

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Зоологический институт Российской академии наук**

ОДОБРЕНО  
Ученым советом ЗИН РАН  
протокол № 1 от 14 марта 2018 г.

УТВЕРЖДАЮ  
Директор ЗИН РАН  
Богачев О.Н.  
« 10 / 3 / 2018 г. »


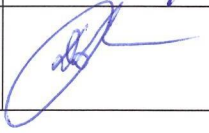


**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ  
«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ  
БИОРАЗНООБРАЗИЯ»**

По направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки

Присуждаемая квалификация: Исследователь. Преподаватель-исследователь

Присуждаемая ученая степень: Кандидат наук

	Должность	Фамилия И.О.	Подпись
<b>Согласовано</b>	Зам. директора по научной работе	Синев С.Ю.	
<b>Разработано</b>	Секретарь отдела аспирантуры	Доронин И.В.	

Санкт-Петербург  
2018

## **1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ**

Настоящая рабочая программа дисциплины по выбору «Молекулярные методы в исследовании биоразнообразия» - вариативная составляющая основной образовательной программы послевузовского профессионального образования (ООП ППО) разработана на основании законодательства Российской Федерации в системе послевузовского профессионального образования, в том числе: Федерального закона РФ от 22.08.1996 г. № 125-ФЗ «О высшем и послевузовском профессиональном образовании», Положения о подготовке научно-педагогических и научных кадров в системе послевузовского профессионального образования Российской Федерации, утвержденного приказом Министерства общего и профессионального образования РФ от 27.03.1998 г. № 814 (в действующей редакции); составлена в соответствии с федеральными государственными требованиями, утвержденными Приказом Минобрнауки России от 16.03.2011 г. № 1365 «Об утверждении федеральных государственных требований к структуре основной профессиональной образовательной программы послевузовского профессионального образования (аспирантура)» и инструктивного письма Минобрнауки России от 22.06.2011 г. № ИБ-733/12.

## **2. ТРЕБОВАНИЯ К УРОВНЮ ПОДГОТОВКИ, НЕОБХОДИМОМУ ДЛЯ ОСВОЕНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ПОДГОТОВКИ АСПИРАНТА**

Лица, желающие освоить ООП подготовки аспиранта по данному направлению подготовки, должны иметь высшее образование. Лица, имеющие высшее образование, принимаются в аспирантуру по результатам сдачи вступительных экзаменов на конкурсной основе. По решению экзаменационной комиссии лицам, имеющим достижения в научно-исследовательской деятельности, отраженные в научных публикациях, может быть предоставлено право преимущественного зачисления.

## **3. КВАЛИФИКАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИСЦИПЛИНЫ**

Выпускник, освоивший программу аспирантуры по дисциплине «Молекулярные методы в исследовании биоразнообразия», должен обладать следующими

1) универсальными компетенциями (УК):

- способностью 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).

2) общепрофессиональными компетенциями (ОПК):

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

3) профессиональными компетенциями (ПК):

- способность вскрыть физическую, естественнонаучную сущность проблем, возникающих в ходе профессиональной деятельности, провести их структурный и функциональный анализ (ПК-2).

Квалификационные характеристики (общие и специальные) в соответствии с требованиями к выпускнику аспирантуры как специалисту высшей квалификации в отрасли Биологические науки 06.06.01.

Программа аспирантуры направлена на освоение всех видов профессиональной деятельности, к которым готовится выпускник.

## **4. ЦЕЛЬ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ**

Цель изучения дисциплины – сформировать у слушателей понимание того, что изучение таких классических дисциплин как ботаника и зоология на современном уровне обязательно подразумевает применение молекулярных методик при решении самых

различных задач, и развить практические навыки лабораторной работы (выделение ДНК, постановка ПЦР, очистка ПЦР продукта и др.) и анализа данных (работы с программами филогенетического анализа, подбора праймеров, фрагментного анализа), ознакомить с основами геномики и молекулярной филогенетики и теми возможностями, которые они дают для решения фундаментальных и прикладных проблем.

## **5. ОБЩИЕ Д ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИСЦИПЛИНЫ**

Общий объем дисциплины по выбору «Молекулярные методы в исследовании биоразнообразия» составляет **108** часов, или **3** ЗЕ.

Курс читается на втором году обучения и предполагает знание основных вузовских дисциплин гуманитарного, социального и экономического цикла (Б1), а также – естественнонаучного и математического цикла, включая раздел «Теория вероятности и математическая статистика» (Б 2).

