

**АВТОНОМНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»
(АНОО ВО «УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»)**

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

«Практикум по вирусологии»

Уровень образования:	высшее образование – программа специалитета
Специальность:	06.05.01 Биоинженерия и биоинформатика
Направленность (профиль):	Биоинженерия

1. Трудоемкость дисциплины (модуля): 2 з.е.

2. Место дисциплины в учебном плане: дисциплина «Практикум по физиологии человека и животных» входит в Блок 1. «Дисциплины (модули)», обязательную часть, раздел «Профессиональная подготовка» и изучается в 10 модуле (5 семестр).

3. Цель дисциплины (модуля): освоить базовые методы работы с вирусами, включая культивирование, количественные и молекулярные методы анализа, формирование навыков безопасной лабораторной работы с вирусосодержащими материалами, а также развитие умений интерпретировать и оформлять экспериментальные данные, необходимых для профессиональной деятельности вирусолога.

4. Задачи дисциплины (модуля):

- Освоение навыков практической работы на лабораторном оборудовании, сбора и анализа показателей, важных для понимания механизмов работы вирусов.
- Формирование представлений об основных методах эксперимента в вирусологии.

5. Перечень разделов (тем) дисциплины и их краткое содержание:

Наименование раздела (темы) дисциплины (модуля)	Краткое содержание
Техника безопасности при работе с вирусами	Правила работы с вирусосодержащим материалом. Классы опасности вирусов и уровни биобезопасности. Оценка риска. Персональная защита. Асептика и стерильность. Перекрёстная контаминация. Ламинарный бокс. Дезинфекция рабочих поверхностей. Стерилизация инструментов и посуды. Автоклавирование. Рабочий журнал. Маркировка..
Микроскопия в арсенале вирусолога: световая и электронная	Световая микроскопия в вирусологии. Вирусные частицы, которые можно увидеть в световой микроскоп. Подготовка предметных и покровных стекол. Устройство электронного микроскопа. Сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия. Принципы контрастирования образцов. Подготовка вирусных образцов для сканирующей электронной микроскопии. Непосредственная работа со сканирующим электронным микроскопом. Получение фотографий вирусных частиц. Разбор фотографий из баз данных с изображениями зараженных тканей и клеток под трансмиссионным электронным микроскопом.
Формирование вирусных бляшек	Знакомство с принципом метода бляшкообразования. Механизм лизиса бактериальной клетки фагом. Фаг и чувствительный штамм <i>Escherichia coli</i> . Подготовка чашек с агаром. Приготовление верхнего мягкого агара. Стерилизация среды и инструментов. Подготовка фаговой суспензии. Наблюдение за образованием фаговых бляшек. Подсчёт числа бляшек в разведениях. Расчёт титра фаговой суспензии. Оформление данных: таблицы, графики, логарифмические шкалы. Фотографирование чашек с бляшками.
Количественное определение	Обзор принципов полимеразной цепной реакции. Различия между классической, количественной и цифровой ПЦР. Выбор мишени: ген вируса, консервативный участок. Подбор

концентрации вируса в образце методом ПЦР	праймеров. Подготовка вирусодержащих образцов для экстракции. Экстракция нуклеиновой кислоты вируса. Оценка качества и количества нуклеиновых кислот. Подготовка мастер-микса. Разведение образцов и стандартов в необходимых концентрациях. Загрузка образцов. Настройка параметров амплификации. Построение стандартной кривой на основе серийных разведений.. Сравнение с другими методами количественной оценки вируса. Предотвращение контаминации ампликонами: отдельные зоны до и после ПЦР.
Биоинформатика вирусов	Поиск вирусных геномов в базах данных. Фильтрация результатов. Изучение аннотаций. Скачивание последовательностей. Анализ полной записи. Извлечение аминокислотных последовательностей белков вируса. Сравнение генов вирусов из разных регионов или хозяев. Выравнивание. Идентификация ближайших гомологов вирусного гена. Оценка степени сходства между последовательностями. Интерпретация филогенетических связей между штаммами. Обсуждение вирусной эволюции на основе биоинформатических данных. Разбор ошибок поиска: неполные записи, неправильные ключевые слова, псевдогены.
Вирусы и клеточная культура	Использование в вирусологии культур клеток. Преимущества перед другими системами культивирования. Введение в основы культивирования клеток. Классификация клеточных культур: первичные, перевиваемые, непрерывные линии. Выбор клеточной линии, чувствительной к вирусу. Выдержка клеток с вирусом для адсорбции. Удаление вирусной суспензии, промывание клеток. Наблюдение за цитопатическим эффектом. Цитологический мазок. Проверка жизнеспособности клеток после заражения.

