

Федеральное агентство научных организаций
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии»



УТВЕРЖДАЮ
директор ФГБНУ ВНИИСХМ
д-р биол. наук, академик РАН
И. А. Тихонович
« 15 » сентября 2015 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА
УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ
«Метагеномика растительно-микробных систем»

Направление подготовки
06.06.01 «БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ»
Профиль направления подготовки
03.02.03 «МИКРОБИОЛОГИЯ»

Квалификация выпускника «Исследователь. Преподаватель-исследователь»

Форма обучения

Очная

Санкт-Петербург, 2015 г.

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Цели и задачи освоения дисциплины	3
1.1.	Цели и задачи освоения дисциплины	3
1.2.	Место дисциплины в структуре образовательной программы	3
2.	Результаты освоения дисциплины	3
3.	Структура и содержание дисциплины	4
3.1.	Содержание дисциплины	4
3.2.	Структура дисциплины	7
4.	Образовательные технологии	7
5.	Вопросы выходного контроля (зачет)	7
6.	Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины	9
7.	Материально-техническое обеспечение дисциплины	11
8.	Кадровое обеспечение дисциплины	11

1. Цели и задачи дисциплины

1.1. Цели и задачи дисциплины.

Цель изучения дисциплины.

Целью освоения дисциплины "Метагеномика растительно-микробных систем" является подготовка высококвалифицированных специалистов, имеющих глубокие знания о структурно-функциональном разнообразии микробного населения почв, ризосферы, ризопланы и эндосферы растений, а также владеющих теоретическими и практическими знаниями по использованию метагеномных технологий для решения широкого спектра научных задач.

Задачи изучения дисциплины.

Задачами дисциплины является получение теоретических и практических знаний о методах метагеномного анализа и современных технологиях высокопроизводительного секвенирования, таксономическом разнообразии почвенных микроорганизмов, функциональной метагеномике, использовании метагеномных технологий для исследования эволюционных процессов в различных экосистемах.

1.2. Место дисциплины в структуре образовательной программы.

Дисциплина «Метагеномика растительно-микробных систем» является дисциплиной по выбору вариативной части цикла Б.1.В.ДВ.1 и разработана в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки. В качестве базовых для освоения данной дисциплины выступают курсы «Биология», «Основы генной инженерии», «Общая микробиология и экология». Метагеномика растительно-микробных систем является важной биологической дисциплиной, поскольку позволяет связать воедино знания по экологии микроорганизмов с особенностью строения и функционирования их генов и геномов. Метагеномный метод дает возможность реконструировать микробные сообщества не только культивируемых, но и некультивируемых микроорганизмов, населяющих различные экосистемы, определить их функции, взаимоотношения с макроорганизмами, особенности протекания эволюционных процессов в ходе растительно-микробного взаимодействия и т. п.

2. Результаты освоения дисциплины

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО

В результате изучения дисциплины формируются и углубляются универсальные компетенции:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК -1);

- готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК – 3);

- способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК – 5);

общепрофессиональные компетенции:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно - коммуникационных технологий (ОПК – 1);

профессиональные компетенции:

- способность планировать эксперименты и анализировать результаты научно-исследовательской работы в области фундаментальной и прикладной микробиологии, включая подготовку публикаций в научных изданиях, индексируемых в отечественных (РИНЦ) и международных (Web of Science, Scopus) базах данных (ПК-1);
- владение методами молекулярно-генетического анализа микроорганизмов, включая характеристику их геномной и метагеномной организации (ПК-2);
- способность применять теоретические знания и практические навыки в работах по генетическому конструированию микроорганизмов и разработке новых микробных биотехнологий, включая создание симбиотических микроорганизмов, повышающих продуктивность сельскохозяйственных растений и животных (ПК-3).

