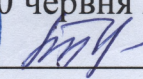


**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

На засіданні вченої ради агробіологічного факультету

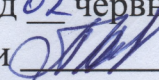
Протокол № 9 від 10 червня 2020 р.

Декан факультету:  Тонха О. Л.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО

На засіданні кафедри екобіотехнології та біорізноманіття

Протокол № 4 від 02 червня 2020 р.

Завідувач кафедри:  Патика М. В.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

«МЕТАГЕНОМІКА ТА БІОМІКА МІКРООРГАНІЗМІВ»

Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»
Спеціальність	201 «Агрономія»
Рівень вищої освіти	Третій освітньо-науковий
Факультет	Агробіологічний

Розробники: д. с.-г. н., член-кор. НААН Патика М. В.,
д. с.-г. н., с. н. с. Патика Т. І.

Київ – 2020

1. Опис навчальної дисципліни «Метагеноміка та біоміка мікроорганізмів»

Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь		
Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»	
Освітньо-науковий рівень	Третій	
Освітній ступінь	Доктор філософії	
Спеціальність	201 «Агрономія»	
Освітньо-наукова програма	«Агрономія»	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	Вибіркова	
Загальна кількість годин	150	
Кількість кредитів ECTS	5	
Кількість змістових модулів	-	
Форма контролю	Іспит	
Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форм навчання		
	Денна форма навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	1	2
Семестр	2	1
Лекційні заняття	20	20
Практичні, семінарські заняття	-	-
Лабораторні заняття	30	30
Самостійна робота	100	100
Індивідуальні завдання	-	-
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання	5	-

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Метагеноміка являє собою принципово новий спосіб вивчення світу мікроорганізмів, що не тільки сприятиме розвитку сучасної мікробіології, але і має потенціал для принципово нового розуміння складу, структури і функцій всього живого світу.

Метою курсу «Метагеноміка та біоміка мікроорганізмів» 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.

Завдання курсу «Метагеноміка та біоміка мікроорганізмів» полягає в тому, щоб ознайомити та сформувавши знання з основ метагеноміки, яка дозволяє проводити геномний аналіз цілих біомів мікроорганізмів, минаючи необхідність виділення і культивування їх окремих представників. Впроваджувати нові наукові підходи та супутні молекулярно-біологічні методичні технології, які дають масу можливостей для вивчення мікробних угруповань, а також управляти енергетичними та поживними потоками планети, підтримувати гомеостаз і формувати умови для розвитку умов життя.

Метагеноміка дозволяє наповнювати і генерувати знання про ризосферні мікробні взаємодії, на базі та при використанні яких буде можливо ефективно вирішувати питання продовольчої і енергетичної безпеки. Метагеноміка поєднує в собі геноміку, біоінформатику і системну біологію. В оперативному відношенні вона включає в себе вивчення геномів багатьох організмів одночасно. Також забезпечує на новому рівні доступ до мікробного світу. Переважна більшість мікроорганізмів (до 90 %) не може бути культивованою в лабораторних умовах і тому не може бути вивченою класичними методами мікробіології. Однак екологічні питання існування та функціонування мікроорганізмів (груп, комплексів тощо) не є новими для біології, фізіології, генетики, мікробіології, екології, в зв'язку з чим використання геноміки в вивченні угруповань дає неперевершену можливість розширити обсяг відповідних знань. Наявні на сьогодні наукові знання були отримані на основі відносно невеликої кількості культивованих представників мікроорганізмів.

Мікробіом являє собою різноманітність мікробних видів з різними метаболічними активностями. Головні характеристики мікробіому включають: величезну різноманітність на рівні родів і на рівні видів, які варіюють схеми диверсифікації в рамках зразків, варіабельність мікробіому окремого індивідуума, метаболічні шляхи, фактори стійкості до

фітопатогенних організмів, стресових факторів довкілля, зміни мікробіоти при розвитку різних процесів в організмі.

Таким чином, недостатня кількість даних не дає уявлення відносно того, що з себе представляє мікросвіт і як цим можна управляти. Вивчення природи дійсно дасть відповідь і нові знання щодо питань формування мікробної екології та еволюції. Основні питання включають в себе наступне:

- яке філотипове різноманіття формується (філогенетичні питання);
- які види і таксони із загального метагеному присутні та функціонують в даний момент часу, їх структурний і текстурний розподіл (геномні питання);
- які функції вони виконують (метаболічні та функціональні питання);
- які ресурси вони використовують (біогеохімічні питання).

