

Учреждение образования
«Международный государственный экологический институт
имени А.Д. Сахарова» Белорусского государственного университета

УТВЕРЖДАЮ

Директор

МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ

О.И. Родькин

«28» марта 2023 г.

Регистрационный № УД 1246-23/уч.

ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности
7-06-0511-05 Биоинформатика

Профилизация Общая биоинформатика

2023 г.

Учебная программа составлена на основе образовательного стандарта ОСВО 7-06-0511-04-2023 от 31.05.2023 и учебных планов учреждения образования специальности 7-06-0511-05 Биоинформатика рег. № 166-23/уч.маг. от 07.04.2023.

СОСТАВИТЕЛИ:

Р.М. Смолякова, заведующий клинико-диагностической лабораторией ГУ «Республиканский клинический госпиталь инвалидов Великой Отечественной войны имени П.М. Машерова», доктор биологических наук, профессор;

Т.С. Пицко, старший преподаватель кафедры общей биологии и генетики МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Морозик Павел Михайлович – заместитель директора по научной работе Института генетики и цитологии НАН Беларуси, кандидат биологических наук, доцент;

Сыса Алексей Григорьевич – декан факультета экологической медицины учреждения образования «Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, кандидат химических наук, доцент.

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой общей биологии и генетики учреждения образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета (протокол № 20 от 26.05.2023 г.);

Научно-методическим советом учреждения образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета (протокол № 9 от 28.05.2023 г.)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Технология секвенирования – процесс определения точного порядка расположения нуклеотидов в молекуле ДНК. Секвенирование ДНК — экспериментальный метод определения последовательного расположения оснований нуклеиновых кислот (А, Т, G и С) в полинуклеотиде, кодирующем различные белки, которые функционируют в живой клетке.

Учебная дисциплина содержит систематизированные научные знания о новых технологиях секвенирования ДНК в трех аспектах: технологическая история разных поколений секвенирования, протоколы данных и инструменты биоинформатики, которые используются в различных областях, включая обеспечение продовольственной безопасности путем улучшения качества и урожайности сельскохозяйственных культур, животноводства, улучшения диагностики, прогнозирования и лечения различных форм заболеваний, прогресса в криминалистике. Для усвоения материала студенту необходимы знания по дисциплинам «Микробиология», «Экология», «Внутренние болезни», «Общая генетика», «Медицинская генетика», «Онкология».

Цель учебной дисциплины «Технологии секвенирования»: приобретение студентами современных научных знаний о современных молекулярно-биологических технологиях изучения геномов про- и эукариот, вирусов и фагов.

Задачи учебной дисциплины состоят в приобретении студентами академических компетенций, основу которых составляет знание:

- структурной организации генома;
- основных понятий геномной (кодирующей и некодирующей) последовательности ДНК;
- особенностей упаковки ДНК;
- современных технологий секвенирования первого поколения (first generation sequencing (FGS)): метод химической дегградации, метод дидезокситерминации цепи, метод автоматического секвенирования, пиросеквенирование;
- секвенирование второго поколения (секвенирование следующего поколения (NGS));
- технологии секвенирования третьего поколения (third generation sequencing (TGS)).

Задачи преподавания учебной дисциплины состоят в формировании социально-личностных и профессиональных компетенций, основа которых заключается в знании и применении:

- принципов выполнения методов секвенирования ДНК и РНК;
- отличительных характеристик методологий выполнения секвенирования и интерпретации полученных данных;

– создания ДНК-библиотек для секвенирования различных биологических объектов.

За период обучения обучающиеся должны овладеть следующей компетенцией: быть способными к применению современных высокотехнологичных методов секвенирования, расшифровке и интерпретации полученных данных и их представлению в решении различных научно-исследовательских и прикладных задач в различных областях науки. В результате изучения учебной дисциплины «Технологии секвенирования» студент должен

знать:

- основные терминологические и методические приемы, используемые при секвенировании;
- основные методы выделения и хранения нуклеиновых кислот;
- современные методы создания ДНК-библиотек;
- комплексное оборудование, используемое для секвенирования различных поколений;
- закономерности реализации контроля за качеством выделения РНК, ДНК;
- основные причины генетических полиморфизмов;
- классификацию генных и геномных aberrаций;
- принципы оценки патогенности и происхождения геномных аномалий.