В результате изучения дисциплины аспирант должен знать:

- теоретические основы общей метагеномики;
- методики отбора проб, сбора метаданных, выделения и анализа нуклеиновых кислот;
- теоретические основы методов высокопроизводительного секвенирования;
- основные структурно-функциональные особенности микробиомов различных экосистем, и в особенности почвенных и растительно-микробных систем;
- методы исследования эволюционных процессов в метагеномах различных экосистем

уметь:

- самостоятельно проводить эксперименты по заданной схеме, используя основные методы метагеномного анализа;
- анализировать полученные экспериментальные данные с использованием самых современных компьютерных программ и интернет-ресурсов для анализа метагеномных данных;
- самостоятельно приобретать новые знания в данной области и применять полученные знания на практике и при изучении других дисциплин;

владеть:

- навыками работы с литературой в области метагеномных технологий;
- методами получения и анализа экспериментальных данных: методами отбора образцов, сбора метаданных, выделения ДНК, создания ампликонных библиотек; бionформационной обработки результатов секвенирования;
- навыками в использовании лабораторного оборудования, необходимого для реализации методов метагеномного анализа;

3. Структура и содержание дисциплины.

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетных единицы, 108 часов

3.1. Содержание дисциплины

Наименование тем (разделов), их содержание, объем в часах лекционных занятиях.

Тема 1. Место метагеномики в системе современного научного знания. Объекты метагеномного анализа. «Омики»: метагеномика, метатранскриптомика, метаметабономика. История и перспективы развития метагеномики.....2 ч.

Тема 2. Методы метагеномного анализа. Методы выделения и хранения ДНК, особенности выделения ДНК из почвы. Методы T-RFLP, DGGE, ДНК-микрочипов,

получения библиотек клонированных фрагментов генов и геномов. Достоинства и недостатки методов метагеномного анализа природной ДНК2 ч.

Тема 3. Методы метагеномного анализа. Обзор методов, реализованных в технологиях высокопроизводительного секвенирования: метод пиросеквенирования, метод обратимого присоединения терминирующих нуклеотидов, полупроводниковое секвенирование, использование обратимых терминирующих нуклеотидов на одиночных молекулах ДНК, протаскивание ДНК через нанопоры. Основные ресурсы и методы необходимые для первичной обработки данных секвенирования.....2 ч.

Тема 4. Методы биоинформационного анализа метагеномных данных. Исследование таксономической структуры микробных сообществ. Методы молекулярно-филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей, методы OTU-пикинга, построение кривых разряжения и вычисление показателей альфа и бета разнообразия микробных сообществ. Методы депонирования нуклеотидных последовательностей и работы с базами данных.....2 ч.

Тема 5. Методы биоинформационного анализа метагеномных данных. Исследование функциональной структуры микробных сообществ. Современные метагеномные проекты. Особенности сборки и анализа полноразмерных геномов при использовании метагеномных данных. Технология single cell sequencing и перспективы ее использования в функциональной метагеномике2 ч.

Тема 6. Фундаментальные аспекты метагеномики. Концепция разреженной бактериальной биосферы: ошибки в оценках природного биоразнообразия микроорганизмов, связанные с использованием метагеномного подхода, особенности существования микроорганизмов в популяциях малого размера.....2 ч.

Тема 7. Фундаментальные аспекты метагеномики. Использование методов метагеномного анализа для исследования эволюционных процессов в микробных сообществах. Трансформация представлений о виде у прокариот в геномике и метагеномике.....2 ч.

Тема 8. Фундаментальные аспекты метагеномики. Эволюция генов, геномов 9би метагеномов в системе бобово-ризобияльного симбиоза. Особенности формирования микробиомов ризосферы, ризопланы и эндосферы растений.....2 ч.

Всего16 ч.

Лабораторные занятия, их наименование, краткое содержание и объем в часах.

ЛР-1. Инструктаж по технике безопасности при работе в молекулярно-генетической лаборатории. Знакомство с основными приборами молекулярно-генетических исследований: системы проведения ПЦР (полимеразно-цепной реакции), электрофореза в агарозных гелях, системами гель-документации, секвенатором GS Junior.

.....2 ч.

ЛР-2. Обучение базовым навыкам работы в молекулярно-генетической лаборатории. Приготовление основных растворов общелабораторного назначения, стерилизация расходных материалов для молекулярно-генетических исследований, обучение работе с автоматическими дозаторами..... 6 ч.