3. Програма та структура навчальної дисципліни для повного терміну денної (заочної) форми навчання

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 містять понад 1000 повних геномів прокариот. Платформи секвенування нового покоління *Roche/454*, *Illumina/Solexa*, *Life/APG*, *HeliScope/HelicosBioSciences*.

Структура навчальної дисципліни

Назви тем	Кількість годин											
	денна форма						Заочна форма					
	усього	у тому числі				с. р.	усього	у тому числі				с.р.
1	л	п	лаб	інд	8		л	п	лаб	інд	13	
Тема 1. Молекулярні методи дослідження структури біому, метагеному мікробних угруповань. Метагеном – екологічне джерело генів. Біобезпека ДНК-технологій.	14	2		2		10	14	2		2		10
Тема 2. Незалежні від культивування молекулярно-біологічні методи вивчення структурного та функціонального різноманіття мікроорганізмів у навколишньому середовищі.	16	2		4		10	16	2		4		10
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).	14	2		2		10	14	2		2		10
Тема 4. Геномна бібліотека. Репрезентативність геномних бібліотек.	14	2		2		10	14	2		2		10
Тема 5. Прямий відбір цільового клону. Стандартна процедура скринінгу. Типові бібліотеки клонів генів 16S рРНК.	16	2		4		10	16	2		4		10
Тема 6. Мікрочіпи генів 16S рРНК(PhyloChips) і функціональні генні масиви (FGA).	16	2		4		10	16	2		4		10
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.	14	2		2		10	14	2		2		10
Тема 8. Отримання нуклеотидних послідовностей, опрацювання отриманих даних шляхом фільтрації, вирівнювання, відбору та класифікації за допомогою спеціалізованих комп'ютерних програм (MEGAN, QIIME та ін.).	16	2		4		10	16	2		4		10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Тема 9. Анотації послідовностей у відкритих рамках зчитування (ORF) для прогнозування закодованих білків (функцій).	16	2		4		10	16	2		4		10
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 містять понад 1000 повних геномів прокариот. Платформи секвенування нового покоління <i>Roche/454</i> , <i>Illumina/Solexa</i> , <i>Life/APG</i> , <i>Heliscope/HelicosBioSciences</i> .	14	2		2		10	14	2		2		10
Усього годин	150	20		30		100	150	20		30		100

4. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	ПЛР, гель-електрофорез, детекція ПЛР-продукту.	5
2	Ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD).	5
3	Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).	5
4	Робота з опрацювання отриманих даних за допомогою спеціалізованих комп'ютерних програм (MEGAN, QIIME тощо).	5
5	Програми секвенування геномів. Публічні бази даних.	5

5. Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1.	Генетичне різноманіття та філогенетичний аналіз м/о	20
2.	Дослідження плазмидного складу м/о. Бібліотеки клонів генів 16S рРНК.	20
3.	Кластерний аналіз профілів ДНК м/о	20
4.	Комплексні дослідження ресурсів біому і структури мікробного (прокариотного) різноманіття.	20

6. Методи навчання

Успіх навчання загалом залежить від внутрішньої активності аспірантів, від характеру їхньої діяльності, то саме характер діяльності, ступінь самостійності та творчості мають бути важливими критеріями у виборі методу.

Пояснювально-ілюстративний метод. Аспіранта здобувають знання, слухаючи розповідь, лекцію, з навчальної або методичної літератури, через екранний посібник у «готовому» вигляді. Сприймаючи й осмислюючи факти, оцінки, висновки, вони залишаються в межах репродуктивного

(відтворювального) мислення. Такий метод якнайширше застосовують для передавання значного масиву інформації. Його можна використовувати для викладення й засвоєння фактів, підходів, оцінок, висновків.

Репродуктивний метод. Ідеться про застосування вивченого на основі зразка або правила. Діяльність тих, кого навчають, є алгоритмічною, тобто відповідає інструкціям, розпорядженням, правилам – в аналогічних до представленого зразка ситуаціях.

Метод проблемного викладення. Використовуючи будь-які джерела й засоби, педагог, перш ніж викладати матеріал, ставить проблему, формулює пізнавальне завдання, а потім, розкриваючи систему доведень, порівнюючи погляди, різні підходи, показує спосіб розв'язання поставленого завдання. Студенти стають ніби свідками і співучасниками наукового пошуку.

