

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ІКБГІ НАН України,

Чл. -кор.: НАН України



М.В.Кучук

23 травня 2016 р.

РОБОЧА ПРОГРАМА ЛАБОРАТОРНОГО ПРАКТИКУМУ

Молекулярні методи в біотехнології рослин
для здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії

галузь знань 09 «Біологія»

спеціальність 091 «Біологія»

профілі підготовки

«Біотехнологія» «Цитологія, клітинна біологія, гістологія», «Радіобіологія»

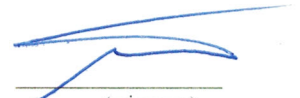
Робоча програма лабораторного практикуму «**Молекулярні методи в біотехнології рослин**» для здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «біотехнологія», «цитологія, клітинна біологія, гістологія», «радіобіологія».

23 травня 2016 року – 15 с.

Розробник:

Банникова М.О.,

С.н.с. відділу молекулярної генетики, к.б.н., с.н.с.

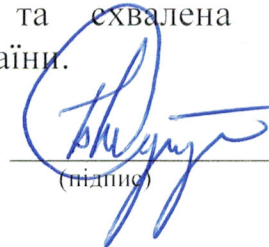


(підпис)

Робоча програма лабораторного практикуму «**Молекулярні методи в біотехнології рослин**» схвалена на засіданні вченої ради ІКБГІ НАН України (протокол № 5 від 23 травня 2016 року).

Робоча програма лабораторного практикуму «**Молекулярні методи в біотехнології рослин**» розглянута та схвалена на засіданні відділу молекулярної генетики ІКБГІ НАН України.

Завідувач відділу к.б.н



(підпис)

Б.В.Моргун

19 травня 2016 р.

ВСТУП

Лабораторний практикум «**Молекулярні методи в біотехнології рослин**» є складовою освітньо-наукової програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «біотехнологія», «цитологія, клітинна біологія, гістологія», «радіобіологія».

Лабораторний практикум є дисципліною за вибором аспірантів за *спеціальністю* 091 «Біологія».

Викладається на I курсі аспірантури **в обсязі – 90 годин (3 кредити ECTS)** зокрема: лабораторні (практичні) роботи – 44 години, семінари – 8 годин, самостійна робота – 38 годин. Завершується дисципліна заліком.

Мета дисципліни – засвоїти методи молекулярно-біологічного дослідження рослин та продуктів, отриманих з рослинного матеріалу.

Завдання –

1. ознайомити з теоретичними основами виділення та очищення нуклеїнових кислот
2. дати уявлення про наявні методики виділення та очищення нуклеїнових кислот
3. сформулювати уявлення про спектрофотометричне дослідження загальної рослинної ДНК та РНК
4. познайомити з принципами проведення полімеразної ланцюгової реакції
5. ознайомити з механізми електрофоретичного розділення нуклеїнових кислот в агарозному гелі
6. дати уявлення про обробку зображення гелю у програмному середовищі GIMP
7. сформулювати уявлення про основні принципи, які лежать в основі специфічної ампліфікації генетичних послідовностей в реальному часі (Real Time PCR)
8. дати уявлення про опрацювання генетичних послідовностей ДНК та кДНК за допомогою інструментів BLAST

В результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен **знати:**

- методи виділення та очищення нуклеїнових кислот;
- метод електрофоретичного розділення нуклеїнових кислот в агарозному гелі;
- методику спектрофотометричного дослідження загальної рослинної ДНК і РНК;
- методику проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР);
- методику проведення зворотної полімеразної реакції;
- методику специфічної ампліфікації генетичних послідовностей в реальному часі (Real Time PCR);
- методи опрацювання генетичних послідовностей ДНК та кДНК за допомогою інструментів BLAST.

вміти:

- планувати дослід з урахуванням отриманих знань;

- інтерпретувати отримані результати.

володіти: навичками молекулярно-біологічного аналізу нуклеїнових кислот.

