

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени И.Т. ТРУБИЛИНА»

Факультет агрономии и экологии
Генетики, селекции и семеноводства



УТВЕРЖДЕНО
Декан
Макаренко А.А.
Протокол от 18.05.2026 № 5

**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)
«ПЛАНИРОВАНИЕ И ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ»**

Уровень высшего образования: магистратура

Направление подготовки: 35.04.04 Агрономия

Направленность (профиль) подготовки: Селекция и семеноводство

Квалификация (степень) выпускника: магистр

Форма обучения: очная

Год набора (приема на обучение): 2026

Срок получения образования: 2 года

Объем:
в зачетных единицах: 5 з.е.
в академических часах: 180 ак.ч.

Разработчики:

Доцент, кафедра генетики, селекции и семеноводства
Самелик Е.Г.

Рабочая программа дисциплины (модуля) составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 35.04.04 Агрономия, утвержденного приказом Минобрнауки от 26.07.2017 № 708, с учетом трудовых функций профессиональных стандартов: "Агроном", утвержден приказом Минтруда России от 20.09.2021 № 644н; "Специалист по семеноводству, селекции и генетике в растениеводстве", утвержден приказом Минтруда России от 14.10.2024 № 563н.

Согласование и утверждение

№	Подразделение или коллегиальный орган	Ответственное лицо	ФИО	Виза	Дата, протокол (при наличии)
1	Генетики, селекции и семеноводства	Заведующий кафедрой, руководитель подразделения, реализующего ОП	Коковихин С.В.	Согласовано	06.04.2026, № 4
2	Факультет агрономии и экологии	Председатель методической комиссии/совет а	Бойко Е.С.	Согласовано	20.04.2026, № 4

Актуализация

№	Подразделение или коллегиальный орган	Ответственное лицо	ФИО	Виза	Дата, протокол (при наличии)
1	Генетики, селекции и семеноводства	Заведующий кафедрой, руководитель подразделения, реализующего ОП	Гончаров С.В.	Согласовано	20.04.2026, № 4

1. Цель и задачи освоения дисциплины (модуля)

Цель освоения дисциплины - Формирование у обучающихся системных теоретических знаний и практических компетенций в области рационального проектирования, ресурсного планирования, нормативно-правовой организации и управления молекулярно-генетическими исследованиями (МГИ) на всех этапах их жизненного цикла — от постановки гипотезы до интерпретации данных и внедрения результатов.

Задачи изучения дисциплины:

- Изучить принципы выбора адекватного молекулярно-генетического метода в зависимости от научной гипотезы.;
- Научить разрабатывать дизайн исследования, рассчитывать минимальный необходимый размер выборки для генетических данных.;
- Освоить протоколирование: отбор, подготовка и контроль качества биологического материала;
- Изучить принципы организации лабораторного пространства;
- Освоить этапы планирования анализа данных: от фильтрации сырых ридов до статистической обработки .

2. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы

Компетенции, индикаторы и результаты обучения

ПК-П13 Организация лаборатории молекулярно-генетического анализа растений и координация ее деятельности

ПК-П13.1 Определение области деятельности лаборатории, объектов исследования, перечня анализируемых показателей, методов с учетом требований нормативно–правовых актов в области селекции, семеноводства и передовых достижений науки.

Знать:

ПК-П13.1/Зн1 – Перечень показателей, требующих молекулярно-генетического контроля (генетическая паспортизация, чистота линий, выявление ГМО).

Уметь:

ПК-П13.1/Ум1 – Обосновывать выбор методов исходя из требуемой точности, времени выполнения и стоимости анализа.

Владеть:

ПК-П13.1/Нв1 – Навыками разработки внутренних стандартных операционных процедур (СОП) под выбранные методы.

ПК-П13.2 Планирование помещений, зон лаборатории молекулярно-генетического анализа растений и выбор измерительного оборудования для обеспечения качественного выполнения анализов.

Знать:

ПК-П13.2/Зн1 Технические характеристики ключевого оборудования: амплификаторы (тепловой профиль, градиент), системы для электрофореза, автоматические дозаторы, центрифуги, приборы для выделения нуклеиновых кислот.

Уметь:

ПК-П13.2/Ум1 Составлять спецификацию оборудования с указанием производительности и требований к инженерным сетям.

Владеть:

ПК-П13.2/Нв1 Методами сравнительной оценки поставщиков оборудования по критериям «сервисное обслуживание – стоимость расходных материалов».

ПК-П13.3 Требования к зонированию, вентиляции, водоснабжению, водоотведению, электроснабжению, внутренней отделке лаборатории молекулярно-генетического анализа.

Знать:

ПК-П13.3/Зн1 Нормативные документы: СП 2.2.3670-20, СанПиН 1.2.3685-21 (требования к условиям труда в лабораториях, работающих с ПБА III-IV групп).

Уметь:

ПК-П13.3/Ум1 Составлять техническое задание на проектирование инженерных систем с учетом класса биологической безопасности.

