	МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ Тракийски университет – Стара Загора		Издание: 1
	Оперативен документ	7.5.1_OD_1.7.	В сила от: 01.06.2011
	<i>Учебна програма</i>		Редактиран: 1 от 6




УТВЪРЖДАВАМ _____

ДЕКАН: ПРОФ. Д-Р М. ГЪЛЪБОВА, ДМ

УЧЕБНА ПРОГРАМА

Дисциплина	Молекулярно - биологични методи в медицината
Специалност	Медицина
Област на висше образование	Здравеопазване и спорт
Професионално направление	Медицина
Статут на дисциплината	Избираема
Курс	I; II и III
Семестър	II
Форма на обучение	Редовна
Образователно квалификационна степен	Магистър
Срок на обучение	6 години
Форма за проверка на знанията	Писмен изпит, тест

Обсъдена на заседание на Катедрен съвет	07.12.2018 г. Протокол №
Обсъдена на заседание на Комисия по учебната дейност	11.12.2018 г. Протокол № 10
Приета на заседание на Катедрен съвет	07.12.2018 г. Протокол №
Утвърдена на заседание на Факултетен съвет	11.12.2018 г. Протокол № 11

	МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ Тракийски университет – Стара Загора		Издание: 1
	Вид на документа: Оперативен документ	№ на документа: 7.5.1 _OD_1.7.	В сила от: 01.06.2011
	<i>Учебна програма</i>		Редактиран: 2 от 6

УЧЕБНА ПРОГРАМА

1. ИЗВАДКИ ОТ УЧЕБНИЯ ПЛАН.

Код на дисциплината	Часове по учебен план					Кредитни точки
	Аудиторна		Извънаудиторна		Всичко	
061	Лекции	Упражнения	Учебни практики	Други форми		
Форми на аудиторна работа	14	10			25	1
Практически занятия						
Семинари		1				
Форми на извънаудиторна работа						
Подготовка за семинар						
Самоподготовка за текущ контрол и изпита						
Всичко:					25	1

2. ВОДЕЩ ДИСЦИПЛИНАТА: Проф. Спаска Станилова дбн

Водещи упражнения/практически занятия/семинари:


1. доц. Люба Митева.....
2. ас. Бончо Григоров

3. АНОТАЦИЯ:

Лекционната програма на курса включва разглеждането на основните групи от молекулярно-биологичните методи, които са адаптирани за приложение в медицината при откриване молекулните основи на различни заболявания, диагностика и оценка на взаимодействието генотип-фенотип, както и бъдещи перспективи пред съвместната работа на учени и клиницисти. Базирана е върху знанията от курса по молекулярна биология и генетика на студентите и разширява обхвата на основния лекционния курс в едно специфично направление с широко приложение в диагностиката на вирусни и паразитни инфекции, моногенни заболявания, съдебната практика и пренатална диагностика. Условие за включване в курса е заверен един семестър по биология на човека. Програмата акцентира върху теоретичните основи и възможните приложения на качествени и количествени анализи на ДНК и РНК нуклеотидни последователности чрез молекулярно-биологични методи. Представя се същността и принципа на основни молекулярно-биологични методи като амплификационни-PCR методи (класически, RT-PCR; Real-time PCR), сквениране; хибридизационни тестове и техники на микрочипове, като се разглеждат техните предимства и недостатъци, условията за тяхната приложимост и потенциала им да дадат отговори на въпроси от медицински характер. Представят се основните техники при изолиране, култивиране и манипулиране с клетки и белтъчни молекули.

Освен това се очертават основните съвременни перспективи за приложение на тези методи в „индивидуализираната медицина” – терапия на базата на определен генотип. Разглеждат се и вероятните социални и етични проблеми, произтичащи от бързото навлизане на техниките за генно модифициране на растения и животни.

Водещите курса преподаватели работят интензивно в тази област и притежават нужният практически опит и теоретическа подготовка по дискутирания проблем. Към катедрата функционира и лаборатория за ДНК и РНК анализ, разкрита през 2003 г.

	МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ Тракийски университет – Стара Загора		Издание: 1
	Вид на документа: Оперативен документ	№ на документа: 7.5.1 _OD_1.7.	В сила от: 01.06.2011
	<i>Учебна програма</i>		Редактиран: 3 от 6

4. СЪДЪРЖАНИЕ НА УЧЕБНАТА ПРОГРАМА.


4.1. АУДИТОРНА ЗАЕТОСТ.

4.1.1. ЛЕКЦИИ

№	Тема	Хорариум
1	Видове и същност на молекулярно-биологичните методи. Изолиране и култивиране на клетки от периферна кръв и тъкани, като методи за <i>in vitro</i> модели. Стволови клетки – видове и приложение в регенеративната медицината.	2 часа
2	Основи на индивидуализираната медицина: Видове полиморфизми в човешкия геном и значението им за генетична predisposition и лекарствена терапия. Полиморфизми по нуклеотидната последователност на ДНК за доказване на видова и индивидуална идентичност на микроорганизми (молекулярна идентификация).	2 часа
3	Полимеразно-верижна реакция (PCR) за амплификация на нуклеотидни фрагменти – същност и видове. Основни методи за определяне на единични нуклеотидни полиморфизми (SNP) – рестрикционен анализ (RFLP); алел-специфичен PCR. Секвениране – същност, видове и приложение; ДНК микрочипове в диагностиката на генни полиморфизми. Приложения на специфичния профил от единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs) при индивидуална терапия на тумори.	2 часа
4	Сигнална трансдукция - процес на регулация на генната активност в клетката и промени в нейното поведение и функционална активност. Основни участници в сигналната каскада – видове рецептори, адапторни молекули, кинази, транскрипционни фактори. Активатори на сигналната трансдукция-хормони, лекарства, токсини и ниско молекулни вещества в хранителни продукти.	2 часа
5	Регулация на генната експресия и епигенетичен контрол на организация на човешкия хроматин. Генопитни-фенотипни корелации при болести с нарушена генна експресия. Приложения на малки РНКови молекули в медицината като потенциални биомаркери с диагностична стойност и терапевтичен потенциал.	2 часа
	Молекулярно-биологични методи за оценка на генната експресия: Real-time PCR; хибридизационни тестове – Northern blot; обратна транскрипция - RT-PCR. ДНК микрочипове в диагностиката на генна експресия. Приложения в диагностиката на паразитози, вирусни и бактериални инфекции. Приложения в диагностиката на тумори.	2 часа
6	Методи за качествен и абсолютен или сравнителен количествен анализ на генна експресия на ниво белтък. Хибридомни технологии. Приложение на моноклоналните антитела за диагностика и терапия: хибридизационни тестове - Western blot; ELISA метод, флоуцитометрия. Приложения в диагностиката на паразитози, вирусни и бактериални инфекции.	2 часа
Общо		14 часа

4.1 2. УПРАЖНЕНИЯ

№	Тема	Хорариум
1	Изолиране на геномна ДНК от венозна кръв чрез изсолване с NaCl и/или чрез колонна хроматография. Определяне качеството и количеството на изолираната ДНК чрез агарозна електрофореза и/или спектрофотометрия.	2 часа
2	Амплификация на желани фрагменти чрез полимеразноверижна реакци -	3 часа

	МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ Тракийски университет – Стара Загора		Издание: 1
	Вид на документа: Оперативен документ	№ на документа: 7.5.1 _OD_1.7.	В сила от: 01.06.2011
	<i>Учебна програма</i>		Редактиран: 4 от 6

	PCR. Създаване на протокол за амплификация на определен ДНК –секвенция и апробация на протокола. Детекция на амплифицираните фрагменти чрез агарозна електрофореза.	
3	Определяне на полиморфизъм в прицелни гени чрез рестрикционен анализ-RFLP или чрез алел специфичен PCR – ARMS-PCR.	3 часа
4	Създаване на протокол за анализ на генна експресия чрез Real-time PCR. Определяне степента на експресия на таргетен ген чрез анализ на dCt и интерпретация на резултатите с оглед приложението им за диагностика на тумори.	2 часа
Общо		10 часа

