

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет» (Новосибирский государственный университет, НГУ)

Факультет Естественных Наук



Согласовано
Декан ФЕН
Резников В. А.

подпись
« 17 » августа 2021 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

**МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ:
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОПОЛИМЕРОВ**

направление подготовки: 06.04.01 Биология
направленность (профиль): Биология

Форма обучения: очная

Разработчик:

К.б.н., Морозов Игорь Владимирович

Руководитель программы:

Д.б.н., проф. Рубцов Н.Б.

Новосибирск, 2021

Содержание

1. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с планируемыми результатами освоения образовательной программы.....	3
2. Место дисциплины в структуре образовательной программы	3
3. Трудоемкость дисциплины в зачетных единицах с указанием количества академических часов, выделенных на контактную работу обучающегося с преподавателем (по видам учебных занятий) и на самостоятельную работу обучающегося	4
4. Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий. Программа курса лекций.....	4
5. Перечень учебной литературы	5
6. Перечень учебно-методических материалов по самостоятельной работе обучающихся	11
7. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины	11
8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине	11
9. Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине	11
10. Оценочные средства для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине.....	11
Приложение 1 Аннотация по дисциплине	
Приложение 2 Оценочные средства по дисциплине	

1. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с планируемыми результатами освоения образовательной программы

Результаты освоения образовательной программы (компетенции)	Индикаторы	Результаты обучения по дисциплине
УК-2. Способен управлять проектом на всех этапах его жизненного цикла	УК-2.1. Выбирает и обосновывает методы управления проектом на всех этапах его жизненного цикла	Знать принципы и ограничения методов, используемых в молекулярной биологии.
ПК-2. Способен осуществлять выбор форм и методов охраны и использования результатов интеллектуальной деятельности в соответствующей профессиональной области, связанных с живыми системами, в том числе за рубежом.	ПК-2.2. Решает задачи, связанные с правовой охраной и введением в гражданский оборот прав на результаты интеллектуальной деятельности, используемые в соответствующей профессиональной области.	Владеть применением методов современной молекулярной биологии при планировании проектов.
ПК-3. Способен проводить научно-исследовательские разработки при исследовании самостоятельных тем	ПК-3.1. Применяет теоретические и эмпирические модели при планировании и реализации научных исследований	Уметь выбрать наиболее эффективные методы исследования.

2. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплины (практики), изучение которых необходимо для освоения дисциплины

Методы исследования биополимеров:

Математика (математический анализ, математическая статистика);

Физика (электромагнитное излучение, кулоновское взаимодействие, электрический ток, диффузия);

Физическая химия (природа химической связи в молекулах, химическая термодинамика);

Неорганическая химия (строение и свойства атомов, строение молекул);

Органическая химия (классификация и номенклатура соединений, строение молекул, связь строения молекул и их физико-химических свойств);

Биоорганическая химия (классификация и основные физико-химические свойства биополимеров);

Дисциплины (практики), для изучения которых необходимо освоение дисциплины:

Биохимия;

Молекулярная биология;

Генетика;

Физиология;

Иммунология;

Производственная практика (НИР);

Выполнение квалификационной работы;

3. Трудоемкость дисциплины в зачетных единицах с указанием количества академических часов, выделенных на контактную работу обучающегося с преподавателем (по видам учебных занятий) и на самостоятельную работу обучающегося

Трудоемкость дисциплины – 4 з.е. (144 ч)

Форма промежуточной аттестации: экзамен

№	Вид деятельности	Семестр 2
1	Лекции, ч	32
2	Практические занятия, ч	16
3	Занятия в контактной форме, ч, из них	52
4	аудиторных занятий, ч	48
5	в электронной форме, ч	-
6	консультаций, час.	4
7	Самостоятельная работа, час.	92
8	Всего, ч	144

4. Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий
2 семестр

Лекции (32 ч)

Наименование темы и их содержание	Объем, час
Основные типы биополимеров. Их физико-химические свойства.	0.5
Использование радиоизотопов для детекции биополимеров.	3.5
Поглощение света веществом: спектрофотометрия, использование красителей и флуоресцентных меток для детекции биополимеров.	3
Электрофорез: принципы и варианты использования метода.	6
Седиментация: принципы и варианты использования метода.	5
Хроматография: принципы и варианты использования метода.	4
Масс-спектрометрия как метод анализа молекул биополимеров.	2
Количественные аспекты ПЦР.	3
Системы массового параллельного секвенирования нуклеиновых кислот.	5

Практические занятия (16 ч)

Содержание практического занятия	Объем, час
Семинар по практическому использованию радиоизотопов	4
Семинар по практическому использованию электрофореза	4
Семинар по практическому использованию седиментации	4
Семинар по практическому использованию хроматографии	4

Самостоятельная работа студентов (92 ч)

Перечень занятий на СРС	Объем, час
Подготовка к контрольным работам	36
Выполнение домашних заданий	24
Изучение теоретического материала, не освещаемого на лекциях	32

Программа курса лекций

Лекция 1.

Раздел 1. **Основные типы биополимеров. Их физико-химические свойства**

Нуклеиновые кислоты: одноцепочечные (ДНК и РНК) и двуцепочечные (ДНК). Структурные характеристики В-ДНК. Денатурация ДНК. Хаотропные агенты.