Владеть:

ПК-П13.3/Нв1 Методиками контроля работы вентиляции (замеры скорости потока, перепада давления).

ПК-П13.4 Планирование, координация деятельности лаборатории молекулярно-генетического анализа и нормативно-правовые акты, регламентирующие разработку и внедрение системы менеджмента качества.

Знать:

ПК-П13.4/Зн1 ГОСТ ISO/IEC 17025 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».

Уметь:

ПК-П13.4/Ум1 Разработать и внедрить руководство по качеству, политику в области качества.

Владеть:

ПК-П13.4/Нв1 Навыками ведения реестра заявок и отчетов о проведенных исследованиях.

3. Место дисциплины в структуре ОП

Дисциплина (модуль) «Планирование и организация молекулярно-генетических исследований» относится к формируемой участниками образовательных отношений части образовательной программы и изучается в семестре(ах): 1.

В процессе изучения дисциплины студент готовится к решению типов задач профессиональной деятельности, предусмотренных ФГОС ВО и образовательной программой.

4. Объем дисциплины (модуля) и виды учебной работы

Период обучения	Общая трудоемкость (часы)	Общая трудоемкость (ЗЕТ)	Контактная работа (часы, всего)	Внеаудиторная контактная работа (часы)	Лекционные занятия (часы)	Практические занятия (часы)	Самостоятельная работа (часы)	Промежуточная аттестация (часы)
Первый семестр	180	5	51	3	10	38	102	Экзамен (27)
Всего	180	5	51	3	10	38	102	27

5. Содержание дисциплины (модуля)

5.1. Разделы, темы дисциплины и виды занятий

(часы промежуточной аттестации не указываются)

Наименование раздела, темы	Всего	Внеаудиторная контактная работа	Лекционные занятия	Практические занятия	Самостоятельная работа	Планируемые результаты обучения, соотношенные с результатами освоения программы
Раздел 1. Генетика микроорганизмов	55		6	12	37	ПК-П13.1
Тема 1.1. Геномы бактерий и грибов	10		2		8	
Тема 1.2. Мобильные генетические элементы	10		2		8	
Тема 1.3. Общие принципы анализа данных	13		2	4	7	
Тема 1.4. Выделение плазмидной ДНК	11			4	7	
Тема 1.5. Выделение ДНК	11			4	7	
Раздел 2. Подготовительные этапы геномного редактирования	52		2	14	36	ПК-П13.2
Тема 2.1. Основные принципы проведения ПЦР	10		2		8	
Тема 2.2. Выделение РНК	11			4	7	
Тема 2.3. Проведение ПЦР и электрофорез.	11			4	7	
Тема 2.4. ПЦР в реальном времени.	10			3	7	
Тема 2.5. Извлечение ДНК из геля	10			3	7	
Раздел 3. Подходы генной инженерии. Редактирование генома.	43		2	12	29	ПК-П13.3 ПК-П13.4
Тема 3.1. Основные принципы редактирования с помощью CRISPR-Cas9.	10		2		8	
Тема 3.2. Конструирование плазмиды, несущей элементы геномного редактирования.	11			4	7	
Тема 3.3. Практическое моделирование эксперимента по редактированию генома бактерий с помощью системы CRISPR.	11			4	7	

Тема 3.4. Разработка ПЦР-ПДРФ метода для идентификации видовой принадлежности микроорганизмов.	11			4	7	
Раздел 4. Промежуточная аттестация	3	3				ПК-П13.1
Тема 4.1. Зачет	3	3				ПК-П13.2 ПК-П13.3 ПК-П13.4
Итого	153	3	10	38	102	

5.2. Содержание разделов, тем дисциплин

Раздел 1. Генетика микроорганизмов

(Лекционные занятия - 6ч.; Практические занятия - 12ч.; Самостоятельная работа - 37ч.)

Тема 1.1. Геномы бактерий и грибов

(Лекционные занятия - 2ч.; Самостоятельная работа - 8ч.)

Организация геномов бактерий и грибов, генная экспрессия эукариот, модель Энхансора, некодирующие РНК, посттрансляционный контроль генной экспрессии.

Тема 1.2. Мобильные генетические элементы

(Лекционные занятия - 2ч.; Самостоятельная работа - 8ч.)

Классификация МГЭ и функции, устойчивость к антибиотикам, инсерционные последовательности, плазмиды, умеренные бактериофаги, CRISPR-Cas, горизонтальный перенос генов, векторы в генной инженерии, методы трансформации.

Тема 1.3. Общие принципы анализа данных

(Лекционные занятия - 2ч.; Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Секвенирование, метод Сенгера, классические методы, анализ данных, оценка качества данных, аннотация генома, визуализация.

Тема 1.4. Выделение плазмидной ДНК

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Оборудование, цели выделения, этапы,

Тема 1.5. Выделение ДНК

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Оборудование, методы экстракции, этапы.

