЦР. Знать правила работы в лаборатории ПЦР анализа, уметь использовать основное и вспомогательное оборудование для ПЦР
	Количественная ПЦР в реальном времени	Практическое занятие № 7. (4 ак. ч.)	Особенности метода количественно ПЦР в реальном времени. Применение метода количественной ПЦР в реальном времени в исследовании растений. Подбор праймеров и зондов для количественной ПЦР в реальном времени. Анализ полученных результатов. Параметры оптимизации количественной ПЦР в реальном времени		Знать принцип метода и области применения в исследовании растений. Уметь пользоваться методом количественной ПЦР в реальном времени; осуществлять подбор зондов и праймеров; осуществлять анализ полученных данных
5	Раздел 5 Электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле				
	Электрофорез нуклеиновых кислот – прин-	Лекция № 7. (1 ак.ч.)	Принцип электрофоретического разделения нуклеиновых кислот. Приготовление агарозных и по-	О.Б. Поливанова	Знать теоретические основы разделения нуклеиновых

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
	цил метода и основные параметры.		лиакриламидных гелей. Параметры электрофоретического разделения нуклеиновых кислот		кислот методом электрофореза.
	Электрофорез продуктов полимеразной цепной реакции в агарозном геле	Практическое занятие № 8. (3 ак. ч.)	Приготовление буферных растворов для проведения электрофореза, подготовка гелей, параметры разделения, интерпретация полученных результатов		Уметь осуществлять подготовку к проведению электрофореза - готовить десятикратные электродные буферные растворы, загрузочные растворы крашителей и интеркалирующие красители. Уметь формировать агарозные гели и оптимизировать метод в зависимости от размера разделяемых фрагментов. Уметь интерпретировать результаты и делать соответствующие выводы
	Разделение продуктов ПЦР в полиакриламидном геле	Практическое занятие № 9. (3 ак. ч.)	Особенности разделения нуклеиновых кислот в полиакриламидных гелях. Приготовление гелей, параметры разделения, окраска гелей.		Знать особенности разделения фрагментов ДНК в полиакриламидных гелях. Уметь осуществлять электрофорез в полиакриламидном геле, уметь окрашивать полиакриламидные гели с целью визуализации фрагментов ДНК и последующей оценки резуль-

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
6	Раздел 6 Секвенирование нуклеиновых кислот				
	Обзор современных методов секвенирования. Поколения секвенаторов.	Лекция № 8. (2 ак.ч.)	История, общая характеристика и основные направления исследований генома растений с помощью методов секвенирования. Обзор современных методов секвенирования. Поколения секвенаторов и принципы, лежащие в основе методов секвенирования	О.Б. Поливанова	Знать основные направления исследований генома растений с помощью методов секвенирования.
7	Раздел 7 Генетическая инженерия растений				
	Основы генетической инженерии. Методы генетической инженерии, применяемые в изучении и улучшении растений	Лекция № 9. (4 ак.ч.)	Основные понятия генетической инженерии. Ферменты генной инженерии. Рекомбинантная ДНК. Методы генной инженерии. Агробактериальная и биобаллистическая трансформация.	О.Б. Поливанова	Знать основные понятия, связанные с генной инженерий, принципы создания рекомбинантной ДНК, методы генной инженерии, подходящие для трансформации различных объектов
	Рестрикция плазмидной и геномной ДНК. Рестрикционное картирование плазмидной ДНК	Практическое занятие № 10. (3 ак. ч.)	Ферменты рестрикции. Протокол рестрикции плазмидной и геномной ДНК. Протокол лигирования. Построение рестрикционных карт. Онлайн инструменты для построения карт рестрикции.		Знать стандартный протокол рестрикции геномной и плазмидной ДНК. Уметь строить рестрикционные карты
	Клонирование ДНК <i>in vivo</i>	Практическое занятие № 11. (3 ак. ч.)	Принципы клонирования ДНК. Векторы для клонирования ДНК и подготовка фрагментов, которые должны быть клонированы, трансформация бактериальных клеток и отбор колоний, несущих рекомбинантный вектор.		Знать основные принципы клонирования ДНК <i>in vivo</i>
Раздел 8 Инструменты биоинформатики в исследовании растений					

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
	Обзор основных биоинформационных инструментов и баз данных, используемых в исследовании растений	Лекция № 10. (4 ак.ч.)	Основные инструменты биоинформатики. Области применения инструментов биоинформатики в исследовании растений. Базы данных нуклеотидных последовательностей растений. Ресурсы для сравнительного анализа геномов и метаболических путей растений	О.Б. Поливанова	Знать основные инструменты биоинформатики, базы данных нуклеотидных последовательностей и ресурсы для сравнительного анализа геномов и метаболических путей растений
	Использование Gen-Bank	Практическое занятие № 12 (3 ак. ч.)	Обзор и структура Gen-Bank в NCBI, Отправка записей последовательности в GenBank, поиск аннотаций в записи Gen-Bank, интеграция данных GenBank с другими ресурсами, анализ растительных генов геномов с помощью инструментов NCBI		Ориентироваться в структуре GenBank. Уметь анализировать нуклеотидные последовательности растительных генов и геномов с помощью инструментов NCBI.
	Биоинформационный ресурс KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes для геномики растений и метаболомики)	Практическое занятие № 13 (3 ак. ч.)	Обзор и структура KEGG. Аннотация генома на основе ортологии KEGG. Идентификация объектов KEGG. Карты метаболических путей. Использование сервисов аннотации геномов. Использование инструментов картирования		Ориентироваться в структуре KEGG. Уметь использовать основные инструменты KEGG
	Базы данных растительных метаболических путей	Практическое занятие № 14 (3 ак. ч.)	Обзор баз данных растительных метаболических путей. Инструменты для работы с метаболическими путями растений. MaMan. WikiPathways		Ориентироваться в базах данных растительных метаболических путей и уметь использовать базовые инструменты, интегрированные в эти базы данных
	The Plant Ontology –		Введение в структуру The Plant Ontology. Ключевые		Иметь представление о