4.1.3. СЕМИНАРНИ ЗАНЯТИЯ

№	Тема	Хорариум
	Заключителен тест	1 час
Общо		1 час

5. ТЕХНОЛОГИЯ НА ОБУЧЕНИЕТО

5.1. Лекции

За лекционния курс на обучение се използва мутлимедийна презентация. За онагледяване се прожектират и учебни филми.

5.2. Упражнения:

За практическите упражнения по тази дисциплина се използват:

1. Реактиви и химикали за изолиране на ДНК, праймери и миксове за провеждане на амплификация; електрофоретично разделяне на ампликони за определяне на генотипа по изследвания полиморфизъм.
2. Ламинарен бокс (Hereus), термостат, среда – RPMI (Sigma) за засяване и култивиране на изолирани клетки. Реактиви и химикали за изолиране на РНК в стимулираните клетки за определяне на генна експресия на ниво РНК. Реактиви и химикали за доказване на секретирем белтък в супернатанта на култивирани клетки.
3. Наличната апаратура в Катедрата се използва за практическа работа от студентите по основните молекулярно-биологични техники и методи, описани в практическата част.
4. Използва се мутлимедийна презентация за онагледяват теоретичната и практическата част на упражненията.

5.3. Семинари

Заключителен тест за проверка на усвоените знания и умения.

6. КРИТЕРИИ ЗА ОЦЕНЯВАНЕ ЗНАНИЯТА НА СТУДЕНТИТЕ

Оценката се формира от:

- **Писмен изпит.** Провежда се чрез решаване на тест, включващ въпроси от лекционния курс и практическите занятия.


Скала за оценка за всеки изпитен въпрос:

За оценка среден 3.00 – знания върху 60% от целия материал.

За оценка добър 4.00 – знания върху 61- 75% от целия материал.


За оценка много добър 5.00 – знания върху 76-90% от целия материал.

За оценка отличен 6.00 – знания над 90% от целия материал.

	МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ Тракийски университет – Стара Загора		Издание: 1
	Вид на документа: Оперативен документ	№ на документа: 7.5.1 _OD_1.7.	В сила от: 01.06.2011
	<i>Учебна програма</i>		Редактиран: 5 от 6

7. ПРОГРАМА (КОНСПЕКТ)

1. Видове молекулярно-биологични методи приложими при изолиране и изследване на биологични проби: качествени, полу-количествени и количествени методи на анализ.
2. Организация на генетичната информация в молекулата на ДНК. ДНК полиморфизми на човешкия геном. Функционално значение на полиморфизмите за генетичните предразположения към заболявания и лекарствена терапия.
3. Регулация на генната активност при човек чрез промени в организацията на хроматина. Конформационно разпознаване между нуклеинови киселини и белтъци. Идентифициране на транскрипционни фактори.
4. Сигнална трансдукция - молекулни механизми и основни участници в процеса.
5. Ниско молекулни индуктори на сигнална трансдукция - лекарства, токсини, растителни метаболити
6. Регулация на генната активност при човек чрез белтъци, активатори на транскрипционните фактори. Активиране на регулаторните белтъци чрез фосфорилиране.
7. Регулация на генната активност при човек на ниво транскрипция. Регулаторни области в белтък кодиращ еукариотен ген – промотор, проксимални и дистални контролни елементи, поли-аденелираща секвенция, 3' нетранслираща се области. Болести при човек асоциирани с мутации в транскрипционни регулаторни елементи.
8. Епигенетичен контрол на генната експресия при човек. Метилиране на ДНК. Хистонови модификации. РНК-интерференция.
9. Регулация на генната активност при човек на ниво трансляция.. Приложение на малки интерферентни РНК (miRNA; siRNA) за инхибиране на трансляцията. Възможности за РНК-базирана терапия.
10. Вариации на количеството ДНК в генома. Амплификация на гени – механизъм и биологично значение.
11. Методи за генна амплификация в условия извън клетката-принцип на PCR техниката.
12. Методи на изолиране на тотална ДНК и РНК. Електорфореза на НК.
13. Метод на рестрикционните карти (finger print DNA). Рестриктази - механизъм на действие, видове и приложения в молекулярно-биологичните методи.-преместих го тук
Разчитане на електрофореграми на ампликони.
14. Приложение на PCR за диагностика на бактериални и вирусни инфекции.
15. Секвениране на ДНК - принцип, видове и приложение.
16. Анализ на конформационен полиморфизъм на едноверижна ДНК. Хибридизация. Саутърн блот.

	МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ Тракийски университет – Стара Загора		Издание: 1
	Вид на документа: Оперативен документ	№ на документа: 7.5.1_OD_1.7.	В сила от: 01.06.2011
	<i>Учебна програма</i>		Редактиран: 6 от 6

17. Методи на изолиране, фракционирание и анализ на протеини, основаващи се на сумарният електричен заряд и молекулно тегло: електрофореза, йонообменна хроматография и гелфилтрация.

18. Методи на изолиране и анализ на протеини, основаващи се на афинитетни взаимодействия: афинитетна хроматография.

19. Методи за количествена оценка на генната експресия на ниво транскрипция. Real time-PCR- същност, видове и приложения в медицинската практика.

20. Методи за количествена оценка на генната експресия на ниво трансляция. Western blot и ELISA метод - същност, видове и приложения в медицинската практика.

21. Същност и видове стволови клетки.

22. Изолиране на стволови клетки и възможности за контрол върху тяхната диференциация в тъкани и органи за медицинско приложение.

23. Хибридомна технология. Моноклонални антитела – същност и получаване

24. Моноклонални антитела - приложение в медицинската практика.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. [HTTP://WWW.NCBI.NLM.NIH.GOV/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)

2. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. Molecular Biology of the Cell, 6th edition New York: Garland Science; 2014.

3. Harvey Lodish, Arnold Berk, Chris A. Kaiser, Monty Krieger, Anthony Bretscher, Hidde Ploegh, Angelika Amon, Matthew Scott. Molecular Cell Biology, 7th edition (2012) or 8th edition (2016) New York: W. H. Freeman, Palgrave Macmillan

4. Ronald J. Trent. Molecular Medicine: Genomics to Personalized Healthcare. Academic press of Elsevier, 4th edition, 2012

5. Lauren Pecorino. Molecular Biology Of Cancer Mechanisms, Mechanisms, Targets, and Therapeutics, Oxford university press, Third Edition, 2012.

6. Peter D. Turnpenny, Sian Ellard. EMERY'S Elements of Medical Genetics. Churchill Livingstone of Elsevier Ltd., 14th edition, 2012

9. ПРИДОБИТИ УМЕНИЯ В РЕЗУЛТАТ НА ОБУЧЕНИЕТО

Основна цел на лекционната част на курс е бъде представена теоретичната основа и възможностите за приложение на различни молекулярно-биологични техники за диагностика и терапия. Някои от тях студентите ще изработят самостоятелно под ръководството на членове от катедрата в практическа част на курса. Основни цели на практическата част на курс са: студентите да придобият умения за работа в молекулярно-биологична лаборатория, да използват безопасно и точно наличната апаратура, да планират и осъществят серия от експерименти, както и да анализират получените резултати. В курса ще бъдат практически изработени от студентите, основни методи за насочена генна амплификация, количествен и качествен анализ на нуклеотидна секвенция.

Курса завършва с решаване на тест от студентите, чрез който ще бъдат оценени теоретичните знания на студента както и уменията му да борави с научна литература, да анализира и интерпретира получени експериментални резултати от различни молекулярно-биологични анализи.