уметь:

- пользоваться молекулярно-генетическими методами выделения ДНК, РНК;
- современными компьютерными программами для расшифровки секвенсграмм;
- работать с разными источниками информации, генетическими и геномными базами данных;
- структурировать и анализировать первичную информацию, для выбора оптимального исследовательского протокола;
- осуществлять внутренний и внешний контроль качества реагентов и проб биоматериала.

владеть:

- терминологическим и номенклатурным аппаратом дисциплины;
- полученными знаниями для оценки полиморфизмов и мутационных нарушений в структуре ДНК;
- оформлением документации и предоставлением заключения по результатам проведенного исследования;
- современными подходами к биоинформационной интерпретации и анализе результатов молекулярно-генетического исследования;

– глубокими знаниями и пониманием современных научных проблем в области современной молекулярной биологии.

Для управления учебным процессом и организации контрольно-оценочной деятельности рекомендуется использовать учебно-методические комплексы, периодически проводить текущий контроль знаний на лабораторных, практических занятиях, а также проводить защиту выполненных лабораторных работ.

Самостоятельная подготовка студентов включает подготовку презентаций по актуальным проблемам молекулярно-генетических исследований, разработку научно-исследовательских проектов.

Основными методами (технологиями) обучения, отвечающими целям изучения дисциплины, являются:

- элементы проблемного обучения, реализуемые на лекционных и лабораторных занятиях;
- компетентностный подход, осуществляемый на лекциях, лабораторных занятиях и при самостоятельной работе;
- учебно-исследовательская деятельность, проводимая на лабораторных, практических занятиях;

Изучение дисциплины способствует формированию следующих компетенций (СК9): использовать различные технологии секвенирования: нанопоровое секвенирование, одномолекулярное секвенирование Helicos Biosciences, одномолекулярное секвенирование в реальном времени Pacific Biosciences.

В целях формирования современных и социально-профессиональных компетенций выпускника учреждения высшего образования в практику проведения занятий целесообразно внедрять методики активного обучения и дискуссионные формы.

Форма получения высшего образования – дневная.

Общее количество часов, отводимое на изучение учебной дисциплины – 100 часов, 48 часов аудиторных занятий (26 часов лекции, 14 часов практические занятия, 8 часов лабораторные занятия) для очной формы обучения. Форма текущей аттестации – экзамен во 2-ом семестре. Трудоемкость дисциплины составляет 3 з.е.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Наименование тем лекций и их содержание

1. Введение в технологию секвенирования

Методы секвенирования в системе современных направлений молекулярной биологии. Исторический ракурс в разработке технологий молекулярной генетики и секвенирования. Современные концепции секвенирования.

Разработка первого, второго и третьего поколений секвенирования. Использование технологий секвенирования в геномной инженерии, селекции, криминалистике, медицине.

2. Методы секвенирования первого поколения

Секвенирование Сэнгера и секвенирование Максама–Гилберта как методы секвенирования первого поколения.

Максам–Гилберт секвенирование как ранняя платформа секвенирования ДНК (метод химического расщепления). Использование в виде матрицы одноцепочечной или двухцепочечной ДНК. Преимущества и недостатки Максам–Гилберт секвенирования.

Метод секвенирования по Сэнгеру как один из первых методов секвенирования ДНК (проект "Геном человека"). Принцип метода, преимущества и недостатки.

Метод автоматического секвенирования ДНК.

3. Пиросеквенирование

Пиросеквенирование (пирофосфатное секвенирование) как метод получения данных в режиме реального времени. Принцип метода. Преимущества и недостатки технологии. Использование эмульсионной ПЦР – как метод повышения производительности и снижения системных ошибок при пиросеквенировании. Отличительные особенности пиросеквенирования от технологий секвенирования первого поколения. Использование технологии пиросеквенирования в молекулярной биологии и медицине.

