

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)

Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
(БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ)



УТВЕРЖДАЮ:

Директор Биологического института

Д.С. Воробьев

« 04 » мая 20 22 г.

Рабочая программа дисциплины

Транскриптомный анализ

по направлению подготовки

06.04.01 Биология

Направленность (профиль) подготовки:

«Физиология, биохимия, биотехнология, биоинформатика растений и микроорганизмов»

Форма обучения

Очная

Квалификация

Магистр

Год приема

2022

Код дисциплины в учебном плане: Б1.О.12

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ОП

О.В. Карначук

Председатель УМК

А.Л. Борисенко

Томск – 2022

1. Цель и планируемые результаты освоения дисциплины (модуля)

Целью освоения дисциплины является формирование следующих компетенций:

– ОПК-7 - способность в сфере своей профессиональной деятельности самостоятельно определять стратегию и проблематику исследований, принимать решения, в том числе инновационные, выбирать и модифицировать методы, отвечать за качество работ и внедрение их результатов, обеспечивать меры производственной безопасности при решении конкретной задачи;

– ОПК-8 - способность использовать современную исследовательскую аппаратуру и вычислительную технику для решения инновационных задач в профессиональной деятельности;

– ПК-1 – способность обрабатывать и использовать научную и научно-техническую информацию при решении исследовательских задач в соответствии с профилем (направленностью) магистерской программы;

– ПК-2 – способность проводить основные этапы полевых и лабораторных исследований в соответствии с профилем (направленностью) магистерской программы.

Результатами освоения дисциплины являются следующие индикаторы достижения компетенций:

ИОПК-7.1. Подбирает и анализирует информацию в профессиональной сфере деятельности, применяет принципы оценки достоверности научной информации;

ИОПК-8.1. Демонстрирует понимание методических принципов полевых и лабораторных биологических исследований и типов используемой современной исследовательской аппаратуры;

ИПК-1.1. Применяет знания фундаментальных и прикладных разделов дисциплин (модулей), определяющих направленность (профиль) программы магистратуры при решении отдельных исследовательских задач;

ИПК-2.1. Демонстрирует понимание фундаментальных и прикладных представлений дисциплин, определяющих направленность программы магистратуры.

2. Задачи освоения дисциплины

– Знать особенности организации генов у растений (кодирующие и некодирующие районы ДНК).

– Понимать принципы молекулярных инструментальных транскриптомики: анализ на микрочипах и секвенирование.

- Научиться применять статистическую и биоинформационную методологию транскриптомики при использовании первичной обработки данных транскриптомного анализа и контроля качества эксперимента.

3. Место дисциплины (модуля) в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к обязательной части образовательной программы.

4. Семестр(ы) освоения и форма(ы) промежуточной аттестации по дисциплине

Семестр 2, зачет.

5. Входные требования для освоения дисциплины

Для успешного освоения дисциплины требуются компетенции, сформированные в ходе освоения образовательных программ предшествующего уровня образования.

Для успешного освоения дисциплины требуются результаты обучения по следующим дисциплинам: молекулярная биология и генетика.

6. Язык реализации

Русский.

7. Объем дисциплины (модуля)

Общая трудоемкость дисциплины составляет 2 з.е., 72 часов, из которых:

- лекции: 10 ч.;
- семинарские занятия: 16 ч.
- практические занятия: 0 ч.;
- лабораторные работы: 0 ч.

в том числе практическая подготовка: 0 ч.

Объем самостоятельной работы студента определен учебным планом.

8. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам

Тема 1. Введение в транскрипционный анализ.

Определение понятий: транскриптом, транскрипционные единицы, мРНК, некодирующие РНК, малые РНК. Экспрессия генов. Альтернативный сплайсинг и транскрипт-варианты. Анализ транскрипционной структуры генов: сайты инициации транскрипции, 5'- и 3'-концы генов. Анализ паттернов сплайсинга и других посттранскрипционных модификаций. «Читаемые» участки генов.

