

Федеральное агентство научных организаций

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»



РАБОЧАЯ ПРОГРАММА
УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

***МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ
ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ***

Направление подготовки
06.06.01 «БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ»

Профиль направления подготовки
03.02.07 ГЕНЕТИКА

Квалификация выпускника: «Исследователь. Преподаватель-исследователь»

Форма обучения
Очная

Санкт-Петербург
2015 г

СОДЕРЖАНИЕ

1. Цели и задачи дисциплины	3
2. Место дисциплины в структуре образовательной программы	3
3. Результаты освоения дисциплины	3
4. Структура и содержание дисциплины	4
4.1. Содержание дисциплины	4
4.2 Структура дисциплины	7
5. Образовательные технологии	8
6. Вопросы выходного контроля (зачет)	8
7. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины.	9
8. Материально-техническое обеспечение дисциплины	12
9. Кадровое обеспечение дисциплины	12

1. Цели дисциплины

Цель изучения дисциплины.

Целью преподавания дисциплины является подготовка высококвалифицированных специалистов, способных к восприятию и использованию на практике методов геномного анализа и молекулярного маркирования, позволяющих ускорить и оптимизировать процесс селекции сельскохозяйственных культур, способных обеспечить надежное хранение разнообразия коллекции генетических ресурсов культурных растений ВИР в целях предотвращения утраты ценных аллелей с умеренным и малым фенотипическим эффектом.

2. Место дисциплины в структуре образовательной программы.

Дисциплина «Молекулярное маркирование генов хозяйственно-ценных признаков» является обязательной дисциплиной вариативной части профессионального цикла Б2.

3. Результаты освоения дисциплины

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО

В результате изучения дисциплины формируются и углубляются универсальные компетенции:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК -1);

- готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языках (УК – 4);

общефессиональные компетенции:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно - коммуникационных технологий (ОПК – 1);

профессиональные компетенции

- способностью применять теоретические и экспериментальные знания по генетическому контролю признаков растений в научных исследованиях, предбридинге и селекции основных сельскохозяйственных растений (ПК-3)

- способность применять молекулярные маркеры для изучения и практического использования генетического разнообразия растений по хозяйственно-ценным признакам (ПК-4).

В результате изучения дисциплины студент должен знать:

- базовые принципы технологий молекулярного маркирования полиморфизма нуклеотидной последовательности ДНК: RAPD, RFLP, AFLP, SSR, ISSR, CAPS и области их применения.
- базовые принципы структуры генома эукариот, включая основные принципы организации кодирующих последовательностей ДНК, регуляции транскрипции, основы эпигенетики;
- принципы построения генетических карт с помощью молекулярных маркеров, идентификации QTL (Quantitative Trait Loci) и клонирования генов на основе генетической карты;
- принципы и методы клонирования ДНК, использования векторов для клонирования и секвенирования генов;

уметь:

- применить методы маркер-вспомогательной селекции для молекулярно-генетического скрининга исходного материала в процессе создания нового сорта;
- построить генетическую карту на основе генотипирования популяций рекомбинантов от скрещивания родительских генотипов;
- картировать QTL, контролирующих изменчивость фенотипического признака в популяции рекомбинантов;

владеть:

- методами выделения ДНК, постановки ПЦР, конструирования праймеров, подбора рестриктаз для маркирования SNP с помощью CAPS-маркеров; методами бионформатической обработки результатов секвенирования, в том числе, полученных с помощью секвенаторов «следующего поколения» (Next Generation Sequencing).

4. Структура и содержание дисциплины.

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетных единицы, 108 часов

4.1. Содержание дисциплины

Тема 1. Методы классического генетического анализа. Моногенные различия. Типы взаимодействия аллелей. Типы наследования. Полигенные различия. Взаимодействие генов. Сцепленное наследование, кроссинговер и генетическая интерференция.....2 ч.

Тема 2. Молекулярные носители наследственности: структура ДНК и РНК, репликация ДНК, транскрипция, процессинг РНК, трансляция. Регуляция транскрипции. Мини- и микросателлиты, SNP, подвижные генетические элементы эукариот. Ретротранспозоны.....2 ч.