Раздел 2. Подготовительные этапы геномного редактирования

(Лекционные занятия - 2ч.; Практические занятия - 14ч.; Самостоятельная работа - 36ч.)

Тема 2.1. Основные принципы проведения ПЦР

(Лекционные занятия - 2ч.; Самостоятельная работа - 8ч.)

Этапы ПЦР., основные принципы, оценка результатов. Пеимущества и недостатки ПЦР. ПЦР в реальном времени.

Тема 2.2. Выделение РНК

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Лизис клеток, очистка РНК, разделение фаз, осаждение, промывка, высушивание.

Тема 2.3. Проведение ПЦР и электрофорез.

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Реактивы, оптимальные условия, основные этапы.

Тема 2.4. ПЦР в реальном времени.

(Практические занятия - 3ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Принципы работы прибора, реактивы, основные этапы, анализ результатов.

Тема 2.5. Извлечение ДНК из геля

(Практические занятия - 3ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Оборудование, этапы.

Раздел 3. Подходы генной инженерии. Редактирование генома.

(Лекционные занятия - 2ч.; Практические занятия - 12ч.; Самостоятельная работа - 29ч.)

Тема 3.1. Основные принципы редактирования с помощью CRISPR-Cas9.

(Лекционные занятия - 2ч.; Самостоятельная работа - 8ч.)

История, индукция двухцепочечных разрывов ДНК, таргетная доставка эффекторных доменов, возможности системы CRISPR-Cas9, сравнение технологий.

Тема 3.2. Конструирование плазмиды, несущей элементы геномного редактирования.

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Методика, этапы, оборудование.

Тема 3.3. Практическое моделирование эксперимента по редактированию генома бактерий с помощью системы CRISPR.

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Методика, оборудование, этапы.

Тема 3.4. Разработка ПЦР-ПДРФ метода для идентификации видовой принадлежности микроорганизмов.

(Практические занятия - 4ч.; Самостоятельная работа - 7ч.)

Методика, оборудование, этапы.

Раздел 4. Промежуточная аттестация

(Внеаудиторная контактная работа - 3ч.)

Тема 4.1. Зачет

(Внеаудиторная контактная работа - 3ч.)

Вопросы к зачету

6. Оценочные материалы текущего контроля

Раздел 1. Генетика микроорганизмов

Форма контроля/оценочное средство: <>

Вопросы/Задания:

1. Материальной основой наследственности у микроорганизмов является:

- А) РНК
- б) ДНК
- в) Белок

г) Мукополисахариды

2. Как называется процесс переноса генетической информации от бактерии-донора к бактерии-реципиенту при их непосредственном контакте через половые пили?

А) Трансформация

б) Трансдукция

в) Конъюгация

г) Транскрипция

3. Какие внехромосомные генетические структуры бактерий могут детерминировать множественную лекарственную устойчивость (R-фактор)?

А) Транспозоны

б) Плазмиды

в) Бактериофаги

г) IS-последовательности

4. К хромосомным мутациям по молекулярному механизму относятся:

А) Трансформация

б) Конъюгация

в) Делеция

г) Дупликация

д) Трансдукция

е) Трансфекция

5. Трансформация – это:

А) Перенос генетической информации с помощью умеренного бактериофага

б) Передача фрагмента ДНК от клетки-донора к клетке-реципиенту

в) Контакт бактерий через половые пили

г) Изменение свойств бактерий в результате включения в хромосому ДНК бактериофага

6. Какая особенность характерна для нуклеоида бактерий в отличие от ядра эукариотической клетки?

А) Наличие ядерной мембраны

б) Наличие гистонов

в) Содержит одну макромолекулу ДНК

г) Делится митозом

7. Укажите локализацию наследственной информации в бактериальной клетке:

А) Рибосомы

б) Мезосомы

в) Плазмиды

г) Митохондрии

8. Что такое ген с точки зрения молекулярной генетики микроорганизмов?

А) Потомство одной клетки

б) Фрагмент молекулы ДНК, контролирующий синтез белка или полипептида

в) Культура, состоящая из наследственно однородных клеток

г) Изменение последовательности нуклеотидов

9. К формам рекомбинативной изменчивости у бактерий относятся:

А) Модификации

б) Мутации

в) Трансформация

г) Трансдукция

д) Конъюгация

е) Диссоциация

10. Какой из перечисленных факторов НЕ относится к внехромосомным генетическим элементам бактерий?

А) Плазмиды

б) Транспозоны

в) IS-последовательности

г) Лизосомы

Раздел 2. Подготовительные этапы геномного редактирования

Форма контроля/оценочное средство: <>

Вопросы/Задания:

1. Какая система геномного редактирования использует направляющую РНК (sgRNA) для наведения эндонуклеазы Cas9 на сайт-мишень?

- А) ZFN (цинк-пальцевые нуклеазы)
- б) TALEN (нуклеазы на основе эффекторов, подобных активаторам транскрипции)
- в) CRISPR/Cas9
- г) Prime Editing

2. Какие белки входят в состав TALEN-системы для распознавания и разрезания ДНК?