4. Секвенирование второго поколения

Секвенирование путем синтеза Illumina/Solexa как самая передовая технология секвенирования. Основные этапы секвенирования Illumina: подготовка образца, генерация кластеров, секвенирование и анализ данных. Подготовка ДНК-библиотек, особенности, основные приемы. Понятие генерации кластеров. Технология последовательного секвенирования с использованием флуоресцентно меченых ddNTP. Анализ сиквенсграмм с использованием биоинформационного обеспечения.

5. Секвенирование лигированием: ABI/Solid

Секвенирование лигированием ABI/Solid – метод лигирования и обнаружения олигонуклеотидов, основанный на принципе лигирования с использованием ДНК-лигазы. Технология секвенирования лигированием NGS с точностью прочтения > 99,94%. Метод конструирования геномной библиотеки и лигирования. Использование эмульсионной ПЦР как этапа технологии секвенирования. Преимущества и недостатки секвенирования лигированием.

6. Ионное полупроводниковое Ion Torrent секвенирование

Технология ионного полупроводникового секвенирования как метод pH-опосредованного секвенирования (полупроводниковое секвенирование). Особенности пробоподготовки. Преимущества использования технологии Ion Torrent в практике секвенирования. Пробоподготовка биологических образцов, количество биоматериала. Особенности и недостатки технологии.

7. Методы секвенирования третьего поколения

Отличительные особенности технологий секвенирования третьего поколения.

Одномолекулярное секвенирование в реальном времени (SMRT) – секвенирование ДНК третьего поколения. Преимущества технологии. Приборное обеспечение. Отличительные особенности. Производительность. Принцип выполнения одномолекулярного секвенирования. Подготовка библиотеки для выполнения технологии секвенирования.

Метод одномолекулярного секвенирования в реальном времени для получения длинных прочтений нуклеотидов (20 000-60 000 нуклеотидов).

Преимущества технологии.

Одномолекулярное секвенирование как высокочувствительный и специфичный метод: возможность выявления включений в смешанных выборках с частотой встречаемости менее 0,1%.

8. Нанопоровое секвенирование

Технология секвенирования нанопор. Секвенирование одноцепочной ДНК (ssDNA) путем прохождения через нанопоры. Технология использования твердотельных нанопор. Технология определения типа нуклеотида, проходящего через пору в заданный интервал времени.

Преимущества: низкая стоимость, простота выполнения, высокая чувствительность, высокая длина считывания (до десятков тысяч оснований), портативность, отображение результатов в реальном времени.

Недостатки технологии нанопорового секвенирования.

9. Сравнительный анализ технологий секвенирования

Технологии NGS как генераторы миллионов реакций секвенирования за цикл. Основные преимущества – отсутствие необходимости бактериального клонирования фрагментов ДНК и электрофоретического разделения продуктов секвенирования. NGS как стандартный инструмент для приложений в базовой биологии, для клинических и агрономических исследований. Ограничения использования NGS – относительно короткая длина прочтений.

Секвенирование TGS – отличительные особенности: одномолекулярное секвенирование одной молекулы (SMS) и секвенирование в реальном времени.

Технология нанопорового секвенирования – отличительные особенности: отсутствие ПЦР-амплификации и наличие процесса секвенирования в реальном времени. Технология нанопор позволяет секвенировать РНК и идентифицировать модификации оснований РНК. Технология нанопор – возможность выполнения высокопроизводительного секвенирования в полевых условиях и удаленных местах (обследование вспышек вирусных заболеваний).

10. Технологии создания библиотек фрагментов ДНК для секвенирования

Модификация исследуемой ДНК путем создания коллекции случайных фрагментов определенной структуры.

