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
«21» 03 2025 г.

Рабочая программа дисциплины

Наименование дисциплины: **Б1.О.5 «МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»**

Направление подготовки: 06.04.01 «Биология»

Направленность (профиль) подготовки: «Биотехнология и биоинформационные системы», «Биохимия и молекулярная биология», «Ботаника», «Ихтиология и гидробиология», «Микробиология и вирусология»

Квалификация выпускника: Магистр

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

Согласовано с УМК биолого-почвенного факультета
Протокол № 5 от «21» 03 2025 г.
Председатель _____ А. Н. Матвеев

Рекомендовано кафедрой:
Протокол № 8
От «06» 03 2025 г.
Зав. кафедрой _____ С. В. Осипова

Иркутск 2025 г.

Содержание

	стр.
I. Цель и задачи дисциплины ……	3
II. Место дисциплины в структуре ОПОП ……	3
III. Требования к результатам освоения дисциплины …….	2
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 ……	12
4.3.1 Перечень семинарских, практических занятий и лабораторных работ ……..	14
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 …….	16
4.5. Примерная тематика курсовых работ (проектов) ……	18
V. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины …….	18
а) перечень литературы ……..	18
б) периодические издания …….	19
в) список авторских методических разработок ……..	19
г) базы данных, поисково-справочные и информационные системы…….	19
VI. Материально-техническое обеспечение дисциплины ……	19
6.1. Учебно-лабораторное оборудование ……..	19
6.2. Программное обеспечение ……	20
6.3. Технические и электронные средства обучения ……	20
VII. Образовательные технологии ……	21
VIII. Оценочные материалы для текущего контроля и промежуточной аттестации ……..	22

I. Цель и задачи дисциплины:

Цель: получение знаний и представлений о методах молекулярной биологии, составляющих методическую основу геномики и протеомики, в формировании систематических представлений о принципах и сферах применения методов молекулярной биологии; в формировании четкого понимания возможностей методов молекулярной биологии при решении комплексных проблем современной биологии.

Задачи:

- формирование системы знаний о методах исследования структуры и свойств нуклеиновых кислот и белков;
- изучение методов исследования нуклеиновых кислот (выделение, очистка, анализ, полимеразная цепная реакция);
- изучение методов исследования структуры и функций белковых молекул (выделение, очистка, электрофорез, иммуноблотинг);
- получение системных представлений о связи методов молекулярной биологии с методами биоинформатики и использованием молекулярно-биологических баз данных.

II. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОПОП ВО

2.1. Учебная дисциплина Б1.О.5 «Методы молекулярно-биологических исследований» относится к обязательной части.

2.2. Для изучения данной учебной дисциплины необходимы знания, умения и навыки, формируемые предшествующими дисциплинами: «Биохимия», «Цитология», «Генетика», «Физико-химические методы в биологии», «Молекулярная биология», «Биохимические методы исследования», «ДНК-технологии», «Структура, функции и синтез белков», «Информационные макромолекулы: структура, функции, синтез нуклеиновых кислот».

2.3. Перечень последующих учебных дисциплин, для которых необходимы знания, умения и навыки, формируемые данной учебной дисциплиной: «Биоэнергетика клетки», «Молекулярная биология нуклеиновых кислот», «Молекулярные основы экспрессии генов», «Молекулярная биология белков», «Методы анализа молекулярно-генетических данных», выполнение ВКР.

III. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Процесс освоения дисциплины направлен на формирование компетенции в соответствии с ФГОС ВО и ОП ВО по данному направлению подготовки 06.04.01 «Биология»:

ОПК-1: Способен использовать и применять фундаментальные биологические представления и современные методологические подходы для постановки и решения новых нестандартных задач в сфере профессиональной деятельности.

ОПК-8: Способен использовать современную исследовательскую аппаратуру и вычислительную технику для решения инновационных задач в профессиональной деятельности.

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

Компетенция	Индикаторы компетенций	Результаты обучения
ОПК-1 Способен использовать и применять фундаментальные биологические	*ИДК* $_{ОПК-1.1}$ Знает современные актуальные проблемы, основные открытия и методологические	Знать: современные проблемы, основные открытия и разработки в области молекулярной биологии, геномики, протеомики.

представления и современные методологические подходы для постановки и решения новых нестандартных задач в сфере профессиональной деятельности.	разработки в области биологических и смежных наук.	Уметь: выявлять взаимосвязь строения биополимеров с выполняемыми ими функциями; использовать знания о современных проблемах, основных открытиях и разработках в области молекулярной биологии, геномики и протеомики в сфере будущей профессиональной деятельности для постановки и решения исследовательских задач. Владеть: системными представлениями о связи методов молекулярно-биологических исследований с методами биоинформатики, биохимии, огенетики и молекулярно-биологическими базами данных.
	ИДК ОПК-1.2 Умеет анализировать тенденции развития научных исследований и практических разработок в избранной сфере профессиональной деятельности, способен формулировать инновационные предложения для решения нестандартных задач, используя углубленную общенаучную и методическую специальную подготовку	Знать: основные тенденции развития научных исследований и практических разработок в области молекулярной биологии и возможности их применения в избранной сфере профессиональной деятельности. Уметь: с помощью информационных технологий самостоятельно приобретать знания в области молекулярной биологии, анализировать имеющуюся информацию и использовать полученные знания для решения задач своей профессиональной деятельности. Владеть: терминологией по теме курса, знаниями основных тенденций развития научных исследований и практических разработок в области молекулярной биологии, навыками самостоятельной работы с дополнительной литературой, в том числе с периодической научной литературой и электронными средствами информации.
	ИДК ОПК-1.3 Владеет навыком деловых коммуникаций в междисциплинарной аудитории, представления и обсуждения предлагаемых решений.	Знать: принципы, особенности и правила деловых коммуникаций в междисциплинарной аудитории, принципы представления докладов и обсуждения поставленных задач в широкой аудитории. Уметь: применять на практике знания о принципах и правилах делового общения, представления докладов в области молекулярной биологии и избранной сфере профессиональной деятельности. Владеть: навыком деловых коммуникаций в междисциплинарной аудитории, представления и обсуждения

