



МИНОБРНАУКИ РОССИИ

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ФГБОУ ВО «ИГУ»

Кафедра биохимии, молекулярной биологии и генетики

УТВЕРЖДАЮ

Декан биолого-почвенного факультета
А. Н. Матвеев

«12» 05 2021 г.

Рабочая программа дисциплины

Наименование дисциплины: Б1.В.2 **«БОЛЬШОЙ ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ»**

Направление подготовки: 06.03.01 «Биология»

Направленность (профиль) подготовки: «Биохимия»

Квалификация выпускника: Бакалавр

Форма обучения: очная с элементами электронного обучения и дистанционных образовательных технологий

Согласовано с УМК - биолого-почвенного факультета

Протокол № 8 от «17» 05 2021 г.

Председатель А. Н. Матвеев

Рекомендовано кафедрой:

Протокол № 7

От «29» 04 2021 г.

Зав. кафедрой С.В. Осипова

Иркутск 2021 г.

Содержание

	стр.
I. Цель и задачи дисциплины	3
II. Место дисциплины в структуре ОПОП	3
III. Требования к результатам освоения дисциплины	3
IV. Содержание и структура дисциплины	
4.1 Содержание дисциплины, структурированное по темам, с указанием видов учебных занятий и отведенного на них количества академических часов	6
4.2 План внеаудиторной самостоятельной работы обучающихся по дисциплине	8
4.3 Содержание учебного материала	11
4.3.1 Перечень семинарских, практических занятий и лабораторных работ	13
4.3.2. Перечень тем (вопросов), выносимых на самостоятельное изучение в рамках самостоятельной работы студентов	15
4.4. Методические указания по организации самостоятельной работы студентов	17
4.5. Примерная тематика курсовых работ (проектов)	
V. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины	17
а) перечень литературы	
б) периодические издания	
в) список авторских методических разработок	
г) базы данных, поисково-справочные и информационные системы.....	
VI. Материально-техническое обеспечение дисциплины	18
6.1. Учебно-лабораторное оборудование	
6.2. Программное обеспечение	
6.3. Технические и электронные средства обучения	
VII. Образовательные технологии	19
VIII. Оценочные материалы для текущего контроля и промежуточной аттестации	20

1. Цель и задачи дисциплины:

Цель: Получение основных представлений об организации работы при проведении экспериментальных исследований в области биохимии. По окончании большого практикума студент получает навыки самостоятельной работы с основными приборами, используемыми в биохимических исследованиях, в планировании эксперимента, и владеет арсеналом базовых биохимических и молекулярно-биологических методов.

Задачи:

- дать знания о принципах базовых методов биохимии и молекулярной биологии (методов выделения и анализа белков, нуклеиновых кислот, липидов и других соединений);
- сформировать навыки работы с приборами, используемыми в биохимических и молекулярно-биологических исследованиях;
- познакомить с основными требованиями к планированию биохимических экспериментов и статистической обработке полученных результатов;
- дать студентам представление о правилах оформления научных отчетов.

2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОПОП ВО

2.1. Учебная дисциплина Б1.В.2 «Большой практикум по биохимии» является обязательной дисциплиной вариативной части учебного плана по профилю «Биохимия» (6, 7 семестры).

2.2. Содержание курса базируется на знаниях и умениях, полученных при изучении дисциплин: «Аналитическая, физическая и коллоидная химия», «Биохимия», «Биофизика», «Физиология растений».

2.3. Перечень последующих учебных дисциплин, для которых необходимы знания, умения и навыки, формируемые данной учебной дисциплиной: «Биотехнология», «Биохимические основы стресс-физиологии», «Биотехнология растений».

3. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Процесс освоения дисциплины направлен на формирование компетенций в соответствии с ФГОС ВО и ОП ВО по данному направлению подготовки 06.03.01 «Биология», профиль «Биохимия»:

ПК-1: Способен применять на практике теоретические основы и базовые методы биологической химии, генетики, молекулярной биологии, физиологии и биотехнологии растений;

ПК-2: Способен использовать оборудование биохимических и молекулярно-биологических лабораторий при выполнении научно-исследовательских работ;

ПК-3: Способен критически анализировать научную литературу, экспериментальные данные и представлять отчёты о результатах научно-исследовательской работы в области биохимии, генетики и молекулярной биологии.

Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с индикаторами достижения компетенций

Компетенция	Индикаторы компетенций	Результаты обучения
ПК-1 Способен применять на практике теоретические основы и базовые методы биологической	<i>ИДК ПК 1.1</i> Знает теоретические основы и методологические подходы биохимии, молекулярной	Знать: принципы матричного биосинтеза ДНК и РНК; энзимологические механизмы, обеспечивающие репликацию и транскрипцию; значение топологии ДНК в реализации матричных процессов; геномные элементы регуляции репликации и

<p>химии, генетики, молекулярной биологии, физиологии и биотехнологии растений</p>	<p>биологии и генетики.</p>	<p>транскрипции прокариот и эукариот; строение единиц репликации и транскрипции у организмов разной сложности; роль кодирующих и не кодирующих РНК в процессе биосинтеза белка; строение и функции рибосом, основные этапы трансляции и механизмы регуляции этого процесса у про- и эукариот. Уметь: использовать полученные теоретические знания для расширения своего кругозора, освоения последующих дисциплин профиля и совершенствования общей профессиональной подготовки. Владеть: терминологией, используемой в молекулярной биологии.</p>
	<p><i>ИДК ПК 1.2</i> Умеет творчески использовать теоретические знания и современные методологические подходы для формулировки задач нового исследования в области биохимии, молекулярной биологии и генетики.</p>	<p>Знать: основные методы молекулярной биологии, необходимые для изучения процессов биосинтеза РНК, ДНК и белков. Уметь: использовать современные методические подходы для формулировки задач нового исследования в области биохимии и молекулярной биологии белков и нуклеиновых кислот. Владеть: навыками составления дизайна биологического эксперимента.</p>
<p><i>ПК-2</i> Способен использовать оборудование биохимических и молекулярно-биологических лабораторий при выполнении научно-исследовательских работ.</p>	<p><i>ИДК ПК-2.1</i> Знает принципы методов, используемых в биохимических, молекулярно-биологических и биотехнологических исследованиях</p>	<p>Знать: принципы, на которых основаны базовые методы анализа фосфорорганических соединений, аминокислот, белков, нуклеиновых кислот, липидов. Уметь: выбрать необходимый метод или прием для анализа фосфорорганических соединений, аминокислот, белков, нуклеиновых кислот, липидов. Владеть: навыками приготовления буферов и других растворов заданной концентрации.</p>
	<p><i>ИДК ПК-2.2</i> Владеет основными методами экспериментальной работы в биохимии и молекулярной биологии</p>	<p>Знать: оборудование, расходные материалы и реактивы, необходимые для реализации планов исследования. Уметь: использовать приборы и мелкое оборудование для анализа фосфорорганических соединений, аминокислот, белков, нуклеиновых кислот, липидов. Владеть: навыками подготовки посуды и оборудования для биохимических и молекулярно-биологических работ.</p>
<p><i>ПК-3</i> Способен критически анализировать научную литературу, экспериментальные данные и представлять отчёты о результатах</p>	<p><i>ИДК ПК-3.1</i> Умеет осуществлять поиск научной информации, работать с научной литературой; излагать и критически анализировать</p>	<p>Знать: источники научной информации в области наук и жизни. Уметь: найти необходимую научную информацию. Владеть: навыками критического анализа научных публикаций.</p>

<p>научно-исследовательской работы в области биохимии, генетики и молекулярной биологии.</p>	<p>получаемую информацию в направлении биохимических, генетических, молекулярно-биологических исследований, физиологии и биотехнологии растений.</p>	
	<p><i>ИДК ПК-3.2</i> Знает требования к написанию и составлению отчетов по лабораторным работам, результатам экспериментальных исследований, соответствующих профилю.</p>	<p>Знать: требования к написанию научного отчета по тематике исследования. Уметь: последовательно и в соответствии с принятыми правилами изложить цели, задачи, ход исследования, используемые приборы и реактивы, полученные результаты и сделать заключение по результатам. Владеть: навыками описания экспериментальной работы и соответствующей терминологией.</p>
	<p><i>ИДК ПК-3.3</i> Владеет навыками статистического анализа, визуализации данных лабораторных биологических исследований и написания научных статей.</p>	<p>Знать: основные методы статистического анализа, используемые в биологических исследованиях. Уметь: использовать описательные статистики, корреляционный анализ, определять достоверность различий между наборами числовых данных. Владеть: методами визуализации числовых данных.</p>

4. СОДЕРЖАНИЕ И СТРУКТУРА ДИСЦИПЛИНЫ

Объем дисциплины составляет 8 зачетных единиц, 288 часов.

Форма промежуточной аттестации: зачет.

4.1 Содержание дисциплины, структурированное по темам, с указанием видов учебных занятий и отведенного на них количества академических часов

№ п/п	Раздел дисциплины/тема	Семестр	Всего часов	Из них практическая подготовка обучающихся	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу обучающихся, практическую подготовку и трудоемкость (в часах)			Самостоятельная работа	Форма текущего контроля успеваемости/ Форма промежуточной аттестации (по семестрам)
					Контактная работа преподавателя с обучающимися				
					Лекция	Семинар/ Практическое, лабораторное занятие/	Консультация		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Тема 1. Основы техники лабораторных работ в экспериментальной биохимии.	6	7			6	-	1	Опрос Проверка расчетов
2	Тема 2. Методы выделения и фракционирования основных классов фосфорсодержащих соединений.	6	18,5			18	-	0,5	Отчет
3	Тема 3. Фракционирование липидов с помощью тонкослойной хроматографии.	6	18,5			18	-	0,5	Отчет
4	Тема 4. Распределительная хроматография свободных аминокислот на бумаге.	6	18,5			18	-	0,5	Отчет
5	Тема 5. Методы выделения белков, их очистки и анализа.	6	19			18	-	1	Отчет
6	Тема 6. Определение активности ферментов.	6	18,5			18	-	0,5	Отчет