Місце дисципліни (*в структурно-логічній схемі підготовки фахівців відповідного напрямку підготовки*).

Лабораторний практикум «**Молекулярні методи в біотехнології рослин**» є дисципліною за вибором аспірантів програми підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктор філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія» за профілями підготовки «біотехнологія», «цитологія, клітинна біологія, гістологія», «радіобіологія».

Зв'язок з іншими дисциплінами.

Лабораторний практикум «**Молекулярні методи в біотехнології рослин**» є логічним продовженням навчальної дисципліни «**Молекулярно-біологічні основи функціонування про- та еукаріотичних організмів**». Він дозволяє вивчати структурну організацію нуклеїнових кислот, наслідки втручання в генетичні системи про- та еукаріот, експресію генів.

ПРОГРАМА ЛАБОРАТОРНОГО ПРАКТИКУМУ

Змістовний модуль 1. Вивчення ДНК еукаріот та прокаріот

Лабораторна робота 1. Виділення загальної ДНК з рослинного матеріалу (СТАВ метод) (2 години)

Пробопідготовка рослинного матеріалу. Лізис клітинної мембрани. Ферментативне руйнування білків протеїназами та/або депротейнізація клітинного лізата за допомогою фенолу і хлороформу. Очистка від низько- та високомолекулярних домішок. Осадження ДНК.

Лабораторна робота 2. Виділення загальної ДНК з рослинного матеріалу з використанням Silica (2 години)

Пробопідготовка рослинного матеріалу. Лізис клітинної мембрани сильним хаотропним агентом, який руйнує клітинні мембрани і інактивує внутрішньоклітинні РНКазы. Сорбція нуклеїнової кислоти на носії Silica. Знімання очищеної нуклеїнової кислоти зі скла буфером з низькою іонною силою.

Лабораторна робота 3. Електрофоретичне дослідження загальної рослинної ДНК в агарозному гелі (2 години)

Підготовка агарозного гелю. Перенесення плашки з гелем у електрофорезну камеру з буфером. Внесення зразків ДНК в окремі лунки гелю. Проведення електрофорезу. Фотографування гелю, використовуючи гелєдокументуючий пристрій. Обробка зображення гелю у програмному середовищі GIMP.

Лабораторна робота 4. Спектрофотометричне дослідження загальної рослинної ДНК (1 година)

Приготування зразків. Вимірювання оптичної щільності розчину при довжинах хвиль 260, 280 і 230 нм у спектрофотометрі Bio Photometer Plus Eppendorf v.1.35. Будування спектру поглинання розчинів ДНК. Розведення зразків до концентрації 50 нг/мкл.

Лабораторна робота 5. Полімеразна ланцюгова реакція для ампліфікації послідовностей ДНК (4 години)

Приготування реакційної суміші для ПЛР. Денатурація ДНК шляхом плавлення при підвищеній температурі для перетворення дволанцюгової ДНК в одноланцюгову ДНК. Відпал (гібридизація) двох олігонуклеотидів, які використовували як праймери для цільової ДНК. Подовження ланцюга ДНК, починаючи від праймерів, шляхом додавання нуклеотидів з використанням ДНК-полімерази в якості каталізатора і в присутності іонів Mg^{2+} .

Лабораторна робота 6. Електрофоретичне розділення продуктів ПЛР на референтний ген (метод горизонтального гелю електрофорезу) (2 години)

Підготовка агарозного гелю. Перенесення плашки з гелем у електрофорезну камеру з буфером. Внесення продуктів ПЛР в окремі лунки гелю. Проведення електрофорезу. Фотографування гелю, використовуючи гелъ-документуючий пристрій. Обробка зображення гелю у програмному середовищі GIMP.

Лабораторна робота 7. Виділення плазмідної ДНК з бактеріальних клітин (2 години)

Нарощування рідкої бактеріальної культури і ампліфікація плазмід. Осадження бактерій. Лізис бактеріальних клітин. Очищення плазмідної ДНК.