Этапы высокопроизводительного секвенирования: разрушение ДНК с получением фрагментов определенной длины; присоединение синтетических олигонуклеотидных адаптеров по краям фрагментов; наработка (амплификация) каждого фрагмента ДНК в отдельном микрореакторе с микрочастицей (эмульсионная и/или непосредственно на поверхности предметного стекла (мостиковая ПЦР); определение нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК; биоинформатический анализ данных (коротких прочтений).

Два основных типа библиотек фрагментов ДНК: обычная и инвертированная.

11. Очистка нуклеиновых кислот для высокопроизводительного секвенирования

Методы очистки нуклеиновых кислот: методы с поэтапным удалением примесей из водного раствора НК; методы, основанные на сорбции НК на твердой фазе.

Оценка концентрации НК и полногеномная амплификация. Оценка концентрации: спектрометрическая; по флуоресценции интеркалирующего красителя или методом количественной ПЦР.

Фрагментирование ДНК: физические и энзиматические методы (эндонуклеазы).

12. Оценка длин фрагментов ДНК

Оценка длины фрагментированной ДНК – метод электрофореза в геле. Присоединение адаптеров – лигирование адаптеров. Предварительная амплификация библиотеки. Отбор фракции фрагментов необходимой длины – электрофорез в агарозном геле, картриджные гели. Мечение сшиваемых образцов специфичными адаптерами («штрих-кодирование»). Клональная амплификация фрагментов ДНК. Мостиковая ПЦР. Эмульсионная ПЦР. Типы библиотек фрагментов ДНК.

13. Области применения технологий секвенирования

Полногеномное секвенирование de novo. Крупномасштабный анализ метилирования ДНК. Секвенирование малых РНК. Таргетное секвенирование. Технологии секвенирования в медицине.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ ДЛЯ ОЧНОЙ ФОРМЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

Номер темы	Наименование темы и раздела	Количество аудиторных часов						Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное	Количество часов УСР	
1	Введение в технологию секвенирования	2		-		-		1, 2
2	Методы секвенирования первого поколения	2	2		-			1, 2
3	Пиросеквенирование	2		-	4	-		3, 5, 6
4	Секвенирование второго поколения	2	2		-			1, 2
5	Секвенирование лигированием: ABI/Solid	2		-	-	-		1, 2
6	Ионное полупроводниковое Ion Torrent секвенирование	2			-			1, 2
7	Методы секвенирования третьего поколения	2	2					1, 2
8	Нанопоровое секвенирование	2						1, 2
9	Сравнительный анализ технологий секвенирования	2	2		-			4, 6
10	Технологии создания библиотек фрагментов ДНК для секвенирования	2			4			4, 6
11	Очистка нуклеиновых кислот для высокопроизводительного секвенирования	2	2					
12	Оценка длин фрагментов ДНК	2	2					
13	Области применения технологий секвенирования	2	2					
Итого		26	14		8			

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Инновационные подходы и методы к преподаванию учебной дисциплине

При организации образовательного процесса используется:

- *практико-ориентированный подход*, который предполагает освоение содержания образования через решения практических задач;
- *метод анализа конкретных ситуаций*, в результате которого студент приобретает знания и умения для решения практических задач;
- *метод учебной дискуссии* – участие студентов в целенаправленном обмене мнениям по определенной проблеме.

Рекомендуемая литература

Основная

1. Ребриков, Д.В. NGS: высокопроизводительное секвенирование: монография / Д. В. Ребриков. – Москва: Лаборатория знаний, 2021. – 232 с.
2. Уилсон, К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / К. Уилсон, Дж. Уолкер. – Москва : Лаборатория знаний, 2021. – 848 с.

Дополнительная

1. Ребриков, Д.В. ПЦР в реальном времени / Д. В. Ребриков. – Изд. 7-е. – Москва : Лаборатория знаний, 2019. – 223 с.
2. Тарасюк, А.Н. Молекулярная биология : курс лекций " / А. Н. Тарасюк. – Брест : БрГУ им. А. С. Пушкина, 2023. – 102 с.
3. Об утверждении клинического протокола «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований»: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 06 июля 2018 г., №60 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь.