Тема 3. Основные методы и подходы молекулярной генетики. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Компоненты реакционной смеси,

необходимые для проведения ПЦР. Свойства Taq-ДНК-полимеразы. Факторы, влияющие на точность синтеза ДНК и возможности ее повышения. Принципы конструирования праймеров. Секвенирование ДНК. Базы данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Биоинформационные технологии. Принципы основных методов молекулярного маркирования: RAPD, RFLP, AFLP, SSR, ISSR, CAPS и области их применения.....2 ч.

Тема 4. Маркер-вспомогательная селекция у растений. Использование молекулярных маркеров в генетике и селекции. Принцип построения генетических карт и клонирования генов на основе генетической карты. Принципы картирования QTL (Quantitative Trait Loci) – генетических локусов, влияющих на изменчивость фенотипических признаков. Понятие неравновесия по сцеплению (Linkage Disequilibrium), принципы ассоциативного картирования QTL.....2 ч.

Тема 5. Функциональная геномика. Термостабильные ДНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы). Синтез кДНК обратными транскриптазами. Клонотeki геномной ДНК и кДНК. Создание коллекций EST (Expressed Sequence Tags). Методы анализа уровня экспрессии генов: ПЦР в реальном времени. кДНК-чип технологии. Понятия транскриптомики и протеомики.....2 ч.

Тема 6. Основы эпигенетики. Метилирование, ацетилирование, Эпигенетические явления: импринтинг, эффект положения, особенности структурно-функциональной организации хроматина определенных хромосомных локусов, влияющие на экспрессию генов, интерференция РНК.....2 ч.

Тема 7. Методы генной инженерии. Рестриктазы типа II. Их номенклатура. Типы сайтов рестрикции. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК. Их «затупление»; использование линкеров и адаптеров. Этапы клонирования ДНК. Понятие вектора. Векторы для переноса ДНК в клетки растений. Феномен трансгенеза. Методы получения трансгенных растений. Культура каллуса и суспензионные культуры клеток. Соматический эмбриогенез. Этапы получения трансгенных растений с помощью агробактерий.....2 ч.

Тема 8. Технологии на основе культуры *in vitro*: ускоренное клонально-микроразмножение растений, получение безвирусных растений, эмбриокультура и оплодотворение *in vitro*, антерные культуры – культуры пыльников и пыльцы для получения гаплоидов и дигаплоидов, клеточный мутагенез и селекция, соматическая гибридизация на основе слияния растительных протопластов, конструирование клеток путем введения различных клеточных органелл, генетическая трансформация на

хромосомном и геномном уровнях.....2 ч.

Всего16 ч.

**Лабораторные занятия, их наименование,
краткое содержание и объем в часах.**

ЛР-1. Инструктаж по технике безопасности при работе в молекулярно-генетической лаборатории: правила обращения со взрывоопасными, легко воспламеняющимися, ядовитыми веществами. Обучение навыкам оперирования автоматическими дозаторами и электронными пипетками.....2 ч.

ЛР-2. Знакомство с основными приборами молекулярно-генетических исследований: системы проведения ПЦР (полимеразно-цепной реакции), электрофореза в агарозных гелях, системами гель-документации.....4 ч.

ЛР-3. Приготовление базовых растворов общелабораторного назначения. Приготовление и стерилизация расходных материалов для молекулярно-генетических исследований.....4 ч.

ЛР-4. Выделение ДНК из растительного материала с использованием жидкого азота. Освоение основного протокола и модификаций, разработанных для отдельных видов растений.....4 ч.

ЛР-5. Документирование выделенной ДНК на электрофореграмме в агарозном геле, определения концентрации и качества выделенной ДНК на спектрофотометре. Основные правила приготовления разведений для замера концентрации ДНК.....4 ч.

ЛР-6. Постановка ПЦР (полимеразно-цепной реакции) на материале выделенной ДНК. Протокол ПЦР, его возможные модификации. Освоение навыков по программированию режимов ПЦР на амплификаторах различных производителей. Визуализация продуктов амплификации на агарозных гелях с использованием современных систем гель-документирования.....4 ч.

ЛР-7. Биоинформационные технологии. Знакомство с основными специализированными пакетами компьютерных программ по первичной обработке и анализу нуклеотидных последовательностей, BLAST поиску на сервере NCBI, конструирования праймеров для амплификации заданных нуклеотидных последовательностей и аллель-специфичных праймеров, подбору рестриктаз для разработки CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences).....

.....4 ч.