Лабораторна робота 8. Рестрикція плазмідної ДНК (2 години)

Приготування розчинів ферменту-рестриктази та буферів. Приготування реакційної суміші. Проведення інкубації в термоциклері або термостаті.

Лабораторна робота 9. Електрофоретичне дослідження плазмідної ДНК (2 години)

Приготування буферу для електрофорезу. Приготування агарозного гелю. Проведення електрофорезу в агарозному гелі плазмідної ДНК (отриманої в лабораторній роботі 8). Фотографування гелю, використовуючи гелъ-документуючий пристрій. Обробка зображення гелю у програмному середовищі GIMP.

Лабораторна робота 10. Полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі для ампліфікації генетичних послідовностей (4 години)

Приготування MasterMix для ПЛР. Додавання в кожен пробірник загальної ДНК. Проведення реакції ампліфікації. Аналіз отриманих графіків флуоресценції.

Змістовий модуль 2. Вивчення РНК.

Лабораторна робота 11. Виділення загальної РНК з рослинного матеріалу (2 години)

Пробопідготовка рослинного матеріалу. Лізис клітин. Депротейнізація клітинного лізату. Відділення РНК від ДНК.

Лабораторна робота 12. Спектрофотометричне дослідження загальної рослинної РНК (1 година)

Приготування зразків. Вимірювання оптичної щільності розчину при довжинах хвиль 260, 280, 340 і 230 нм у спектрофотометрі Bio Photometer Plus Eppendorf v.1.35. Будування спектру поглинання розчинів РНК.

Лабораторна робота 13. Електрофоретичне дослідження загальної рослинної РНК (2 години)

Підготовка агарозного гелю. Перенесення плашки з гелем у електрофорезну камеру з буфером. Внесення зразків РНК в окремі лунки гелю. Проведення електрофорезу. Відмивання гелю. Фотографування гелю, використовуючи гел-документуючий пристрій. Обробка зображення гелю у програмному середовищі GIMP.

Лабораторна робота 14. Гідроліз залишкової ДНК в препаратах РНК (2 години)

Проведення нормалізації об'єму розчину РНК. Підготовка реакційної суміші. Проведення реакції в термошейкері або на водяній бані. Зупинка реакції гідролізу залишкової ДНК.

Лабораторна робота 15. Полімеразна ланцюгова реакція з продуктами реакції зворотної транскрипції (кДНК) (4 години)

Проведення реакції зворотної транскрипції та отримання препаратів кДНК. Приготування суміші для ПЛР. Проведення ампліфікації з кодуючою ДНК на референтний ген.

Змістовий модуль 3 Біоінформаційний аналіз послідовностей ДНК

Лабораторна робота 16. Робота з генетичними послідовностями за допомогою інструментів CLC Main Workbench (2 години)

Ознайомитись з інтерфейсом та меню програми CLC Main Workbench. Зберегти послідовності генів та праймерів у форматі CLC. Порівняти знайдені послідовності за допомогою інструменту Sequencing Data Analysis/ Assemble Sequences. Вирівняти послідовності за допомогою інструменту Alignments and Trees/ Create Alignment. Нанести на досліджувані послідовності послідовності праймерів за допомогою інструменту Find Binding Site and Create Fragments. Нанести на послідовність кодуючі та некодуючі ділянки. Ознайомитись з інструментом Cloning Site Analysis. Відкрити послідовність плазмиди, показати її в кільцевій формі. За допомогою інструменту Restriction Site Analysis провести теоретичну рестрикцію даної плазмиди рестриктазою AluI. Вивести результати у вигляді таблиці та гелю, нанести маркерні лінії. Отримані результати занести в протокол.