### **5.1. Задачи дисциплины**

- сформировать у аспирантов представления о теоретических основах филогенетического анализа, о молекулярных маркерах как источнике филогенетической информации
- сформировать теоретические представления об особенностях популяционно-генетического анализа, о филогеографии, об использовании данных молекулярно-филогенетического анализа в систематике,
- выработать навыки, необходимые для правильного подбора праймеров и постановки полимеразной цепной реакции
- выработать навыки работы с Генбанком, множественного выравнивания последовательностей
- Выработать навыки обработки нуклеотидных последовательностей, множественного выравнивания последовательностей и работы с филогенетическими программами, построения филогенетических деревьев, статистической обработки полученных результатов, оценки полученных гипотез
- Подготовить аспирантов к применению полученных знаний при проведении собственных исследований

### **5.2. Требования к уровню подготовки аспиранта, завершившего изучение данной дисциплины**

- Аспиранты, завершившие изучение данной дисциплины, должны
- иметь представление: о возможностях и ограничениях использования молекулярных маркеров в изучении биологического разнообразия, о преимуществах и недостатках в сравнении с другими методами
  - знать: принцип полимеразной цепной реакции, методы подбора праймеров, выравнивания нуклеотидных последовательностей, основы филогенетического анализа
  - уметь выделять ДНК, проводить ПЦР, очистку ПЦР продуктов, измерения концентрации ДНК и ставить электрофорез и разделять ПЦР продукты в агарозном геле

### **5.3. Связь с предшествующими дисциплинами**

Курс предполагает наличие у аспирантов знаний по теоретическим вопросам систематики и филогенетики, соотношению систематики и таксономии, систематики и филогении а также знаний курса общей генетики и молекулярной биологии.

#### 5.4. Программа дисциплины

В процессе обучения применяются следующие образовательные технологии:

- лекции;
- семинары;
- практические занятия.

1. Лекции сопровождаются визуальным материалом в виде презентаций с использованием компьютерной презентационной программы Power Point).

2. Семинары носят характер дискуссии, собеседования, свободного изложения тематического материала.

3. На практических занятиях аспиранты работают в центре коллективного пользования и в компьютерном классе.

Программа дисциплины предусматривает как аудиторные занятия, так и самостоятельную работу слушателей. Аудиторные занятия состоят из лекций и практических занятий в компьютерном классе.

Самостоятельная работа слушателей включает в себя:

- составление кратких и развёрнутых план-конспектов изучаемого материала по теме и закрепление его воспроизведением основных терминов и понятий;
- изучение учебного материала, перенесенного с аудиторных занятий на самостоятельную проработку.

Самостоятельное выделение ДНК из образцов, подбор праймеров и выбор молекулярных маркеров для самостоятельного исследования, постановка ПЦР реакции, постановка агарозного геля – электрофореза и анализ полученных изображений, определение концентрации ПЦР продукта, очистка ПЦР продукта, подготовка для секвенирования. Анализ сиквенса или микросателлитов, обработка полученных данных.

Руководство самостоятельной работой слушателей осуществляется через разработку тем, выносимых на изучение, и проверку их выполнения.

Оценочный критерий – степень самостоятельности и творческой активности при выполнении заданий.

Итоговый контроль проводится в виде зачёта.

## 6. СОДЕРЖАНИЕ РАЗДЕЛА (ТЕМ) ДИСЦИПЛИНЫ «КОМПЬЮТЕРНАЯ ОБРАБОТКА БИОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ»

### 6.1. Разделы дисциплины

№ п/п	Название раздела дисциплины
1	Возникновение молекулярной филогенетики и молекулярной систематики, краткая история. Молекулярные методы в решении различных традиционных вопросов зоологии и ботаники. Признаки в молекулярной систематике и филогенетике. Молекулярные маркеры.
2	Филогенетический анализ молекулярных данных. Базовые элементы
3	Филогенетический анализ молекулярных данных. Алгоритмы анализа, модели. Оценка филогенетических гипотез и данных
4	Молекулярная филогенетика на видовом и внутривидовом уровне. Филогеография. Значение молекулярной биологии и молекулярной систематики для других биологических дисциплин, прикладное использование их достижений
5	Выделение ДНК
6	Постановка гель-электрофорез
7	Постановка полимеразной цепной реакции
8	Знакомство с сиквенсовой реакцией и капиллярным гель-электрофорезом, анализ сиквенса и анализ коротких tandemных повторов (VNTR).
9	Обработка данных, работа с программами анализа данных, работа с базами данных (Генбанк)

### 6.2. Темы дисциплины

#### Лекционный курс

Тема 1. Возникновение молекулярной филогенетики и молекулярной систематики, краткая история. Молекулярные методы в решении различных традиционных вопросов зоологии и ботаники.