№ п/п	№ раздела	Виды учебных занятий, кол-во ак. ч.	Содержание	Преподаватель	Планируемый результат
1	2	3	4		5
	инструмент геномики растений		элементы онтологии растений и других связанных биоонтологий		структуре The Plant Ontology и задачах, которые можно решать с применением инструментов The Plant Ontology
	Ensembl Plants: интеграция инструментов для визуализации, получения и анализа данных геномики растений	Практическое занятие № 15 (3 ак. ч.)	Структура базы данных, обзор ее содержания и основные инструменты		Знать структуру базы данных Ensembl Plants и владеть ее основными инструментами

Раздел 3. ФОРМЫ АТТЕСТАЦИИ И ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Итоговое тестирование

Форма итоговой аттестации	Зачет как совокупность выполненного итогового теста
Требования к итоговой аттестации	Выполнение итогового теста
Критерии оценивания	Слушатель считается аттестованным при положительном оценивании итогового тестирования (не менее 20 правильных ответов на тестовые задания из 40 предложенных)
Оценка	Зачтено/не зачтено

Раздел 4. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ

Наименование специализированных аудиторий, кабинетов, лабораторий	Вид занятий	Наименование оборудования, программного обеспечения
Лекционная аудитория	Лекции	мультимедийное оборудование (компьютер, мультимедиапроектор, меловая и магнитная доски)
Биотехнологическая	Практические занятия	Ламинар-бокс, pH-метр, магнитная

лаборатория кафедры биотехнологии	по молекулярной биологии	мешалка, нагревательная платформа, аквадистиллятор, стерилизатор паровой, шейкер-инкубатор, автоматические дозаторы, мультимедийное оборудование (компьютер, мультимедиапроектор), реактивы и химическая посуда
Биохимическая лаборатория кафедры биотехнологии	Практические занятия по молекулярной биологии	ПЦР-бокс, центрифуга, вортекс, амплификатор, камера для электрофореза, термостат, автоматические дозаторы, реактивы и химическая посуда

Раздел 5. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОГРАММЫ

Основная литература:

1. Калашникова Е.А., Чередниченко М.Ю., Киракосян Р.Н. Основы биотехнологии / Москва, 2022, Изд-во КноРус
2. Баженова, И. А. Основы молекулярной биологии. Теория и практика : учебное пособие / И. А. Баженова, Т. А. Кузнецова. — Санкт-Петербург : Лань, 2018. — 140 с. — ISBN 978-5-8114-2698-0. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/99204>
3. Уилсон, К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии : учебное пособие / К. Уилсон, Д. Уолкер ; под редакцией А. В. Левашова, В. И. Тишкова ; перевод с английского Т. П. Мосоловой, Е. Ю. Бозелек-Решетняк. — 2-е изд. (эл.). — Москва : Лаборатория знаний, 2015. — 855 с. — ISBN 978-5-9963-2877-2. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/66244>

Дополнительная литература:

1. Калашникова, Е.А. Лабораторный практикум по биотехнологии растений: практикум / Калашникова Е.А., Чередниченко М.Ю., Киракосян Р.Н., Кошиева Е.З., Зайцева С.М., Карсункина Н.П., Халилуев М.Р. — Москва: Русайнс, 2019. — 240 с. — ISBN 978-5-4365-4229-4.
2. Основы биохимии и молекулярной биологии: рабочая тетрадь / С.М. Зайцева, О.Б. Поливанова. — Москва: Научная библиотека МГУ имени М.В. Ломоносова, 2022. — 23 стр. ISBN 978-5-6046728-6-0

Раздел 6. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ОСВОЕНИЯ ПРОГРАММЫ

Оценка качества освоения программы осуществляется на основе результатов итоговой аттестации. Слушатель считается аттестованным, если имеет положительные оценки (от «20» до «40» баллов) по результатам итогового тестирования.

Раздел 7. ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПРОЦЕССЕ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ

В программе используются ресурсы, открытые образовательные платформы и базы данных по биотехнологии.

8. Составители программы

Поливанова О.Б., к. б. н., доцент


(подпись)

Разработана и утверждена на кафедре биотехнологии
Протокол № 49 от «07» апреля 2023 г.

И.о. зав. кафедрой



/Чередниченко М.Ю./