

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
медицинской биохимии и микробиологии

Т.Н. Попова
02.05.2024г



РАБОЧАЯ ПРОГРАММА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ
Б1.В.ДЭ.01.01 Полимеразная цепная реакция в персонализированной
медицине

- 1. Код и наименование укрупненной группы специальностей:** 31.00.00 Клиническая медицина
- 2. Код и наименование специальности:** 31.08.05 Клиническая лабораторная диагностика
- 3. Квалификация выпускника:** врач клинической лабораторной диагностики
- 4. Форма обучения:** очная
- 5. Кафедра, отвечающая за реализацию дисциплины:**
медицинской биохимии, молекулярной и клеточной биологии медико-биологического факультета
- 6. Составители программы:**
Веровкин Алексей Николаевич, к.б.н., доцент
- 7. Рекомендована:** научно-методическим советом медико-биологического факультета, протокол от 22.04.2024, № 3.
- 8. Учебный год: 2024-2025** **Семестр: 1**

9. Цели и задачи учебной дисциплины

Цель освоения дисциплины - совершенствование знаний, навыков и умений по методам лабораторной диагностики, определяющим индивидуальный подход к диагностике, профилактике и терапии заболеваний человека, необходимых для профессиональной деятельности специалиста в области клинической лабораторной диагностики.

Задачи учебной дисциплины:

- приобретение знаний о персонализированном подходе к диагностике ряда широко распространенных заболеваний человека;
- приобретение знаний о молекулярно-генетических методах, применяемых в диагностике патологий человека;
- совершенствование знаний современной аппаратуры и наборов реагентов для проведения молекулярно-биологических и генетических исследований, применяемых в персонализированной диагностике заболеваний человека, а также умений и навыков в расчете себестоимости лабораторного исследования, потребности лаборатории в ресурсах и подготовке плана закупок;
- приобретение знаний, умений и навыков работы в лаборатории ПЦР-диагностики;
- приобретение знаний о методах контроля качества молекулярно-биологических и генетических исследований, умений и навыков проведения контроля качества и оценки его результатов.

10. Место учебной дисциплины в структуре ООП:

Дисциплина относится к элективным дисциплинам части, формируемой участниками образовательных отношений основной профессиональной образовательной программы высшего образования - программы ординатуры 31.08.05 клиническая лабораторная диагностика.

11. Планируемые результаты обучения по дисциплине/модулю (знания, умения, навыки), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями) и индикаторами их достижения:

Код	Название компетенции	Код(ы)	Индикатор(ы)	Планируемые результаты обучения
ПК-1	Способен к выполнению, организации и аналитическому обеспечению клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности, консультированию медицинских работников и пациентов	ПК-1.1	Консультирует работников и пациентов по особенностям взятия, транспортировки и хранения биологического материала, по методам проведения исследований и на этапе интерпретации полученных результатов	<p>Знать:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> общие вопросы организации молекулярно-биологических и генетических методов исследования, особенности взятия, транспортировки и хранения биологического материала, методы проведения исследований <p>Уметь:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> определять перечень необходимых клинических лабораторных исследований для решения стоящей перед лечащим врачом диагностической задачи<input type="checkbox"/> консультировать врача-клинициста по подготовке пациента<input type="checkbox"/> производить предварительный анализ результатов исследований, сравнивать их с полученными ранее данными<input type="checkbox"/> оценивать достаточность и информативность полученного комплекса результатов анализов для постановки диагноза<input type="checkbox"/> определять необходимость повторных и дополнительных исследований биологических проб пациента <p>Владеть:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> навыками консультирования врачей-

				<p>специалистов на этапе назначения лабораторных исследований</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> навыками анализа результатов молекулярно-биологических и генетических исследований, <input type="checkbox"/> навыками консультирования врача-клинициста на этапе интерпретации результатов исследований
		ПК-1.3	Выполняет клинические лабораторные исследования четвертой категории сложности	<p>Знать:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> современные молекулярно-генетические методы, применяемые в клинической лабораторной диагностике <input type="checkbox"/> принципы лабораторных методов четвертой категории сложности, применяемых в лаборатории для проведения молекулярно-биологических и генетических исследований; <input type="checkbox"/> особенности применения современных молекулярно-генетических технологий в диагностике наследственной и мультифакторной патологии человека <input type="checkbox"/> аналитические характеристики лабораторных методов, применяемых для проведения молекулярно-биологических и генетических исследований четвертой категории сложности и их обеспечение; <input type="checkbox"/> медицинские изделия, применяемые для диагностики in vitro; <input type="checkbox"/> методы контроля качества молекулярно-биологических и генетических исследований четвертой категории сложности и способы оценки его результатов. <p>Уметь:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> производить взятие биоматериала для исследования методом ПЦР; <input type="checkbox"/> выполнять молекулярно-биологические и генетические исследования четвертой категории сложности; <input type="checkbox"/> производить контроль качества молекулярно-биологических и генетических исследований четвертой категории сложности и оценивать его результаты; <input type="checkbox"/> составлять отчеты по необходимым формам. <p>Владеть:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> навыками выполнения клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности, требующих специальной подготовки (повышение квалификации), и составление клинко-лабораторного заключения по профилю медицинской организации (экспертные клинические лабораторные исследования) для проведения молекулярно-биологических и генетических исследований; <input type="checkbox"/> навыками выполнения процедур контроля качества методов молекулярно-биологических и генетических исследований четвертой категории сложности; <input type="checkbox"/> навыками применения стандартных операционных процедур по молекулярно-биологическим и генетическим исследованиям четвертой категории

				сложности; <input type="checkbox"/> навыками подготовки отчетов по результатам молекулярно-биологических и генетических исследований четвертой категории сложности.
--	--	--	--	--

12. Объем дисциплины в зачетных единицах/час. — 2/72.

