**Вопросы подготовки к семинарским занятиям по дисциплине**

### «Молекулярные механизмы вирусных заболеваний»

**Семинарское занятие 1. Частная вирусология с молекулярной диагностикой**

Вопросы:

1. Главным направлением развития рынка ДНК-диагностики является диагностика вирусных заболеваний. Объясните почему?

2. Обозначьте главные принципы иммуноферментного анализа (ИФА), который широко используется в этой области и ДНК- диагностики.

3. С помощью усовершенствованных схем постановки ПЦР можно выявлять патогенные микроорганизмы в очень низкой концентрации. К настоящему времени существует много разновидностей этого метода. Перечислите и дайте их краткую характеристику.

**Семинарское занятие 2. Выделение вирусов в чувствительных системах**

Вопросы:

1. На чем основаныметоды исследования вирусов?
2. Культивирование вирусов в куриных эмбрионах.
3. Культивирование вирусов в культурах клеток.
4. Культивирование вирусов в организме лабораторных животных.
5. Серологический метод исследования.

**Семинарское занятие 3. Выявление антител класса IgM методом ELISA**

Вопросы:

2) ИФА-«ловушка» для Ig M. Схема проведения исследования.

3) «Сэндвич»-ИФА. Качественное выявление циркулирующих антигенов. Схема проведения исследования.

4) Количественное определение циркулирующих АТ и АГ. Тест-системы на основе конкурентного ИФА. Схема проведения исследования.

5) ELISPOT - иммуноферментный тест с локальным связыванием для качественного выявления выработки антител и интерлейкинов на клеточном уровне в системе in vitro.

**Семинарское занятие 4. Форматы для зондирования**

Вопросы:

1. Охарактеризуйте такой формат зондирования как жидкофазная гибридизация.
2. Каким образом осуществляется твердофазная гибридизация?
3. Чем отличается твердофазная гибридизация от *in situ* гибридизаци?
4. Проанализируйте достоинства и недостатки этих методов анализа.

**Семинарское занятие 5. Методы ДНК секвенирования**

1. Молекулярно-генетические методы исследования и их применение в медицине.

2. Способы определения нуклеотидной последовательности ДНК.

3. Метод дробовика.

**Семинарское занятие 6. Методы синтеза РНК на ДНК**

1. Генотипирование. Перспективные ДНК-мишени для генодиагностики. ДНК-ДНК гибридизация. Метод «отпечатков пальцев» (DNA fingerprinting)/ ДНК-зонды.
2. Методы генетического типирования - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, мультилокусное сиквенс-типирование (MLST), адаптированные для дифференциации штаммов патогенных микроорганизмов.
3. Риботипирование как аналитический инструмент в инфектологии. Возможности использования анализа последовательностей в РНК для типирования патогенов. Техники риботипирования.

**Семинарское занятие 7. Метод гибридного захвата**

1 Краткая характеристика метода полимеразной цепной реакции. Этапы ПЦР.  
2. Метод получения праймеров, соответствующих известным генам.  
3. Мультиплексная (мультипраймерная), гнездовая - «Вложенная» ПЦР (Nested PCR) - применяется для уменьшения числа побочных продуктов реакции. Touchdown (Stepdown) ПЦР — с помощью этого метода уменьшают влияние неспецифического связывания праймеров на образование продукта.

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.

**Семинарское занятие 8. Вложенная полимеразная реакция**

1. «Инвертированная» ПЦР (Inverse PCR) - используется в том случае, если известен лишь небольшой участок внутри нужной последовательности.
2. ПЦР с обратной транскрипцией (Reverse Transcription PCR, RT-PCR) - используется для амплификации, выделения или идентификации известной последовательности из библиотеки РНК.
3. Ассиметричная ПЦР (Asymmetric PCR) — проводится тогда, когда нужно амплифицировать преимущественно одну из цепей исходной ДНК. ПЦР с “горячим” стартом (hot-start PCR).

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.

**Семинарское занятие 9. ПЦР в реальном времени**

1. Дайте описание такой разновидности полимеразной цепной реакции, как ПЦР в режиме “реального времени” (Real-Time PCR). Обсудите ее преимущества и недостатки.
2. Приведите примеры реального использования ПЦР в режиме “реального времени” (Real-Time PCR) для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.
3. Количественная ПЦР в реальном времени (Quantitative realtime PCR) — в этом методе используют флуоресцентно меченые реагенты для точного измерения количества продукта реакции по мере его накопления.

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.

**Семинарское занятие 10. Технология циклического зонда**

1. Метод молекулярных колоний (ПЦР в геле, PCR Colony) — акриламидный гель полимеризуют со всеми компонентами ПЦР на поверхности и проводят ПЦР.
2. ПЦР с быстрой амплификацией концов кДНК (Rapid amplification of cDNA ends, RACE-PCR). ПЦР- анализ “по конечной точке” (End-point PCR) .

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.

**Семинарское занятие 11. Петлевая изотермическая амплификация**

1. ПЦР длинных фрагментов (Long-range PCR) — модификация ПЦР для амплификации протяженных участков ДНК (10 тысяч оснований и больше).

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.

**Семинарское занятие 12. Геликазозависимая амплификация**

1. ПЦР со случайной амплификацией полиморфной ДНК (RAPD PCR (Random Amplification of Polymorphic DNA PCR) — используется тогда, когда нужно различить близкие по генетической последовательности организмы, например, близкородственные микроорганизмы.

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики инфекционных заболеваний.

**Семинарское занятие 13. Молекулярные тесты для вируса простого герпеса**

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики вируса простого герпеса.

**Семинарское занятие 14. Молекулярные тесты для вируса папилломы человека**

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы каждого из методов.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.

**-** Привести примеры их реального использования для молекулярной диагностики вируса папилломы человека.

**Семинарское занятие 15. Вирусологическая лаборатория**

**Методические указания:**

**-** Следует раскрыть принципы организации вирусологической лаборатории.

**-** Описать классические методы.

**-** Обсудить достоинства и недостатки предлагаемых методик.