

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кафедра молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології

_____ доц. Коломієць Ю.В.

“ _____ ” _____ 2020 р.

НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНИЙ КОМПЛЕКС З ДИСЦИПЛІНИ

МОЛЕКУЛЯРНА ВІРУСОЛОГІЯ

спеціальність _____ 162 – «Біотехнології та біоінженерія»

факультет _____ Захисту рослин, біотехнологій та екології

Київ – 2020р.

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Кафедра молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки

“ЗАТВЕРДЖУЮ”Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології

_____ доц. Коломієць Ю.В.

“ _____ ” _____ 2020 р.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНОна засіданні кафедри
молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки
протокол № 10 від «2» червня 2020 р.

Завідувач кафедри

_____ Стародуб М.Ф.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**МОЛЕКУЛЯРНА ВІРУСОЛОГІЯ**

спеціальність _____ 162 – «Біотехнології та біоінженерія»

факультет _____ Захисту рослин, біотехнологій та екології

Укладачі: доцент, к.с.-г.н. Антіпов І.О., в.о. доцента, к.б.н. Гринчук К.В.

Київ – 2020 р.

1. Опис навчальної дисципліни «Молекулярна вірусологія»

Галузь знань, спеціальність, освітньо-кваліфікаційний рівень		
Освітньо-кваліфікаційний рівень	Бакалавр	
Спеціальність	162 – «Біотехнології та біоінженерія»	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	Вибіркова	
Загальна кількість годин	44	
Кількість кредитів ECTS	2,3	
Кількість змістовних модулів	2	
Форма контролю	Залік	
Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форми		
	Денна форма навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	2	2
Семестр	28 год.	16 год.
Лекційні заняття	10 год.	6 год.
Практичні, семінарські заняття		
Лабораторні заняття	10 год.	6 год.
Самостійна робота		
Індивідуальні заняття		
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання	2 год.	

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Мета: Вивчення особливостей будови вірусів на молекулярному рівні, та засвоєння методів молекулярної діагностики вірусів.

Завдання: Засвоїти принципи молекулярної організації вірусів та принципів молекулярної діагностики.

Оволодіти основними методами у роботі з інфекційним матеріалом, проводити діагностику, ідентифікацію вірусів

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен **знати:**

- молекулярну організацію вірусів.
- організацію вірусних геномів
- реплікацію вірусів та експресію вірусних геномів.
- серологічні методи діагностики
- метод полімеразної ланцюгової реакції
- методи молекулярної гібридизації нуклеїнових кислот

вміти:

- володіти методами екстракції РНК та ДНК
- володіти методами визначення концентрації нуклеїнових кислот

- проводити діагностику вірусних захворювань серологічними методами
- використовувати метод імуноферментного аналізу
- провести ПЛР аналіз
- виділяти віруси з рослинних тканин
- проводити біоінформативний аналіз вірусних геномів

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

Назва змістовних модулів і тем	Кількість годин												
	Денна форма							Заочна форма					
	тижн і	ус ьо го	У тому числі					у сьог о	У тому числі				
л			п	ла б	ін д	С. р.	л		п	ла б	ін д	С. р.	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Змістовний модуль 1. Молекулярна організація вірусів.													
Тема 1. Організація вірусів. Організація вірусних геномів.	1-2	4	2		2			2	1		1		
Тема 2. Реплікація вірусів та експресії вірусних геномів.	3-4	4	2		2			2	1		1		
Разом за змістовним модулем 1	8		4		4			4	2		2		
Змістовний модуль 2. Методи молекулярної діагностики вірусів.													
Тема 1. Серологічні методи діагностики.	5-6	6	2		2			1,5	1		1		
Тема 2. Метод полімеразної ланцюгової реакції.	7-8	6	2		2			0,5	0,5		2		
Тема 3. Методи молекулярної гібридизації нуклеїнових кислот	9-10	6	2		2			0,5	0,5		1		
Разом за змістовним модулем 2	12		6		6			6	2		4		
Усього годин	20		10		10			10	4		6		

4. Теми семінарських занять.

№ п.п.	Назва теми	Кількість годин
--------	------------	-----------------

5. Теми практичних занять.