Тема 2. Особенности организации генов у растений – кодирующие и некодирующие районы ДНК.

Вариабельность размеров геномов у разных видов растений. Парадокс величины С. Кластерная организация генов растений. Полиплоидия. Повторяющиеся последовательности.

Тема 3. Молекулярный инструментарий транскриптомики - анализ на микрочипах.

Микрочипы на основе нуклеиновых кислот. Двухцветный и одноцветный варианты анализа транскриптома на микрочипах. Чипы с олигонуклеотидными зондами, комплементарными сайтам сшивки экзонов. Высокоплотные геномные чипы (tiling arrays).

Тема 4. Молекулярный инструментарий транскриптомики - секвенирование.

Основные принципы секвенирования по Сэнжеру. Новые подходы секвенирования: SAGE - серийный анализ экспрессии генов; CAGE - кэповый анализ геновой экспрессии; MPSS - массивное параллельное секвенирование последовательностей тэгового характера. RNA-Seq - РНК-секвенирование.

Тема 5. Статистическая и биоинформационная методология транскриптомики.

Первичная обработка данных транскрипционного анализа. Контроль качества эксперимента. Оценка качества обработки результатов и функциональный анализ. Картирование генов и границ экзонов.

Семинарское занятие:

Тема 1. Введение в транскрипционный анализ.

Экспрессия генов на примере *Arabidopsis thaliana*. Примеры альтернативного сплайсинга генов. Транскрипт-варианты. Проект ENCODE (the Encyclopedia Of DNA Elements).

9. Текущий контроль по дисциплине

Текущий контроль по дисциплине проводится путем контроля посещаемости, проведения тестов по лекционному и семинарскому материалу и фиксируется в форме контрольной точки не менее одного раза в семестр.

10. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации

Зачет во втором семестре проводится в виде теста. Тест содержит теоретические вопросы. Продолжительность зачета 1,5 часа. Формирование ИОПК-7.1; ИОПК-8.1; ИПК-1.1; ИПК-2.1 оценивается по результатам тестирования.

Примерный перечень теоретических вопросов

1. Вопрос 1. Первичные данные транскриптомных исследований можно найти в базе:

- а) Gene Ontology
- б) Geo DataSets
- в) Geo BioSample
- г) BioGPS

2. Вопрос 2. Для печати чипов не требуют кросслинкинга и модификации олигонуклеотида:

- а) Fast-стекла
- б) Эпоксидные стекла
- в) Аминосилановые стекла
- г) Полилизинные стекла

3. Вопрос 3. Флуоресцентно-меченые образцы кДНК или IVT-РНК чувствительны к:

- а) Центрифугированию
- б) Концентрации озона в лаборатории
- в) Температурному режиму
- г) Свету

4. Вопрос 4. При считывании двуцветного чипа настройка лазеров или ФЭУ:

- а) Не требуется
- б) Выставляется одинаковой для обоих каналов
- в) Проводится для каждого канала отдельно без учета фонового свечения
- г) Проводится для каждого канала отдельно с учетом самых ярких спотов и свечения фона

5. Вопрос 5. Tiling-чипы содержат зонды, комплементарные:

- а) Референсному экзому
- б) Областям генома на заданном расстоянии
- в) Экзон-экзонным стыкам
- г) Всему геному с n-кратным покрытием

6. Вопрос 6. Биотиновое мечение используется в:

- а) Одноцветных чиповых технологиях
- б) Двуцветных чиповых технологиях
- в) Безамплификационном варианте RNA-Seq
- г) Определении индекса целостности РНК

7. Вопрос 7. Чип-принтер – это прибор для:

- а) Нанесения зондов на носитель

- б) Раскапывания образцов для последующей гибридизации
- в) Принтер для автоматической маркировки чиповых носителей (стекло, мембран)
- г) Прибор для модификации предметного стекла или мембраны для последующего нанесения зондов