ЛР-8. Знакомство с основными методами клонального микроразмножения и оздоровления растений в условиях *invitro*. Приготовление и испытание твердых и жидких питательных среды.4 ч.

ЛР-9. Знакомство с основными методами клонального микроразмножения и оздоровления растений в условиях *invitro*. Отбор первичных эксплантов из верхушечных меристем в стерильных условиях. Правила работы с ламинаром.4 ч.

Всего – 34 часа.

Самостоятельная работа и контроль успеваемости.

На самостоятельную проработку курса отводится 58 часов, в т.ч. по темам:

Тема 1. Классический генетический анализ	6 ч.
Тема 2. Молекулярные носители наследственности	8 ч.
Тема 3. Методы и подходы молекулярной генетики	8 ч.
Тема 4. Маркер-вспомогательная селекция у растений	8 ч.
Тема 5. Функциональная геномика	8 ч.
Тема 6. Основы эпигенетики	8 ч.
Тема 7. Методы геномной инженерии	6 ч.
Тема 8. Технологии на основе культуры <i>invitro</i>	6 ч.
Всего	58 ч.

Контроль успеваемости осуществляется на основании контрольных опросов по результатам лабораторных работ, проверочных работ по задачам из раздела «Генетика», опросом по темам рефератов. Итоговая успеваемость студентов определяется в процессе сдачи экзамена.

4.2. Структура дисциплины

Виды работ	№ семестра 3	Всего, часов
Общая трудоемкость	108	108
Аудиторная работа	50	50
Лекций (Л)	16	16
Лабораторные занятия	34	34
Самостоятельная работа	58	58
<i>Самостоятельное изучение разделов</i>	58	58
Вид итогового контроля	Зачет	

5. Образовательные технологии

В процессе изучения дисциплины используются как традиционные образовательные технологии: информационная лекция и практические занятия, так и информационно–коммуникационные образовательные технологии: лекция-визуализация. Практические занятия в отделе биотехнологии (6 занятий №№ 1-3, 5-7) и в отделе генетики (1 занятие № 4) ФГБНУ ФИЦ ВИР им. Н.И. Вавилова

6. Вопросы выходного контроля (зачет)

Текущий контроль за успеваемостью путем устного опроса по следующим контрольным вопросам:

1. Опишите структуру генов у эукариот.
2. Что такое тандемные повторы в последовательности ДНК, мини - и микросателлиты, ДНК – фингерпринтинг?
3. Подвижные генетические элементы эукариот. Ретротранспозоны.
4. Геномы органелл эукариот: ДНК митохондрий и хлоропластов. Маркирование нуклеотидного полиморфизма хлоропластного и митохондриального генома. Особенности наследования митохондриальной и хлоропластной ДНК у разных видов растений
5. Структура и функции РНК. Как происходит регуляция транскрипции у эукариот. Цис- и транс- факторы транскрипции. Альтернативный сплайсинг.
6. Биосинтез ДНК на РНК-матрице (обратная транскрипция). Процедура проведения полимеразно-цепной реакции в реальном времени (Real-TimePCR).
7. Явления сцепления генов. Расщепление в потомстве при сцеплении генов. Выявление групп сцеплений с помощью молекулярных маркеров.
8. Опишите принцип действия молекулярных маркеров Опишите принцип действия молекулярных маркеров RAPD (случайно амплифицированные полиморфные фрагменты ДНК), AFLP (полиморфизм длин избирательно амплифицированных рестрикционных фрагментов), RFLP (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов)
9. Как разрабатываются CAPS маркеры (Cleavage Amplified Polymorphic Segments)?
10. Генетические карты хромосом. Основные положения хромосомной теории наследственности. Кроссинговер. Величина перекреста и линейная дискретность хромосом. Одинарный и множественные перекресты.
11. Группы сцепления. Определение групп сцепления. Генетические и цитологические карты хромосом. Каким образом с помощью

молекулярных маркеров осуществляется построение генетических карт и выделение генов на основе генетической карты (map-based gene isolation)? Приведите примеры опубликованных карт для видов сельскохозяйственных растений.

12. В чем заключается принцип картирования QTL (Quantitative Trait Loci)?
13. Что такое «маркер-вспомогательная селекция» (Marker Assisted Selection). Приведите примеры из опубликованных данных для видов сельскохозяйственных растений.
14. В чем заключаются особенности структурной и функциональной геномики. Что такое EST (Expressed Sequence Tags), в чем заключается процедура создания EST?
15. Что такое транскриптомный анализ? Каковы его принципы и возможности? В чем заключается принцип ДНК-чип технологий?

7. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

Основная литература

1. Bock R. Plastid biotechnology: prospects for herbicide and insect resistance, metabolic engineering and molecular farming. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 18, 100–106. 2007.
2. Buckler E.S., Thornsberry J.M. Plant molecular diversity and applications to genomics // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2002. – V.5. – P.107-111.
3. *Cell and Molecular Biology of Plastids*. (R. Bock, Ed.), *Topics Curr. Genet.*, 19, 2007.
4. Dafny-Yelin M., Levy A., Tzfira T. The ongoing saga of *Agrobacterium*–host interactions. *Trends Plant Sci.*, 13, 102-105. 2008.
5. Dale J.W., von Schantz M. *From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology*. 2002 John Wiley & Sons, Ltd.
6. Daniell H., Khan M.S., Allison L. Milestones in chloroplast genetic engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. *Trends Plant Sci.*, 7, 84-91. 2002.
7. *Functional Organization of the Plant Nucleus*. (I. Meier, Ed.), Springer, 2009.
8. *Handbook of Maize. Genetics and Genomics*. (Bennetzen J.L., Hake S. Eds.) Springer, 2009.
9. Jansen R.A., Nap J.P. Genetical genomics: the added value from segregation // *Trends Genet.* – 2001. – V.17. – P. 388-391.
10. Neumann K.-H., Kumar A., Imani J. *Plant Cell and Tissue Culture - A Tool in Biotechnology. Basics and Application*. Springer, 2009.
11. *Plant Gene Transfer and Expression Protocols*. *Methods Mol. Biol.*, 49, (H. Jones Ed.) Humana Press Inc
12. Primrose S.B., Twyman R.M., Old R.W. *Principles of Gene Manipulation: Sixth Edition*
13. *The Chloroplast. Interactions with the Environment*. (Sandelius A.S.,

- Aronsson H., Tzfira T., Citovsky V. Agrobacterium-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 17, 147–154. 2006
14. Антонов А.С. Основы геносистематики высших растений / А.С. Антонов. – 2000. - М.: Наука/Интерпериодика. – 136 с.
 15. Гвоздев В.А. Механизмы регуляции активности генов в процессе транскрипции/ В.А. Гвоздев // Соросовский Образовательный Журнал. - 1996. - № 2. - С. 22-31.
 16. И.Ф. Жимулев. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2003.
 17. Инге-Вечтомов С.Г. Введение в молекулярную генетику. М.: Высш.шк., 1983
 18. Коничев А.С., Севастьянова Г.А. Молекулярная биология. М.: Академия, 2005.
 19. Льюин Б. Гены. М.: Мир, 1987.
 20. Патрушев Л.И. Экспрессия генов // М.: Наука. 2000. 830 С.
 21. Пташне М. Переключение генов. Регуляция генной активности и фаг. М.: Мир, 1989.
 22. Ридли М. Геном. –2008. – М.: Эксмо. 432 стр.
 23. Сингер М., Берг П. Гены и геномы: В 2-х т. Т. 1// М.: Мир.1998. – 373 .
 24. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике / В.М. Шмидт - Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та. - 1984. - 288 с.

Дополнительная литература

1. Vaneux F. (1999) Recombinant protein expression in Escherichia coli. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10, 411–421.
2. E. coli Gene Expression Protocols. *Methods Mol. Biol.*, vol. 205, (Vaillancourt P.E. Ed.) Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2002.
3. E. coli Plasmid Vectors (Casali N. and Preston A. Eds.) *Methods Mol. Biol.*, Vol. 235, Humana Press Inc., Totowa, NJ
4. *Enzymes of Molecular Biology. Methods Mol. Biol.*, Vol 16. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 1993.
5. *PCR Methods in Foods.* (J. Maurer, ed.). Springer, 2006
6. *PCR Primer Design. Methods Mol. Biol.*, vol. 402, (Yuryev A. Ed.), Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007.
7. *Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols, Second Edition* (P. Balbás and A. Lorence, Eds) *Methods in Molecular Biology*, vol. 267: Humana Press Inc., 2004.
8. van Pelt-Verkuil E., van Belkum A., Hays J.P. *Principles and Technical Aspects of PCR Amplification.* Springer. 2008.
9. Wong D.W.S. *The ABCs of Gene Cloning.* 2006. Springer.
10. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование. Пер. с англ. - М.: Мир, 1984

Учебно-методическое обеспечение для самостоятельной работы обучающихся по дисциплине.