Белки: разнообразие структур белка. Заряд белка, изоэлектрическая точка. Денатурация белков с использованием ДСН и 2-меркаптоэтанола.

Раздел 2. **Использование радиоизотопов для детекции биополимеров**

Типы распада. Излучаемые частицы. Интенсивность распада и энергия испускаемых частиц. Период полураспада, теоретическая и практическая удельная активность, объемная активность, единицы их измерения. Закон радиоактивного распада. Изотопное разбавление.

Энергия испускаемых частиц. Спектр распределения частиц по энергиям. Взаимодействие испускаемых частиц с веществом. Радиолит. Стабилизаторы. Меры безопасности при работе с РА веществами.

Свойства наиболее часто применяемых изотопов, сфера их применения.

Лекция 2.

Детекция РА распада счетчиком Гейгера. Устройство и принцип действия счетчика Гейгера. Зависимость между интенсивностью потока частиц и эффективностью регистрации. Недостатки счетчика Гейгера.

Детекция РА распада с использованием сцинтилляторов. Устройство и принцип действия регистратора сцинтилляции. Твердые и жидкие сцинтилляторы. Сместители спектра (вторичные сцинтилляторы), - их назначение, эффективность передачи возбуждения молекулам сместителей спектра. Оптическое и химическое тушение сцинтилляции. Связь между энергией частицы и интенсивностью вспышки. Одновременная регистрация изотопов с разной энергией частиц. Каналы счета, коэффициент проникновения. Детекция РА распада по излучению Вавилова-Черенкова. Связь между энергией частицы и интенсивностью вспышки.

Авторадиография: принцип метода, его достоинства и недостатки. Типы используемых фотоматериалов, их применимость для разных изотопов. Использование низких температур для стабилизации скрытого изображения. Авторадиография *in situ*. Усиливающие экраны: принцип действия, достоинства, недостатки, эффективность для разных изотопов. Устройство и принцип действия PhosphoImager

Использование радиоизотопов для исследования конформации биополимеров и их комплексов.

Лекция 3.

Раздел 3. **Поглощение света веществом: спектрофотометрия, использование красителей и флуоресцентных меток для детекции биополимеров**

Поглощение света веществом (спектрофотометрия). Коэффициент пропускания и оптическая плотность, ее связь с концентрацией. Приборы для определения оптической плотности, их устройство и характеристики, особенности проточных ("Миллихром") и капельных (Nanodrop). Зависимость относительной погрешности от абсолютной

величины. Спектр поглощения. Типичные спектры ДНК, РНК, белков. Гипер- и гипохромный эффект на примере плавления ДНК-дуплексов.

Использование красителей для детекции биополимеров (Структурные особенности молекул красителей, обуславливающие специфичность взаимодействия с биополимерами и оптические свойства. Примеры красителей, используемых для разных классов биополимеров, их чувствительность и специфичность. Использование флуоресцентных красителей на примере EtBr и акридинового оранжевого. Причины и примеры изменения интенсивности и смещения спектра испускания при интеркаляции. Оценка количества биополимеров по флуоресценции нековалентно связывающихся красителей на примере флуориметра Qubit (Invitrogen, TS).)

Лекция 4.

Использование ковалентно присоединяемых флуоресцентных меток: преимущества флуоресцентных меток, примеры широко используемых флуорохромов. Метки с внутримолекулярным переносом энергии (FRET), их назначение и преимущества. Нанокристаллы полупроводников в качестве флуоресцентных меток.

Раздел 4. Электрофорез: принципы и варианты использования метода

Принципы метода. Движение заряженной частицы в растворе под действием эл. поля. Зависимость равновесной скорости частицы от параметров процесса и свойств частицы, длительность переходных (неравновесных) процессов. Параметр разделения. Подвижность, относительная подвижность. Принцип электронейтральности раствора. Изотахорофорез: принцип метода, равновесные концентрации зон (вывод соотношений), история разработки, сфера применения. Эндоэлектроосмос.

Лекция 5.

Буферы для электрофореза. Критерии выбора компонентов буфера: характер и интенсивность процессов электролиза, зависимость проводимости раствора от заряда и размера частиц, зависимость буферной емкости от соотношения рН и рКа; Примеры наиболее часто используемых буферов, их характеристики, достоинства, недостатки. Образование полиборатов и аддуктов при использовании TBE.

Электрофорез в гелях. Типы гелей. Их свойства. Гели агарозы: химическая структура, размеры пор. Гели полиакриламида: структура мономеров, реакция полимеризации, катализаторы, источники свободных радикалов, фотоактивируемая полимеризация, специальные поперечные шивки для приготовления растворимых гелей. Зависимость размера пор от концентрации и соотношения мономеров. Преполимеризованные блоки мономеров для приготовления ПААГ. Ковалентное присоединение ПААГ к стеклу. Использование комбинированных гелей и линейного ПАА. Имитация ПААГ с использованием ЛПА и др. "виртуальных" гелей при капиллярном э/ф в гелях.