Форма промежуточной аттестации зачет

13. Трудоемкость по видам учебной работы

Вид учебной работы	Трудоемкость	
	Всего	По семестрам
		1
Аудиторные занятия	22	22
в том числе:	лекции	6
	практические	16
	лабораторные	
Самостоятельная работа	50	50
в том числе: курсовая работа (проект)		
Форма промежуточной аттестации (экзамен – __ час.)		
Итого:	72	72

13.1. Содержание дисциплины

№ п/п	Наименование раздела дисциплины	Содержание раздела дисциплины	Реализация раздела дисциплины с помощью онлайн-курса, ЭУМК*
1. Лекции			
1.1	Молекулярные основы персонализированной медицины	Определение персонализированной медицины. Исторические аспекты возникновения и развития персонализированной медицины	
1.2	Современные генетические технологии в клинической лабораторной диагностике	Современные молекулярно-генетические методы, применяемые в клинической лабораторной диагностике	
1.3	Принципы организации и функционирования ПЦР-лаборатории	Нормативная документация в ПЦР-лаборатории.	
1.4	ПЦР-анализ и его модификации	Области применения ПЦР-анализа в практическом здравоохранении	
1.5	Персонализированные подходы в медицине	Фармакогенетические тесты, используемые в мировой клинической практике при назначении лекарственных средств	
2. Практические занятия			
2.1	Молекулярные основы персонализированной медицины	Генетический полиморфизм и мультифакторная патология человека (полиморфизм генов лекарственного метаболизма, гены главного комплекса гистосовместимости HLA, и др.) Современная лабораторная диагностика – основа персонализированной медицины. Генетический паспорт.	
2.2	Современные генетические технологии в клинической лабораторной диагностике	Молекулярно-генетические основы использования современных молекулярно-генетических технологий (в т.ч. технологии микробиочипов) в диагностике инфекционных болезней. Особенности применения современных молекулярно-генетических технологий в диагностике наследственной и мультифакторной патологии человека.	

2.3	Принципы организации и функционирования ПЦР-лаборатории	Приборное оснащение для проведения ПЦР-исследований, наборы реактивов. Санитарно-эпидемиологический режим. Взятие биоматериала для исследования методом ПЦР. Методы выделения и получения ДНК из различных биоматериалов (урогенитальные соскобы, кровь и др.). Контроль качества.	
2.4	ПЦР-анализ и его модификации	Основные этапы выполнения ПЦР. Мультиплексная ПЦР: особенности проведения, возможности и ограничения. Количественная ПЦР в реальном времени, возможности и ограничения. Калибровка.	
2.5	Персонализированные подходы в медицине	Медикаментозные идиосинкразии. Персонализированный подход в онкологии. Персонализированный подход в офтальмологии. Персонализированный подход в эндокринологии. Персонализированный подход в кардиологии.	

13.2. Темы (разделы) дисциплины и виды занятий

№ п/п	Наименование темы (раздела) дисциплины	Виды занятий (количество часов)				
		Лекции	Практические	Лабораторные	Самостоятельная работа	Всего
1	Молекулярные основы персонализированной медицины	1	2		10	13
2	Современные генетические технологии в клинической лабораторной диагностике	1	2		10	13
3	Принципы организации и функционирования ПЦР-лаборатории	1	2		10	13
4	ПЦР-анализ и его модификации	1	2		10	13
5	Персонализированные подходы в медицине	2	8		10	20
	Итого:	6	16		50	72

14. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины:

Приступая к изучению дисциплины, ординатору необходимо внимательно ознакомиться с тематическим планом занятий, списком рекомендованной литературы. Следует уяснить последовательность выполнения индивидуальных учебных заданий. Самостоятельная работа ординатора предполагает работу с научной и учебной литературой, умение создавать тексты. Уровень и глубина усвоения дисциплины зависят от активной и систематической работы на лекциях, изучения рекомендованной литературы, выполнения контрольных письменных заданий.

При изучении дисциплины студенты выполняют следующие задания:

- изучают рекомендованную научно-практическую и учебную литературу;
- выполняют задания, предусмотренные для самостоятельной работы.

Основными видами аудиторной работы ординаторов являются лекции и практические занятия.

В ходе лекций преподаватель излагает и разъясняет основные, наиболее сложные понятия темы, а также связанные с ней теоретические и практические проблемы, дает рекомендации на практическое занятие и указания на самостоятельную работу.

Практические занятия завершают изучение наиболее важных тем учебной дисциплины. Они служат для закрепления изученного материала, развития умений и навыков, а также для контроля преподавателем степени подготовленности ординаторов по изучаемой дисциплине.

Работа с учебной и научной литературой является главной формой самостоятельной работы и необходима при подготовке к устному опросу на семинарских занятиях, к

модульным контрольным работам, тестированию, зачету. Она включает проработку лекционного материала – изучение рекомендованных источников и литературы по тематике лекций. Конспект лекции должен содержать реферативную запись основных вопросов лекции, предложенных преподавателем схем (при их демонстрации), основных источников и литературы по темам, выводы по каждому вопросу. Конспект должен быть выполнен в отдельной тетради по предмету. Он должен быть аккуратным, хорошо читаемым, не содержать не относящуюся к теме информацию или рисунки.

15. Перечень основной и дополнительной литературы, ресурсов интернет, необходимых для освоения дисциплины

а) основная литература:

№ п/п	Источник
1	Ребриков, Д. В. ПЦР в реальном времени / Д. В. Ребриков, Г. А. Саматов, Д. Ю. Трофимов ; под редакцией Д. В. Ребрикова. — 8-е изд. — Москва : Лаборатория знаний, 2020. — 226 с.
2	Джайн, К. К. Основы персонализированной медицины : медицина XXI века : омикс-технологии, новые знания, компетенции и инновации / Джайн К. К. , Шарипов К. О. - Москва : Литтерра, 2020. - 576 с. - ISBN 978-5-4235-0343-7. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785423503437.html (дата обращения: 26.06.2023). - Режим доступа : по подписке.
3	Сучков, С. В. Основы персонализированной и прецизионной медицины : учебник / под ред. С. В. Сучков. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 624 с. - ISBN 978-5-9704-5663-7. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970456637.html (дата обращения: 26.06.2023). - Режим доступа : по подписке.

б) дополнительная литература:

№ п/п	Источник
1	Персональная телемедицина Телемедицинские и информационные технологии реабилитации и управления здоровьем [Электронный ресурс]. / О. Ю. Атьков, Ю. Ю. Кудряшов. – Москва: Практика, 2015. – 248 с. - Р
2	Руководство по лабораторным методам диагностики [Текст] / Рос. ассоц. мед. лаб. диагностики; А. А. Кишкун и др. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007.
3	Диагностика заболеваний по анализам крови и мочи [Текст] / авт.-сост. Т. Ф. Цынко. - 8-е изд., доп. и перераб. - Ростов н/Д: Феникс, 2008.
4	Анализ крови и мочи [Текст]: клин. значение / Г. И. Козинец. - 2-е изд., доп. и перераб. - Москва: Практ. медицина, 2011.

в) информационные электронно-образовательные ресурсы (официальные ресурсы интернет)*:

№ п/п	Ресурс
1	www.lib.vsu.ru – ЗНБ ВГУ
2	Электронно-библиотечная система "Консультант студента" http://www.studmedlib.ru
3	Электронно-библиотечная система "Лань" https://e.lanbook.com/
4	MOLBIOL. RU – Классическая и молекулярная биология (http://www.molbiol.ru).
5	National Center for Biotechnology Information /US National Library of Medicine (http://www.pubmed.com).

16. Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы

№ п/п	Источник
1	Фаллер, Д.М. Молекулярная биология клетки : руководство для врачей / Д. М. Фаллер, Д. Шилдс. –М. Бином-Пресс, 2012. –256 с
2	Молекулярная биология клетки [Текст] : с задачами Д. Уилсона и Т. Ханта : [в 3 т.] : пер с англ. - Москва ; Ижевск : Ин-т компьютер. исслед. : Регуляр. и хаот. динамика, 2013. - Пер. изд.: Molecular biology of the cell : ref. ed. / В. Alberts et al. - 5th ed. - (Garland Science : Taylor & Francis Group). - Сплош. паг. Т. 1 / под ред. А. А. Миронова, Л. В. Мочаловой / пер. с англ. А. А. Светлова, О. В. Карловой. - 2013.
3	Молекулярная биология клетки [Текст] : с задачами Д. Уилсона и Т. Ханта : [в 3 т.] : пер с англ. - Москва ; Ижевск : Ин-т компьютер. исслед. : Регуляр. и хаот. динамика, 2013. - Пер. изд.: Molecular biology of the cell : ref. ed. / В. Alberts et al. - 5th ed. - (Garland Science : Taylor & Francis Group). - Сплош. паг. Т. 2 / под ред. Е. Н. Богачевой, И. Н. Шатского / пер. с англ. А. А. Дьяконовой, А. В. Дюбы. - 2013.

4	Молекулярная биология клетки [Текст] : с задачами Д. Уилсона и Т. Ханта : [в 3 т.] : пер с англ. - Москва ; Ижевск : Ин-т компьютер. исслед. : Регуляр. и хаот. динамика, 2013. - Пер. изд.: Molecular biology of the cell : ref. ed. / B. Alberts et al. - 5th ed. - (Garland Science : Taylor & Francis Group). - Сплош. паг. Т. 3 / под ред. Е. С. Шилова и др. / пер. с англ. А. Н. Дьяконова и др. - 2013.
5	Нуклеиновые кислоты от А до Я [Текст] / под ред. С. Мюллер ; пер. с англ. А. А. Синюшина, Ю. В. Киселевой ; [Б. Аппель, Б. И. Бенеке, Я. Бененсон и др.]. - Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2012.

17. Образовательные технологии, используемые при реализации учебной дисциплины, включая дистанционные образовательные технологии (ДОТ, электронное обучение (ЭО), смешанное обучение):

При реализации дисциплины используются элементы электронного обучения и дистанционные образовательные технологии.

18. Материально-техническое обеспечение дисциплины:

Аудитории, оборудованные мультимедийными средствами обучения, позволяющими использовать симуляционные технологии, с типовыми наборами профессиональных моделей и результатов лабораторных и инструментальных исследований. Лаборатории, оснащены специализированным оборудованием и расходным материалом, позволяющем обучающимся осваивать умения и навыки индивидуально, для проведения микробиологических, иммунологических, биохимических, медико-генетических, и вирусологических диагностических исследований. Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети "Интернет".

19. Оценочные средства для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации

Порядок оценки освоения обучающимися учебного материала определяется содержанием следующих разделов дисциплины:

№ п/п	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Компетенция(и)	Индикатор(ы) достижения компетенции	Оценочные средства
1.	Молекулярные основы персонализированной медицины	ПК-1	ПК-1.1, ПК-1.3	Устный опрос по вопросам
2.	Современные генетические технологии в клинической лабораторной диагностике	ПК-1	ПК-1.1, ПК-1.3	Устный опрос по вопросам
3	Принципы организации и функционирования ПЦР-лаборатории	ПК-1	ПК-1.1, ПК-1.3	Устный опрос по вопросам, тестовые задания
4	ПЦР-анализ и его модификации	ПК-1	ПК-1.1, ПК-1.3	Устный опрос по вопросам, тестовые задания
5	Персонализированные подходы в медицине	ПК-1	ПК-1.1, ПК-1.3	Устный опрос по вопросам
Промежуточная аттестация форма контроля – <u>зачет</u>				Перечень вопросов

20. Типовые оценочные средства и методические материалы, определяющие процедуры оценивания

20.1. Текущий контроль успеваемости

Контроль успеваемости по дисциплине осуществляется с помощью следующих оценочных средств: устный опрос по вопросам и/или тестирование, защита реферативных работ.

Вопросы к коллоквиуму

№1

1. Организация работы лаборатории ПЦР-диагностики.
2. Метод ПЦР и его модификации.
3. Количественный ПЦР.
4. Микробиочипы и клиническое применение.
5. Оборудование и наборы реактивов в лаборатории ПЦР анализа.
6. Санитарно-эпидемиологический режим в лаборатории ПЦР анализа.
7. Методы предобработки клинического материала.
8. Пробоподготовка биологического материала, выделение ДНК и РНК.
9. Полимеразная цепная реакция: принципы и разновидности.
10. ПЦР с детекцией в режиме реального времени.
11. Оптимизация ПЦР.
12. ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний: гепатиты, ВИЧ.
13. ПЦР в диагностике герпесвирусной инфекции.
14. Методы выделения РНК.
15. Контроль количества ДНК.
16. Детекция продуктов амплификации.
17. Забор, транспортировка и хранение биоматериала для ПЦР-анализа.
18. Противоконтаминационные мероприятия в лаборатории ПЦР анализа.
19. Пробоподготовка ускоренная. Реамикс.
20. Пробоподготовка универсальная. Микозис.
21. Амплификация. Сухие и жидкие системы.
22. Мультипраймерная ПЦР. Количественная ПЦР.
23. Электрофорез в агарозном геле.
24. Видеосистема. Ведение журнала.
25. Постановка ПЦР для ДНК содержащих микроорганизмов.
26. Постановка ПЦР для РНК содержащих вирусов.
27. ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний (туберкулез, герпес).
28. ПЦР в диагностике ИППП.
29. ПЦР в диагностике папилломавирусной инфекций.
30. ПЦР в диагностике наследственных заболеваний.
31. Причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов при постановке ПЦР.
32. Выделение ДНК и РНК из различного клинического материала.
33. Количественная ПЦР в реальном времени. Калибровка.
34. Постановка реакции для ДНК содержащих микроорганизмов.
35. Принципы организации и функционирования ПЦР лаборатории генодиагностики.

Вопросы к коллоквиуму

№2

1. Основные регламентирующие документы в работе ПЦР-лаборатории.
2. Преимущество метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний.
3. Причины ложноположительных результатов ПЦР-анализа.
4. Современные методы генодиагностики.
5. Преимущества в использовании нуклеиновых кислот для диагностики.

