**«Новітні методи у біологічних дослідженнях»**

Кафедра Біохімії і фізіології тварин імені академіка М.Ф. Гулого

**Лектор: Л.Г. Калачнюк, д.біол.н., професор; В.І. Цвіліховський, к.біол.н., доцент**

**Семестр 2**

**Освітній ступінь – доктор філософії**

**Кількість кредитів ЄКТС – 5**

**Форма контролю** – іспит

**Аудиторні години** – 40 годин (20 годин - лекції; 20 годин - лабораторні роботи)

**Загальний опис дисципліни**

У курсі **«**Новітні методи у біологічних дослідженнях**»** розглядаються питання методичних підходів із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) за вивчення і характеристики біохімічних процесів у біооб’єктах та етика використання ПЛР.

Особливо увага надається як теоретичним, так і методичним основам вивчення біохімічних процесів за використання ПЛР, а також переваги її застосування у біологічних дослідженнях. Поряд з цим розглядаються вимоги до організації роботи у ПЛР-лабораторії, підготовки і проведення ампліфікації фрагментів нуклеїнових кислот та способи детекції й аналізу ампліфікаційних продуктів. Вивчаються також модифікації ПЛР, їх характеристика та ефективність використання.

**Теми лекцій**

1. Полімеразна ланцюгова реакція. Історія відкриття. Основні принципи. Обмеження, переваги та етика використання у біологічних дослідженнях.

2. Загальні вимоги до організації роботи у ПЛР-лабораторії. Поняття контамінації нуклеїновими кислотами і продуктами ампліфікації. «Чиста» і «брудна» зони в ПЛР-лабораторії. Етапи проведення ПЛР. Екстракція нуклеїнових кислот, ампліфікація.

3. Основні аспекти горизонтального електрофорезу продуктів ампліфікації полімеразної ланцюгової реакції. Підготовка проб для електрофоретичного аналізу ампліфікаційних продуктів. Підготування гелю для розділення продуктів ампліфікації та їх детекція.

4. Полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі. Характеристика флуоресцентних барвників. Основні підходи до мультиплексного аналізу. Ефективність та лінійність полімеразної ланцюгової реакції. Граничний цикл (Ct). Обладнання для ПЛР в реальному часі.

5. Модифікації полімеразної ланцюгової реакції, їх особливості. Характеристика зворотної та гніздової ПЛР та ефективність їх використання.