Подвижность биополимеров в гелях. Зависимость подвижности от размеров и конформации молекул. Диапазон эффективного использования гелей агарозы и ПАА различных концентраций. Аномальная подвижность различных форм ДНК кольцевых плазмид. Использование неоднородных гелей для выравнивания информационной нагрузки участков геля. Гели, неоднородные по толщине, концентрации буфера, концентрации геля: способы приготовления, преимущества. Электрофорез в переменном ("пульсирующем") поле (PFGE): аномальная подвижность больших молекул ДНК.

Приборы для электрофореза. Технология нанесения образцов. Артефакты электрофореза. Приборы для горизонтального открытого и вертикального электрофореза. Рециркуляция буфера. Артефакты нанесения образцов. Использование техники нанесения shark-teeth, ee

преимущества. Эффект улыбки: причины, способы устранения. Термостатируемые приборы для электрофореза.)

Лекция 6.

Электрофорез нуклеиновых кислот. Электрофорез НК в неденатурирующих условиях: зависимость подвижности оц- и дц- нуклеиновых кислот от длины, выбор адекватных условий э/ф (тип и концентрация геля). Подвижность кольцевых молекул дц-ДНК с наличием и отсутствием супервитков, влияние на нее EtBr. Электрофорез в денатурирующих условиях: денатурирующие агенты для денатурации ДНК и РНК, разрешающая способность. Разделение цепей дц-ДНК электрофорезом: принцип и особенности электрофореза. Двумерный электрофорез нуклеиновых кислот.

Электрофорез белков. Электрофорез белков в неденатурирующих условиях (на примере анализа изоформ ферментов). Параметр разделения. Электрофорез в денатурирующих условиях: денатурация белка, параметр разделения; принцип DISC-электрофореза (система буферов Орнштейна и Дэвиса, электрофорез SDS-денатурированных белков по Лэммли). Изоэлектрофокусирование: принцип метода, параметр разделения; амфолины, формирование и стабильность градиента pH. Двумерный электрофорез белков.)

Специальные варианты электрофореза. Электрофорез ДНК в пульсирующем поле (PFGE): преимущества, сфера применения. Детекция не полностью комплементарных ДНК-дуплексов (гетеродуплексов) электрофорезом в градиенте денатурирующего агента (DGGE). Аффинный электрофорез на примере электрофореза т-РНК, содержащих атомы S. Капиллярный электрофорез (в свободной среде) на примере устройства и принципа работы прибора "Капель" (Люмэкс). Структура двойного электрического слоя, величина и направление осмотического потока, его использование. Способы нанесения образцов. Разделение неполярных веществ мицеллярной электрокинетической хроматографией. Капиллярный электрофорез в полимерных средах на примере устройства и принципа работы "генного анализатора" ABI 310 (Applied Genomics). Принципы конструирования используемых для детекции флуорохромов, система детекции, автоматизация нанесения образцов и смены геля. Аналитический электрофорез в микрокапиллярах на примерах Shimadzu MCE-202 MultiNA и Agilent 2100 bioanalyzer.

Лекция 7.

Элюция биополимеров из геля. Пассивная элюция: элюция с использованием диффузии; способы частичного разрушения геля. Солюбилизация гелей агарозы: агароза с низкой температурой плавления; использование хаотропных агентов; способы удаления агарозы. Солюбилизация ПААГ. Электроэлюция: принцип и устройство аппарата ISCO. Перенос на мембраны: перенос под действием потока жидкости (по Саузерну и с использованием вакуума) и электрического поля: эффективность, преимущества и недостатки. Непрерывная элюция с использованием противотока буфера (аппарат ELFE, элюция олигонуклеотидов после электрофореза в денатурирующем ПААГ). Автоматические приборы для избирательной элюции непосредственно в процессе электрофореза на примере Caliper LabChip (Caliper LifeSciences) и BluePippin (Sage Science).

Раздел 5. Седиментация: принципы и варианты использования метода

Диффузия. Зависимость диффузионного потока от концентрации при стационарной диффузии (I закон Фика). Коэффициент диффузии. Нестационарная диффузия. Скорость изменения концентрации (II закон Фика). Решения для простых случаев на примере резкой границы концентраций. Зависимость коэффициента диффузии от температуры и размера частиц.

Лекция 8.

Седиментация. Равновесная скорость осаждения. Коэффициент седиментации. Определение коэффициента седиментации из эксперимента. Стандартные условия. Связь между коэффициентом седиментации и свойствами (размеры, плотность, масса) частицы. 1-е уравнение Сведберга. Равновесная седиментация. Форма градиента концентрации. Определение молекулярной массы по результатам равновесного центрифугирования (2-е уравнение Сведберга).

Устройство центрифуги. Основные узлы: ротор, привод, холодильник, вакуумный насос; их назначение. Типы центрифуг: аналитические, препаративные, настольные, ультрацентрифуги. Основные характеристики роторов: максимальная скорость, минимальный и максимальный радиусы; их значение для разных вариантов седиментации. Основные типы роторов: с горизонтальным ("откидные"), наклонным и вертикальным расположением пробирок; их сравнительные преимущества и недостатки, преимущественные сферы применения. Проточное центрифугирование. Использование седиментации в промышленности: типы промышленных центрифуг, процессы и отрасли промышленности, в которых они используются.

Лекция 9.