6. Строение нуклеиновых кислот.
7. Клинические образцы, используемые для ПЦР.
8. Хранение и транспортировка образцов.
9. Методы пробоподготовки.
10. Ингибирование клинических образцов. Внутренний контроль.
11. Принципы метода ПЦР.
12. Преимущества метода ПЦР.
13. Проблемы при постановке ПЦР. Причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов.
14. Действия при возникновении контаминации.
15. Организация ПЦР лаборатории. Основные нормативные документы.
16. Требования к помещениям и оборудованию ПЦР лаборатории.
17. Параметры по которым проводится оптимизация ПЦР.
18. Изменение чувствительности ПЦР анализа.
19. Разновидности метода ПЦР.
20. ПЦР с обратной транскрипцией.
21. Гнездовая ПЦР.
22. ПЦР in situ.
23. Методы количественной ПЦР.
24. Конкурентный метод количественной ПЦР.
25. ПЦР в реальном времени.
26. Мультипраймерная ПЦР.
27. Типичные ошибки при интерпретации результатов электрофореза.
28. Видею-компьютерные программы для анализа результатов ПЦР.
29. Детекция результатов методом ГИФ.
30. Детекция результатов ПЦР по конечной флуоресценции.
31. Принцип работы биологических микрочипов.
32. Примеры использования биологических микрочипов.
33. Сравнительный анализ чувствительности и специфичности методов клинической лабораторной диагностики.
34. Методы генодиагностики урогенитальных инфекций.
35. Генодиагностика гепатитов и ВИЧ.

Примеры заданий в тестовой форме

1. Амплификация - это:

- 1) ингибирование ферментативной активности;
- 2) копирование ДНК;+
- 3) разрезание нити ДНК;
- 4) усиление ферментативной активности.

2. Ассиметричная ПЦР проводится когда:

- 1) необходимо амплифицировать преимущественно обе цепи исходной ДНК;
- 2) необходимо амплифицировать преимущественно одну из цепей исходной ДНК;+
- 3) увеличения числа побочных продуктов реакции;
- 4) уменьшения числа побочных продуктов реакции.

3. В клинической медицине ПЦР используют для:

- 1) диагностики инфекционных заболеваний;+
- 2) определения аффинности белковых взаимодействий;
- 3) определения уровня ЛПВП в сыворотке крови;

4) прочтения последовательности РНК.

4. В состав реакционной смеси для проведения ПЦР входит

- 1) антитела;
- 2) глюкоза;
- 3) манноза;
- 4) термостабильная ДНК-полимераза.+

5. Вложенная ПЦР применяется для:

- 1) обратимости реакции;
- 2) увеличения числа побочных продуктов реакции;
- 3) удешевления проведения ПЦР;
- 4) уменьшения числа побочных продуктов реакции.+

6. Во время отжига праймеров происходит:

- 1) белок-белковое взаимодействие между ДНК-полимеразой и другими компонентами смеси;
- 2) ингибирование ДНК-полимеразы;
- 3) комплементарное взаимодействие праймера со специфичным участком;+
- 4) синтез комплементарной цепочки ДНК.

7. Для проведения ПЦР с «горячим стартом» используют:

- 1) ДНК-полимеразу, блокированную антителами;+
- 2) меченые нуклеотиды;
- 3) меченые праймеры;
- 4) минеральное масло.

8. Для чего необходимо использование ионов магния в ПРЦ реакции

- 1) обеспечение ингибирования ДНК-полимеразы;
- 2) обеспечение отжига праймеров;
- 3) поддержание активности ДНК-полимеразы;+
- 4) усиление взаимодействия между нуклеотидами.

9. К интеркалирующим красителям относят:

- 1) FITC;
- 2) PE;
- 3) SYBR Green I;+
- 4) аминофиллин.

10. К неспецифичной детекции в РТ-ПЦР относят:

- 1) антитела;
- 2) интеркалирующие красители;+
- 3) праймеры-пробы;
- 4) свободные меченые пробы.

11. К неспецифичным системам детекции можно отнести:

- 1) FITC;
- 2) PE;
- 3) SYBR Gold;+
- 4) SYBR Green I;+

5) использование праймеров с флуоресцентными красителями.+

12. К специфичным системам детекции относят:

- 1) FITC;
- 2) SYBR Green I;
- 3) аминофиллин;
- 4) свободные меченые пробы.+

13. Какой метод можно использовать для выявления мутаций?

- 1) ИФА;
- 2) ПЦР;+
- 3) динамометрию;
- 4) проточную цитометрию.

14. Количественно оценить экспрессии гена позволяет метод:

- 1) ПЦР с обратной транскрипцией;+
- 2) ассиметричная ПЦР;
- 3) вложенная ПЦР;
- 4) секвенирование.

15. Области применения цифровой ПЦР:

- 1) обнаружение специфичного белка в пробе;
- 2) обнаружение специфичных антител;
- 3) обнаружение химеризма;+
- 4) прочтение последовательности ДНК.

16. Отличие репликации *in vivo* от амплификации:

- 1) более длинные фрагменты ДНК в амплификации;
- 2) более короткие фрагменты ДНК в амплификации;+
- 3) взаимодействие *in vivo* с антителами;
- 4) отсутствие ДНК-полимеразы.

17. ПЦР в реальном времени – это:

- 1) метод определения аффинности молекул;
- 2) метод оценки количества глюкозы в сыворотке крови;
- 3) метод, основанный на методе полимеразной цепной реакции, используется для одновременной амплификации и измерения количества данной молекулы ДНК;+
- 4) чтение последовательности ДНК.

18. ПЦР с использованием «горячего старта» проводят для:

- 1) наработки белкового продукта;
- 2) определения специфичности белка;
- 3) увеличения числа побочных продуктов реакции;
- 4) уменьшения числа побочных продуктов реакции.+

19. ПЦР с обратной транскрипцией - это:

- 1) методамплификации специфического фрагмента рибонуклеиновой кислоты (РНК);+
- 2) синтез белка с целевого фрагмента ДНК;
- 3) чтение обратной последовательности ДНК;
- 4) чтение прямой последовательности ДНК.

20. ПЦР с обратной транскрипцией в клинической практике используется для:

- 1) диагностики вирусной инфекции;+
- 2) определения титра антител;
- 3) очищения белка;
- 4) поиска мутаций.