ЛР-4. Отбор образцов почвы. Выделение ДНК из почвы с использованием внутрилабораторного протокола и с использованием коммерческого набора реактивов фирмы МОБИО. Обучение работе на гомогенизаторе. Приготовление агарозного геля и проведение гель-электрофореза почвенной ДНК. Измерение концентрации ДНК..... 8 ч.

ЛР-5. Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) на материале выделенной ДНК. Количественная ПЦР. Визуализация продуктов амплификации на агарозных гелях с использованием современных систем гель-документирования, измерение концентрации ПЦР-продукта.....8 ч.

ЛР-6. Биоинформационные методы анализа метагеномных данных. Знакомство с основными базами данных для анализа нуклеотидных последовательностей (NCBI, RDP, Silva, Greengenes). Обработка данных пиросеквенирования с использованием программного пакета QIIME: первичная обработка данных пиросеквенирования, OTU-пикинг..... 6 ч.

ЛР-8. Биоинформационные методы анализа метагеномных данных. Обработка данных пиросеквенирования с использованием программного пакета QIIME: анализ таксономического разнообразия микробных сообществ, расчет параметров альфа и бета разнообразия микробных сообществ. Новейшие статистические методы оценки биоразнообразия..... 6 ч.

Всего – 36 часа.

Самостоятельная работа и контроль успеваемости.

На самостоятельную проработку курса отводится 58 часов, в т.ч. по темам:

Тема 1. Место метагеномики в системе современного научного знания	2 ч.
Тема 2. Методы метагеномного анализа.	10 ч.
Тема 3. Методы метагеномного анализа. Секвенирование.	8 ч.
Тема 4. Методы биоинформационного анализа метагеномных данных. Исследование таксономической структуры микробных сообществ.	10 ч.
Тема 5. Методы биоинформационного анализа метагеномных данных. Исследование функциональной структуры микробных сообществ.	8 ч.
Тема 6. Фундаментальные аспекты метагеномики. Концепция разреженной бактериальной биосферы	4 ч.
Тема 7. Фундаментальные аспекты метагеномики. Использование методов метагеномного анализа для исследования эволюционных процессов в микробных сообществах.	8 ч.
Тема 8. Фундаментальные аспекты метагеномики. Эволюция генов, геномов и метагеномов в системе бобово-ризобиального симбиоза.	6 ч.
Всего	56 ч.

3.2. Структура дисциплины

Виды работ	№ семестра 5	№ семестра 6	Всего, часов
Общая трудоемкость	54	54	108
Аудиторная работа	26	26	52
Лекций (Л)	8	8	16
Лабораторные занятия	18	18	36
Самостоятельная работа	26	26	52
<i>Самостоятельное изучение разделов</i>	26	26	52
Вид итогового контроля (Зачет)		4	4

4. Образовательные технологии

В процессе изучения дисциплины используются как традиционные образовательные технологии: информационная лекция и лабораторные занятия.

5. Вопросы выходного контроля (зачет)

Текущий контроль включает решение комплексных ситуационных заданий во время лабораторных работ с целью закрепления полученных знаний и подготовка презентаций по научным статьям, посвященным различным аспектам метагеномики. Итоговый контроль – зачет по билетам.

Билет №1.

1. Метагеномика и молекулярная экология микроорганизмов в контексте современного научного знания. Объекты метагеномного исследования. Метагеном, метатранскриптом, метапротеом, метаметаболом.
2. Особенности существования микроорганизмов в составе «редкой биосферы».

Билет №2.

1. Методы метагеномного анализа, их достоинства и недостатки.
2. Биоразнообразие в сообществах микро и макроорганизмов. Концепция «редкой биосферы».

Билет №3.

1. Некультивируемые микроорганизмы, причины некультивируемости.
2. Вид как открытая генетическая система. Концепция пангенома.

Билет №4.