Варианты практического использования седиментации. Скоростная седиментация: Параметр разделения. Объемная и зональная скоростная седиментация. Зависимость скорости седиментации от расстояния до оси вращения, использование градиентов вязкости и плотности. Степень применимости различных типов роторов. Изопикническое центрифугирование: Параметр разделения. Вещества, используемые для формирования градиентов плотности и способы их формирования. Наиболее адекватные типы роторов. Примеры использования центрифугирования: фракционирование клеточных органелл / субмолекулярных комплексов скоростным и зональным скоростным ц/ф; очистка суперскрученной кольцевой дцДНК изопикническим ц/ф в градиенте плотности; аналитическое центрифугирование.

Лекция 10.

Раздел 6. *Хроматография: принципы и варианты использования метода*

Принципы метода. Хроматографическая система. Основные понятия: сорбент, элюент, коэффициент распределения, коэффициент селективности. Свободный объем, объем удержания, исправленный объем удержания, коэффициенты массового распределения и емкости. Коэффициент разделения и степень разделения. Концепция теоретических тарелок: Идеализация хроматографической системы. Зависимость доли вещества в выбранной тарелке от времени (вывод). Форма и скорость миграции хроматографической зоны. Число теоретических тарелок, высота теоретической тарелки. Зависимость степени разделения от числа теоретических тарелок и коэффициента селективности. Экспериментальное определение ширины зоны и числа теоретических тарелок.

Лекция 11.

Классификация и примеры хроматографических методов.

По агрегатному состоянию фаз: газо-жидкостная, жидкостно-газовая, носитель стационарной фазы; жидкостно-жидкостная (распределительная), ЖЖХ с обращенными фазами (экстракционная), ковалентная иммобилизация стационарной фазы; жидкость-твердая фаза, сорбенты, пористые и поверхностные сорбенты, размеры частиц твердых сорбентов, шкалы размеров, влияние размеров частиц на емкость, гидравлическое сопротивление, радиус диффузии и макс. скорость хроматографии, Монолитные сорбенты.

По геометрии пространства процесса: колоночная; плоскостная: бумажная, ТСХ на пластинках, относительная подвижность; двумерные варианты; капиллярная.

По способу элюции (составу элюента): фронтальный; вытеснительный; проявительный, элюенты постоянного и переменного (градиенты) состава.

По направлению относительного перемещения фаз: прямоточная; противоточная (выражение для скорости перемещения компонента, непрерывное разделение 2-х компонентных смесей); двумерная (непрерывное разделение многокомпонентных смесей, координаты точки выхода, пленочные и многоколоночные аппараты).

По природе сорбции (физико-химическим свойствам сорбента):

Адсорбционная (параметр разделения, используемые сорбенты и элюенты).

Гель-фильтрация (принцип и параметр разделения, диапазон изменения объема удержания, использование гель-фильтрации для оценки размеров частиц, сорбенты для гель-фильтрации, их подготовка, микроколоночный вариант гель-фильтрации с использованием микроцентрифуги: достоинства, недостатки, эффективность разделения).

Ионообменная хроматография (параметр разделения, типы и химическая структура сорбентов, использование комплексных ионообменников для удаления электролитов).

Афинная хроматография (параметр разделения, наиболее распространенные сорбенты и способы иммобилизации лигандов).

Лекция 12.

Раздел 7. Масс-спектрометрия как метод анализа молекул биополимеров

Общее устройство TOF масс-спектрометра, назначение основных узлов, параметр разделения. Способы ионизации (химическая ионизация, ESI, MALDI), матрица для MALDI (принципы выбора и примеры химического состава). Устройство MALDI TOF масс-спектрометра. Tandemная масс-спектрометрия: основные узлы тандемного масс-спектрометра (квадруполь, ионная ловушка и др.), их назначение; возможности и примеры применения комбинированных масс-спектрометров. Сферы применения масс-спектрометрии для анализа биополимеров (примеры).

Лекция 13.

Раздел 8. Количественные аспекты ПЦР

Полуколичественная" ПЦР - детекция на неэкспоненциальном участке кривой накопления продукта по конечной точке амплификации. Принцип "полуколичественной" ПЦР.

Конкурентный и неконкурентный варианты. Анализ результатов, критерии их соответствия использованной при анализе модели. Требования к стандарту.

Разновидности стандартов (гомологичный, гетерологичный, эндогенный, экзогенный), способы их получения.

Real-Time PCR - детекция в процессе ПЦР. Общее устройство и принцип функционирования приборов для проведения Real-Time PCR на примере приборов производства Bio-Rad. Метки, используемые для Real-Time PCR, принципы детекции, преимущества, недостатки, основные сферы применения: Неспецифические интеркаляторы на примере SYBR Green; Технология TaqMan; Molecular Beacons: выбор структуры адреса и "шпилечной" части, температура детекции.

Лекция 14.

Digital PCR - ПЦР в изолированных объемах. Принцип подхода, основные преимущества, возможные сферы применения. Digital PCR в геле - метод молекулярных колоний. Digital PCR в изолированных макроскопических ячейках на примере QuantStudio™ 3D Digital

PCR System (ABI). Digital PCR в инвертированной эмульсии вода-масло на примере BioRad QX100.