Наименование тем практических занятий и их содержание

№ п/п	Наименование тем	Содержание
1	Методы секвенирования третьего поколения	Одномолекулярное секвенирование в реальном времени. Приборное обеспечение. Получение и интерпретация результатов.
2	Технологии создания библиотек фрагментов ДНК для секвенирования	Методы очистки нуклеиновых кислот. Оценка концентрации НК и амплификация. Оценка концентрации: спектрометрическая

Методические рекомендации по организации и выполнению самостоятельной работы студентов

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, мультимедийные презентации, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов и др.).

Время, отведенное на самостоятельную работу, может использоваться обучающимися на:

- подготовку к лекциям и практическим занятиям;
- подготовку к экзамену по учебной дисциплине;
- проработку тем (вопросов), вынесенных на самостоятельное изучение;
- выполнение исследовательских заданий;
- подготовку тематических докладов, рефератов, презентаций;
- выполнение практических заданий;

Основные методы организации самостоятельной работы:

- написание и презентация реферата;
- выступление с докладом;
- изучение тем и проблем, не выносимых на лекции;
- подготовка и участие в активных формах обучения.

Контроль самостоятельной работы может осуществляться в виде:

- контролирующих тестов;
- обсуждения рефератов;
- оценки устного ответа на вопрос, сообщения, доклада, решения ситуационных задач на практических занятиях;
- проверки рефератов, результатов тестирования;
- индивидуальной беседы.

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

Перечень рекомендуемых средств диагностики

Для промежуточной и итоговой аттестации студентов создаются фонды диагностических и оценочных средств, технологий и методик диагностирования.

Процесс диагностики предполагает использование следующих форм:

1. Устная форма:
 - ситуационные задачи;
 - собеседование;
 - контрольные опросы.
2. Письменная форма:

- контрольная работа;
 - рефераты;
 - протокол практического занятия.
3. Устно-письменная форма:
- решение ситуационных задач;
 - экзамен.

Критерии оценок

Для оценки учебных достижений студентов используются критерии, утверждаемые Министерством образования Республики Беларусь.

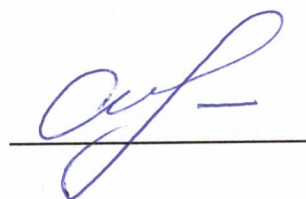
Формы контроля знаний

№ п / п	Форма
1.	Выборочный контроль на лекциях
2.	Проверка конспектов лекций студентов
3.	Проведение контрольных работ в группе
4.	Собеседование при защите отчетов по практическим занятиям
5.	Написание рефератов, подготовка докладов
6.	Устный опрос на занятиях
7.	Проведение экзамена по курсу

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ СПЕЦИАЛЬНОСТИ

Название дисциплины, изучение которой связано с дисциплиной рабочей программы	Кафедра, обеспечивающая изучение этой дисциплины	Предложения кафедры об изменениях в содержании рабочей программы	Решение, принятое кафедрой, разработавшей рабочую программу (дата, протокол)
Биотехнология	Кафедра общей биологии и генетики	Содержание учебной дисциплины «Биотехнология» не дублируется с содержанием дисциплины «Технологии секвенирования»	Протокол № 10 от 26.05.2023

Заведующий кафедрой



А. Г. Чернецкая

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО
на 2023/2024 учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание
1	дополнений и изменений к учебной программе в 2023-2024 уч. году не предусмотрено	Пр. № 1 от 31.08.2023

Учебная программа по дисциплине «Технологии секвенирования»
пересмотрена и одобрена на заседании кафедры общей биологии и
(название кафедры)

генетики

(протокол № 1 от 31.08.2023 г.)

Заведующий кафедрой

к.с.х.н., доцент
(ученая степень, ученое звание)


(подпись)

Н. Т. Керасихина
(И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ

Декан факультета

к.х.н., доцент
(ученая степень, ученое звание)


(подпись)

А. Т. Сова
(И.О.Фамилия)