Лабораторна робота 17. Опрацювання генетичних послідовностей ДНК та кДНК за допомогою інструментів BLAST (4 години)

Знайти за допомогою інструментів пошуку послідовності референтних генів заданих культур (ДНК та кДНК). Порівняти надані послідовності праймерів з генетичними послідовностями, знайденими за допомогою пошуку. Порівняти надані послідовності праймерів з генетичними послідовностями заданих культур. Зробити висновок по отриманим результатам лабораторних робіт 1-8, враховуючи дані гель-електрофорезу та біоінформатичного пошуку.

Лабораторна роботи 18. Визначення розміру ампліфікованих фрагментів за допомогою GelAnalyzer (2 години)

Обробити зображення у програмі GIMP. Зберегти файл з коректною ротацією зображення, почати аналіз, детектувати доріжки. Скорегувати розмір доріжок. Розпізнати ампліфіковані фрагменти. Внести дані розміру фрагментів МММ. Позначити МММ на електрофореграмі. Визначити розмір фрагменту. Порівняти розміри подібних фрагментів.

Лабораторна робота 19. Побудова філогенетичних дерев у програмі MEGA (2 години)

А. Побудова філогенетичних дерев за даними молекулярних мас поліморфних ампліфікованих фрагментів.

Створити таблицю, куди внести отримані розміри локусів для різних сортів. Створити таблицю з усіма можливими розмірами локусів. Відкрити програму MEGA. Створити нову послідовність. Перенести дані з таблиці у програму. Побудувати філогенетичне дерево.

Б. Побудова філогенетичних дерев за даними нуклеотидних або білкових послідовностей.

Знайти цільові послідовності, скориставшись базою даних NCBI. Внести дані по послідовностям для кожного зразка. Провести вирівнювання послідовностей в два етапи. Побудувати філогенетичне дерево.

СТРУКТУРА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ЛАБОРАТОРНОГО ПРАКТИКУМУ,
СЕМІНАРІВ, ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ, САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

№ з/п	Назва	Кількість годин			
		лабораторні	семінари	лекції	самостійна робота
Змістовний модуль 1. Вивчення ДНК еукаріот та прокаріот					
1	Лабораторна робота 1 Виділення загальної ДНК з рослинного матеріалу (СТАВ метод)	2	0	0	2
2	Лабораторна робота 2. Виділення загальної ДНК з рослинного матеріалу з використанням Silica	2	0	0	2
3	Лабораторна робота 3. Електрофоретичне дослідження загальної рослинної ДНК	2	0	0	2
4	Лабораторна робота 4. Спектрофотометричне дослідження загальної рослинної ДНК	1	0	0	2
5	Лабораторна робота 5. Полімеразна ланцюгова реакція для ампліфікації послідовностей ДНК	4	0	0	2
6	Лабораторна робота 6. Електрофоретичне розділення продуктів ПЛР на референтний ген	2	2	0	2
7	Лабораторна робота 7. Виділення плазмідної ДНК з бактеріальних клітин	2	0	0	2
8	Лабораторна робота 8. Рестрикція плазмідної ДНК	2	0	0	2
9	Лабораторна робота 9. Електрофоретичне дослідження плазмідної ДНК	2	2	0	2
10	Лабораторна робота 10. Полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі для ампліфікації генетичних послідовностей	4	0	0	2
Разом за змістовим модулем 1		23	4	0	20
Змістовий модуль 2. Вивчення РНК					
11	Лабораторна робота 11. Виділення загальної РНК з рослинного матеріалу	2	0	0	2
12	Лабораторна робота 12. Спектрофотометричне дослідження загальної рослинної РНК	1	0	0	2
13	Лабораторна робота 13. Електрофоретичне дослідження загальної рослинної РНК	2	0	0	2
14	Лабораторна робота 14. Гідроліз залишкової ДНК в препаратах РНК	2	0	0	2
15	Лабораторна робота 15. Полімеразна ланцюгова реакція з продуктами реакції зворотної транскрипції (кДНК)	4	2	0	2
Разом за змістовим модулем 2		11	2	0	10
Змістовий модуль 3. Біоінформаційний аналіз послідовностей ДНК					
16	Лабораторна робота 16. Робота з генетичними послідовностями за допомогою інструментів CLC Main Workbench	2	0	0	2