Раздел 9. Системы массового параллельного секвенирования нуклеиновых кислот

Используемые в MPSS методы клональной амплификации (ePCR; мол. колонии на тв. подложке; DNAnanoballs) и определения нукл. последовательностей амплификатов (пиросеквенирование; микросеквенирование Illumina; тандемное лигирование; детекция изменения pH).

Лекция 15.

Принцип работы, основные характеристики, достоинства и недостатки внедренных в практику систем MPSS, основанных на клональной амплификации: Life Science 454 Genome Sequencer FLX, Junior (Roche); HiSeq, MySeq, NextSeq (Illumina); SOLiD 4, SOLiD 5500 (Applied Biosystems); Ion Torrent PGM, Proton, IonS5 (Applied Biosystems); MGISEQUENCER (BGI).

Лекция 16.

Принцип работы, основные характеристики, достоинства и недостатки внедренных в практику систем MPSS, основанных на анализе единичных молекул (Pacific BioScience; Oxford Nanopore)

Системы MPSS, оставшиеся на уровне концепций, - принцип работы, основные характеристики, достоинства и недостатки (ABI single molecule sequencer, IDMDNA transistor).

5. Перечень учебной литературы

5.1 Основная литература

1. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.: Наука, 1981. 288 с. (1 экз.)
2. Остерман Л. А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. М.: Наука, 1983. 304 с. (7 экз.)
3. Остерман Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985. 536 с. (1 экз.)
4. Москвин Л. Н., Царицына Л. Г. Методы разделения и концентрирования в аналитической химии. Л.: Химия, 1991. 256 с. (99 экз.)
5. Бидлингмейер Б. и др. Препаративная жидкостная хроматография. М.: Мир, 1990. 360 с. (4 экз.)
6. Годовикова Т. С., Попова Т. В. Биоорганическая химия. Часть 2. Методы выделения, фракционирования, очистки белков и их компонентов. Учебное пособие. Ред. С. Д. Андреева. Редакционно-издательский центр НГУ, (75 экз.)

5.2 Дополнительная литература (научные периодические издания)

7. А. А. Остерман, А. А. Остерман. *Биоорганическая химия*. М.: Наука, 1996, т. 61, кн. 11, с. 1984-1994
8. V. N. Karamychev et al. Detecting the DNA kinks in a DNA-CRP complex in solution with iodine-125 radioprobng. *Nature structural biol.*, 1999, V.6, pp.747-750.
9. B. Vogelstein, K. V. Kinzler. Digital PCR. *PNAS*, 1999, V.96, pp.9236-9241.

10. H. V. Chetverina, T. R. Samatov, V. I. Ugarov, A. B. Chetverin. Molecular Colony Diagnostics: Detection and Quantitation of Viral Nucleic Acids by In-Gel PCR. BioTechniques, 2002, V.33, pp.150-156.
11. Hans Zischka, Norbert Kinkl, Ralf J. Braun, Marius Ueffing. Purification of Saccharomyces cerevisiae Mitochondria by Zone Electrophoresis in a Free Flow Device. Organelle Proteomics in Methods in Molecular Biology Volume 432, 2008, pp. 51-64.

6. Перечень учебно-методических материалов по самостоятельной работе обучающихся

12. Морозов И.В. Презентация лекций курса «Методы анализа биополимеров»: http://mor.niboch.nsc.ru/public/MBI_Course/.

7. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины

При освоении дисциплины используются следующие ресурсы:

- www-страница курса http://mor.niboch.nsc.ru/public/MBI_Course/

Взаимодействие обучающегося с преподавателем (синхронное и (или) асинхронное) осуществляется через личный кабинет студента в ЭИОС, электронную почту.

7.1 Современные профессиональные базы данных:

Не используются.

7.2. Информационные справочные системы

Не используются.

8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине

8.1 Перечень программного обеспечения

www-browser, LibreOffice Writer, LibreOffice Impress, LibreOffice Calc;
не обязательно: MS Word, MS Excel, MS Power Point. Windows и Microsoft Office

8.2 Информационные справочные системы

Не используются.

9. Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине

Для реализации дисциплины Биохимия используются специальные помещения:

1. Учебные аудитории для проведения занятий лекционного типа, занятий семинарского типа, групповых и индивидуальных консультаций, итоговой аттестации;

Для проведения занятий лекционного типа предлагаются следующие наборы демонстрационного оборудования и учебно-наглядных пособий:

- комплект презентаций лекций по темам дисциплины.

Материально-техническое обеспечение образовательного процесса по дисциплине для обучающихся из числа лиц с ограниченными возможностями здоровья осуществляется согласно «Порядку организации и осуществления образовательной деятельности по образовательным программам для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья в Новосибирском государственном университете».

10. Оценочные средства для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине

Перечень результатов обучения по дисциплине Биохимия и индикаторов их достижения представлен в виде знаний, умений и владений в разделе 1.

10.1 Порядок проведения текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине

Текущий контроль успеваемости:

На семинарах проводятся самостоятельные контрольные работы в форме решения обязательных и дополнительных задач по темам курса. Общий балл за обязательные задачи, нормированный на 0.5, а также общий балл за дополнительные задачи, нормированный на 0.5, складывается с общим баллом за письменный экзамен, нормированным на 4.5, при формировании итоговой оценки.

