

МЕТАГЕНОМІКА ТА БІОМІКА МІКРООРГАНІЗМІВ

Кафедра Екобіотехнології та біорізноманіття

Агробіологічний факультет

<i>Лектор</i>	Патика Микола Володимирович
<i>Семестр</i>	2
<i>Освітньо-науковий ступінь</i>	phD доктор філософії
<i>Кількість кредитів ЄКТС</i>	5
<i>Форма контролю</i>	Екзамен
<i>Аудиторні години</i>	50 (20 год лекцій, 30 год лабораторних занять)

Загальний опис дисципліни

Метою даної дисципліни є формування у аспірантів сучасних знань щодо різноманіття мікробних угруповань різних середовищ, метагеноміки та біоміки мікроорганізмів, ознайомлення з принципами використання молекулярно-біологічних методів у наукових та виробничих процесах, біотехнологіях, а також у виробництві практично-цінних продуктів, набуття уявлень і розуміння про основні мікробіологічні, генетичні, біохімічні, фізіологічні процеси, які базуються на генетичній і клітинній інженерії, мікробіології, технологіях мікробного синтезу, механізмах взаємодії мікро-, макроорганізмів та інше.

Теми лекцій:

Тема 1. Молекулярні методи дослідження структури біому, метагеному мікробних угруповань. Метагеном – екологічне джерело генів. Біобезпека ДНК-технологій.

Тема 2. Незалежні від культивування молекулярно-біологічні методи вивчення структурного та функціонального різноманіття мікроорганізмів у навколишньому середовищі.

Тема 3. Методи генетичного фінгерпринтингу. Денатуруючий та температурний градієнтний гель-електрофорез. Випадкова ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD). Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).

Тема 4. Геномна бібліотека. Репрезентативність геномних бібліотек.

Тема 5. Прямий відбір цільового клону. Стандартна процедура скринінгу. Типові бібліотеки клонів генів 16S рРНК.

Тема 6. Мікрочіпи генів 16S рРНК (PhyloChips) і функціональні генні масиви (FGA).

Тема 7. Секвенування, яке включає екстракцію ДНК з чистих культур; випадкову фрагментацію отриманої геномної ДНК на невеликі фрагменти ~ 2 т. п. н., лігування і клонування фрагментів ДНК у плазмідному векторі; двонаправлене секвенування фрагментів ДНК.

Тема 8. Отримання нуклеотидних послідовностей, опрацювання отриманих даних шляхом фільтрації, вирівнювання, відбору та класифікації за допомогою спеціалізованих комп'ютерних програм (MEGAN, QIIME та ін.).

Тема 9. Анотації послідовностей у відкритих рамах зчитування (ORF) для прогнозування закодованих білків (функцій).

Тема 10. Сучасні розробки методів зчитування коротких послідовностей – піросеквенування. Програми секвенування геномів, доступні для еволюційних досліджень, порівняльної геноміки та протеоміки у пошукових базах даних IMG, NCBI, GOLD. Сучасні публічні бази даних для проектів секвенування, які містить понад 1000 повних геномів прокариот. Платформи секвенування нового покоління *Roche/454*, *Illumina/Solexa*, *Life/APG*, *HeliScope/HelicosBioSciences*.

Теми лабораторних занять:

1. ПЛР, гель-електрофорез, детекція ПЛР-продукту.
2. Ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD).
3. Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).
4. Робота з опрацювання отриманих даних за допомогою спеціалізованих комп'ютерних програм (MEGAN, QIIME тощо).
5. Програми секвенування геномів. Публічні бази даних.

Список рекомендованої літератури:

Базова:

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / пер. с англ. М. : Мир, 2002. 589 с.
2. Patyka N. V., Kruglov Yu. V., Tikhonovich I. A., et al. [Profile of restriction fragment length polymorphism (tRFLP) of a complex of prokaryotic microorganisms of podzolic soils]. *Add. NAS of Ukraine*. 2009. № 1. 187–192. Russian.
3. Ursel M, Schütte E, Abdo Z, et al. Advances in the use of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis of 16S rRNA genes to characterize microbial communities. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 2008. № 80 (3). P. 365–380.
4. Маниатис Т., Фритч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М. : Мир, 1984. 480 с.
5. Patyka N. V., Kolodyazhnyi A. Yu., Ibatullin I. I. The evaluation of metagenome and detection of functionally significant polymorphisms of prokaryotes of soil by method of pyrosequencing. *Microbiological journal*. 2016. № 78 (2). P. 43–51.
6. Пиневиц А. В. Микробиология. Биология прокариотов: учебник в 3 т. СПб.: Изд-во, С.-Петербург. Ун-та, 2006. Т. 1. 356 с.
7. Uroz S., Buee M., Murat C. [et al.]. Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and surrounding soil. *Environ Microbiol.* 2010. №. 2. P. 281–288.
8. Першина Е., Тамазян Г., Дольник А. [и др.] Изучение структуры микробного сообщества засоленных почв с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Экологическая генетика*. 2012. Т 10, № 2. С. 31–38.
9. Green Tringe S., Rubin M. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. *Nature reviews: Genetics*. Nature Publishing Group. 2005. Vol. 6. P. 805–814.
10. Гадзало Я. М., Патыка Н. В., Заришняк А. С. Агробиология ризосферы растений: монографія К.: Аграрна наука, 2015. 386 с.
11. Amann R. I., Ludwig W., Schleifer K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 1995. 59. P.143–169.

Допоміжна:

1. Sanford et al. *Methods in enzymology*. 1993. Vol. 217. P. 482–509.
2. Ніколайчук В. І., Горбатенко І. Ю. Генетична інженерія: [Підручник]. Ужгород, 1999. 188с.
3. Уотсон Дж. Рекомбинантні ДНК: Краткий курс: Пер. с англ. / Дж. Уотсон, Дж. Туз, Д. Курц. М.: Мир, 1986. 288 с.
4. Глеба Ю. Ю., Сытник К. М. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений. Киев: Наук. думка, 1982. 104 с.
5. Hugenholtz P. Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol.* 2002. V. 3. Reviews0003.
6. Ghebremedhin B., Layer F., König W., König B. Genetic classification and distinguishing of *Staphylococcus* species based on different partial gap, 16 rRNA, hsp60, rpoB, sodA, and tuf gene sequences. *J. Clin. Microbiol.* 2008. V. 46. P. 1019–1025.

7. Muyzer G., Waal E. C. D., Uitterlinden A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. 59. P. 695–700.