1. История развития метагеномных исследований. Эксперимент по реассоциации природной ДНК, первые попытки исследования таксономической и функциональной структуры сообществ некультивируемых микроорганизмов.

2. Генотипический подход в систематике прокариот. Ген 16S рРНК - универсальный филогенетический маркер биоразнообразия. Оценка параметра ДНК-ДНК гибридизации и определение процента гомологии последовательностей гена 16S рРНК.

Билет №5.

1. Базы данных для нуклеотидных и белковых последовательностей: GenBank, EMBL, DDBJ. Специализированные базы данных. Сетевые ресурсы для хранения и анализа метагеномных данных.
2. Роль методов высокопроизводительного секвенирования в исследовании таксономического состава «редкой биосферы». Примеры микроорганизмов из «редкой биосферы».

Билет №6.

1. Полногеномное секвенирование. Методы секвенирования полноразмерных геномов. Метагеномные проекты.
2. Альфа, бета и гамма разнообразие. Методы оценки альфа разнообразия микробиомов.

Билет №7.

1. Методы высокопроизводительного секвенирования: пиросеквенирование, секвенирование с использованием проточных ячеек Illumina, одномолекулярное секвенирование. Основные компьютерные ресурсы для анализа данных высокопроизводительного секвенирования.
2. «Редкая биосфера» как артефакт, связанный с учетом временно неактивных и транзитных микроорганизмов.

Билет №8.

1. Анализ и интерпретация данных высокопроизводительного секвенирования. Использование методов молекулярной филогенетики в метагеномном анализе.
2. Концепция вида с позиций метагеномного анализа. Вид как экотип. Исследование полиморфизма природных популяций микроорганизмов с использованием метагеномного анализа.

Билет №9.

1. Методы оценки бета разнообразия микробиомов. Вычисление коэффициентов сходства структуры микробиомов с использованием метода UniFrac, использованием методов многомерной статистики (анализ главных компонент, кластерный анализ) в оценке бета разнообразия.
2. Основные проблемы и перспективы развития метагеномных исследований. Функциональная метагеномика, методы секвенирования геномов отдельных клеток некультивируемых микроорганизмов.

Билет №10.

1. «Редкая биосфера» как артефакт, связанный с ошибками методов, используемых в метагеномном анализе.
2. Гены. Геномы. Метагеномы. Применение методов метагеномного анализа для исследования эволюционных процессов в растительно-микробных системах.

Билет №11

1. Особенности формирования, таксономическая и функциональная структура микробиомов ризосферы, ризопланы и эндосферы растений.

2. Видообразование у прокариот, примеры метагеномного анализа процессов видообразования.

Билет №12

1. Методы выделения ДНК из природного материала. Методические особенности при выделении почвенной ДНК.
2. Место метагеномики в системе научного знания. Предмет и задачи метагеномики.

6. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

Основная литература:

1. The New Science of Metagenomics: Revealing the Secrets of Our Microbial Planet. (National Research Council (US) Committee on Metagenomics: Challenges and Functional Applications, Eds.), National Academies Press, 2007.
2. Handbook of Molecular Microbial Ecology I: Metagenomics and Complementary Approaches. (F.J. de Bruijn, Ed.), Wiley-Blackwell, 2011.
3. Handbook of Molecular Microbial Ecology II: Metagenomics in Different Habitats. (F.J. Bruijn, Ed), Wiley-Blackwell, 2011.
4. Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere: Volume 1 & 2. (F.J. de Bruijn, Ed.), Wiley-Blackwell, 2013.
5. Ребриков Д.В. NGS: высокопроизводительное секвенирование БИНОМ 2014, 232 с.
6. Лукашов Д.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ БИНОМ. Лаборатория знаний. 2009, 256 с.

