МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

«Оренбургский государственный медицинский университет»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

**ДЛЯ преподавателя по организации изучения дисциплины**

Молекулярная микробиология

по направлению подготовки

06.06.01 Биологические науки

*направленность (профиль)*

*Микробиология*

Является частью основной профессиональной образовательной программы высшего образования по направлению подготовки (специальности) 06.06.01 Биологические науки, утвержденной ученым советом ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России

Протокол № 11от 30 июня 2017

Форма заочная

Оренбург

**1. Методические рекомендации к лекционному курсу**

**Модуль №1** Молекулярная микробиология. Методы исследования микроорганизмов.

**Лекция №1.**

**Тема**: Молекулярная микробиология, предмет, задачи, методы исследования, практическое использование.

**Цель:** Сформировать представление о молекулярной микробиологии как науке, предмете и методах ее изучения; об основных современных приемах и методах работы с носителями генетической информации микроорганизмов - молекулами ДНК и РНК, выделяемыми из экспериментальных образцов при биохимических, молекулярно-биологических, генно-инженерных и экологических исследованиях в микробиологии.

**Аннотация лекции**

 В лекции даются определения понятий: изменчивость микроорганизмов, модификация, генотип, фенотип, мутации, рекомбинация, типы рекомбинаций (общая, «незаконная», сайт-специфическая), основные механизмы трансформации, этапы обмена генетической информацией путем трансформации, основные механизмы конъюгации, роль полового фактора, типы передачи генетического материала в процессе конъюгации, механизмы трансдукции, роль умеренного бактериофага в процессе трансдукции, внехромосомные генетические элементы, строение и функции плазмид, строение и функции транспозонов и Is-последовательностей. Показана фенотипическая и генотипическая изменчивость микроорганизмов и их роль в эволюции, классификация мутаций бактерий, оценены последствия изменчивости для бактериальных клеток, дается ознакомление с процессами обмена генетической информацией у бактерий; изучается явление трансформации, конъюгации и трансдукции в бактериальных клетках; оценена роль умеренного бактериофага в переносе генетической информации, определена роль внехромосомных генетических элементов для бактерий, познакомиться с молекулярно-генетическими исследованиями.

Рассматриваются процессы репликации ДНК. Дается схема молекулярно-генетических методов (гибридизационный анализ нуклеиновых кислот, амплификация) изучения микроорганизмов. Рассматриваются особенности полимеразной цепной реакции в изучении генетики микроорганизмов и значение в практической медицине, принцип, виды, преимущества метода, устройство ПЦР–лаборатории.

Широко представлены обобщенные материалы по молекулярным методам работы со смешанными культурами микроорганизмов и приемам анализа микробных сообществ. Дается представление об особенностях жизнедеятельности микроорганизмов и определить практическое применение знаний о физиологии микробов в медицине и биотехнологической промышленности.

**Форма организации лекции:** Комбинированная.

**Методы обучения, применяемые на лекции:** наглядные: иллюстрация, демонстрация; словесные: учебная дискуссия, проблемное изложения; публичное мышление.

**Средства обучения:**

-дидактические: презентация, схемы.

-материально-технические: мел, доска, мультимедийный проектор.

**2. Методические рекомендации по проведению практических занятий.**

**Модуль 1**. Молекулярная микробиология. Методы исследования микроорганизмов.

**Тема 1.** **Молекулярная микробиология. Методы исследования.**

**Вид учебного занятия** – практическое занятие.

**Цель:** Изучить объект и методы молекулярной микробиологии, молекулярно-биологические процессы, протекающие в клетке микроорганизмов – биосинтез ДНК, РНК и белков, регуляцию этих процессов.

**План проведения учебного занятия**

|  |  |
| --- | --- |
| №п/п | Этапы и содержание занятия |
| 1 | **Организационный момент.**Объявление темы, цели занятия.Мотивационный момент (актуальность изучения темы занятия) |
| 2 | **Входной контроль, актуализация опорных знаний, умений, навыков** (тестирование, наборы тестовых заданий приведены в ФОС) |
| 3 | **Основная часть учебного занятия.**Освоение учебного материала: Методы изучения морфологии микроорганизмов. Приготовление и окраска препаратов.1.1. Закрепление теоретического материала: учебная дискуссия, иллюстрация, демонстрация, объяснение, лабораторно-практические упражнения, контрольно-коррекционная беседа по вопросам, представленным в ФОС.1.2. Отработка практических умений и навыков (практические задания представлены в ФОС)1. **Выделение, разделения и визуализации нуклеиновых кислот из клеток *E. coli***2. **Электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле** |
| 4 | **Заключительная часть занятия:**Подведение итогов занятия |

**Средства обучения:**

- дидактические: таблицы, схемы;

-материально-технические:

Работа 1. ***Необходимые реактивы.*** Среда Лурия-Бертани (LB) следующего состава (г/л): бактотриптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, хлорид натрия – 5 г/л, гидроокись натрия – 0,008 М, рН 7,5, ампициллин – 100 мг/л. Среду стерилизуют автоклавированием при 105°С в течение 1 ч. Физиологический раствор – 0.9 % раствор NaCl . Смесь фенола, насыщенного водой, рН 8,0, с хлороформом в соотношении 1:1. Дистиллированная вода.