- А) Домен цинковых пальцев и нуклеазный домен FokI
- б) TAL-эффекторные повторы (распознающие нуклеотиды) и нуклеазный домен FokI
- в) Белок Cas9 и tracrRNA
- г) Обратная транскриптаза и праймирующая РНК (pegRNA)

3. Какой путь репарации ДНК в эукариотических клетках обычно приводит к образованию инделов (вставок/делеций) и используется для нокаута генов?

- А) Гомологичная репарация (HDR)
- б) Негомологичное соединение концов (NHEJ)
- в) Репарация с помощью эксцизионной системы
- г) SOS-репарация

4. Для вставки (нок-ина) определённой последовательности в заданный локус с помощью HDR необходимо предоставить клетке:

- А) Донорную матрицу с плечами гомологии, фланкирующими вставку
- б) Только направляющую РНК
- в) Только белок Cas9
- г) Синтетический олигонуклеотид без плеч гомологии

5. Какой метод редактирования позволяет вносить точечные замены оснований без создания двухцепочечного разрыва в ДНК?

- А) Классический CRISPR/Cas9
- б) ZFN
- в) Основанное редактирование (Base Editing)
- г) TALEN

6. Какое преимущество у доставки компонентов CRISPR в виде рибонуклеопротеинового комплекса (RNP, белок Cas9 + sgRNA) по сравнению с плазмидной ДНК?

- А) Более длительная экспрессия в клетке
- б) Снижение риска нецелевых эффектов (off-target) и быстрая деградация комплекса
- в) Возможность стабильной интеграции в геном
- г) Дешевизна производства

7. Что из перечисленного является нецелевым (off-target) эффектом при геномном редактировании?

- А) Успешное внесение целевой мутации в нужный локус
- б) Внесение изменений в участки ДНК, гомологичные целевой последовательности (но не являющиеся мишенью)
- в) Повышение экспрессии соседних генов
- г) Трансформация клеток с донорной плазмидой

8. Какой подход генной инженерии был разработан раньше других и использует искусственные белки с цинк-пальцевыми доменами, соединённые с нуклеазой FokI?

- А) CRISPR/Cas9
- б) TALEN
- в) ZFN

г) Prime Editing

9. Какой метод редактирования в настоящее время считается наиболее универсальным и точным для внесения любых замен (включая вставки, делеции и все типы замен) без двухцепочечных разрывов, хотя и имеет более низкую эффективность *in vivo*?

А) CRISPR/Cas9 с HDR

б) TALEN

в) Основанное редактирование (Base Editing)

г) Prime Editing

Раздел 3. Подходы генной инженерии. Редактирование генома.

Форма контроля/оценочное средство: <>

Вопросы/Задания:

1. Как называется первый этап подготовки к редактированию генома с помощью системы CRISPR/Cas, который включает поиск и идентификацию потенциальных мишеней?

А) Транфекция

б) Скрининг отредактированных клеток

в) Дизайн направляющих РНК (sgRNA) *in silico*

г) Клонирование в вектор

2. Какой критический параметр учитывается при выборе сайта-мишени для направляющей РНК (sgRNA) в системе CRISPR/Cas9?

А) Наличие стартового кодона AUG

б) Наличие мотива PAM (Protospacer Adjacent Motif)

в) Отсутствие интронов в гене-мишени

г) Высокое содержание GC-пар в сайте

3. Для чего на этапе дизайна эксперимента проводится анализ потенциальных нецелевых сайтов (off-target sites)?

А) Для увеличения скорости репликации плазмиды

б) Для минимизации вероятности неспецифического редактирования генома

в) Для повышения эффективности трансфекции

г) Для выбора подходящего антибиотика

4. Какие инструменты (программы) используются на этапе *in silico* дизайна для предсказания нецелевых сайтов (off-targets) и выбора оптимальной sgRNA?

А) BLAST

б) ClustalW

в) CRISPRme, г) Cas-OFFinder

д) COSMID

е) CRISPRoff

ж) NCBI Primer Blast

з) Photoshop

5. Что представляет собой донорный вектор (репарационная матрица) и для какого типа репарации он необходим?

А) Плазмида с геном устойчивости к антибиотику для NHEJ

б) Двухцепочечный фрагмент ДНК для гомологичной репарации (HDR)

в) РНК-матрица для трансляции белка Cas9

г) Вектор для экспрессии белка-репрессора

6. Какой метод используется для сборки донорного вектора, позволяющий бесшовно соединить несколько фрагментов ДНК (например, карго-последовательность и плечи гомологии)?

А) ПЦР с перекрывающимися праймерами

б) Лигирование с помощью ДНК-лигазы

в) Сборка Гибсона (Gibson assembly)

г) Рестрикционное клонирование

7. Какие формы доставки компонентов CRISPR/Cas9 (белок Cas9 и направляющая РНК) в клетку являются наиболее распространенными?