6. Образовательные результаты освоения дисциплины (модуля):

Код и наименование компетенции	Код и наименование индикатора достижения компетенции
ОПК-1. Способен проводить наблюдения, описания, идентификацию и научную классификацию организмов (прокариот, грибов, растений и животных)	ИОПК-1.1 Владеет системой знаний, позволяющих проводить идентификацию и научную классификацию организмов (прокариот, грибов, растений и животных)
	ИОПК-1.2 Владеет системой научных методов, необходимых для наблюдения и описания организмов (прокариоты, грибы, растения и животные)
	ИОПК-1.3 Применяет результаты наблюдения, идентификации и научной классификации организмов (прокариот, грибов, растений и животных) для решения задач в области биоинженерии
ОПК-3 Способен проводить экспериментальную работу с организмами и клетками, использовать физико-химические методы исследования макромолекул,	ИОПК-3.1 Применяет полученные знания об экспериментальной работе в области биотехнологии и адекватно выбирает алгоритмы для решения задач в области биоинженерии

математические методы обработки результатов биологических исследований	ИОПК-3.2 Выбирает оптимальные пути решения биотехнологических задач на основе современной методологии с использованием современного оборудования и экспериментальных методов
	ИОПК-3.3 Работает с современным лабораторным оборудованием общего назначения, а также специализированными приборами для молекулярно-генетических исследований (амплификаторы, приборы для электрофоретического разделения биомолекул и т.п.)

7. Оценочные и методические материалы

7.1. Оценочные материалы для организации текущего контроля

Лабораторные работы (ЛР 1-8)

Форма: устная, синхронная

Место и время проведения: во время контактной работы на лабораторных работах, согласно расписанию.

Примеры лабораторных работ:

Лабораторная работа 1. Техника безопасности при работе с вирусами.

Правила работы с вирусосодержащим материалом. Классы опасности вирусов и уровни биобезопасности. Оценка риска. Персональная защита. Асептика и стерильность. Перекрёстная контаминация. Ламинарный бокс. Дезинфекция рабочих поверхностей. Стерилизация инструментов и посуды. Автоклавирование. Рабочий журнал. Маркировка. Обеззараживание и утилизация вирусосодержащего материала. Хранение вирусов. Ограничение доступа в лабораторию. Чистая и грязная зоны. Действия при авариях. Соответствие нормативам. Соблюдение требования СанПиН, ГОСТ, локальных протоколов.

Лабораторная работа 2. Микроскопия в арсенале вирусолога: световая.

Световая микроскопия в вирусологии. Вирусные частицы, которые можно увидеть в световой микроскоп. Подготовка предметных и покровных стекол. Изготовление мазков. Подсчет вирусного титра в камере Горяева. Косвенные признаки вирусных инфекций в зараженных тканях. Наблюдение морфологических изменений на фотографиях зараженных тканей. Различие между нормальными и поражёнными вирусом клетками.

Лабораторная работа 3. Микроскопия в арсенале вирусолога: электронная.

Устройство электронного микроскопа. Сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия. Принципы контрастирования образцов. Подготовка вирусных образцов для сканирующей электронной микроскопии. Непосредственная работа со сканирующим электронным микроскопом. Получение фотографий вирусных частиц. Разбор фотографий из баз данных с изображениями зараженных тканей и клеток под трансмиссионным электронным микроскопом. Обнаружение вирионов и вирусных телец включений в патологическом материале.

Лабораторная работа 4. Формирование вирусных бляшек.

Знакомство с принципом метода бляшкообразования. Механизм лизиса бактериальной клетки фагом. Фаг и чувствительный штамм *Escherichia coli*. Подготовка чашек с агаром. Приготовление верхнего мягкого агара. Стерилизация среды и инструментов. Подготовка фаговой суспензии. Разведение фаговой суспензии по десятичным шкалам. Внесение фаговых разведений в

пробирки с культурой *E. coli*. Инкубация смеси фага и бактерий для адсорбции. Заливка смеси бактерий и фага в мягком агаре на чашки. Инкубация чашек при оптимальной температуре. Наблюдение за образованием фаговых бляшек. Подсчёт числа бляшек в разведениях. Расчёт титра фаговой суспензии. Оформление данных: таблицы, графики, логарифмические шкалы. Фотографирование чашек с бляшками.

Лабораторная работа 5-6. Количественное определение концентрации вируса в образце методом ПЦР.

Обзор принципов полимеразной цепной реакции. Различия между классической, количественной и цифровой ПЦР. Выбор мишени: ген вируса, консервативный участок. Подбор праймеров. Подготовка вирусосодержащих образцов для экстракции. Экстракция нуклеиновой кислоты вируса. Оценка качества и количества нуклеиновых кислот. Подготовка мастер-микса. Разведение образцов и стандартов в необходимых концентрациях. Загрузка образцов. Настройка параметров амплификации. Построение стандартной кривой на основе серийных разведений. Контроль отрицательных и положительных образцов. Мониторинг флуоресценции в реальном времени. Получение значений C_q для каждого образца. Расчет концентрации вируса в образце на основе C_q и стандартной кривой. Анализ специфичности реакции по кривым плавления. Интерпретация данных: клинический и эпидемиологический смысл. Обсуждение чувствительности и специфичности метода. Сравнение с другими методами количественной оценки вируса. Предотвращение контаминации ампликонами: отдельные зоны до и после ПЦР.