Что изучает биологическая систематика, определение. Соотношение систематики и таксономии, систематики и филогении. Разделы систематики: упорядочивание организмов в иерархические группы (фенетическая и филогенетическая систематика). Фенетическая систематика и фенограмма. Номенклатура. Идентификация. Линнеевская таксономия, понятие признака. Базовые понятия: Монофилия, полифилия и парафилия, гомология, аналогия. Определение гомологии по Оуэну. По Дарвину. Филогенетическая систематика (кладистика). Основная терминология: апоморфии, синапоморфии, плезиоморфии, гомоплазии. Разница между кладограммой и филограммой. Филогенетические деревья. Элементы и основные понятия: узел, ветвь, топология, длина ветвей, укорененные и неукорененные деревья, шкала дистанций, клада, ОТЕ. Варианты изображений деревьев. Связь между молекулярной популяционной генетикой и филогенетикой (филогеография). Молекулярные методы в решении различных традиционных вопросов зоологии и ботаники. Признаки в мол.систематике и филогенетике и методы анализа. Общая часть. Гомология и сходство в молекулярной систематике. Ортология, паралогия и ксенология. Генные и организменные/видовые деревья.

Тема 2. Филогенетический анализ молекулярных данных. Базовые элементы.

Молекулярные маркеры как источник филогенетической информации. Типы маркеров. Мт и я ДНК. Преимущества и ограничения. Какие маркеры использовать. Анализ данных секвенирования, выравнивание. Множественные выравнивания. анализ нуклеотидного состава: Насыщение. Смещения нуклеотидного состава. Множественные замены на один

сайт (гомоплазия). Ортологичные и паралогичные последовательности.

Тема 3. Филогенетический анализ молекулярных данных. Алгоритмы анализа, модели. Оценка филогенетических гипотез и данных.

Ступени филогенетического анализа: 1. выравнивание. 2. Подбор модели. Построение дерева. Оценка полученного дерева. Оценка филогенетических гипотез, данных, деревьев.. Генетические дистанции и эволюционные модели. Сравнение различных моделей. Учет делеций и отсутствующей информации. Методы анализа. Дистанционные методы. Общие принципы. Методы анализа дискретных признаков. Общие принципы. Метод максимальной экономии. Метод максимального правдоподобия. Баесов анализ. Сравнение филогенетических методов. Оценка филогенетических гипотез и данных. Статистические характеристики. Consistency Index и Retention Index. Бутстреппирование. Баесов анализ и Баесовы вероятности. Надежность филогенетических методов и артефакты (притяжение длинных ветвей). Как обходить подводные камни. Общие рекомендации. Заключение. Программы для филогенетического анализа.

Тема 4. Молекулярная филогенетика на видовом и внутривидовом уровне. Филогеография. Значение молекулярной биологии и молекулярной систематики для других биологических дисциплин, прикладное использование их достижений

Понятие вид и современные концепции вида. Филогеография-новое направление исследований генетический анализ в пространстве и времени, Демографический анализ, гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие, сети гаплотипов. ДНК идентификация и Баркодинг. Горизонтальный перенос генов, его вклад в эволюцию. Универсальное филогенетическое древо, прикладное использование молекулярной филогенетики и анализа молекулярной изменчивости: в природоохранной деятельности, криминалистике и др.

### **Практические занятия**

Тема 1. Введение. Выделение ДНК (часть I).

ТБ в лаборатории. Постановка выделения солевым методом. Начало выделения с помощью СТАВ. Начало фенол-хлороформного выделения.

Тема 2. Выделение ДНК (часть II).

Завершение фенол-хлороформного, солевого и СТАВ выделения. Растворение ДНК. Приготовление агарозного геля.

Тема 3. Анализ тотальной ДНК. ПЦР

Нанесение на агарозный гель тотальной ДНК, электрофорез. Спектрофотометрия. Постановка – ПЦР. Приготовление агарозных гелей.

Тема 4. Знакомство с сиквенсовой реакцией и капиллярным гель-электрофорезом, анализ сиквенса и анализ коротких tandemных повторов (VNTR)

Знакомство с протоколом сиквенсовой реакции, демонстрация чтения последовательности на капиллярном автоматическом секвенаторе, анализ и редактирование последовательности, демонстрация работы с короткими tandemными повторами (микросателлитами).