Для того, чтобы быть допущенным к экзамену, студент должен выполнить следующее:

- решить с погрешностью не более 10% все типы обязательных задач;

Промежуточная аттестация:

Письменный экзамен.

Описание критериев и шкал оценивания индикаторов достижения результатов обучения по дисциплине методы исследования биополимеров

Таблица 10.1

Код компетенции	Индикатор	Результат обучения по дисциплине	Оценочное средство
УК-2. Способен управлять проектом на всех этапах его жизненного цикла	УК-2.1. Выбирает и обосновывает методы управления проектом на всех этапах его жизненного цикла	Знать принципы и ограничения методов, используемых в молекулярной биологии.	Письменная контрольная работа. Экзамен.
ПК-2. Способен осуществлять выбор форм и методов охраны и использования результатов интеллектуальной деятельности в соответствующей профессиональной области, связанных с живыми системами, в том числе за рубежом.	ПК-2.2. Решает задачи, связанные с правовой охраной и введением в гражданский оборот прав на результаты интеллектуальной деятельности, используемые в соответствующей профессиональной области.	Владеть применением методов современной молекулярной биологии при планировании проектов.	Письменная контрольная работа. Экзамен.
ПК-3. Способен проводить научно-исследовательские разработки при исследовании самостоятельных тем	ПК-3.1. Применяет теоретические и эмпирические модели при планировании и реализации научных исследований	Уметь выбрать наиболее эффективные методы исследования.	Письменная контрольная работа. Экзамен.

Таблица 10.2

Критерии оценивания результатов обучения	Шкала оценивания
<p><u>Письменная контрольная работа:</u> – правильный ход решения задач, точность ответа, отсутствие ошибок;</p> <p><u>Экзамен:</u> – полнота понимания и изложения материала; – умение приводить конкретные примеры, подтверждающие общие закономерности; – осмысленность, структурированность, логичность и аргументированность изложения материала; – точность и корректность применения терминов и понятий; При изложении ответа на вопрос(ы) экзаменационного билета обучающийся мог допустить непринципиальные неточности.</p>	<i>Отлично</i>
<p><u>Письменная контрольная работа:</u> – правильный ход решения задач, точность ответа, отсутствие ошибок.</p> <p><u>Экзамен:</u> – полнота понимания и изложения материала; – осмысленность, структурированность, логичность и аргументированность изложения материала; – точность и корректность применения терминов и понятий при наличии незначительных ошибок; При изложении ответа на вопрос(ы) экзаменационного билета обучающийся мог допустить непринципиальные неточности.</p>	<i>Хорошо</i>
<p><u>Письменная контрольная работа:</u> – правильный ход решения типовых задач, точность ответа, отсутствие ошибок.</p> <p><u>Экзамен:</u> – частичное понимание и неполное изложение материала; – самостоятельность и осмысленность в изложении материала при наличии некоторых ошибок в логике и аргументации; – недостаточно точное и корректное использование терминов и понятий;</p>	<i>Удовлетворительно</i>
<p><u>Письменная контрольная работа :</u> – присутствие ошибок при решении типовых задач;</p> <p><u>Экзамен:</u> – фрагментарное и недостаточное изложение материала; – непонимание причинно-следственных связей; – отсутствие осмысленности, структурированности, логичности и аргументированности в изложении материала; – грубые ошибки в применении терминов и понятий;</p>	<i>Неудовлетворительно</i>

Типовые контрольные задания и иные материалы, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры типовых задач:

Рассчитать удельную активность препарата γ - ^{32}P -АТФ с начальной удельной активностью 1000 Ci/mmol после 7 суток хранения. Теоретическая (максимальная) удельная активность ^{32}P составляет 9200 Ci/mmol, $T_{1/2} = 14.3$ суток. Считать, что в

результате радиоактивного распада содержащая распавшийся атом молекула также распадается. Другими видами радиолиза пренебречь.

Какой объем препарата α - ^{32}P -dATP с начальными удельной активностью 1000 Ci/mmol и объемной активностью 20 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$ нужно взять в реакцию мечения фрагмента ДНК методом достройки 5'-выступающих концов ДНК-полимеразой, если при достройке каждого из концов ДНК включается 2 молекулы dATP (стехиометрическое соотношение 4:1). Объем реакционной смеси составляет 50 μl , концентрация ДНК - 2 μM , молярный избыток dATP должен составлять 1.5. Срок хранения радиоактивного препарата составлял 28.5 суток. Теоретическая (максимальная) удельная активность ^{32}P составляет 9200 Ci/mmol, $T_{1/2} = 14.3$ суток. Считать, что в результате радиоактивного распада содержащая распавшийся атом молекула также распадается.

Какой объем препарата γ - ^{32}P -ATP с начальными удельной активностью 1000 Ci/mmol и объемной активностью 20 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$ нужно взять в реакцию мечения с использованием полинуклеотидкиназы (стехиометрическое соотношение 1:1) 0.003 о.е. A^{260} олигонуклеотида с $\epsilon_{260} = 150$ о.е./мкмоль/ cm^2 , если молярный избыток ATP по отношению к олигонуклеотиду должен составлять 1.5. Срок хранения радиоактивного препарата составлял 28.5 суток. Теоретическая (максимальная) удельная активность ^{32}P составляет 9200 Ci/mmol, $T_{1/2} = 14.3$ суток. Считать, что в результате радиоактивного распада содержащая распавшийся атом молекула также распадается.