21. РТ ПЦР позволяет в отличие от ПЦР:

- 1) обеспечить усиление комплементарного взаимодействия нуклеотидов;
- 2) определить длину целевого фрагмента ДНК;
- 3) определить специфичность праймеров;
- 4) точно количественно оценить копии ДНК в образце и детектировать в реальном времени.+

22. Цифровая капельная ПЦР – это:

- 1) метод ПЦР, при котором реакционная смесь после добавления ДНК распыляется на множество мельчайших капель, попадающих на лунки чипа;+
- 2) наработка преимущественно одноцепочечного продукта реакции;
- 3) проведение ПЦР с использованием 4 пар праймеров;
- 4) чтение последовательности ДНК на чипе.

23. В каком из методов экспресс диагностики используют олигонуклеотидные праймеры?

- 1) иммунофлуорисценции;
- 2) иммуноферментный анализ;
- 3) ДНК-зонд;
- 4) полимеразная цепная реакция. +

24. Преимущество метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний:

- 1) Прямое определение наличия возбудителя
- 2) Высокая специфичность и чувствительность
- 3) Универсальность процедуры выявления различных возбудителей
- 4) Все указанное верно. +

25. ПЦР применяется в медицине для:

- 1) Определения концентрации белков в сыворотке;
- 2) Исследования хромосом;
- 3) Определения скорости оседания эритроцитов;
- 4) Определения мутаций в ДНК, приводящих к наследственным заболеваниям. +

26. Электрофорез является методом:

- 1) Разделения фрагментов ДНК по размеру под действием электрического тока; +
- 2) Определения нуклеотидов в последовательности ДНК;
- 3) Определения количества вирусных частиц;
- 4) Определения активности ферментов.

27. Экспрессионные микрочипы относятся к группе:

- 1) Аналитических чипов;
- 2) Чипов с обращенной фазой;
- 3) Гелевых чипов;
- 4) Функциональных чипов. +

28. Для диагностики наследственных заболеваний ДНК можно выделить из:

- 1) Лимфоцитов периферической крови;
- 2) Слюны;
- 3) Плазмы крови;
- 4) Сыворотки крови

29. Условием сохранения периферической крови для использования ее в ДНК-диагностике является:

- 1) Хранение в холодильнике на $+4^{\circ}\text{C}$; +
- 2) Заморозка на -20°C и хранение в морозильнике необходимое время;
- 3) Хранение неделю при комнатной температуре;
- 4) Хранение в термостате при $+37^{\circ}\text{C}$;

30. ПЦР стала возможной благодаря открытию:

- 1) РНК-полимеразы;
- 2) ДНК-полимеразы;
- 3) Термостабильной ДНК-полимеразы; +
- 4) Теломеразы.

Критерии оценки: Оценка по тесту выставляется пропорционально доле правильных ответов: • 90-100% - оценка «отлично» • 80-89% - оценка «хорошо» • 70-79% - оценка «удовлетворительно» • Менее 70% правильных ответов – оценка «неудовлетворительно».

Перечень тем рефератов.

Секвенирование ДНК по Сенгеру.

Технология комплексной ДНК-диагностики синдрома ломкой X-хромосомы

Современные алгоритмы пренатальной диагностики наследственных болезней.

Современный взгляд на мутационный процесс у человека.

Клиника и генетика хромосомных болезней, связанных с нестабильностью структуры хромосом – синдром Луи-Бар.

Клиника и генетика хромосомных болезней, связанных с нестабильностью структуры хромосом – анемия Фанкони.

Описание технологии проведения

Текущая аттестация проводится в соответствии с Положением о текущей аттестации обучающихся по программам высшего образования Воронежского государственного университета. Текущая аттестация может проводиться в форме устного опроса (индивидуальный опрос) или письменных работ (коллоквиумы, тестирование). При оценивании текущей аттестации учитываются результаты работы на практических занятиях и реферативные задания.

Требования к выполнению заданий (или шкалы и критерии оценивания)

Критерии оценки устного опроса:

Устный опрос может проводиться в начале учебного занятия, в таком случае он служит не только целям контроля, но и готовит обучающихся к усвоению нового материала, позволяет увязать изученный материал с тем, с которым они будут знакомиться на этом же или последующих учебных занятиях.

Опрос может быть фронтальный, индивидуальный и комбинированный. Фронтальный опрос проводится в форме беседы преподавателя с группой, с целью вовлечения в активную умственную работу всех обучающихся группы.

Вопросы должны иметь преимущественно поисковый характер, чтобы побуждать обучающихся к самостоятельной мыслительной деятельности.

Индивидуальный опрос предполагает обстоятельные, связные ответы обучающихся на вопрос, относящийся к изучаемому учебному материалу и служит важным учебным средством развития речи, памяти, критического и системного мышления обучающихся.

Заключительная часть устного опроса – подробный анализ ответов обучающихся.

Устный опрос как метод контроля знаний, умений и навыков требует больших затрат времени, кроме того, по одному и тому же вопросу нельзя проверить всех обучающихся. Поэтому в целях рационального использования учебного времени может быть проведен комбинированный, уплотненный опрос, сочетая устный опрос с письменным.

Письменный опрос проводится по тематике прошедших занятий. В ходе выполнения заданий обучающийся должен в меру имеющихся знаний, умений, владений, сформированности компетенции дать развернутые ответы на поставленные в задании открытые вопросы и (или) ответить на вопросы закрытого типа в установленное преподавателем время. Продолжительность проведения процедуры определяется преподавателем самостоятельно, исходя из сложности индивидуальных заданий, количества вопросов, объема оцениваемого учебного материала.

Вопросы для устного и письменного опроса сопровождаются тщательным всесторонним продумыванием содержания вопросов, задач и примеров, которые будут предложены, поиском путей активизации деятельности всех обучающихся группы в процессе проверки, создания на занятии деловой и доброжелательной обстановки.

Результаты работы обучающихся фиксируются в ходе проведения учебных занятий (активность, полнота ответов, способность поддерживать дискуссию, профессиональный язык и др.).

Оценка «отлично» выставляется студенту за полный, грамотный и развернутый ответ.

Оценка «хорошо» выставляется студенту, если он представил полный правильный ответ по вопросу, но им была допущена 1 негрубая ошибка и 1-2 неточности.

Оценка «удовлетворительно» выставляется за неполный ответ, который содержит грубые ошибки.

Оценка «неудовлетворительно» выставляется, если студент не продемонстрировал знания по существу вопроса или не представил ответы на вопросы

Критерии оценивания реферативных работ

Подготовка реферата имеет своей целью показать, что обучающийся имеет необходимую теоретическую и практическую подготовку, умеет аналитически работать с научной литературой, систематизировать материалы и делать обоснованные выводы.

При выборе темы реферата необходимо исходить, прежде всего, из собственных научных интересов.