Тема 5. Обработка данных, работа с программами анализа данных, работа с базами данных. Работа с компьютерными программами MEGA5, MrBayes 3.1, Network, DNASP, Modeltest, BEAST, TRACER, ARLEQUIN, BIOEDIT 7.0 и др. Редактирование и выравнивание сиквенсов в программе BIOEDIT 7.0, работа с базами данных Генбанка, поиск последовательностей и работа с программой BLAST

## **7. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ**

Учебная и учебно-методическая литература и иные библиотечно-информационные ресурсы обеспечивают учебный процесс и гарантируют возможность качественного освоения аспирантом образовательной программы. Зоологический институт РАН располагает обширной библиотекой, включающей научно-техническую литературу по дисциплине, научные журналы и труды конференций.

### **Основная литература:**

1. Лукашов В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. М.: Бином, 2009
2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебное пособие. Новосибирск, 2002, 459 с.
3. Антонов А.С. Геносистематика растений. Москва, 2006.\*

### **Дополнительная литература:**

1. Абрамсон Н.И., 2006. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы. Вестник ВОГиС. Т. 11. № 2. С.307-331.
2. Банникова А.А., 2004. Молекулярная филогенетика и современная систематика млекопитающих // Журнал общей биологии. Т. 65. В. 4. С. 278-305. Гречко В.В., 2002. Молекулярные маркеры ДНК в изучении филогении и систематики // Генетика. Т. 38. № 8. С. 1013-1033.
3. Hewitt G.M., 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography – or seeing genes in space and time // Mol. Ecol. V. 10. P. 537-549.

### **Электронные ресурсы:**

Сайт, посвященный программам с обработкой данных молекулярного анализа <http://evolution.genetics.washington.edu>  
Сайт Генобанка со всеми базами данных <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>  
Сайт международного консорциума баркодинга <http://www.boldsystems.org>  
<http://www.nature.com/nature> <http://www.nature.com/methods> <http://www.nature.com/materials> <https://www.researchgate.net/> <http://www.oxfordjournals.org>  
<http://www.tandf.co.uk/journals/>  
<http://www.springerlink.com> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

### **Электронные образовательные ресурсы:**

1. Научная электронная библиотека e-Library
2. [www.e-science.ru](http://www.e-science.ru) – портал естественных наук, теоретическая база по биологии (бесплатный ресурс)
3. [elibrary.ru](http://elibrary.ru) и [libnauka.ru](http://libnauka.ru) (электронная библиотека Издательства "Наука").

### **Электронно-образовательные ресурсы свободного доступа:**

1. Федеральный портал "Российское образование" – <http://www.edu.ru/>
2. Национальная педагогическая энциклопедия – <http://didacts.ru>
3. Единое окно доступа к образовательным ресурсам/Федеральный портал – <http://window.edu.ru/>
4. Портал естественных наук, теоретическая база по биологии – [www.e-science.ru](http://www.e-science.ru)
5. Российская государственная библиотека – <http://www.rsl.ru>
6. Научная библиотека СПбГУ – <http://www.library.spbu.ru>
7. ЭБС издательства Лань – <http://e.lanbook.com>

### **Материально-техническое обеспечение учебной дисциплины**

1. Чтение курса лекций осуществляется в учебной аудитории или малом конференц-зале

Зоологического института РАН.

2. Преподаватель может использовать компьютер ACER Model ZL1 с приставкой In FOCUS Model LP70 и любое иллюстративное оборудование, которым располагает ЗИН РАН.

3. Чтение лекций осуществляется с использованием интерактивной презентации авторской разработки.

4. Для практических занятий используются оборудование:

- Оборудование для подготовки и выделения ДНК из препаратов тканей (лезвия, ножницы, измельчители, чашки Петри, лабораторный пластик, дозаторы, центрифуги, микроцентрифуги, водяная баня, комплект реактивов)
- Оборудование для постановки ПЦР и гель-электрофореза (амплификаторы фирмы Applied Biosystems, Biometra, камеры для горизонтального электрофореза, источники питания, агароза, микроволновая печь, электронные весы, комплект реактивов: ДНК-полимераза, DNTP, буфер, ТРИС, бромистый этидий, маркеры молекулярного веса)
- Оборудование для секвенирования (4-х капиллярные автоматические ДНК-анализаторы с программным обеспечением)
- Классы, оснащенные компьютерами с установленными программными пакетами MEGA5, MrBayes 3.1, Network, DNASP, Modeltest, BEAST, TRACER, ARLEQUIN, BIOEDIT 7.0 и выходом в интернет

5. Фонды Библиотеки РАН.