№ п.п.	Назва теми	Кількість годин
--------	------------	-----------------

6. Теми лабораторних занять.

№ п.п.	Назва теми	Кількість годин
1	Синтез фрагментів вірусних нуклеїнових кислот.	2
2	Елюція ампліфікованих фрагментів з агарозного гелю.	2
3	Приготування компетентних клітин для генетичної трансформації.	2
4	Приготування вектору для генетичної трансформації (клонування фрагментів вірусних нуклеїнових кислот).	2
5	Трансформація бактерій векторами з клонованими фрагментами вірусних нуклеїнових кислот.	2

7. Контрольні питання, комплекти тестів для визначення рівня засвоєння знань студентами

Завдання №1

Питання 1

Покажіть відповідність методів діагностики вірусів і властивостей на яких вони ґрунтуються.

Властивості:

- А) Біологічна активність (біологічні властивості)
- Б) Фізичні властивості вірусних віріонів
- В) Властивості вірусних білків
- Г) Властивості вірусних нуклеїнових кислот

Методи:

- 1. ПЛР
- 2. Біологічна проба
- 3. Імуноелектрофорез
- 4. Реакція преципітації
- 5. Біотест
- 6. Скануюча електронна мікроскопія
- 7. ЗТ-ПЛР
- 8. Імунорадіографія
- 9. Світлова мікроскопія
- 10. Електрофорез
- 11. Імуноферментний аналіз
- 12. Саузерн-блотінг
- 13. Спектрофотометрія
- 14. Центрифугування в градієнті щільності сахарози
- 15. Метод рослин індикаторів
- 16. Непрямий ІФА
- 17. Діаліз
- 18. ПЛР у реальному часі
- 19. Реакція імунодифузії
- 20. Афінна хроматографія

Питання 2

Приведіть у відповідність процес і метод діагностики під час якого даний процес проводиться

Процес:

1. Сегрегація хромосом
2. Інокуляція
3. Екстракція нуклеїнових кислот
4. Негативне контрастування
5. Сорбція антитіл
6. Ампліфікація
7. Кон'югація антитіл і ферментної мітки
8. Зворотна транскрипція
9. Реімунізація
10. Електропорація

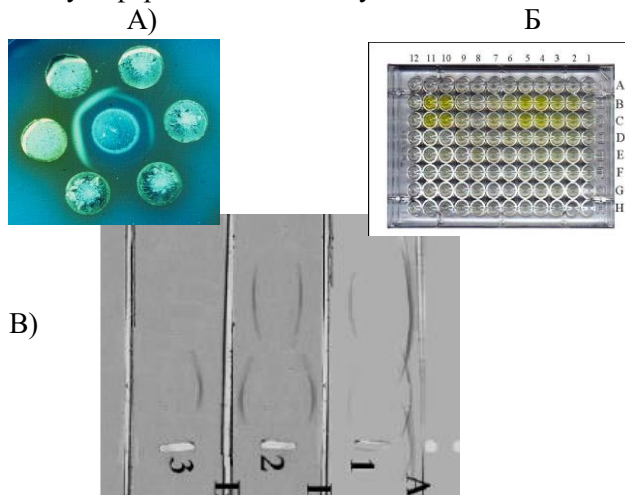
Метод діагностики:

- А) Електронна мікроскопія
- Б) Імуноферментний аналіз
- В) Всі види ПЛР
- Г) Біотест

Питання 3

На малюнку зображено результат проведення:

1. Імуноелектрофорезу
2. Імунодифузії
3. Імуноферментного аналізу

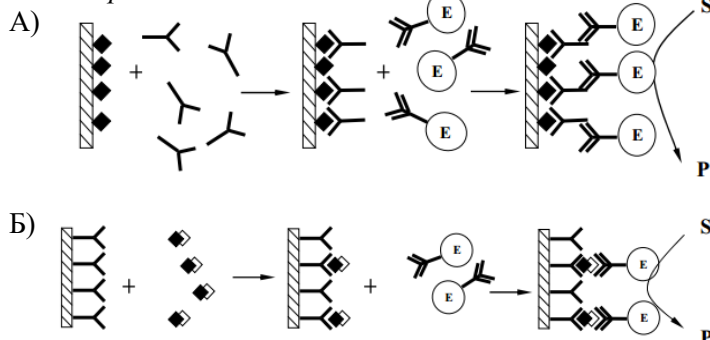
**Питання 4**

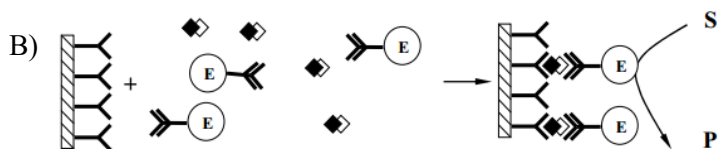
Вкажіть процедуру проведення кожного з представлених методів діагностики.