17	Лабораторна робота 17. Опрацювання генетичних послідовностей ДНК та кДНК за допомогою інструментів BLAST	4	0	0	2
18	Лабораторна роботи 18. Визначення розміру ампліфікованих фрагментів за допомогою GelAnalyzer	2	0	0	2
19	Лабораторна робота 19. Побудова філогенетичних дерев у програмі MEGA	2	2	0	2
Разом за змістовим модулем 3		10	2	0	8
ВСЬОГО		44	8	0	38

Загальний обсяг – **90** годин (**3 кредитів ECTS**), у тому числі:

Лабораторні заняття – **44** години

Семінари – 8 годин

Лекції – 0 годин

Самостійна робота – 38 годин

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1

Вивчення ДНК еукаріот та прокаріот

Лабораторна робота 1. Виділення загальної ДНК з рослинного матеріалу (СТАВ метод) (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Теоретичне підґрунтя виділення ДНК у еукаріот СТАВ методом.

Рекомендована література [1-6]

Лабораторна робота 2. Виділення загальної ДНК з рослинного матеріалу з використанням Silica (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Твердофазні методи виділення загальної ДНК. Методи виділення загальної ДНК на основі магнітного сепарування.

Рекомендована література [1- 6]

Лабораторна робота 3. Електрофоретичне дослідження загальної рослинної ДНК в агарозному гелі (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Електрофорез в акріламідному гелі. Поліакріламідні та агарозні гелі: склад, відмінності, переваги і недоліки, галузі застосування.

Рекомендована література [6, 8-10]

Лабораторна робота 4. Спектрофотометричне дослідження загальної рослинної ДНК (1 година)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Спектрофотометрія (абсорбційна).

Рекомендована література [6, 11, 12]

Лабораторна робота 5. Полімеразна ланцюгова реакція для ампліфікації послідовностей ДНК (4 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Специфічна ампліфікація генів. Праймери. ДНК-полімераза. Кількість циклів і ефект плато. Фізичні методи профілактики забруднення.

Рекомендована література [6, 13, 14]

Лабораторна робота 6. Електрофоретичне розділення продуктів ПЛР на референтний ген (метод горизонтального гелю електрофорезу) (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Основні принципи електрофоретичного розділення нуклеїнових кислот. Рухливість різних форм ДНК.

Рекомендована література [6, 8-10]

Семінар 1 (2 години) Вивчення ДНК еукаріот.

Лабораторна робота 7. Виділення плазмідної ДНК з бактеріальних клітин (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Методики лізису бактеріальних клітин.

Рекомендована література [1- 7, 15 - 17]

Лабораторна робота 8. Рестрикція плазмідної ДНК (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Номенклатура та типи рестриктаз.

Рекомендована література [1- 7, 15 - 17]

Лабораторна робота 9. Електрофоретичне дослідження плазмідної ДНК (2 години).

Завдання для самостійної роботи (2 години) Фізичні принципи електрофорезу в агарозному гелі.

Рекомендована література [1, 6, 8-10]

Семінар 2 (2 години) Вивчення плазмідної ДНК

Лабораторна робота 10. Полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі для ампліфікації генетичних послідовностей (4 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Специфічна ампліфікація генів в реальному часі. Візуалізація накопичення ДНК при проведенні ПЛР в реальному часі. Флуорофори. Гасники флуоресценції.

Рекомендована література [1, 6, 18, 19]

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2.

Вивчення РНК.

Лабораторна робота 11. Виділення загальної РНК з рослинного матеріалу (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Основні методи виділення РНК з біологічного матеріалу. Особливості виділення РНК.

Рекомендована література [1, 6, 21, 22]

Лабораторна робота 12. Спектрофотометричне дослідження загальної рослинної РНК (1 година)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Методи визначення концентрації нуклеїнових кислот.

