

Аннотация курса

Генотипирование и серодиагностика микроорганизмов

к.б.н. Мигунова А.В.

(экзамен - 2 зачетные единицы)

Магистратура, 1 курс, 1 семестр

Раздел 1. История систематики микроорганизмов. Первооткрыватели, мономорфисты, плеiomорфисты, морфологический и физиологический подход, современная номенклатура, семантиды Лаймуса Полинга, реликтовые органические молекулы и древо Карла Воза.

Раздел 2. Белки в эволюции и онтогенезе. Методы разделения, выделения и идентификации белков. Анализ аминокислотных последовательностей, определение первичной структуры, порядка расположения пептидов и третичной структуры белка. Родственные связи, гомология последовательностей, топологическое родство. Фазы эволюции белков.

Раздел 3. Основные понятия в серологии. Антитела, антигены, антигенность, иммуногенность, видовая и групповая специфичность, типоспецифичность

Раздел 4. Практическое применение серологических методов. Иммунизация. Выбор лабораторных животных. Роль адъювантов. Способы иммунизации. Получение сывороток.

Раздел 5. Методы иммунного анализа. Определение титра антигенов и антител методом агглютинации. Иммунодиффузия в геле. Вестерн-блоттинг.

Раздел 6. Иммунофлуоресценция. Флуоресцирующие красители. Приготовление флуоресцирующих антител. Получение антиглобулиновых сывороток. Получение иммунных сывороточных глобулинов.

Раздел 7. Флуоресцентные методы. Метка антител. Прямой метод иммунофлуоресценции. Непрямой метод иммунофлуоресценции. Окраска комплемента (определение неизвестного АГ и АТ данным методом). Стабильность и сохранение препаратов флуоресцирующих АТ. Преимущества и недостатки флуоресцентных методов.

Раздел 8. Методы с использованием системы биотин-авидин и лектины. Биотин. Авидин. Биотинирование белков. Лектины. История их открытия, роль в природе, значение в эволюции и применение на практике.

Раздел 9. Выделение и фракционирование нуклеиновых кислот. Методы выделения и очистки ДНК. Выделение РНК. Разделение и фракционирование нуклеиновых кислот. Адсорбционная хроматография. Распределительное разделение с помощью хроматографии. Идентификация и разделение нуклеиновых кислот в пико- и нанограммовых количествах.

Раздел 10. Нуклеотидный состав ДНК: его определение и значение. Физические методы определения нуклеотидного состава. Температура плавления. Оптический метод установления плотности ДНК. Таксономическое значение нуклеотидного состава ДНК. Гибридизация нуклеиновых кислот. Техника проведения экспериментов по реассоциации молекул нуклеиновых кислот и интерпретация полученных результатов. Биологическая гибридизация.

Раздел 11. Методы анализа нуклеиновых кислот. Рестрикционный анализ. Полимеразная цепная реакция с универсальными праймерами. Методы расшифровки нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК. Секвенирование. Секвенирование ДНК по Сэнгеру: «плюс-минус» метод. Секвенирование ДНК по Сэнгеру: метод «терминаторов».

Раздел 12. Методы анализа нуклеиновых кислот. Секвенирование ДНК по Максому и Гилберту: метод «химической дегградации». Расщепление по гуанину и аденину. Расщепление по цитозину и тимину. Автоматическое секвенирование ДНК. Пиросеквенирование. Чип-гибридизация. Флуоресцентные красители. Полимеразы, используемые при секвенировании ДНК. Секвенирующий гель и электрофорез. Современные секвенаторы.

Раздел 13. Гибридизация in situ (FISH-гибридизация). ПЦР. Bridge amplification. Пиросеквенаторы. Сравнительная характеристика секвенаторов. Комплексный подход к систематике прокариот. Таксономические выводы.