- А) плазмидная ДНК, б) мРНК
- в) рибонуклеопротеиновый комплекс (RNP)
- г) липосомы
- е) лизосомы
- ж) вирусные векторы

8. Какое преимущество дает использование рибонуклеопротеинового комплекса (RNP) для доставки CRISPR/Cas9 по сравнению с плазмидной ДНК?

- А) Более низкая стоимость
- б) Более быстрое и контролируемое действие с меньшей вероятностью нецелевых эффектов
- в) Возможность стабильной интеграции в геном клетки-хозяина
- г) Возможность использования антибиотической селекции

9. Какой метод используется для проверки эффективности работы подобранной направляющей РНК (sgRNA) до начала основного эксперимента по редактированию?

- А) Секвенирование всего генома
- б) Рестрикционный анализ (тест на разрезание рестриктазой) или система pDR
- в) Вестерн-блоттинг
- г) Проточная цитометрия

10. Что из перечисленного НЕ является подготовительным этапом геномного редактирования, а относится к этапу верификации (проверки) результатов?

- А) Дизайн направляющей РНК (sgRNA)
- б) Анализ нецелевых сайтов (off-target)
- в) Культивирование клеток
- г) Выделение геномной ДНК
- д) ПЦР-анализ отредактированных клеток

Раздел 4. Промежуточная аттестация

Форма контроля/оценочное средство: <>

Вопросы/Задания:

1. В генетике микроорганизмов конъюгация обеспечивает перенос ДНК через половые пили, а при редактировании генома эукариот часто используют вирусные векторы (лентивирусы, AAV). В чем принципиальное отличие механизма переноса генетического материала между этими двумя подходами?

- А) В обоих случаях ДНК встраивается в геном реципиента случайно
- б) Конъюгация переносит ДНК только в виде плазмид, а вирусные векторы – всегда хромосомную ДНК
- в) При конъюгации перенос происходит между живыми бактериями, а вирусные векторы доставляют ДНК опосредованно через инфекцию, при этом у эукариот не требуется контакт клеток
- г) Оба процесса требуют наличия специфических рецепторов на поверхности клетки-реципиента

2. При подготовке эксперимента с CRISPR/Cas9 обязательным этапом является *in silico* поиск нецелевых (off-target) сайтов. Какой аналогичный процесс в классической генетике микроорганизмов учитывает возможное неспецифическое включение чужеродной ДНК при трансформации?

- А) Рестрикционно-модификационная система бактерий
- б) Гомологичная рекомбинация с участием RecA
- в) Проверка аутокотрофности реципиентных штаммов
- г) Анализ GC-состава встраиваемого фрагмента

3. Для нокаута гена у бактерий часто используют аллельный обмен с помощью суицидных векторов (например, на основе *sacB*). Чем этот подход принципиально отличается от использования CRISPR/Cas9 с путем репарации NHEJ в эукариотических клетках?

- А) У бактерий NHEJ отсутствует, поэтому основным путем репарации является гомологичная рекомбинация с донорным фрагментом
- б) Суицидные векторы не требуют донорной матрицы, в отличие от CRISPR

- в) Аллельный обмен всегда приводит к точечным мутациям, а CRISPR – к крупным делециям
г) Различий нет, оба метода используют двухцепочечные разрывы и донорную ДНК

4. В системах TALEN и ZFN распознавание ДНК осуществляется белковыми доменами, а в CRISPR – комплементарным спариванием направляющей РНК. Какое ключевое преимущество дает РНК-опосредованное распознавание на этапе подготовки эксперимента?

- А) Возможность редактирования без знания последовательности генома-мишени
б) Упрощение дизайна: достаточно синтезировать новую sgRNA вместо перестройки белка для каждой новой мишени
в) Более высокая точность распознавания за счет образования тройной спирали
г) Возможность использовать РНК-матрицу для одновременной доставки донорной ДНК

5. При подготовке донорной матрицы для HDR-опосредованного редактирования необходимы плечи гомологии, фланкирующие вставку. Какой метод сборки, часто применяемый в генной инженерии микроорганизмов, позволяет объединить эти плечи с селективным маркером в одной реакции без использования рестриктаз?

- А) ТА-клонирование
б) Сборка Гибсона (Gibson assembly)
в) Бисульфитное секвенирование
г) Метод «перекрывающихся праймеров» с последующей ПЦР

6. Для доставки CRISPR-компонентов в клетки применяют электропорацию. В чем заключается принципиальное отличие этого физического метода от классической трансформации бактерий, опосредованной хлоридом кальция и тепловым шоком?

- А) Электропорация применима только к эукариотическим клеткам, а трансформация – только к бактериям
б) Электропорация создает временные поры в мембране с помощью электрического импульса, а химическая трансформация изменяет проницаемость клеточной стенки под действием ионов Ca^{2+}
в) При электропорации ДНК проникает через ядерную мембрану, а при трансформации – через цитоплазматическую
г) Разница только в эффективности, механизм одинаков

7. Для быстрого скрининга отредактированных клонов у микроорганизмов часто применяют ПЦР с праймерами, фланкирующими сайт редактирования, и последующий анализ методом гидролиза гетеродуплексов (например, T7EI). Какой прямой метод позволяет выявить наличие инделов без секвенирования и без обработки рестриктазами?