8. Вопрос 8. Метод MPSS основан на считывании:

- а) Коротких участков 5'-областей транскриптов
- б) Коротких участков 3'-областей транскриптов
- в) Чтении параллельных рестрикционных сигнатур транскриптов
- г) Строго уникальных тэгов транскриптов

9. Вопрос 9. К сиквенс-тэговым подходам относится:

- а) RNASeq
- б) SAGE
- в) CAGE
- г) MPSS

10. Вопрос 10. При проведении RNA-Seq на любой платформе:

- а) Обязательна амплификация транскрипта методом ПЦР
- б) Обязательна амплификация транскрипта методом IVT
- в) Обязателен анализ RIN
- г) Нельзя использовать spike-in РНК.

11. Вопрос 12. Транскриптомное аналитическое приложение, независимое от языка R, - это:

- а) EBI Expression profiler
- б) Chipster
- в) EMBL R-Cloud Workbench
- г) Ни одно из перечисленных

12. Вопрос 12. Контроль качества транскриптомного исследования может обеспечиваться:

- а) Использованием spike-in РНК
- б) Использованием C₀t ДНК
- в) Подтверждением результатов с помощью количественной ПЦР
- г) Анализом согласия биореplikатов

13. Вопрос 13. Методы статистического анализа данных транскриптомного исследования:

- а) Выбираются исследователем
- б) Строго зависят от типа исследования
- в) Назначаются консорциумом по соответствующему исследованию за текущий год
- г) Зависят от используемой платформы и соответствующего аналитического приложения

14. Вопрос 14. Tiling-чипы содержат зонды, комплементарные:

- а) Референсному экзому
- б) Областям генома на заданном расстоянии
- в) Экзон-экзонным стыкам
- г) Всему геному с n-кратным покрытием

15. Вопрос 15. По завершении проекта ENCODE:

- а) Было подтверждено наличие в геноме человека большого количества «мусорной» ДНК
- б) Оказалось, что большая часть генов транскрибируется не единственным образом
- в) Было описано влияние 5'-НТО-рамок считывания на регуляцию стабильности РНК
- г) Был аннотирован 94241 экзонный-экзонный стык.

11. Учебно-методическое обеспечение

а) Электронный учебный курс по дисциплине в электронном университете «Moodle» - <https://moodle.tsu.ru/course/view.php?id=19096>.

б) Оценочные материалы текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине размещены в курсе «Moodle».

в) План семинарских занятий по дисциплине представлены в курсе «Moodle».

г) Методические указания по организации самостоятельной работы студентов.

Самостоятельная работа студентов базируется на изучении:

- лекционного материала;
- учебно-методических пособий;
- источников литературы (учебники, монографии, научные журналы);
- интернет-ресурсов.

Самостоятельную работу по дисциплине следует начать с изучения теоретического материала и с письменных ответов на вопросы теоретической части содержания дисциплины, чтобы приступить затем к выполнению письменных практических работ и подготовке докладов, имея необходимые знания. Теоретический материал студент изучает в соответствии с тематическим планом. Кроме того, готовит к аудиторной работе с преподавателем список вопросов, которые не удалось разобрать самостоятельно. При подготовке к семинарским занятиям студент должен ответить на вопросы, указанные в темах семинарских занятий, руководствуясь при этом лекционным материалом, литературой, интернет-ресурсами, подготовить доклад по индивидуальному заданию.

В период обучения слушатели имеют возможность пользоваться научными материалами кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института ТГУ, фондами научной библиотеки ТГУ и открытым доступом к ресурсам платформ www.pubmed.com, www.sciencedirect.com, интернет-соединением для ознакомления с базами данных PDB, SCOP, NCBI GenBank.

Для проверки знаний студентам предлагается фонд контрольных вопросов для самостоятельной работы. В контрольных вопросах отражается понятийный аппарат изучаемого курса, знание рекомендованной к изучению литературы, знание проблем изучаемой дисциплины и методов поиска их решений.