Частково-пошуковий, або евристичний метод. Його суть – в організації активного пошуку розв'язання висунутих педагогом (чи самостійно сформульованих) пізнавальних завдань або під керівництвом педагога, або на основі евристичних програм і вказівок. Процес мислення набуває продуктивного характеру, але його поетапно скеровує й контролює педагог або самі студенти на основі роботи над програмами (зокрема й комп'ютерними) та з навчальними посібниками. Такий метод, один з різновидів якого є евристична бесіда, – перевірений спосіб активізації мислення, спонукання до пізнання.

Дослідницький метод. Після аналізу матеріалу, постановки проблем і завдань та короткого усного або письмового інструктажу ті, кого навчають, самостійно вивчають літературу, джерела, ведуть спостереження й виміри та виконують інші пошукові дії. Ініціатива, самостійність, творчий пошук виявляються в дослідницькій діяльності найповніше. Методи навчальної роботи безпосередньо переходять у методи, які імітують, а іноді й реалізують науковий пошук.

7. Форми контролю

Контроль знань і умінь (поточний і підсумковий) з дисципліни здійснюють згідно з кредитно-модульною системою організації навчального процесу. Рейтинг студента із засвоєння дисципліни визначається за 100 бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

Критерії оцінки рівня знань на лабораторних, семінарських та практичних заняттях. На лабораторних заняттях кожен студент з кожної теми виконує індивідуальні завдання. Рівень знань оцінюється: “відмінно” – студент дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично вірні відповіді не менш ніж на 90% запитань, рішення задач та лабораторні вправи вірні, демонструє знання підручників, посібників, інструкцій, проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “добре” –

коли студент володіє знаннями матеріалу, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, проте за допомогою викладача швидко орієнтуються і знаходять правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “задовільно” – коли студент дає правильну відповідь не менше ніж на 60 % питань, або на всі запитання дає недостатньо обґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які виправляє за допомогою викладача. При цьому враховується наявність конспекту за темою завдань та самостійність; “незадовільно з можливістю повторного складання” – коли студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35 % питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки. Має неповний конспект лекцій.

Підсумкова (загальна оцінка) курсу навчальної дисципліни. Є сумою рейтингових оцінок (балів), одержаних за окремі оцінювані форми навчальної діяльності: поточне та підсумкове тестування рівня засвоєння теоретичного матеріалу під час аудиторних занять та самостійної роботи (модульний контроль); оцінка (бали) за виконання лабораторних досліджень. Підсумкова оцінка виставляється після повного вивчення навчальної дисципліни, яка виводиться як сума проміжних оцінок за змістовні модулі. Остаточна оцінка рівня знань складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

8. Розподіл балів

Оцінювання здобувачів відбувається згідно положення «Про екзамен та заліки у НУБіП України» від 25.09.2019 р. протокол № 2

Оцінка національна	Оцінка ЄКТС	Визначення оцінки ЄКТС	Рейтинг здобувача, бали
Відмінно	A	ВІДМІННО – відмінне виконання лише з незначною кількістю помилок	90–100
Добре	B	ДУЖЕ ДОБРЕ – вище середнього рівня з кількома помилками	82–89
	C	ДОБРЕ – в загальному правильна робота з певною кількістю грубих помилок	74–81
Задовільно	D	ЗАДОВІЛЬНО – непогано, але зі значною кількістю недоліків	64–73
	E	ДОСТАТНЬО – виконання задовольняє мінімальні критерії	60–63
Незадовільно	FX	НЕЗАДОВІЛЬНО – потрібно працювати перед тим як отримати залік	35–39
	F	НЕЗАДОВІЛЬНО – необхідна серйозна подальша робота	01–34

Для визначення рейтингу здобувача із засвоєння дисципліни $R_{\text{дис}}$ (до 10 балів) одержаний рейтинг з атестації (до 30 балів) додається до рейтингу здобувача з навчальної роботи $R_{\text{НР}}$ (до 70 балів):

$$R_{\text{дис}} = R_{\text{НР}} + R_{\text{АТ}}$$

9. Методичне забезпечення

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти освіти, навчальні плани, навчальні програми з усіх нормативних і вибіркових навчальних дисциплін; програми навчальної, виробничої та інших видів практик; підручники і навчальні посібники; інструктивно-методичні матеріали до семінарських, практичних і лабораторних занять; індивідуальні навчально-дослідні завдання; контрольні роботи; текстові та електронні варіанти тестів для поточного і підсумкового контролю, методичні матеріали для організації самостійної роботи аспірантів.

10. Рекомендована література

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. Рекомбинантны 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.