Дополнительная литература:

1. Omics in Soil Science. (P. Nannipieri, G. Pietramellara, G. Renella, Eds.), Caister Academic Press, 2014.
2. Metagenomics: Theory, Methods and Applications. (D. Marco, Ed.), Caister Academic Press, 2010.
3. Pershina E., Andronov E., Pinaev A., Provorov N. Recent advances and perspectives in metagenomic studies of soil microbial communities. In: Malik A., Grohmann E., Alves M. (Eds) Management of the microbial resources in the environment. Berlin: Springer, 2013. P. 141-166.
4. Брюханов А.Л., Рыбак К.В., Нетрусов А.И. Молекулярная микробиология. М.: изд-во МГУ, 2012. — 474 с.
5. Петрова С., Андронов Е., Пинаев А., Першина Е. Перспективы использования молекулярно-генетического анализа в почвенной экологии //Вестник ОрелГАУ. 2010. Т.26. №5. С.45-48.

Учебно-методическое обеспечение для самостоятельной работы обучающихся по дисциплине:

1. Metagenomics Methods and Protocols. (S. Wolfgang, D. Rolf, Eds.), Springer, 2010.
2. PCR Primer Design. Methods Mol. Biol., vol. 402, (A.Yuryev Ed.), Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007.
3. van Pelt-Verkuil E., van Belkum A., Hays J.P. Principles and Technical Aspects of PCR Amplification. Springer. 2008.
4. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование. Пер. с англ. - М.: Мир, 1984

Ресурсы информационно-телекоммуникационной сети "Интернет" (далее - сеть "Интернет"), необходимых для освоения дисциплины.

№ пп	Название информационного ресурса	Электронный адрес	Описание
1	National Center for Biotechnology Information (NCBI), Национальный центр биотехнологии информации, США	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/	Позволяет производить поиск научной литературы по тематике курса, является наиболее крупной базой данных нуклеотидных последовательностей
3	Ribosomal Database Project - Michigan State University. Проект базы данных рибосомной РНК Мичиганского Государственного университета	http://rdp.cme.msu.edu/	Наиболее крупная база данных, содержащая последовательности рибосомных РНК различных организмов
4	Earth Microbiome Project. Американский проект по сбору и анализу метагеномных данных, полученных из различных экосистем планеты	http://www.earthmicrobiome.org/	Информационный ресурс, являющийся одновременно крупной базой данных ряда метагеномных проектов.
2	ТерраGenome (Франция) Метагеномный проект направленный на сбор и анализ метагеномных данных по почвенной метагеномике	http://www.terragenome.org/	Позволяет осуществлять доступ к информации по различным метагеномным проектам в области почвенной метагеномики
5	«eLIBRARY.RU - НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ	http://elibrary.ru/defaultx.asp	Ресурс представляет собой базу данных авторов и их публикаций.

	БИБЛИОТЕКА»	Позволяет приобретать и просматривать в бесплатном режиме отдельные публикации.
--	-------------	---

Информационные технологии, используемые при осуществлении образовательного процесса по дисциплине, включая перечень программного обеспечения и информационных справочных систем (при наличии).

Номер п/п	Название программного обеспечения	Ссылка на расположение в сети интернет
1	QIIME	http://qiime.org/
2	The R Project	http://www.r-project.org/
4	MOTHUR	http://www.mothur.org/
5	MG-RAST	http://metagenomics.anl.gov/

7. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Лабораторные и практические занятия по дисциплине проводятся на базе лаборатории микробиологического мониторинга и биоремедиации почв ФГБНУ ВНИИСХМ, оснащенной комплексом современного оборудования и материалов для проведения молекулярно-генетических исследований (ПЦР-бокс, ламинар, амплификаторы, центрифуги, термостаты, шейкеры, трансиллюминатор, ДНК гель-документационная система, камеры для электрофореза ДНК в агарозном геле, секвенатор GS Junior (Roche), источники питания, наборы автоматических пипеток).

8. Кадровое обеспечение дисциплины

Реализацию образовательного процесса обеспечивают сотрудники:

к.б.н. Е.Е. Андронов

к.б.н. Е.В. Першина

Автор программы: к.б.н. Е.Е. Андронов – зав. лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв.

Рабочая программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по профилю направления подготовки 03.02.03 Микробиология и утверждена на заседании Ученого совета от 15 мая 2015 г., протокол № 6

Председатель Ученого совета



И.А. Тихонович