Рекомендована література [1, 6, 11, 12, 21, 22]

Лабораторна робота 13. Електрофоретичне дослідження загальної рослинної РНК (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Барвники для візуалізації нуклеїнових кислот в агарозних та поліакриламідних гелях.

Рекомендована література [1, 6, 8-10, 21, 22]

Лабораторна робота 14. Гідроліз залишкової ДНК в препаратах РНК (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Типи ДНКаз.

Рекомендована література [1, 6, 20, 21]

Лабораторна робота 15. Полімеразна ланцюгова реакція з продуктами реакції зворотної транскрипції (кДНК) (4 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Підбір та моделювання специфічних олігонуклеотидів для ПЛР.

Рекомендована література [1, 6, 19, 21, 22]

Семінар 3 (2 години) Вивчення РНК.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3

Біоінформаційний аналіз послідовностей ДНК

Лабораторна робота 16. Робота з генетичними послідовностями за допомогою інструментів CLC Main Workbench (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Біоінформатичні бази даних у молекулярних дослідженнях.

Рекомендована література [23 - 25]

Лабораторна робота 17. Опрацювання генетичних послідовностей ДНК та кДНК за допомогою інструментів BLAST (4 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Основні функції BLAST. Основні інструменти бази даних NCBI.

Рекомендована література [23 - 25]

Лабораторна роботи 18. Визначення розміру ампліфікованих фрагментів за допомогою GelAnalyzer (2 години)

Завдання для самостійної роботи (2 години) Маркери молекулярної маси ДНК та білку.

Рекомендована література [23 - 25]

Лабораторна робота 19. Побудова філогенетичних дерев у програмі MEGA (2 години)

А. Побудова філогенетичних дерев за даними молекулярних мас поліморфних ампліфікованих фрагментів.

Б. Побудова філогенетичних дерев за даними нуклеотидних або білкових послідовностей.

Завдання для самостійної роботи (2 години) Типи філогенетичних дерев.
Рекомендована література [23 - 25]

Семінар 4 (2 години) Біоінформаційний аналіз послідовностей ДНК.

КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ І РОЗПОДІЛ БАЛІВ, ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ЗДОБУВАЧІ

Контроль здійснюється за модульно-рейтинговою системою. У змістовий модуль 1 входять теми 1-10, у змістовий модуль 2 – теми 11 - 15, у змістовий модуль 3 – теми 16 - 19. Види контролю - поточний і підсумковий. Поточний контроль здійснюється під час проведення навчальних занять і має на меті регулярну перевірку засвоєння слухачами навчально-практичного матеріалу шляхом усних опитувань, тестового контролю, самооцінювання, перевірки практичних навичок, заліків за кожним змістовним модулем.

Оцінювання за формами поточного контролю:

	Змістовий модуль 1		Змістовий модуль 2		Змістовий модуль 3		Підсумковий залік	Підсумкова оцінка
Максимальна кількість балів	Поточний контроль	Залік 1	Поточний контроль	Залік 2	Поточний контроль	Залік 3		
	10	10	10	10	10	10	40	100
Сума	20		20		20		40	100

Для аспірантів, які набрали за результатами поточного контролю у трьох змістових модулях сумарно меншу кількість балів, ніж критичний мінімум **50** балів, проходження додаткового тестування є обов'язковим для допуску до заліку. Підсумковий контроль проводиться на останньому семінарському занятті і складається із суми балів усіх змістових модулів. Загальна оцінка за вивчення курсу складається із суми оцінок, отриманих при підсумковому контролі, та оцінки, отриманої на заліку.

Шкала оцінювання академічної успішності аспіранта

Рівень досягнень (бали за освітню діяльність)	Оцінка ЄKTC/ECTS	Оцінка за національною шкалою (National grade)
90 – 100	A	відмінно (Excellent)
75 – 89	B	добре (Good)
60 – 74	C	задовільно (Satisfactory)
1 – 59	D	незадовільно (Fail)

Методи навчання

Пояснювально-практичне, проблемного викладання матеріалу.