- А) Анализ длины амплификатора на агарозном геле (изменение размера продукта)
б) Количественная ПЦР в реальном времени (qPCR)
в) Саузерн-блоттинг
г) Вестерн-блоттинг

8. При редактировании с помощью Base Editing не происходит двухцепочечного разрыва, а лишь химическая модификация азотистого основания. Какое главное преимущество этого подхода с точки зрения клеточной репарации по сравнению с классическим CRISPR/Cas9?

- А) Отсутствие необходимости в донорной матрице для любой замены
б) Исключение риска образования инделов, возникающих при NHEJ
в) Возможность редактирования в митохондриальной ДНК
г) Повышенная активность в неделящихся клетках

9. На подготовительном этапе редактирования генома бактерий часто выбирают индуцируемый промотор (например, P_{tac} или P_{BAD}) для управления экспрессией Cas9. Для чего это необходимо?

- А) Для обеспечения конститутивной экспрессии репарационных ферментов
б) Для снижения токсичности белка Cas9 до момента индукции и возможности контролировать время редактирования
в) Для повышения количества копий плазмиды в клетке
г) Для активации системы рестрикции-модификации хозяина

10. Метод Cre-Lox рекомбинации, широко используемый для условного нокаута у эукариот, принципиально отличается от нуклеазных систем (CRISPR, ZFN, TALEN) по механизму действия. В чем это отличие?

- А) Cre-Lox не требует донорной матрицы для вставки гена
- Б) Cre-Lox не создает двухцепочечный разрыв в ДНК, а катализирует сайт-специфическую рекомбинацию между двумя lox-сайтами без разрыва фосфодиэфирных связей
- В) Cre-Lox действует только на РНК, а не на ДНК
- Г) Cre-Lox работает только in vitro, но не in vivo

7. Оценочные материалы промежуточной аттестации

Первый семестр, Экзамен

Контролируемые ИДК: ПК-П13.1 ПК-П13.2 ПК-П13.3 ПК-П13.4

Вопросы/Задания:

1. Опишите структурную организацию генома бактерий (нуклеоид, плазмиды, суперскручивание). Чем отличается организация генетического материала у грибов (эукариот) от бактериальной?

2. Какие особенности геномов патогенных бактерий (например, острова патогенности, вариабельность) определяют их вирулентность? Приведите примеры.

3. Сравните размеры, количество генов и плотность кодирующих последовательностей в геномах бактерий и грибов. Объясните причины различий.

4. Перечислите основные классы мобильных элементов у бактерий (IS-элементы, транспозоны, конъюгативные транспозоны, интегроны). Опишите механизмы их перемещения внутри генома.

5. Какую роль играют мобильные элементы в горизонтальном переносе генов и эволюции бактерий? Приведите примеры переноса генов антибиотикорезистентности.

6. В чем отличие ретротранспозонов от ДНК-транспозонов? Встречаются ли они у грибов и каковы их особенности?

7. Назовите основные этапы биоинформатического анализа данных секвенирования (от сырых ридов до аннотации генома). Какие задачи решаются на каждом этапе?

8. Что такое качество чтений (quality scores) в NGS? Какие показатели (например, Phred score) используются и как они влияют на последующий анализ?

9. Опишите принципы выравнивания (alignment) чтений на референсный геном. В чем разница между глобальным и локальным выравниванием, и когда применяются разные алгоритмы (например, BWA, Bowtie)?

10. Опишите метод щелочного лизиса для выделения плазмидной ДНК из бактерий. Поясните роль каждого реагента (щелочной буфер, ацетат калия, спирт).

11. Какие факторы влияют на выход и чистоту плазмидной ДНК при выделении? Как можно удалить примеси геномной ДНК и РНК?

12. Сравните методы выделения тотальной ДНК из грамположительных и грамотрицательных бактерий. В чем заключается обработка лизоцимом и протеиназой К?

13. При выделении ДНК из грибов необходимо разрушить клеточную стенку. Какие механические и ферментативные методы используются (например, обработка β -глюканазой, замораживание-размораживание)?

14. Опишите три температурных этапа стандартной ПЦР (денатурация, отжиг, элонгация). Какие температуры и времена обычно используются, и от каких параметров они зависят?

15. Какие компоненты необходимы для проведения ПЦР-реакции? Какова роль каждого из них (буфер, dNTP, праймеры, Taq-полимераза, Mg^{2+})?

16. Объясните, как подбираются праймеры для ПЦР: какие критерии (длина, GC-состав, температура плавления, отсутствие вторичных структур) важны для специфичности амплификации?

17. В чем отличие ПЦР в реальном времени от обычной ПЦР? Опишите принцип детекции с помощью флуоресцентных красителей (SYBR Green) и зондов (TaqMan).