Метод діагностики:

1. Двохстадійний сендвіч ІФА
2. Одностадійний сендвіч ІФА
3. Непрямий двостадійний ІФА

Схема проведення:

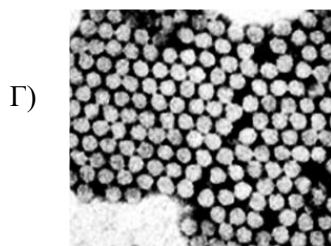
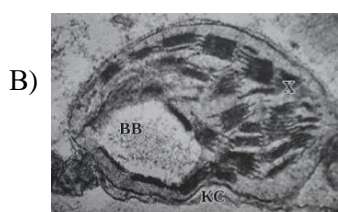
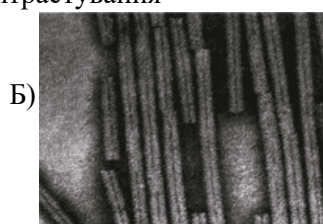
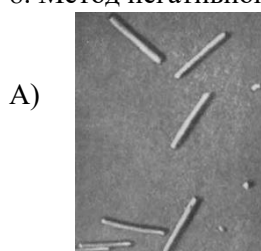




Питання 5

Вкажіть за допомогою якого методу отримано фотографію вірусів (віріонів).

1. Трансмійсна електронна мікроскопія
2. Флуоресцентна мікроскопія
3. Метод ультратонких зрізів
4. Афінна хроматографія
5. Конфокальна мікроскопія
6. Світлова мікроскопія
7. Скануюча електронна мікроскопія
8. Метод негативного контрастування



Питання 6

Приведіть у відповідність елементи визначень і об'єкти, які дані елементи визначають.

- | | |
|---------------------------|---------------------------|
| А) Антигени | Д) Гібридома |
| Б) Антитіла | Е) Епітоп |
| В) Поліклональні антитіла | Ж) Паратоп |
| Г) Моноклональні антитіла | З) Антигенна детермінанта |

1. Мають у своєму складі два легких і два важких поліпептиди з'єднані дисульфід ними зв'язками
2. Для їх отримання використовують клітини мієломи, що мають дефект гену, що кодує гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферазу.
3. IgG, IgA, IgM, IgD, IgE
4. Синтезуються плазматичними клітинами
5. Зв'язуються з різними антигенними детермінантами
6. Для їх синтезу розроблено технологію отримання гібридом з клітин мієломи і В-лімфоцитів
7. Тримірна структура на поверхні антигену, що розпізнається імунною системою.
8. Для їх отримання використовують клітини В-лімфоцитів, що мають дефект гену (або його відсутність), що кодує [β-фруктофуранозидазу](#)
9. Як правило білки і полісахариди
10. Викликають імунну відповідь

Питання 7

Наведіть відповідність стадій циклу ПЛР, температури за якої відповідна стадія відбувається та коротко опишіть процес який в дану стадію відбувається.

- | | |
|-------------------------|-------------|
| 1. Відпал праймерів. | А) 94-95°C |
| 2. Деградація ДНК. | Б) 10-20 °C |
| 3. Інтеграція праймерів | В) 72°C |

4. Денатурація ДНК	Г) 84-85°C
5. Відпал олігонуклеотидних затравок.	Д) 45-65°C
6. Плавлення ДНК	Ж) 100-105°C
7. Елонгація	З) 82°C
8. Термінація	І) 50-55°C
9. Самозатравочна реплікація	Й) 37°C
10. Зворотна транскрипція	К) 28,5°C