7	Тема 7. Метод разделения белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия.	7	22			14	-	8	Отчет
8	Тема 8. Метод выявления анализируемых белков с помощью иммуноблотинга.	7	26			18	-	8	Отчет
9	Тема 9. Методы выделения, очистки и анализа функциональной активности митохондрий.	7	20			12	-	8	Отчет
10	Тема 10. Метод очистки митохондрий в градиенте плотности.	7	20			12	-	8	Отчет
11	Тема 11. Метод полярографического анализа энергетической активности митохондрий.	7	20			12	-	8	Отчет
12	Тема 12. Выделение геномной ДНК.	7	19			12	-	7	Отчет
13	Тема 13. Выделение плазмидной ДНК.	7	19			12	-	7	Отчет
14	Тема 14. Особенности выделения общей (тотальной) РНК.	7	20			12	-	8	Отчет

4.2 План внеаудиторной самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

Семестр	Название раздела, темы	Самостоятельная работа обучающихся			Оценочное средство	Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
		Вид самостоятельной работы	Сроки выполнения	Трудоемкость (час.)		
6	Тема 1. Основы техники лабораторных работ в экспериментальной биохимии.	Самостоятельный расчет навесок для приготовления растворов определенной концентрации.	1	1	Коллоквиум	A5
6	Тема 2. Методы выделения и фракционирования основных классов фосфорсодержащих соединений.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	2	0,5	Отчет	A2 A5 B4
6	Тема 3. Фракционирование липидов с помощью тонкослойной хроматографии.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	5	0,5	Отчет	A2 A5 B2 B4
6	Тема 4. Распределительная хроматография свободных аминокислот на бумаге.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	8	0,5	Отчет	A2 A5 B2 B4
6	Тема 5. Методы выделения белков, их очистки и анализа.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	11	1	Отчет	A1 A3 A5 B1

Семестр	Название раздела, темы	Самостоятельная работа обучающихся			Оценочное средство	Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
		Вид самостоятельной работы	Сроки выполнения	Трудоемкость (час.)		
6	Тема 6. Определение активности ферментов.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	14	0,5	Отчет	A3 A4 A5 B4
7	Тема 7. Метод разделения белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы. Расчет навесок для буферов, используемых для белкового электрофореза.	2	8	Отчет	A1 A2 A5 B1
7	Тема 8. Метод выявления анализируемых белков с помощью иммуноблоттинга.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы. Расчет навесок для буферов, используемых при проведении иммуноблоттинга.	4	8	Отчет	A1 A2 A5
7	Тема 9. Методы выделения, очистки и анализа функциональной активности митохондрий.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	6	8	Отчет	A5 B2
7	Тема 10. Метод очистки митохондрий в градиенте плотности.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	8	8	Отчет	A5 B2

Семестр	Название раздела, темы	Самостоятельная работа обучающихся			Оценочное средство	Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
		Вид самостоятельной работы	Сроки выполнения	Трудоемкость (час.)		
7	Тема 11. Метод полярографического анализа энергетической активности митохондрий.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	10	8	Отчет	A5
7	Тема 12. Выделение геномной ДНК.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	12	7	Отчет	A1 A2 A5 B3
7	Тема 13. Выделение плазмидной ДНК.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	14	7	Отчет	A1 A2 A5 B3
7	Тема 14. Особенности выделения общей (тотальной) РНК.	Подготовка к лабораторной работе с использованием рекомендуемой литературы.	16	8	Отчет	A1 A2 A5 B3
Общий объем самостоятельной работы по дисциплине (час) – 66						
Из них объем самостоятельной работы с использованием электронного обучения и дистанционных образовательных технологий (час) (14)						

4.3 Содержание учебного материала

Тема 1. Основы техники лабораторных работ в экспериментальной биохимии. Химические реактивы и их классификация. Работа с реактивами и их опасные свойства. Хранение химреактивов. Легковоспламеняющиеся жидкости (ЛВЖ), горючие жидкости (ГЖ) и газы. Правила техники безопасности при работе с химическими реактивами. Химическая посуда. Посуда общего назначения. Посуда специального назначения. Механические, физические и химические методы очистки, мытья и сушки посуды при подготовке к эксперименту. Техника приготовления растворов. Технические растворы. Расчет концентраций процентных растворов. Правило «креста». Приготовление точных растворов. Молярные и моляльные растворы. Особенности приготовления точных растворов кислот. Хранение растворов.

Тема 2. Методы выделения и фракционирования основных классов фосфорсодержащих соединений. Методы количественного определения ортофосфата: метод Фиске-Суббароу, метод Самнера, метод Скулачева. Определение лабильных фосфорных соединений. Определение содержания общего фосфора. Методы фракционирования фосфорных соединений. Получение и анализ фракции фосфолипидов. Определение содержания нуклеиновых кислот по содержанию фосфора.