12. Перечень учебной литературы и ресурсов сети Интернет

а) основная литература:

- Бадаева Е.Д. и Е.А. Салина. Структура генома и хромосомный анализ растений. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013, Том 17, № 4/2. С. 1017-1043.

- Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. М.: Наука. 2004. 530с.

- Патрушев Л.И. Экспрессия генов. М.: Наука. 2000. 418с.

б) дополнительная литература:

- Heath J. R., Ribas A., Mischel P. S. Single-cell analysis tools for drug discovery and development. Nat. Rev. Drug Discov. 2016. Vol. 15, no. 3.P. 204-216. DOI:10.1038/nrd.2015.16.

- Новикова С.Е. и Згода В.Г. Транскриптомика и протеомика в исследованиях индуцированной дифференцировки лейкозных клеток. Биомедицинская химия, 2015 том 61, вып. 5, с. 529-544.

- А. М. Спицина, Ю. Л. Орлов, Н. Н. Подколотная, А. В. Свичкарев, А. И. Дергилев, М. Чен, Н. В. Кучин, И. Г. Черных, Б. М. Глинский, “Суперкомпьютерный анализ геномных и транскриптомных данных, полученных с помощью технологий высокопроизводительного секвенирования ДНК”, Программные системы: теория и приложения, 6:1 (2015), 157–174.

в) ресурсы сети Интернет:

- Классическая и молекулярная биология. Сайт для молекулярных биологов и специалистов смежных областей. <http://www.molbiol.ru/>.

13. Перечень информационных технологий

а) лицензионное и свободно распространяемое программное обеспечение:

– Microsoft Office Standart 2013 Russian: пакет программ. Включает приложения: MS Office Word, MS Office Excel, MS Office PowerPoint, MS Office OneNote, MS Office Publisher, MS Outlook, MS Office Web Apps (Word Excel MS PowerPoint Outlook);

– публично доступные облачные технологии (Google Docs, Яндекс диск и т.п.).

б) информационные справочные системы:

– Электронный каталог Научной библиотеки ТГУ – <http://chamo.lib.tsu.ru/search/query?locale=ru&theme=system>

– Электронная библиотека (репозиторий) ТГУ – <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Index>

– ЭБС Лань – <http://e.lanbook.com/>

– ЭБС Консультант студента – <http://www.studentlibrary.ru/>

– Образовательная платформа Юрайт – <https://urait.ru/>

– ЭБС ZNANIUM.com – <https://znanium.com/>

– ЭБС IPRbooks – <http://www.iprbookshop.ru/>

в) профессиональные базы данных (*при наличии*):

- Национальный центр биотехнологической информации (англ. *National Center for Biotechnological Information, NCBI*) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

- Библиографическая и реферативная база данных «Scopus» <https://www.scopus.com>

- Информационные базы и базы протоколов: BioGPS: biogps.org; EMBL: embl.org; Gene: ncbi.nlm.nih.gov/gene/; Genecards: genecards.org; Geo DataSets: ncbi.nlm.nih.gov/gds/; GeoProfiles: ncbi.nlm.nih.gov/geoprofiles/; PMC: ncbi.nlm.nih.gov/pmc; PubMed: ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/

14. Материально-техническое обеспечение

Аудитории для проведения занятий лекционного типа.

Аудитории для проведения занятий семинарского типа, индивидуальных и групповых консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации.

Обучение по дисциплине «Транскриптомный анализ» осуществляется на базе лекционной аудитории, оснащенной интерактивной доской и мультимедийным оборудованием для демонстрации презентаций.

Помещения для самостоятельной работы, оснащенные компьютерной техникой и доступом к сети Интернет, в электронную информационно-образовательную среду и к информационным справочным системам.

15. Информация о разработчиках

Дейнеко Елена Викторовна, доктор биологических наук, кафедра физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета, профессор.