Технічні засоби навчання

Лабораторне обладнання, комп'ютер, бази даних.

Матеріальне забезпечення дисципліни

Аудиторії, лабораторні приміщення відділу молекулярної генетики.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002. – 589 с.
2. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. Т. 1 - 3. М.: Мир, 1994.
3. Анализ генома. Методы / Под ред. К. Дейвиса. М.: Мир, 1990. 246 с.
4. Льюин Б. Гены. М.: Мир, 1987. 544 с.
5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Т. 1-2. М.: Мир, 1998.
6. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование (Методы генетической инженерии). Москва. «Мир».1984.
7. Пирузян Э. С., Андрианов В. М. Плазмиды агробактерий и генная инженерия растений.М.: Наука, 1985. 280 с.
8. Aaij C., Borst P. 1972. The gel electrophoresis of DNA. Biochim. Biophys. Acta.269:192.
9. Fisher M.P., Dingman C.W. 1971. Role of molecular conformation in determining the electrophoreties of polynucleotids in agaroseacrylamide composite gels. Biochemistry.10:895.
10. Shailaja Kasibhatla, Gustavo P. Amarante-Mendes, Deborah Finucane, Thomas Brunner, Ella Bossy-Wetzel, and Douglas R. Green Analysis of DNA Fragmentation Using Agarose Gel Electrophoresis. Cold Spring Harb Protoc; 2006.
11. Spectrophotometry Handbook
https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/1/ge-spectrophotometry.pdf
12. Spectrophotometry and Spectrofluorimetry, A Practical Approach, Second Edition, Edited by Mike Gore, 2000.
<https://global.oup.com/academic/product/spectrophotometry-and-spectrofluorimetry-9780199638123?cc=ua&lang=en&>
13. Lori A. Kolmodin, David E. Birch Polymerase Chain Reaction (Pages 3-18) in PCR Cloning Protocols (Editors Bing-Yuan Chen, Harry W. Janes), 2002.
14. Baotai Guo, Yuping Bi Cloning PCR Products (Pages 111-119) in PCR Cloning Protocols (Editors Bing-Yuan Chen, Harry W. Janes), 2002.

15. Sasagawa N, Koebis M, Yonemura Y, Mitsuhashi H, Ishiura S. A high-salinity solution with calcium chloride enables RNase-free, easy plasmid isolation within 55 minutes. *BioScience Trends*. 2013; 7(6):270-275.
16. Preparation of Plasmid DNA by Alkaline Lysis with Sodium Dodecyl Sulfate: Maxipreps. Green MR, Sambrook J. *Cold Spring Harb Protoc*. 2018; 2018(1).
17. Holmes D.S., Quigley M. A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Anal. Biochem*. 1981; 114:193-197.
18. Real-time PCR handbook
<https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/global/Forms/PDF/real-time-pcr-handbook.pdf>
19. RT-PCR Protocols King, Nicola (Ed.) Second Edition, 2010.
<https://www.springer.com/gp/book/9781607616283>
20. Sheng-He Huang Inverse PCR (Pages 293-299) in *PCR Cloning Protocols* (Editors Bing-Yuan Chen, Harry W. Janes), 2002.
21. *RNA: A Laboratory Manual*, by Donald C. Rio, Manuel Ares Jr, Gregory J. Hannon, and Timothy W. Nilsen. CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2010.
22. Donald C. Rio, Manuel Ares Jr, Gregory J. Hannon and Timothy W. Nilsen. *Purification of RNA Using TRIzol (TRI Reagent)*. Cold Spring Harb Protoc, 2010.
23. Дурбин Р., Эдди Ш., Крэг А., Митчисон Г. Анализ биологических последовательностей. — Ижевск : РХД, 2006. — 480 с.
24. Игнасимуту С. Основы биоинформатики. — Ижевск : РХД, 2007. — 320 с.
25. Леск А. Введение в биоинформатику. — М. : Бином, 2013. — 318 с.