18. Какие методы абсолютной и относительной количественной оценки используются в qPCR? Как строится стандартная кривая и для чего она нужна?

19. Какие основные проблемы возникают при выделении РНК (рибонуклеазы, контаминация ДНК) и как их решают? Опишите метод гуанидинтиоционат-фенольной экстракции (например, Tri-Reagent).

20. Зачем и как проводится обработка выделенной РНК ДНКазой? Как проверить отсутствие геномной ДНК в образце РНК?

21. Объясните принцип разделения ДНК в агарозном геле. Как размер, концентрация агарозы и напряжение влияют на миграцию фрагментов?

22. Какие красители используются для визуализации ДНК в геле (бромистый этидий, SYBR Safe, GelRed)? Сравните их по чувствительности и безопасности.

23. Опишите методы элюции ДНК из агарозного геля: электроэлюция, вырезание и очистка с использованием колонок (например, Qiagen), замораживание-оттаивание. В чем их преимущества и недостатки?

24. Как оценить концентрацию и чистоту извлечённой ДНК с помощью спектрофотометрии (Nanodrop) и флуориметрии (Qubit)? Какие показатели (A_{260}/A_{280}) считаются приемлемыми?

25. Сравните три поколения систем направленного редактирования: ZFN, TALEN и CRISPR/Cas9. В чем заключаются различия в механизме распознавания и разрезания ДНК?

26. Что такое негомологичное соединение концов (NHEJ) и гомологичная репарация (HDR)? Как выбор пути репарации влияет на результат редактирования (нокут, нок-ин)?

27. Опишите принцип Base Editing и Prime Editing. В чем их преимущества перед классическим CRISPR/Cas9 с точки зрения точности и минимизации нецелевых эффектов?

28. Перечислите основные элементы экспрессионной плазмиды (ориджин репликации, селективный маркер, промотор, сайты множественного клонирования, терминатор). Какую функцию выполняет каждый из них?

29. Опишите стратегию клонирования целевого гена в плазмиду с использованием рестриктаз и лигазы. Какие проблемы могут возникнуть при лигировании (например, аутоциклизация) и как их избежать?

30. Объясните, что такое сборка Гибсона (Gibson assembly) и в чем её преимущества по сравнению с традиционным рестрикционным клонированием. Какие ферменты необходимы для сборки нескольких фрагментов в одну реакцию?

8. Материально-техническое и учебно-методическое обеспечение дисциплины

8.1. Перечень основной и дополнительной учебной литературы

Основная литература

1. ДУБИНА Е. В. Молекулярные маркеры в селекции растений: учеб. пособие / ДУБИНА Е. В.. - Краснодар: КубГАУ, 2023. - 165 с. - 978-5-907668-45-4. - Текст: электронный. // : [сайт]. - URL: <https://edu.kubsau.ru/mod/resource/view.php?id=13012> (дата обращения: 12.05.2026). - Режим доступа: по подписке

2. Субботина, Т. Н. Молекулярная биология и генная инженерия: практикум / Т. Н. Субботина, П. А. Николаева, А. Е. Харсекина. - Молекулярная биология и генная инженерия - Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2018. - 60 с. - 978-5-7638-3857-2. - Текст: электронный // IPR SMART: [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/84253.html> (дата обращения: 08.10.2025). - Режим доступа: по подписке

3. Субботина, Т.Н. Молекулярная биология и генная инженерия: Учебное пособие / Т.Н. Субботина, П.А. Николаева, А.Е. Харсекина. - Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2018. - 60 с. - 978-5-7638-3857-2. - Текст: электронный // Общество с ограниченной ответственностью «ЗНАНИУМ»: [сайт]. - URL: <https://znanium.com/cover/1032/1032111.jpg> (дата обращения: 08.09.2025). - Режим доступа: по подписке

Дополнительная литература

1. Васин, А. В. Молекулярная биология вируса Эбола: учебное пособие / А. В. Васин, Я. А. Забродская. - Молекулярная биология вируса Эбола - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 2024. - 64 с. - 978-5-7422-8707-0. - Текст: электронный // IPR SMART: [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/147726.html> (дата обращения: 08.10.2025). - Режим доступа: по подписке

2. Молекулярная биология: лабораторный практикум / А. Д. Ведяйкин, А. С. Майкова, Н. Е. Морозова, Я. В. Федорова, М. В. Якунина. - Молекулярная биология - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 2022. - 83 с. - 978-5-7422-7654-8. - Текст: электронный // IPR SMART: [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/128645.html> (дата обращения: 08.10.2025). - Режим доступа: по подписке

3. Иванищев, В.В. Молекулярная биология: Учебник / В.В. Иванищев. - 2 - Москва: Издательский Центр РИОР, 2024. - 233 с. - 978-5-16-016309-3. - Текст: электронный // Общество с ограниченной ответственностью «ЗНАНИУМ»: [сайт]. - URL: <https://znanium.ru/cover/2122/2122970.jpg> (дата обращения: 08.09.2025). - Режим доступа: по подписке

8.2. Профессиональные базы данных и ресурсы «Интернет», к которым обеспечивается доступ обучающихся

Профессиональные базы данных

Не используются.