1. Мэтт Ридли. Геном: автобиография вида в 23 главах / М. Ридли (пер. с английского) – М., 2008 – 432 с
2. А. Леск. Введение в биоинформатику. (пер. с английского) – М., 2010 – 326 с.
3. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика: В 3т.М.:Мир, 1987.Т.1.295 с.: ил.; 1988.Т.И.368 с., ил.; Т.Ш.335 с.: ил.
4. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции: Учебн. для студ.биол. спец. ун-ов / С.В. Инге-Вечтомов. - М.: 2010.– 591 с.
5. Сазанов А.А. Генетика с основами селекции. Учебное пособие / А.А. Сазанов. - СПб.: 2011.– 190 с.
6. Ефремова В.В., Аистова Ю.Т. Генетика: Учебник для сельскохозяйственных вузов- Ростов на Дону.: 2010.– 250 с.

Ресурсы информационно-телекоммуникационной сети "Интернет" (далее - сеть "Интернет"), необходимых для освоения дисциплины.

№ п/п	Название информационного ресурса	Электронный адрес	Описание
1	Фундаментальная библиотека СПбГЛТУ	http://85.249.46.222/cgi-bin/irbis64r_01/cgiirbis_64.exe?C21COM=F&I21DBN=IBIS&P21DBN=IBIS	Можно производить поиск и подбор научно и методической литературы
2	«eLIBRARY.RU - НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ БИБЛИОТЕКА»	http://elibrary.ru/defaultx.asp	Ресурс представляет собой базу данных авторов и их публикаций. Позволяет приобретать и просматривать в бесплатном режиме отдельные публикации.
3	Российская государственная библиотека	http://www.rsl.ru/ru/s3/s331/s122/d1315/d13153295/	
4	Информационный портал Polpred.com	http://polpred.com/news/	Обзор СМИ. Архив пополняется вручную, ежедневно до тысячи новостей, полные тексты.
5	«Электронно-библиотечная система «Лань»	http://e.lanbook.com/	Позволяет производить поиск по тематическим рубрикам и свободно просматривать, или приобретать возможность просматривать электронные версии научных изданий.
6	twirpx	http://www.twirpx.com/files/forest/forestry/#group_1043	Есть доступ к электронным документам статей и книг по лесному профилю
7	Библиотека	http://lib.aldebaran.ru/genre/	В библиотеке размещено

	«Альдебаран»	science_root/	большое количество различной литературы.
8	Национальная библиотека Чувашской Республики	http://nbchr.ru/index.php?option=com_irbis&Itemid=300	В свободном доступе размещены каталоги библиотеки
9	Университетская библиотека ONLINE	http://biblioclub.ru/	Есть доступ к научно-образовательной литературе
10	Единое окно доступа к образовательным ресурсам	http://window.edu.ru/library	Электронный каталог литературы
11	Электронная библиотека Томского государственного университета	http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Index	Есть доступ к полным текстам научно-образовательной литературы ТГУ

Информационные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине, включая перечень программного обеспечения и информационных справочных систем.

Номер п/п	Название программного обеспечения	Ссылка на расположение в сети интернет
1	Openoffice	http://www.openoffice.org/ru/
2	The R Project	http://www.r-project.org/
3	EpiInfo	http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/
4	BioEdit Sequence Alignment Editor for Windows 95/98/NT	http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html

8. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Лабораторные и практические занятия по дисциплине проводятся на базе специализированной лаборатории ВИР, оснащенной комплексом современного оборудования и материалов для проведения молекулярно-генетических исследований (ПЦР-бокс, ламинар, амплификаторы, центрифуги, термостаты, шейкеры, трансиллюминатор, ДНК геле-документационная система, камеры для электрофореза ДНК в агарозном и полиакриламидном гелях, источники питания, наборы автоматических пипеток).

9. Кадровое обеспечение дисциплины

Реализацию образовательного процесса обеспечивают сотрудники: д.б.н. Потокина Е.К.

Автор программы: д.б.н.Потокина Е.К. – зав. лабораторией мониторинга генетической эрозии растительных ресурсов