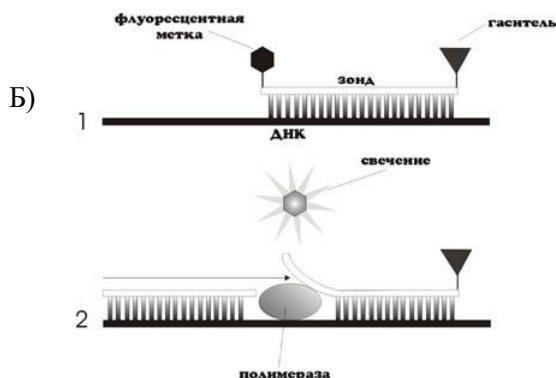
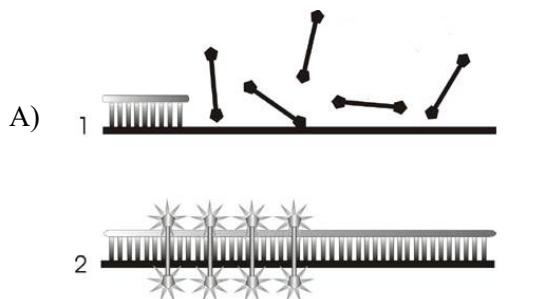
Питання 8

Вкажіть сили, що беруть участь у взаємодії антиген-антитіло:

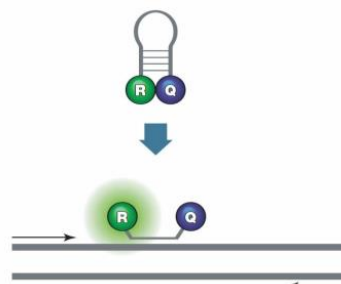
1. Електростатичні взаємодії, виникають між зарядженими бічними групами амінокислот у вигляді сольових містків
2. Металічний зв'язок, при якому валентні електрони атомів делокалізуються і починають взаємодіяти з атомними орбіталами усього тіла
3. Водневі зв'язки, які виникають між електричними диполями
4. Донорно-акцепторний механізм утворення ковалентного хімічного зв'язку за допомогою неподіленої електронної пари, яку надає один або група атомів (донор), і вільної орбітали іншого атома чи групи атомів (акцептора).
5. Сили Ван-дер-Ваальса, обумовлені флуктуаціями електронних хмар навколо протилежно поляризованих сусідніх атомів
6. Ковалентний зв'язок, характерною особливістю якого є те, що задіяні атоми поділяють одну чи більше спільних пар електронів, що і спричиняють їх взаємне притягування, яке утримує їх у молекулі.
7. Гідрофобні взаємодії, відбуваються в тих випадках, коли дві гідрофобні поверхні прагнуть зблизитися, витісняючи воду.

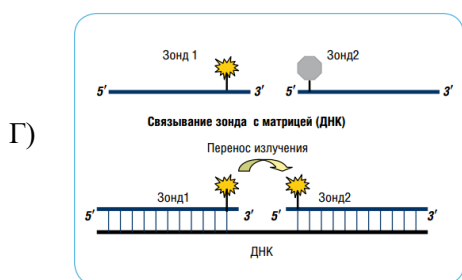
Питання 9

Розкрийте суть технології кожного виду ПЛР у реальному часі, та зазначте стадію ПЛР у яку відбувається фіксація результату в кожному із зазначених видів ПЛР.



В)





Питання 10

Вкажіть основні критерії оцінки методів діагностики. Перерахуйте методи діагностики, які ви знаєте.

8. Методи навчання.

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

Пояснювально-ілюстративний метод. Студенти 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.

9. Форми контролю

Контроль знань і умінь студентів (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, обгрунтовані, 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 орієнтується і знаходить 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 обгрунтовані, 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 необгрунтовані, 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 засвоєності 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.

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. Кожний змістовий модуль теж оцінюється за 100 бальною шкалою. Формою контролю знань із змістового модуля 1 є виконання модульної роботи, що складається з

30 питань (завдання видається кожному студенту). Змістовий модуль 2 оцінюється за результатами захисту лабораторних робіт та модульної роботи 2.

На рейтинг з навчальної роботи за рішенням кафедри може впливати рейтинг з додаткової роботи – до 20 балів і рейтинг штрафний (з від’ємним знаком) – до 5 балів.