Реферат должен носить характер творческой самостоятельной работы.

Изложение материала не должно ограничиваться лишь описательным подходом к раскрытию выбранной темы, но также должно отражать авторскую аналитическую оценку состояния проблемы и собственную точку зрения на возможные варианты ее решения.

Обучающийся, имеющий научные публикации может использовать их данные при анализе проблемы.

Реферат включает следующие разделы:

- введение (обоснование выбора темы, ее актуальность, цели и задачи исследования);
- содержание (состоит из 2-3 параграфов, в которых раскрывается суть проблемы, оценка описанных в литературе основных подходов к ее решению, изложение собственного взгляда на проблему и пути ее решения и т.д.);
- заключение (краткая формулировка основных выводов);

- список литературы, использованной в ходе работы над выбранной темой.

Требования к списку литературы:

Список литературы составляется в соответствии с правилами библиографического описания (источники должны быть перечислены в алфавитной последовательности - по первым буквам фамилий авторов или по названиям сборников; необходимо указать место издания, название издательства, год издания). При выполнении работы нужно обязательно использовать книги, статьи, сборники, материалы официальных сайтов Интернет и др. Ссылки на использованные источники, в том числе электронные – обязательны.

Объем работы 15-20 страниц (формат А4) печатного текста (шрифт № 14 Times New Roman, через 1,5 интервала, поля: верхнее и нижнее - 2 см, левое - 2,5 см, правое - 1,5 см).

Текст может быть иллюстрирован таблицами, графиками, диаграммами, причем наиболее ценными из них являются те, что самостоятельно составлены автором.

20.2. Промежуточная аттестация

Промежуточная аттестация по дисциплине осуществляется с помощью следующих оценочных средств: устный опрос

1. Организация работы лаборатории ПЦР-диагностики.
2. Метод ПЦР и его модификации.
3. Количественный ПЦР.
4. Микробиочипы и клиническое применение.
5. Оборудование и наборы реактивов в лаборатории ПЦР анализа.
6. Санитарно-эпидемиологический режим в лаборатории ПЦР анализа.
7. Методы предобработки клинического материала.
8. Пробоподготовка биологического материала, выделение ДНК и РНК.
9. Полимеразная цепная реакция: принципы и разновидности.
10. ПЦР с детекцией в режиме реального времени.
11. Оптимизация ПЦР.
12. ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний: гепатиты, ВИЧ.
13. ПЦР в диагностике герпесвирусной инфекции.
14. Методы выделения РНК.
15. Контроль количества ДНК.
16. Детекция продуктов амплификации.
17. Забор, транспортировка и хранение биоматериала для ПЦР-анализа.
18. Противоконтаминационные мероприятия в лаборатории ПЦР анализа.
19. Пробоподготовка ускоренная. Реамикс.
20. Пробоподготовка универсальная. Микোলизис.
21. Амплификация. Сухие и жидкие системы.
22. Мультипраймерная ПЦР. Количественная ПЦР.
23. Электрофорез в агарозном геле.
24. Видиосистема. Ведение журнала.
25. Постановка ПЦР для ДНК содержащих микроорганизмов.
26. Постановка ПЦР для РНК содержащих вирусов.
27. ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний (туберкулез, герпес).
28. ПЦР в диагностике ИППП.
29. ПЦР в диагностике папилломавирусной инфекций.
30. ПЦР в диагностике наследственных заболеваний.
31. Причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов при постановке ПЦР.
32. Выделение ДНК и РНК из различного клинического материала.
33. Количественная ПЦР в реальном времени. Калибровка.

34. Постановка реакции для ДНК содержащих микроорганизмов.
35. Принципы организации и функционирования ПЦР лаборатории генодиагностики.
36. Основные регламентирующие документы в работе ПЦР-лаборатории.
37. Преимущество метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний.
38. Причины ложноположительных результатов ПЦР-анализа.
39. Современные методы генодиагностики.
40. Преимущества в использовании нуклеиновых кислот для диагностики.
41. Строение нуклеиновых кислот.
42. Клинические образцы, используемые для ПЦР.
43. Хранение и транспортировка образцов.
44. Методы пробоподготовки.
45. Ингибирование клинических образцов. Внутренний контроль.
46. Принципы метода ПЦР.
47. Преимущества метода ПЦР.
48. Проблемы при постановке ПЦР. Причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов.
49. Действия при возникновении контаминации.
50. Организация ПЦР лаборатории. Основные нормативные документы.
51. Требования к помещениям и оборудованию ПЦР лаборатории.
52. Параметры по которым проводится оптимизация ПЦР.
53. Изменение чувствительности ПЦР анализа.
54. Разновидности метода ПЦР.
55. ПЦР с обратной транскрипцией.
56. Гнездовая ПЦР.
57. ПЦР in situ.
58. Методы количественной ПЦР.
59. Конкурентный метод количественной ПЦР.
60. ПЦР в реальном времени.
61. Мультипраймерная ПЦР.
62. Типичные ошибки при интерпретации результатов электрофореза.
63. Видео-компьютерные программы для анализа результатов ПЦР.
64. Детекция результатов методом ГИФ.
65. Детекция результатов ПЦР по конечной флуоресценции.
66. Принцип работы биологических микрочипов.
67. Примеры использования биологических микрочипов.
68. Сравнительный анализ чувствительности и специфичности методов клинической лабораторной диагностики.
69. Методы генодиагностики урогенитальных инфекций.
70. Генодиагностика гепатитов и ВИЧ.

Описание технологии проведения

Промежуточная аттестация проводится в соответствии с Положением о промежуточной аттестации обучающихся по программам высшего образования. Оценка по промежуточной аттестации может быть поставлена по результатам текущих аттестаций. При реализации дисциплины могут быть использованы элементы электронного обучения и дистанционные образовательные технологии.

Промежуточная аттестация в форме зачета осуществляется в ходе контактной работы обучающегося с преподавателем и проводится в рамках аудиторных занятий, как правило, на последнем практическом (семинарском) занятии.

Для оценивания результатов обучения на зачете используются следующие показатели:

1) знания основных теоретических положений проведения ПЦР в персонализированной медицине, нормативной документации, области применения ПЦР-анализа, ключевые модификации ПЦР-анализа.

2) знание методов и этапов проведения исследования.

3) умение связывать теорию с практикой, оценивать и интерпретировать результаты анализа.

4) умение иллюстрировать ответ примерами, фактами, данными научных исследований.

5) владение понятийным аппаратом, точное употребление терминов.

Для оценивания результатов обучения на зачете используются оценки: «зачтено» и «незачтено».