Лабораторная работа 7. Биоинформатика вирусов.

Поиск вирусных геномов в базах данных. Фильтрация результатов. Изучение аннотаций. Скачивание последовательностей. Анализ полной записи. Извлечение аминокислотных последовательностей белков вируса. Сравнение генов вирусов из разных регионов или хозяев. Выравнивание. Идентификация ближайших гомологов вирусного гена. Оценка степени сходства между последовательностями. Поиск мутаций и различий в последовательностях. Создание множественного выравнивания. Определение консервативных и переменных участков. Интерпретация филогенетических связей между штаммами. Разбор ошибок поиска: неполные записи, неправильные ключевые слова, псевдогены.

Лабораторная работа 8. Вирусы и клеточная культура.

Использование в вирусологии культур клеток. Преимущества перед другими системами культивирования. Введение в основы культивирования клеток. Классификация клеточных культур: первичные, перевиваемые, непрерывные линии. Выбор клеточной линии, чувствительной к вирусу. Ознакомление с морфологией клеток под микроскопом. Подготовка среды культивирования: базовая среда, сыворотка, антибиотики. Разогрев среды и расходных материалов. Работа в ламинарном боксе: правила асептики. Обработка поверхности и оборудования дезинфицирующими растворами. Планирование опыта: MOI, длительность инкубации, контрольные группы. Подсчет клеток. Пересев клеток. Добавление вируса в питательную среду. Выдержка клеток с вирусом для адсорбции. Удаление вирусной суспензии, промывание клеток. Наблюдение за цитопатическим эффектом. Цитологический мазок. Проверка жизнеспособности клеток после заражения.

Проанализировать основные процессы пищеварения, деятельность пищевого центра, механизмы переваривания пищи в ротовой полости и желудке, регуляцию секреции слюнных и желудочных желез. Дать характеристику основных процессов обмена веществ и энергии. Изучить механизмы их регуляции.

Работа 1. Переваривание крахмала ферментами слюны человека. Работа 2. Исследование ферментных свойств желудочного сока. Работа 3. Влияние желчи на жиры. Работа 4. Определение основного обмена по таблицам. Работа 5. Вычисление величины отклонения

основного обмена от нормы по формуле Рида. Работа 6. Определение коэффициента физической активности человека.

Критерии оценки:

1. Лабораторная работа выполнена (2,5).
2. Лабораторная работа не выполнена (0).

7.2. Оценочные материалы для организации промежуточной аттестации

- Форма проведения: устная (синхронная), в очном формате в зависимости от расписания. Промежуточная аттестация включает в себя: консультацию (К1), которая проводится после изучения 1-го модуля; экзамен (Э1), который проводится после изучения 2-го модуля; консультацию (К2), которая проводится после изучения 3-го модуля; экзамен (Э2), который проводится после изучения 4-го модуля.

- Место проведения: учебная аудитория.

Пример экзаменационного задания:

1. Расчет концентрации вируса в образце на основе S_q и стандартной кривой.
2. Обеззараживание и утилизация вируссодержащего материала.

В каждом экзаменационном билете будет указано два вопроса из предложенного перечня вопросов для подготовки к экзаменам. Дополнительные вопросы будут также выбраны из предложенного перечня вопросов для подготовки к экзаменам. Максимальный балл на экзамене – 10 баллов с учётом дополнительных вопросов.

Критерии оценки:

1. Получен правильный ответ на первый вопрос (2).
2. Полнота правильного ответа (0-2).
3. Получен неправильный ответ на первый вопрос (0).
4. Получен правильный ответ на второй вопрос (2).
5. Полнота правильного ответа (0-2).
6. Получен неправильный ответ на второй вопрос (0).
7. Получены ответы на дополнительные вопросы (0-2).

7.3. Методические рекомендации

Обучение по дисциплине предполагает изучение курса на аудиторных занятиях (практические занятия) и в ходе самостоятельной работы студентов. Студентам необходимо ознакомиться с содержанием рабочей программы дисциплины, с целями и задачами дисциплины, ее связями с другими дисциплинами образовательной программы, методическими разработками по данной дисциплине.

Обучение по дисциплине проводится последовательно путем проведения практических занятий с углублением и закреплением полученных знаний в ходе самостоятельной работы с последующим переводом знаний в умения в ходе практических занятий. Получение углубленных знаний по изучаемой дисциплине достигается за счет дополнительных часов к аудиторной работе самостоятельной работы студентов. Выделяемые часы целесообразно использовать для знакомства с дополнительной научной литературой по проблематике дисциплины, анализа научных концепций и современных подходов к осмыслению рассматриваемых проблем. К самостоятельному виду работы студентов относится работа в библиотеках, в электронных поисковых системах и т.п. по сбору материалов, необходимых для проведения практических занятий или выполнения конкретных заданий преподавателя по изучаемым темам. Обучающиеся могут установить электронный диалог с преподавателем, выполнять посредством него контрольные задания.