Работа 2. ***Необходимые реактивы***

1. Трис-ацетатный электродный буферный раствор (ТАЕ). 100 мл пятидесятикратного концентрата (50Х) ТАЕ содержит 24,2 г трис-(гидроксиметил)аминометана, 5,7 мл ледяной уксусной кислоты, 10 мл 0.5 М раствора этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA), рН 8,0.
2. Рабочий раствор ТАЕ готовится путем разбавления 1 объема 50Х концентрата ТАЕ 49 объемами дистиллированной воды.
3. Буферный раствор для нанесения проб.
4. Десятикратный концентрат (10Х) буферного раствора для нанесения проб содержит 10Х концентрат ТАЕ, 50% глицерина (вес/объем), 0,25% бромфенолового синего в дистиллированной воде.
5. Агарозный гель 1%-ный.
6. В 100 мл рабочего раствора ТАЕ разводят 1 г агарозы и добавляют 10 мкл 10%-ного водного раствора бромида этидия**!**. Суспензию нагревают на водяной бане до полного растворения агарозы, периодически помешивая. Раствору дают остыть примерно до 50° С и заливают в форму для агарозного блока, вставляют гребенку для образования лунок и дают агарозе застыть до состояния геля.

**Модуль 2.** Молекулярные методы диагностики, применяемые в медицине.

**Тема 1.** Молекулярные методы диагностики, применяемые в биологии и медицине.

**Вид учебного занятия** – практическое занятие.

**Цель:** Знать принципы использования методов молекулярной биологии в детекции микроорганизмов. Молекулярная гибридизации и генное зондирование для определения tох+ гена бактерии.

**План проведения учебного занятия**

|  |  |
| --- | --- |
| №п/п | Этапы и содержание занятия |
| 1 | **Организационный момент.**Объявление темы, цели занятия.Мотивационный момент (актуальность изучения темы занятия) |
| 2 | **Входной контроль, актуализация опорных знаний, умений, навыков** (тестирование, наборы тестовых заданий приведены в ФОС) |
| 3 | **Основная часть учебного занятия.**1. Освоение учебного материала: Организация генетического аппарата микроорганизмов. Виды изменчивости прокариот. Методы селекции микроорганизмов с новыми признаками. Перспективы и методы генной инженерии.1.1. Закрепление теоретического материала: учебная дискуссия, иллюстрация, демонстрация, объяснение, лабораторно-практические упражнения, контрольно-коррекционная беседа по вопросам, представленным в ФОС.1.2. Отработка практических умений и навыков (практические задания представлены в ФОС)1. Разобрать и зарисовать схему микроскопические и молекулярно-биологические методы учета и определения активности микроорганизмов без выделения в чистые культуры.2. Изучение механизмов генотипической изменчивости: трансформации. 2. Полимеразная цепная реакция в реальном времени  |
| 4 | **Заключительная часть занятия:**1. Подведение итогов занятия; |

**Средства обучения:**

- дидактические: таблицы, схемы;

- материально-технические:

***Необходимые реактивы***

1. Среда Лурия-Бертрани (LB) следующего состава (г/л): бактотриптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, хлорид натрия – 5 г/л, гидроокись натрия – 0,008 М, рН 7,5, ампициллин – 100 мг/л. Среду стерилизуют автоклавированием при 105°С в течение 1 ч.
2. Физиологический раствор – 0,9% раствор NaCl .
3. Десятикратный концентрат (10Х) буферного раствора для Taq-полимеразы – 100 мМ трис-HCl, pH 8,3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl2.
4. Водный раствор 8 mM дНТФ, содержащий 2 mM АТФ, 2 mM ТТФ, 2 mM ГТФ, 2 mM ЦТФ.
5. Раствор Taq-полимеразы в буфере для хранения (5 единиц активности в мкл).
6. Растворы 1 nM олигонуклеотидов, служащих прямым (F) и обратным (R) праймерами. Олигонуклеотиды имеют следующие последовательности:
7. T7 5’-ATgggTATTCAACATTTC-3’ – прямой (F) праймер
8. T7 5’-gTTACCAATgCTTAATCA-3’ – обратный (R) праймер
9. Интеркалирующего красителя SYBR Green (1000Х) 0,5 мкл
10. Дважды дистиллированная вода (2д. H2O).