Тема 3. Фракционирование липидов с помощью тонкослойной хроматографии. Основные принципы тонкослойной хроматографии. Принципы выделения липидов из биологического материала. Приготовление экстракта и тонкого слоя сорбента. Разделение липидов и проявление хроматограмм. Идентификация липидов.

Тема 4. Распределительная хроматография свободных аминокислот на бумаге. Принцип метода. Приготовление экстракта. Разделение методом одномерной нисходящей хроматографии. Обнаружение и идентификация веществ на хроматограмме. Элюирование и количественное определение отдельных аминокислот.

Тема 5. Методы выделения белков, их очистки и анализа. Приготовление буферного раствора для выделения и фракционирования белков. Выделение белковых экстрактов. Фракционирование белков осаждением сульфатом аммония. Обессоливание и фракционирование белков гель-фильтрацией. Спектрофотометрический контроль элюции белка. Лиофилизация фракций, обогащенных белком.

Тема 6. Определение активности ферментов. Измерение активности каталазы спектрофотометрическим методом. Определение концентрации белка по Брэдфорд. Калибровочная кривая, уравнение регрессии. Удельная активность ферментов. Оценка степени очистки каталазы.

Тема 7. Метод разделения белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия. Приготовление буферного раствора для выделения белка и реагентов, необходимых для проведения электрофореза и окрашивания белков. Выделение суммарного белка из растительных тканей: гомогенизация ткани, удаление не разрушенных остатков ткани путем центрифугирования, осаждение белков из раствора, обработка белков реагентами, обеспечивающими полную денатурацию белков. Постановка электрофореза: полимеризация рабочего и формирующего гелей, нанесение белковых образцов, фракционирование белков, окраска и обесцвечивание гелей, определение молекулярных масс полипептидов.

Тема 8. Метод выявления анализируемых белков с помощью иммуноблоттинга. Приготовление необходимых реагентов для проведения блоттинга. Проведение иммуноблоттинга и окрашивание мембран.

Тема 9. Методы выделения, очистки и анализа функциональной активности митохондрий. Выделение функционально активных митохондрий. Подготовка растительного материала. Подготовка оборудования и химической посуды, необходимой для работы. Приготовление сред, используемых при выделении митохондрий. Выполнение процедуры изоляции митохондрий из растительных тканей: гомогенизация, отделение митохондриальной фракции методом дифференциального центрифугирования,

очистка полученной фракции митохондрий путем повторного промывания, осаждение митохондрий путем центрифугирования.

Тема 10. Метод очистки митохондрий в градиенте плотности. Приготовление реактивов, используемых во время процедуры очистки митохондрий. Создание ступенчатого градиента плотности (перколла или сахарозы). Выполнение процедуры очистки митохондрий: наслаивание суспензии неочищенных митохондрий на градиент (перколла или сахарозы), центрифугирование в градиенте плотности перколла с целью разделения митохондрий на отдельные зоны в соответствии с их относительной плотностью, сбор фракции митохондрий, полученной в результате разделения, отмывание митохондрий от соединений, используемых при создании градиента (перколла или сахарозы, осаждение митохондрий путем центрифугирования).

Тема 11. Метод полярографического анализа энергетической активности митохондрий. Подготовка полярографического оборудования и химической посуды. Приготовление реактивов, необходимых при определении активности процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях и при изучении работы отдельных звеньев дыхательной цепи. Полярографическая регистрация окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий. Использование полученных полярографических кривых для расчета следующих дыхательных параметров митохондрий: скорости поглощения кислорода в состоянии 3 (скорость фосфорилирующего дыхания - V_3), скорости поглощения кислорода в состоянии 4 (скорость нефосфорилирующего дыхания - V_4), величин дыхательного контроля (V_3/V_4) и отношения АДФ/О.

Тема 12. Выделение геномной ДНК. Основные приемы, используемые при выделении и очистке высокомолекулярной ДНК. Описание условий экстракции суммарной клеточной ДНК из растений, водорослей и грибов (выделение и количественное определение ДНК, определение чистоты препаратов ДНК спектрофотометрическим методом). Меры предосторожности при работе и хранении ДНК и РНК.

Тема 13. Выделение плазмидной ДНК. Рассмотрение факторов, влияющих на рост бактерий *in vitro* (состав и подготовка питательных сред для выращивания микроорганизмов, температурные условия, оценка роста бактерий, выделение плазмидной ДНК методом щелочного лизиса, электрофоретический анализ физических форм плазмидной ДНК (ковалентнозамкнутой или суперспирализованной, открытой кольцевой и линейной форм).

Тема 14. Особенности выделения общей (тотальной) РНК. Методы выделения РНК. Освоение метода выделения общей РНК с помощью мочевины и осаждения в LiCl (выделение общей РНК из растений и количественное определение содержания РНК в образцах).