Соотношение показателей, критериев и шкалы оценивания результатов обучения

Критерии оценивания компетенций	Шкала оценок
Соответствие ответа обучающегося не менее, чем двум перечисленным критериям. Обучающийся владеет теоретическими основами и понятийным аппаратом данной области науки, способен связывать теорию с практикой. Допустимы небольшие пробелы, неточности, ошибки, исправляемые при дополнительных вопросах преподавателя.	зачтено
Ответ на контрольно-измерительный материал не соответствует трем-четырем из перечисленных показателей. Обучающийся демонстрирует отрывочные, фрагментарные знания, допускает грубые ошибки, не исправляемые после дополнительных вопросов преподавателя.	незачтено

Задания, указанные ниже, рекомендуются к использованию при проведении диагностических работ с целью оценки остаточных знаний по результатам освоения данной дисциплины

Задания закрытого типа

1. Амплификация - это:

- 1) ингибирование ферментативной активности;
- 2) копирование ДНК;+
- 3) разрезание нити ДНК;
- 4) усиление ферментативной активности.

2. Ассиметричная ПЦР проводится когда:

- 1) необходимо амплифицировать преимущественно обе цепи исходной ДНК;
- 2) необходимо амплифицировать преимущественно одну из цепей исходной ДНК;+
- 3) увеличения числа побочных продуктов реакции;
- 4) уменьшения числа побочных продуктов реакции.

3. В клинической медицине ПЦР используют для:

- 1) диагностики инфекционных заболеваний;+
- 2) определения аффинности белковых взаимодействий;
- 3) определения уровня ЛПВП в сыворотке крови;
- 4) прочтения последовательности РНК.

4. В состав реакционной смеси для проведения ПЦР входит

- 1) антитела;

- 2) глюкоза;
- 3) манноза;
- 4) термостабильная ДНК-полимераза.+

5. Вложенная ПЦР применяется для:

- 1) обратимости реакции;
- 2) увеличения числа побочных продуктов реакции;
- 3) удешевления проведения ПЦР;
- 4) уменьшения числа побочных продуктов реакции.+

6. Во время отжига праймеров происходит:

- 1) белок-белковое взаимодействие между ДНК-полимеразой и другими компонентами смеси;
- 2) ингибирование ДНК-полимеразы;
- 3) комплементарное взаимодействие праймера со специфичным участком;+
- 4) синтез комплементарной цепочки ДНК.

7. Для проведения ПЦР с «горячим стартом» используют:

- 1) ДНК-полимеразу, блокированную антителами;+
- 2) меченые нуклеотиды;
- 3) меченые праймеры;
- 4) минеральное масло.

8. Для чего необходимо использование ионов магния в ПРЦ реакции

- 1) обеспечение ингибирования ДНК-полимеразы;
- 2) обеспечение отжига праймеров;
- 3) поддержание активности ДНК-полимеразы;+
- 4) усиление взаимодействия между нуклеотидами.

9. К интеркалирующим красителям относят:

- 1) FITC;
- 2) PE;
- 3) SYBR Green I;+
- 4) аминофиллин.

10. К неспецифичной детекции в РТ-ПЦР относят:

- 1) антитела;
- 2) интеркалирующие красители;+
- 3) праймеры-пробы;
- 4) свободные меченые пробы.

11. К неспецифичным системам детекции можно отнести:

- 1) FITC;
- 2) PE;
- 3) SYBR Green I;+
- 4) использование праймеров

12. К специфичным системам детекции относят:

- 1) FITC;
- 2) SYBR Green I;

- 3) аминофиллин;
- 4) свободные меченые пробы. +

13. Какой метод можно использовать для выявления мутаций?

- 1) ИФА;
- 2) ПЦР; +
- 3) динамометрию;
- 4) проточную цитометрию.

14. Количественно оценить экспрессии гена позволяет метод:

- 1) ПЦР с обратной транскрипцией; +
- 2) ассиметричная ПЦР;
- 3) вложенная ПЦР;
- 4) секвенирование.

15. Области применения цифровой ПЦР:

- 1) обнаружение специфичного белка в пробе;
- 2) обнаружение специфичных антител;
- 3) обнаружение химеризма; +
- 4) прочтение последовательности ДНК.

16. Отличие репликации *in vivo* от амплификации:

- 1) более длинные фрагменты ДНК в амплификации;
- 2) более короткие фрагменты ДНК в амплификации; +
- 3) взаимодействие *in vivo* с антителами;
- 4) отсутствие ДНК-полимеразы.

17. ПЦР в реальном времени – это:

- 1) метод определения аффинности молекул;
- 2) метод оценки количества глюкозы в сыворотке крови;
- 3) метод, основанный на методе полимеразной цепной реакции, используется для одновременной амплификации и измерения количества данной молекулы ДНК; +
- 4) чтение последовательности ДНК.

18. ПЦР с использованием «горячего старта» проводят для:

- 1) наработки белкового продукта;
- 2) определения специфичности белка;
- 3) увеличения числа побочных продуктов реакции;
- 4) уменьшения числа побочных продуктов реакции. +

19. ПЦР с обратной транскрипцией - это:

- 1) методам амплификации специфического фрагмента рибонуклеиновой кислоты (РНК); +
- 2) синтез белка с целевого фрагмента ДНК;
- 3) чтение обратной последовательности ДНК;
- 4) чтение прямой последовательности ДНК.

20. ПЦР с обратной транскрипцией в клинической практике используется для:

- 1) диагностики вирусной инфекции; +
- 2) определения титра антител;
- 3) очищения белка;

4) поиска мутаций.

21. РТ ПЦР позволяет в отличие от ПЦР:

- 1) обеспечить усиление комплементарного взаимодействия нуклеотидов;
- 2) определить длину целевого фрагмента ДНК;
- 3) определить специфичность праймеров;
- 4) точно количественно оценить копии ДНК в образце и детектировать в реальном времени.+

22. Цифровая капельная ПЦР – это:

- 1) метод ПЦР, при котором реакционная смесь после добавления ДНК распыляется на множество мельчайших капель, попадающих на лунки чипа;+
- 2) наработка преимущественно одноцепочечного продукта реакции;
- 3) проведение ПЦР с использованием 4 пар праймеров;
- 4) чтение последовательности ДНК на чипе.

23. В каком из методов экспресс диагностики используют олигонуклеотидные праймеры?