Сравнивая радиоактивность двух образцов, нанесенных на целлюлозу, студент использовал счетчик Гейгера. Измерив радиоактивность образцов, он получил показания счетчика 3000 и 1500 CPS, на основании чего определил соотношение радиоактивностей как 2:1. Прав ли он (объясните), а если нет, то каково реальное соотношение радиоактивностей? Предел CPS использованного счетчика составляет 5000, импульсы считать равномерно распределенными во времени.

Руководитель попросил студента определить среднюю радиоактивность 5 образцов с использованием счетчика Гейгера. Для экономии времени студент, вместо того, чтобы отдельно измерить радиоактивность каждого образца, поместил их на детектор счетчика одновременно и разделил результат на количество образцов, получив при этом 300 CPS. Правильно ли он поступил (почему)? Какое показание счетчика он бы получил, если бы послушался руководителя, при условии, что образцы были абсолютно одинаковыми. Порог CPS использованного счетчика составляет 5000, импульсы считать равномерно распределенными во времени.

Оценить суммарное количество (по массе) ДНК плазмиды, содержащей вставку, выделенное из бактериальной биомассы, по результатам окрашивания EtBr геля агарозы после аналитического электрофореза продуктов гидролиза части препарата эндонуклеазой рестрикции, вырезающей вставку (отмечена "*") из состава плазмиды. Длина плазмиды (pBlueScript) без вставки 2960 н.п. На гель наносили 1/60. В качестве маркера используется гидролизат плазмиды pQpR' (длина интактной плазмиды 7172), содержащий фрагменты следующих длин: 1326 919 762 587 540 504 458 434 307 267 234 213 184 124 88 80 54 52 21 18. (Электрофорез 09.04.97, препарат 812)

При проведении электрофореза в камере длиной 20 см в течение 3 час при напряжении 120 V длина миграции лидирующего красителя составила 15 см. Какое расстояние пройдет лидирующий краситель за то же время в камере длиной 50 см при напряжении 300 V?

При проведении изотахофореза смеси 3х однозарядных анионов с концентрациями (0.2, 0.3 и 0.1)M и подвижностью (0.5, 0.7 и 0.9) $\times 10^{-6}$ м²/(вольт*сек) соответственно ширина зоны смеси до начала электрофореза составляла 1 см. Какова будет ширина зон после достижения равновесия, если концентрация лидирующего аниона 0.6M, его

подвижность - 1.2×10^{-6} , а подвижность общего катиона - $0.6 \times 10^{-6} \text{ м}^2/(\text{вольт} \cdot \text{сек})$.
Площадь поперечного сечения системы и концентрация лидирующего аниона постоянны.

Вещество содержит две ионогенные группы: кислоту с pK_a 4.0 и основание (аминогруппу) с pK_a 6.0. При каком pH это вещество не будет иметь эффективного (интегрального) заряда? Какова при этом степень диссоциации ионогенных групп?

При проведении электрофореза содержащего 2 ионогенные группы (кислоту с pK_a 4.0 и основание (аминогруппу) с pK_a 7.0) вещества при pH 7.0 в камере длиной 40 см в течение 4 час при напряжении 120 V длина миграции анионов составила 30 см. Сколько времени надо вести электрофорез в камере длиной 80 см для достижения той же длины миграции при pH 8.0? pH 6.0?

Определить время, в течение которого можно вести электрофорез в горизонтальном аппарате с буфером TBE (50mM Tris $pK_a = 8.2$, 40mM H_3BO_3 $pK_{a1} \sim 8.5$; pH буфера = 8.4) при токе 40mA (0.04A) при условии изменения pH электродных камер не более чем на а) 1.0 б) 2.0. Объем каждой электродной камеры считать равным 0.5 л. (Число Фарадея = $96500 \text{ А} \cdot \text{сек} / \text{г-экв.}$).

Определить время, в течение которого можно вести электрофорез в горизонтальном аппарате с буфером TSE (25mM Tris $pK_a = 8.2$, 30mM $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ (Serine) $pK_{a1} = 9.21$, $pK_{a2} = 2.20$) при токе 20mA (0.02A) при условии изменения pH электродных камер не более чем на а) 1.0 б) 2.0. Объем каждой электродной камеры считать равным 0.5 л. (Число Фарадея = $96500 \text{ А} \cdot \text{сек} / \text{г-экв.}$).

Для полного осаждения полирибосом в роторе Beckman SW 65 Ti (Swing bucket, $r_{\text{min}}=41.2\text{mm}$, $r_{\text{max}}=89.0\text{mm}$) из полностью заполненной пробирки требуется 80 мин при 30000 об/мин. Определить коэффициент седиментации полирибосом в S. Сколько времени потребуется для полного осаждения полирибосом в роторе Beckman SW 60 Ti (Swing bucket, $r_{\text{min}}=63.1\text{mm}$, $r_{\text{max}}=120.3\text{mm}$) при 40000 об/мин?