4.3.1. Перечень семинарских, практических занятий и лабораторных работ

№ п/п	№ раздела и темы	Наименование семинаров, практических и лабораторных работ	Трудоемкость (час.)		Оценочные средства	Формируемые компетенции (индикаторы)*
			Всего часов	Из них практическая подготовка		
1	2	3	4	5	6	7
1	Тема 1	Основы техники лабораторных работ в экспериментальной биохимии.	7		Коллоквиум	ПК-2 <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i>
2	Тема 2	Методы выделения и фракционирования основных классов фосфорсодержащих соединений.	18,5		Отчет	ПК-2 <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> ПК-3 <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
3	Тема 3	Фракционирование липидов с помощью тонкослойной хроматографии.	18,5		Отчет	ПК-1 <i>ИДК ПК 1.1</i> <i>ИДК ПК 1.2</i> ПК-2 <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> ПК-3 <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
4	Тема 4	Распределительная хроматография свободных аминокислот на бумаге.	18,5		Отчет	ПК-1 <i>ИДК ПК 1.1</i> <i>ИДК ПК 1.2</i> ПК-2 <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> ПК-3 <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
5	Тема 5	Методы выделения белков, их очистки и анализа.	19		Отчет	ПК-1 <i>ИДК ПК 1.1</i> <i>ИДК ПК 1.2</i> ПК-2 <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> ПК-3 <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
6	Тема 6	Определение активности ферментов.	18,5		Отчет	ПК-1 <i>ИДК ПК 1.1</i> <i>ИДК ПК 1.2</i> ПК-2 <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> ПК-3 <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
7	Тема 7	Метод разделения	22		Отчет	ПК-1

		белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия.				ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
8	Тема 8	Метод выявления анализируемых белков с помощью иммуноблотинга.	26		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
9	Тема 9	Методы выделения, очистки и анализа функциональной активности митохондрий.	20		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
10	Тема 10	Метод очистки митохондрий в градиенте плотности.	20		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
11	Тема 11	Метод полярографического анализа энергетической активности митохондрий.	20		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
12	Тема 12	Выделение геномной ДНК.	19		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
13	Тема 13	Выделение плазмидной ДНК.	19		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2

						ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3
14	Тема 14	Особенности выделения общей (тотальной) РНК.	20		Отчет	ПК-1 ИДК ПК 1.1 ИДК ПК 1.2 ПК-2 ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2 ПК-3 ИДК ПК 3.1 ИДК ПК 3.2 ИДК ПК 3.3

4.3.2. Перечень тем (вопросов), выносимых на самостоятельное изучение студентами в рамках самостоятельной работы (СРС)

1.	Тема	Задание	Формируемая компетенция	ИДК
1.	Тема 1. Основы техники лабораторных работ в экспериментальной биохимии.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Расчет концентраций процентных растворов. Правило «креста». Молярные и моляльные растворы»	ПК-2	ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2
2.	Тема 2. Методы выделения и фракционирования основных классов фосфорсодержащих соединений.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Определение содержания нуклеиновых кислот по содержанию фосфора»	ПК-2	ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2
3.	Тема 3. Фракционирование липидов с помощью тонкослойной хроматографии.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Основные принципы тонкослойной хроматографии»	ПК-2	ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2
	Тема 4. Распределительная хроматография свободных аминокислот на бумаге.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Принцип метода распределительной хроматографии»	ПК-2	ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2
	Тема 5. Методы выделения белков, их очистки и анализа.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Принцип метода гелевой фильтрации»	ПК-2	ИДК ПК 2.1 ИДК ПК 2.2

	Тема 6. Определение активности ферментов.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Как построить уравнение регрессии в М. Excel».	ПК-2 ПК-3	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
	Тема 7. Метод разделения белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Общие принципы электрофореза белков». «Одномерный электрофорез в ПААГ с SDS».	ПК-2 ПК-3	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
	Тема 8. Метод выявления анализируемых белков с помощью иммуноблоттинга.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Общие принципы иммуноблоттинга белков». «Спектр применения иммуноблоттинга белков».	ПК-2 ПК-3	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
	Тема 9. Методы выделения, очистки и анализа функциональной активности митохондрий.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Методы, применяемые для оценки функциональной активности митохондрий».	ПК-2	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i>
	Тема 10. Метод очистки митохондрий в градиенте плотности.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Методы фракционирования частиц и молекул в градиенте плотности различных материалов»	ПК-2	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i>
	Тема 11. Метод полярографического анализа энергетической активности митохондрий.	Изучить и повторить теоретический материал по вопросам: «Общие принципы полярографии». «Схема дыхательной цепи митохондрий».	ПК-1 ПК-2	<i>ИДК ПК 1.1</i> <i>ИДК ПК 1.2</i> <i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i>
	Тема 12. Выделение геномной ДНК.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Проверка качества выделения ДНК», «Меры предосторожности при работе и хранении ДНК и РНК»	ПК-2	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i>
	Тема 13. Выделение плазмидной ДНК.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Электрофоретический	ПК-2	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i>

		анализ физических форм плазмидной ДНК (ковалентнозамкнутой или суперспирализованной, открытой кольцевой и линейной форм)».	ПК-3	<i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>
	Тема 14. Особенности выделения общей (тотальной) РНК.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Принцип метода ПЦР»	ПК-2 ПК-3	<i>ИДК ПК 2.1</i> <i>ИДК ПК 2.2</i> <i>ИДК ПК 3.1</i> <i>ИДК ПК 3.2</i> <i>ИДК ПК 3.3</i>

4.4. Методические указания по организации самостоятельной работы студентов

Самостоятельная работа студентов является составной частью учебного процесса и имеет целью закрепление и углубление полученных знаний и навыков, поиск и приобретение новых знаний, а также выполнение учебных заданий, подготовку к предстоящим занятиям, зачетам и экзаменам.