- 1) иммунофлуорисценции;
- 2) иммуноферментный анализ;
- 3) ДНК-зонд;
- 4) полимеразная цепная реакция. +

24. Преимущество метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний:

- 1) Прямое определение наличия возбудителя
- 2) Высокая специфичность и чувствительность
- 3) Универсальность процедуры выявления различных возбудителей
- 4) Все указанное верно. +

25. ПЦР применяется в медицине для:

- 1) Определения концентрации белков в сыворотке;
- 2) Исследования хромосом;
- 3) Определения скорости оседания эритроцитов;
- 4) Определения мутаций в ДНК, приводящих к наследственным заболеваниям. +

26. Электрофорез является методом:

- 1) Разделения фрагментов ДНК по размеру под действием электрического тока; +
- 2) Определения нуклеотидов в последовательности ДНК;
- 3) Определения количества вирусных частиц;
- 4) Определения активности ферментов.

27. Экспрессионные микрочипы относятся к группе:

- 1) Аналитических чипов;
- 2) Чипов с обращенной фазой;
- 3) Гелевых чипов;
- 4) Функциональных чипов. +

28. Для диагностики наследственных заболеваний ДНК можно выделить из:

- 1) Лимфоцитов периферической крови;
- 2) Слюны;
- 3) Плазмы крови;
- 4) Сыворотки крови

29. Условием сохранения периферической крови для использования ее в ДНК-диагностике является:

- 1) Хранение в холодильнике на $+4^{\circ}\text{C}$; +
- 2) Заморозка на -20°C и хранение в морозильнике необходимое время;
- 3) Хранение неделю при комнатной температуре;
- 4) Хранение в термостате при $+37^{\circ}\text{C}$;

30. ПЦР стала возможной благодаря открытию:

- 1) РНК-полимеразы;
- 2) ДНК-полимеразы;
- 3) Термостабильной ДНК-полимеразы; +
- 4) Теломеразы.

Задания открытого типа

1. Каковы основные особенности забора биологического материала для проведения ПЦР-анализа с точки зрения используемого инструментария?

Взятие биологического материала необходимо осуществлять только специальными одноразовыми стерильными инструментами (зонды, вельюр-тампоны, зонды-тампоны, эндоцервикальные щётки и др.) в одноразовые стерильные пробирки, контейнеры, флаконы, строго следуя инструкции изготовителя используемого набора реагентов.

2. Какие действия рекомендуются для снижения вероятности контаминации пробы?

Применение одноразовых инструментов, наконечников, пробирок, контейнеров. Сразу после помещения биологического материала в пробирки, контейнеры, флаконы следует плотно закрывать используемые ёмкости, не касаясь их внутренней поверхности и внутренней поверхности крышек.

3. Пробирки с каким антикоагулянтом используют для взятия цельной крови для ПЦР-анализа?

ЭДТА

4. Каковы условия хранения и транспортировки материала цельной крови для ПЦР-анализа без предварительной обработки?

при температуре $18-25^{\circ}\text{C}$ — в течение 2 ч; • при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ — в течение 3 сут

5. Как проводится забор слюны для ПЦР-исследования?

Провести трёхкратное полоскание полости рта 0,9% раствором натрия хлорида или кипяченой водой. Слюну в объёме не менее 1,0–2,0 мл собрать в пробирку или контейнер, плотно закрыть крышкой.

6. какие основные инструменты используются для получения материала со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс)?

Цитощётка или комбинированный гинекологический зонд и пробирка с транспортной средой

7. Каковы условия хранения и транспортировки мочи для ПЦР-анализа без предварительной обработки?

при температуре $18-25^{\circ}\text{C}$ — в течение 1–2 ч; • при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ — в течение 24 ч; • при температуре -20°C и ниже — в течение 7 сут

8. Что является исходным материалом для проведения ДНК-диагностики заболеваний, обусловленных мутациями ядерных генов?
любые клетки организма, содержащие ядро
9. Что является исходным материалом для проведения ДНК-диагностики инфекционных заболеваний?
сыворотка крови, моча, мокрота, соскобы моче-половых путей и т.д.
10. С какой целью проводится пробоподготовка?
с целью удаления клеточных белков, в частности, различных РНКаз и ДНКаз
11. Какой краситель используют для визуализации ДНК/РНК при гель электрофорезе?
Бромистый этидий
12. Какую ДНК-полимеразу чаще всего применяют для проведения ПЦР?
Таq-ДНК-полимераза
13. Какие температурные этапы выделяют в процессе проведения ПЦР?
Денатурация (95°), Отжиг (60°), Элонгация (72°)
14. Какие компоненты нужно добавить в реакционную смесь для ПЦР?
буфер для ПЦР, ДНК-матрица, праймеры (прямой и обратный), смесь нуклеотидов, фермент (ДНК-полимераза)
15. Перечислите какие помещения должны быть в ПЦР- лаборатории?
Зона выделения ДНК/РНК, зона приготовления реакционной смеси и проведения ПЦР, зона детекции результатов ПЦР
16. В чем заключается особенность ПЦР с «горячим» стартом?
В предотвращении возможности начала реакции до момента достижения в пробирке температуры, обеспечивающей специфический отжиг праймеров.
17. В чем заключается модификация классической ПЦР по сравнению с ПЦР с «горячим» стартом?
Антитела или парафин
18. Что такое праймеры?
искусственно синтезированные олигонуклеотиды, имеющие, как правило, размер от 15 до 30 п.н., идентичные соответствующим участкам ДНК-мишени
19. Что происходит на этапе «денатурация» в ПЦР-анализа?
расплести двойную цепь ДНК
20. Что происходит на этапе «отжиг» в ПЦР-анализа?
праймеры присоединяются к ДНК-мишени
21. Что происходит на этапе «элонгация» в ПЦР-анализа?
Идет построение новой цепи ДНК по матрице старой с помощью фермента ДНК-полимераза.
22. Какой фермент используется для синтеза ДНК по матрице РНК при проведении ПЦР с обратной транскрипцией?
Ревертаза/обратная транскриптаза/РНК-зависимая ДНК-полимераза

23. В чем особенность ПЦР в реальном времени?

Происходит оценка накопления продукта реакции в ходе каждого цикла амплификации.

24. Перечислите стадии постановки ПЦР-анализа.

Подготовка пробы биологического материала, Амплификация, Детекция

25. Что такое контаминация?

попадание из внешней среды в реакционную смесь специфических и неспецифических молекул ДНК

26. О чем свидетельствует наличие нескольких пиков на кривых плавления продуктов ПЦР?

Образование нескольких/различных продуктов реакции

27. Что такое секвенирование?

Определение нуклеотидной последовательности ДНК

28. Что может быть причиной ложноотрицательных результатов ПЦР?

Нарушение сроков и условий хранения реагентов, деградация ДНК-матрицы

29. Что может быть причиной ложноположительных результатов ПЦР?

Контаминация реакционной смеси, не специфичность праймеров

30. Сколько циклов выполняется при проведении ПЦР?

30-40