При формировании градиента концентрации CsCl равновесным центрифугированием в роторе Beckman VTi 80 (Vertical, $r_{\text{min}}=57.9\text{mm}$, $r_{\text{max}}=71.1\text{mm}$) при 50000 об/мин диапазон концентраций составил 0.2 – 4.0 M. Определить макс. концентрацию CsCl в градиенте, полученном в роторе Beckman VTi 65.2 (Vertical, $r_{\text{min}}=74.4\text{mm}$, $r_{\text{max}}=87.9\text{mm}$) при 40000 об/мин если минимальная концентрация составила 0.3 M.

Определить эффективность разделения скоростной седиментацией (% более легких частиц, не попадающих в осадок “тяжелых” при полном осаждении последних) смеси частиц с константами седиментации 100S и 200S, равномерно заполняющей пробирку, в роторах Beckman SW 65 Ti (Swing bucket, $r_{\text{min}}=41.2\text{mm}$, $r_{\text{max}}=89.0\text{mm}$) при 20000 об/мин и Beckman SW 55 Ti (Swing bucket, $r_{\text{min}}=60.8\text{mm}$, $r_{\text{max}}=108.5\text{mm}$) при 15000 об/мин?

Объем удержания и ширина пика для веществ А и В с коэффициентами распределения $K_{DA} = 0.6$ и $K_{DB} = 1.1$ составили соответственно $V_{RA} = 2.5$ мл, $W_A = 0.15$ мл, $V_{RB} = 4.0$ мл, $W_B = 0.25$ мл. Определить эффективный объем элюента (мертвый объем, V_0) и эффективный объем сорбента (V_S) использованной хроматографической системы, а также коэффициент разделения и степень разделения веществ.

Преподаватель попросил студента разделить хроматографией смесь 2х веществ, отбирая фракции, концентрации в которых были не менее $\frac{1}{2}$ максимальных. При скорости элюции 1.6 мл/мин максимум пика первого вещества вышел через 24 минуты после нанесения образца, а второго – через 32 минуты. Суммарные объемы отобранных студентом фракций составили соответственно 1.4 и 1.9 мл. Определить свободный (мертвый) объем системы (V_0), эффективное число теоретических тарелок ($N_{\text{эфф}}$, считать

его одинаковым для разделяемых веществ), а также коэффициент разделения (K_s) и степень разделения (R_s) веществ.

Примеры вопросов экзамена:

Варианты вопроса 1:

- 1.2.05 Поглощение света веществом (спектрофотометрия).
- 1.3.01 Общие принципы электрофореза в свободной среде.
- 1.3.02 Электрофорез в гелях.
- 1.3.03 Электрофорез белков.
- 1.4.01 Седиментация – принципы метода.
- 1.5.01 Хроматография - принципы метода.
- 1.5.02 Классификация хроматографических методов по агрегатному состоянию фаз и природе сорбции.
- 1.6.01 "Полуколичественная" и Real-Time ПЦР как метод определения количества мат-рицы.

Варианты вопроса 2:

- 2.2.02 Использование красителей для детекции биополимеров.
- 2.2.03 Использование флуоресцентных меток.
- 2.3.01 Буферы для электрофореза.
- 2.3.02 Электрофорез нуклеиновых кислот.
- 2.3.04 Детекция неполностью комплементарных ДНК-дуплексов (гетеродуплексов) электрофорезом, а также TGGE и градиентной ионообменной HPLC.
- 2.3.05 Аффинный электрофорез.
- 2.3.06 Электрофорез на целлюлозе с неподвижными границами (изотахофорез в равновесии с эндоэлектроосмосом).
- 2.3.07 Капиллярный электрофорез (в свободной среде) на примере устройства и принципа работы прибора "Капель" (Люмэкс).
- 2.3.08 Электрофорез в геле в капилляре на примере устройства и принципа работы "ген-ного анализатора" ABI 310 (Applied Genomics).
- 2.3.09 Элюция биополимеров из геля.
- 2.4.01 Общее устройство центрифуг.
- 2.4.02 Варианты практического использования седиментации.
- 2.4.03 Аналитическое центрифугирование.
- 2.5.03 Классификация хроматографических методов по геометрии пространства процесса, способу элюции, направлению перемещения фаз.
- 2.7.01 "Полуколичественная" ПЦР с детекцией в конечной точке как способ оценки начальной концентрации матрицы - варианты метода и способов обработки результатов, критерии оценки адекватности проведения эксперимента, разновидности стандартов, ограничения подхода.
- 2.7.02 Метки, используемые для Real-Time PCR, принципы детекции, преимущества, недостатки, основные сферы применения.
- 2.7.03 Альтернативные подходы к точному определению количеств матрицы ПЦР: Digital PCR и метод молекулярных колоний.
- 2.8.01 Используемые в MPSS методы клональной амплификации и определения нукл. последовательностей амплификатов.
- 2.8.02 Внедренные в практику системы массового параллельного секвенирования.
- 2.8.03 Перспективные системы массового параллельного секвенирования.

Оценочные материалы по промежуточной аттестации (приложение 2), предназначенные для проверки соответствия уровня подготовки по дисциплине требованиям ФГОС, хранятся на кафедре-разработчике РПД в печатном и электронном виде.