Для организации самостоятельной работы по дисциплине «Большой практикум по биохимии» используются следующие формы самостоятельной учебной работы:

- Подготовка к лабораторному занятию состоит в теоретической подготовке с использованием рекомендованной литературы и выполнении практических заданий (решение задач, ответы на вопросы и т.д.).

- Подготовка отчета.
- Подготовка к зачету.

Критерии оценивания отчета:

- Оценка «зачтено» выставляется в том случае, если отчет предоставлен в установленный срок, оформлен в соответствии с установленными правилами, в отчете описаны все работы, выполняемые в течение курса.

- Оценка «не зачтено» выставляется в случае, если студент не выполнил вышеперечисленные требования: нарушил сроки подачи отчета, не все работы представлены в отчете или отчет оформлен не по правилам.

4.5. Примерная тематика курсовых работ (проектов): не предусмотрены учебным планом.

V. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

а) Перечень литературы

А. Основная литература

1. Уилсон К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии [Электронный ресурс] / К. Уилсон, Дж Уолкер. - Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2013. - 848 с. Режим доступа: ЭБС "Издательство "Лань". - Неогранич. доступ. – ISBN 978-5-9963-2126-1: Б. ц.

2. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений: научное издание / ред.: Вл.В. Кузнецов, В.В. Кузнецов, Г.А. Романов. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012. - 487 с. (2 экз). [Электронный ресурс] Режим доступа: ЭЧЗ "Библиотех". - 20 доступов. - ISBN 978-5-9963-0978-8.

3. Биссвангер Х. Практическая энзимология / Х. Биссвангер; пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 328 с. (3 экз)
4. Биохимия: задачи и упражнения для самостоятельной работы студентов: учеб. пособие / А. С. Коничев [и др.] ; ред. А. С. Коничев. - М. :КолосС, 2007. - 140 с. (5 экз)
5. Большой практикум по биохимии: учеб.-метод. пособие/ О.И. Грабельных [и др.], Иркутск: Изд-во ИГУ, 2015. – 167 с.

Б.Дополнительная литература

1. Комов В.П. Биохимия / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – М.: Дрофа, 2008. – 639 с. (50 экз.)
2. Хелдт Г.-В. Биохимия растений: учебник; пер. с англ. М.А. Брейгиной [и др.]; ред.: А. М. Носов, В. В. Чуб. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с. (3 экз). [Электронный ресурс]. Режим доступа: ЭБС "Издательство "Лань". - Неогранич. доступ.
3. Рекославская Н.И., Саляев Р.К. Основы лабораторной работы с нуклеиновыми кислотами: учеб. пособие; рец.: В.П. Саловарова, Л.А. Ломоватская. Иркутск: Изд-во ИГУ, 2012. - 186 с. (43 экз)
4. Комов В.П. Биохимия [Электронный ресурс]: учеб. для академ. бакалавриата: для студ. вузов, обуч. по направл. 655500 "Биотехнология" / В. П. Комов. - 4-е изд., испр. и доп. - ЭВК. - М. Юрайт, 2014. - 640 с. - (Бакалавр. Академический курс). - Режим доступа: ЭЧЗ "Библиотех". - Неогранич. доступ. - ISBN 978-5-9916-3929-3 : 20796.58 p.

б) периодические издания

в) список авторских методических разработок

г) базы данных, поисково-справочные и информационные системы

1. Научная Электронная Библиотека <http://www.e-library.ru>
2. Информационная система «Единое окно доступа к образовательным ресурсам» (<http://window.edu.ru>)
3. ЭБС «ЮРАЙТ». Адрес доступа: <https://www.biblio-online.ru/>
4. ЭБ Издательского центра «Академия». Адрес доступа: <http://www.academia-moscow.ru>
5. <http://www.fptl.ru/biblioteka/biotehnologiya.html>
6. <http://www.medbook.net.ru/010512.shtml>
7. Союз образовательных сайтов - Естественные науки
8. <http://tusearch.blogspot.com> - Поиск электронных книг, публикаций, законов, ГОСТов на сайтах научных электронных библиотек.
9. Google Scholar –Поисковая система по научной литературе.
10. Science Research Portal - Научная поисковая система, осуществляющая полнотекстовый поиск в журналах многих крупных научных издательств, таких как Elsevier, Highwire, IEEE, Nature, Taylor & Francis и др. Ищет статьи и документы в открытых научных базах данных: Directory of Open Access Journals, Library of Congress Online Catalog, Science.gov и Scientific News.