Ресурсы «Интернет»

1. <https://edu.kubsau.ru/> - Образовательный портал КубГАУ
2. <http://znanium.com/> - Znanium
3. <https://znanium.ru/> - Электронно-библиотечная система Znanium

8.3. Программное обеспечение и информационно-справочные системы, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине

Информационные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине позволяют:

- обеспечить взаимодействие между участниками образовательного процесса, в том числе синхронное и (или) асинхронное взаимодействие посредством сети «Интернет»;
- фиксировать ход образовательного процесса, результатов промежуточной аттестации по дисциплине и результатов освоения образовательной программы;
- организовать процесс образования путем визуализации изучаемой информации посредством использования презентаций, учебных фильмов;
- контролировать результаты обучения на основе компьютерного тестирования.

Перечень лицензионного программного обеспечения:

- 1 Microsoft Windows - операционная система.
- 2 Microsoft Office (включает Word, Excel, Power Point) - пакет офисных приложений.

Перечень профессиональных баз данных и информационных справочных систем:

- 1 Гарант - правовая, <https://www.garant.ru/>
- 2 Консультант - правовая, <https://www.consultant.ru/>
- 3 Научная электронная библиотека eLibrary - универсальная, <https://elibrary.ru/>

Доступ к сети Интернет, доступ в электронную информационно-образовательную среду университета.

Перечень программного обеспечения

(обновление производится по мере появления новых версий программы)

Не используется.

Перечень информационно-справочных систем

(обновление выполняется еженедельно)

Не используется.

8.4. Специальные помещения, лаборатории и лабораторное оборудование

Лаборатория

739гл

A1204 Аквадистиллятор электрический настольный производительность 4л/ч нержав. сталь Liston - 0 шт.

Автономный вентилятор кислотостойкий (центробежного типа, выпускной фланец 315

мм 1700 м. куб/час) Установка к ШВП - 0 шт.

Аквадистиллятор OLab WDF-05 (производительность 5 л/ч исполнение настольное) - 0 шт.

Амплификатор детектирующий "ДТ прайм" по ТУ 9443-004-96301278-2010 в модификации 5M1 - 0 шт.

Весы портативные Scout SPX222,220 г х 0,01 г Ohaus - 0 шт.

Воздуховод полужесткий круглый (кислотостойкий) D=315 мм (L3000) в комплекте с хомутом 300-320 мм - 0 шт.

Вортекс V-1 plus, Bi пробирку 0,2-50oSan (на 1 пробирку 0,2-50 мл) - 0 шт.

Камера для вертикального электрофореза на два геля, размер стекла 20 см х 20 см - 0 шт.

Камера для горизонтально электрофореза Wide Mini-Sub Cell GT 15x7 см с заливочным столиком и упорами для заливки - 0 шт.

Камера для горизонтального электрофореза (170*120 мм), Россия - 0 шт.

Камера для микроскопа ADFPRO08 - 0 шт.

Микроскоп медицинский прямой CX для лабораторных исследований в комплекте - 0 шт.

Микроцентрифуга Mini-15K с ротором 15x1,5/2,0 мл 14500 об/мин - 0 шт.

Облучатель ультрафиолетовый с лампой настенный ОБН-150-С-(2x30) - 0 шт.

Облучатель-рециркулятор воздуха 300 - 0 шт.

Облучатель-рециркулятор воздуха 600 - 0 шт.

Стерилизатор паровой ГКа-25 ПЗ (объем камеры: 24,7 л макс. рабочее давление 0,22 Мпа) - 0 шт.

стол весовой - 0 шт.

стол островной - 0 шт.

стул лабораторный - 0 шт.

Трансиллюминатор КвантМ-312Б (модернизированный), 20x20 см, длина волны 312 нм, Россия - 0 шт.

тумба встраиваемая (с дверками и ящиком) - 0 шт.

Холодильник комбинированный лабораторный ХЛ-250 "ПОЗИС" белый тонированное стекло - 0 шт.

Холодильник лабораторный Позис ХЛ-250 (двери металл), Россия - 0 шт.

9. Методические указания по освоению дисциплины (модуля)

Учебная работа по направлению подготовки осуществляется в форме контактной работы с преподавателем, самостоятельной работы обучающегося, текущей и промежуточной аттестаций, иных формах, предлагаемых университетом. Учебный материал дисциплины структурирован и его изучение производится в тематической последовательности. Содержание методических указаний должно соответствовать требованиям Федерального государственного образовательного стандарта и учебных программ по дисциплине. Самостоятельная работа студентов может быть выполнена с помощью материалов, размещенных на портале поддержки Moodle.

10. Методические рекомендации по освоению дисциплины (модуля)