Рейтинг студента з навчальної роботи $R_{НР}$ визначається за формулою

$$R_{НР} = \frac{0,7 \cdot (R^{(1)}_{ОМ} + R^{(2)}_{ОМ})}{2} + R_{ДР} - R_{ШТР},$$

де $R^{(1)}_{ОМ}$, $R^{(2)}_{ОМ}$ – рейтингові оцінки відповідно 1-го, та 2-го змістового модулів за 100-бальною шкалою; $R_{ДР}$, $R_{ШТР}$ – відповідно рейтинг з додаткової роботи і рейтинг штрафний.

Студенти, які набрали з навчальної роботи 60 і більше балів, можуть не складати екзамен, а отримати екзаменаційну оцінку “Автоматично”, відповідно до набраної кількості балів, переведених в національну оцінку та оцінку ECTS згідно з табл. 2.6. У такому випадку рейтинг студента з дисципліни $R_{ДИС}$ дорівнює його рейтингу з навчальної роботи

$$R_{ДИС} = R_{НР}.$$

Якщо студент бажає підвищити свій рейтинг і покращити оцінку з дисципліни, він має пройти семестрову атестацію – скласти екзамен. Останню в обов’язковому порядку проходять студенти, які з навчальної роботи набрали менше, ніж 60 балів. Для допуску до атестації студент має набрати не менше 60 балів з кожного змістового модуля, а загалом – не менше, ніж 42 бали з навчальної роботи.

Рейтинг студента з атестації $R_{АТ}$ визначається за 100-бальною шкалою.

Рейтинг студента з дисципліни $R_{ДИС}$ обчислюється за формулою

$$R_{ДИС} = R_{НР} + 0,3 \cdot R_{АТ}.$$

10. Розподіл балів, які отримують студенти

Рейтинг студента, бали	Оцінка національна за результати складання	
	екзаменів	заліків
90-100	Відмінно	Зараховано
74-89	Добре	
60-73	Задовільно	
0-59	Незадовільно	Не зараховано

11. Методичне забезпечення

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти освіти, навчальні плани, навчальні програми з усіх нормативних і вибіркового 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 студентів.

12. Рекомендована література

Основна:

1. Мельничук М.Д. Фітовірусологія. – К., 2005
2. Мельничук М.Д., Кожукало В.Є., Смирнова С.О., Мартин Г.Г. Лабораторний практикум з загальної фітовірусології. – К., 2004
3. Билай В. И., Гвоздяк Р. И., Скрипаль И. Г., и др. Микроорганизмы-возбудители болезней растений. – К., - 1988.
4. Бойко А.Л. Экология вирусов. – К., – 1990.
5. Букринская А.Г. Вирусология. – М., - 1986.
6. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. – М., – 1978.
7. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов растений. – М., - 1994.
8. Гнутова Р.В. Иммунологические исследования в фитовирусологии. - М.,- 1985
9. Лурия С., Дарнея Дж. Общая вирусология. 1981.
10. Марков І.Л. Практикум із сільськогосподарської фітопатології. – К., Урожай, - 1998.
11. Мельничук М.Д., Кожукало В.Є., Смирнова С.О., Мартин Г.Г. – Методичні рекомендації до практичних занять з курсу загальної фітовірусології Національного аграрного університету. – Київ, – 2000р.

Допоміжна:

1. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Левенко Б.О. Основи біотехнології рослин. – Київ, - 2000р.
2. Мэтьюз Р. Вирусы растений.- М.-1973.
3. Николаева О.В. Современные иммунологические методы в массовой диагностике вирусов растений. – М., - 1986.
4. Поліщук В.П., Будзанівська І.Г., Рижук С.М., Патица В.П., Бойко А.Л. Моніторинг вірусних інфекцій рослин в біоценозах України, - К., Фітоцентр. 2001
5. Тарр С. Основы патологии растений. – М., - 1975

13. Інформаційні ресурси

<http://www.virology.net/garryfavwebplant.html>
<http://pvo.bio-mirror.cn/refs.htm>

<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
<http://www.journals.elsevier.com/virology/>
<http://www.virologyj.com/about>
<http://link.springer.com/journal/705>