VI. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

6.1. Учебно-лабораторное оборудование:

Аудитория для проведения лабораторных занятий оборудована специализированной мебелью на 10 посадочных мест, доской меловой, техническими средствами обучения: проектор BenQ MS521P, ноутбук. Имеется необходимая инструментальная и приборная база, расходные материалы и реактивы. Для проведения Большого практикума по биохимии имеется следующее оборудование: термостат, ультратермостат, инкубатор,

боксы для стерильной работы, термостатируемые качалки, центрифуги, приборы для одно- и двумерного электрофореза, вестерн-блоттинга, криостат, платиновые электроды и полярографы, система детекции продуктов ПЦР в реальном времени, амплификаторы, спектрофотометры, весы аналитические, весы торсионные, иономеры, микроцентрифуги, фотоэлектроколориметры, жидкостной хроматограф, хроматограф «Миличром», рН-метры, гель-документирующая система с программным обеспечением, встряхиватели, лабораторные шейкеры, термошейкеры, микроскопы стереоскопические, сушильный шкаф, водяные бани, автоматические пипетки.

6.2. Программное обеспечение:

DreamSpark Premium Electronic Software Delivery (3 years) Renewal (Windows 10 Education 32/64-bit (Russian) - Microsoft Imagine, Windows 7 Professional with Service Pack 1 32/64-bit (English) - Microsoft Imagine, Windows Server 2008 Enterprise and Standard without Hyper-V with SP2 32/64-bit (English) - Microsoft Imagine, Access 2016 32/64-bit (Russian) - Microsoft Imagine, Access 2010 32/64-bit (Russian) - Microsoft Imagine). Договор №03-016-14 от 30.10.2014г.

Kaspersky Endpoint Security для бизнеса - Стандартный Russian Edition. 250-499. Форус Контракт №04-114-16 от 14ноября 2016г KES. Счет №РСЦЗ-000147 и АКТ от 23ноября 2016г Лиц.№1В08161103014721370444.

Microsoft Office Enterprise 2007 Russian Academic OPEN No Level. Номер Лицензии Microsoft 43364238.

Microsoft Windows XP Professional Russian Upgrade Academic OPEN No Level. Номер Лицензии Microsoft 41059241.

Office 365 профессиональный плюс для учащихся. Номер заказа: 36dde53d-7cdb-4cad-a87f-29b2a19c463e.

6.3. Технические и электронные средства:

VII. ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Для освоения курса “Большой практикум по биохимии“ применяются следующие образовательные технологии:

- *Практические занятия.* Подготовка необходимых для опыта (эксперимента) приборов, оборудования, реактивов и др.; расчет концентраций веществ, необходимых для выполнения опыта (эксперимента); составление схемы-плана опыта, его проведение и описание; создание протокола эксперимента; практическое занятие по интерпретации результатов опыта (эксперимента); практическое занятие по решению экспериментальных задач.
- *Лабораторные работы.* Студенты должны самостоятельно выполнять запланированные эксперименты, интерпретировать результаты экспериментов, понимать суть теоретических положений, которые иллюстрирует данная работа.
- *Самостоятельная работа студентов* (см. п.4.4).
- *Самостоятельная работа студентов в ходе аудиторных занятий.* Конспектирование протокола эксперимента; подготовка отчета для конкретной лабораторной работы; подготовка вопросов преподавателю; решение задач по теме лабораторной работы; повторение разделов программы с целью подготовки к промежуточной и итоговой аттестации.
- *Дистанционные образовательные технологии.* Под дистанционными образовательными технологиями понимаются образовательные технологии, реализуемые в основном с применением информационно-телекоммуникационных сетей. При освоении дисциплины «Большой практикум по биохимии» используется Образовательный портал ИГУ - educa.isu.ru.

При решении учебных и проблемных задач проводятся опросы в интерактивном режиме. Проводятся семинары разных типов, как например, повторительно-обобщающий семинар, семинар-конференция с заранее подготовленными вопросами для обсуждения.

VIII. ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ

В качестве оценочных средств для входного контроля оценки уровня знаний студентов используется собеседование. В процессе собеседования оценивается уровень владения базовыми знаниями, умениями, навыками, необходимыми для начала обучения по дисциплине «Большой практикум по биохимии», определяется степень владения новым материалом до начала его изучения.

Оценочные средства текущего контроля:

Текущий контроль осуществляется в течение всего времени изучения дисциплины. Формы и виды текущего контроля: решение учебных и проблемных задач по темам; контрольные вопросы в ходе лабораторных занятий; создание протокола опыта (эксперимента); написание отчета по конкретной лабораторной работе; дискуссия.

Оценочные средства для промежуточной аттестации:

Форма промежуточной аттестации - зачет.

Примерный список вопросов к зачету

1. Основные правила работы в биохимической лаборатории.
2. Правила работы на приборах и соблюдение техники безопасности.
3. Посуда, применяемая в биохимических лабораториях. Классы стекла, характеристики. Посуда общего назначения.
4. Специальная посуда. Мерная посуда. Основные элементы лабораторных установок. Подготовка лабораторной посуды для выполнения эксперимента.
5. Химические реактивы. Классификация по чистоте реактивов. Другие характеристики. Работа с реактивами. Хранение химических реактивов.
6. Техника приготовления растворов химических реактивов. Расчёт и техника приготовления приблизительных растворов.
7. Приготовление точных растворов. Разбавление растворов. Хранение приготовленных растворов.
8. Хроматография: общие принципы, виды. Тонкослойная хроматография.
9. Определение фракционного состава липидов методом тонкослойной хроматографии.
10. Идентификация и количественное определение свободных аминокислот методом хроматографического разделения на бумаге.
11. Выделение и фракционирование основных классов фосфорсодержащих соединений.
12. Основные правила, которые нужно соблюдать при выделении функционально активных белков.
13. Фракционирование белков органическими растворителями.
14. Какие свойства белков используют для разделения белков путем осаждения?
15. Какие методы используют для определения содержания белка в растворе?
16. Типичная схема очистки гипотетического белка.
17. Назовите факторы, стабилизирующие ферменты.
18. Измерение активности ферментов с помощью непрерывных методов. Единица активности и удельная активность ферментов.

19. Принципы хроматографических методов, наиболее часто использующихся в процедурах очистки белков.
20. Принцип электрофоретического анализа белковых смесей и его возможности.
21. Для каких целей используется нативный электрофорез белков?
22. Электрофорез в ПААГе в денатурирующих условиях.
23. Анионные детергенты.
24. Подготовка разделяющего и формирующего гелей для электрофореза в ПААГе с ДДС-На: состав и принцип полимеризации.
25. Окрашивание и отмывка гелей после электрофореза белков.
26. Определение молекулярных масс полипептидов.
27. Принцип и назначение блоттинга, виды блоттинга, иммуноблоттинг.
28. Носители, используемые для переноса фракционированных белков, первичные и вторичные антитела.
29. Особенности структурной организации растительных митохондрий и их функционирования.
30. Методические трудности, возникающие при изоляции митохондрий из растений; методы разрушения растительных тканей,
31. Условия проведения процедуры выделения митохондрий и компоненты, необходимые для приготовления сред для гомогенизации растительных тканей и инкубации митохондрий;
32. Использование дифференциального центрифугирования для разделения гомогената на ряд фракций.
33. Этапы процедуры выделения митохондрий из растительных тканей.
34. Метод очистки растительных митохондрий с помощью центрифугирования в градиенте плотности, характеристика соединений, используемых для приготовления градиента плотности. Понятие непрерывного и линейного (прерывистого, ступенчатого) градиентов.
35. Различия в способах очистки митохондрий из этиолированных и фотосинтезирующих тканей.
36. Принцип полярографического метода определения окислительной активности клеточных органелл. Преимущества этого метода по сравнению с другими способами измерения концентрации кислорода.
37. Схема полярографической установки для определения кислорода.
38. Понятие о метаболических состояниях митохондрий.
39. Ингибиторы окислительного фосфорилирования.
40. Дайте описание основных способов разрушения тканей при выделении нуклеиновых кислот.
41. Назовите основные органические соединения, традиционно используемые при экстракции геномной ДНК.
42. Какой вид ДНК позволяет получить в очищенном виде метод щелочной экстракции?
43. Какая физическая форма плазмидной ДНК преобладает в случае получения препарата плазмиды высокого качества?
44. Спектрофотометрические методы оценки чистоты препаратов ДНК и РНК.
45. Электрофоретические методы анализа ДНК и РНК. Электрофоретические маркеры, используемые в этих методах.
46. Основные правила, используемые при выделении, очистке и манипуляциях с нуклеиновыми кислотами.
47. Выделение и очистка какой из двух типов нуклеиновых кислот требует соблюдения особых мер предосторожности.
48. Ингибиторы нуклеаз, используемые при выделении и очистке нуклеиновых кислот.

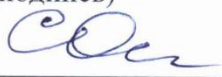
49. Способы элюции с геля отдельных электрофоретических фракций ДНК. Для электрофоретического анализа ДНК используют как полиакриламидный, так и агарозный гель. С использованием какого из гелей обычно анализируют плазмидную ДНК?

Разработчики:




(подпись)

доцент А. В. Третьякова



(подпись)

профессор С.В. Осипова



(подпись)

профессор О.И. Грабельных



(подпись)

профессор Ю.М. Константинов

Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению 06.03.01 «Биология» и профилю подготовки «Биохимия».

Программа рассмотрена на заседании кафедры биохимии, молекулярной биологии и генетики

« 29 » апреля 2021 г.

Протокол № 7 Зав. кафедрой _____



Настоящая программа, не может быть воспроизведена ни в какой форме без предварительного письменного разрешения кафедры-разработчика программы.