		вопросов из сферы молекулярной биологии и своей будущей профессиональной деятельности.
ОПК-8 Способен использовать современную исследовательскую аппаратуру и вычислительную технику для решения инновационных задач в профессиональной деятельности.	*ИДК* $_{ОПК-8.1}$ Знает типы современной аппаратуры для полевых и лабораторных исследований в области профессиональной деятельности.	Знать: принципы работы основных приборов и приборных комплексов, применяемых в молекулярно-биологических исследованиях. Уметь: самостоятельно ставить задачу, планировать и проводить исследования в области молекулярной биологии и генетики. Владеть: навыками применения практических подходов к выполнению лабораторных (полевых) исследований и навыками анализа экспериментальных данных в области молекулярной биологии.
	ИДК $_{ОПК-8.2}$ Умеет использовать современную вычислительную технику.	Знать: принципы работы на современной вычислительной технике для решения инновационных задач в области молекулярной биологии и генетики. Уметь: самостоятельно ставить задачу и выполнять лабораторные (полевые) молекулярно-биологические исследования при решении конкретных задач с использованием современной вычислительной техники. Владеть: навыками работы на современной вычислительной техники для решения инновационных задач в области молекулярной биологии и генетики.

IV. СОДЕРЖАНИЕ И СТРУКТУРА ДИСЦИПЛИНЫ

Объем дисциплины составляет 3 зачетных единицы, 108 часов, в том числе 0,11 зачетных единицы, 4 часа на зачет.
Из них реализуется с использованием электронного обучения и дистанционных образовательных технологий 30 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/н	Раздел дисциплины/тема	Семестр	Всего часов	Из них практическая подготовка обучающихся	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу обучающихся , практическую подготовку и трудоемкость (в часах)				Форма текущего контроля успеваемости/ Форма промежуточной аттестации (по семестрам)
					Контактная работа преподавателя с обучающимися			Самостоятельная работа	
					Лекция	Семинар/ Практическое, лабораторное занятие/	Консультация		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Раздел 1. Методы геномики. Тема 1. Введение в геномику.	1	5		1	-	-	4	Устный опрос КСР
2	Раздел 1. Методы геномики. Тема 2. Методы выделения и очистки ДНК.	1	10		2	3	-	5	Коллоквиум Тестирование КСР
3	Раздел 1. Методы геномики. Тема 3. Особенности выделения ДНК разного происхождения.	1	6 (+0,5 ч КСР)		1	-	1	4	Письменный опрос КСР
4	Раздел 2. Методы анализа ДНК. Тема 1. Электрофоретический анализ	1	10		2	3	-	5	Коллоквиум Письменный опрос

	ДНК. Рестрикционный анализ ДНК.								КСР
5	Раздел 2. Методы анализа ДНК. Тема 2. Полимеразная цепная реакция.	1	5		1	-	-	4	Тестирование КСР
6	Раздел 2. Методы анализа ДНК. Тема 3. Саузерн-гибридизация.	1	5		1	-	-	4	Письменный опрос КСР
7	Раздел 2. Методы анализа ДНК. Тема 4. Технологии, основанные на ДНК-чипах.	1	6 (+0,5 ч КСР)		1	-	1	4	КСР
8	Раздел 3. Методы протеомики. Тема 1. Введение в протеомику.	1	6		1	2	-	3	Устный опрос Реферат Доклад КСР
9	Раздел 3. Методы протеомики. Тема 2. Хроматографические методы фракционирования белков.	1	5 (+0,5 ч КСР)		1	-	-	4	Реферат КСР
10	Раздел 3. Методы протеомики. Тема 3. Электрофоретический анализ белков.	1	9		2	2		5	Коллоквиум Реферат Доклад КСР
11	Раздел 3. Методы протеомики. Тема 4. Масс-спектрометрические методы изучения белков.	1	6 (+0,5 ч КСР)		1	-	-	5	Реферат КСР
12	Раздел 3. Методы протеомики. Тема 5. Вестерн-блот-гибридизация.	1	12		1	4	1	5	Коллоквиум Реферат Доклад КСР
13	Раздел 4. Методы выделения, очистки и анализа субклеточных структур.	1	13		2	2		9	Коллоквиум Реферат Доклад

	Тема 1. Разделение субклеточных структур ткани. Изоляция и очистка митохондрий.								КСР
14	Раздел 4. Методы выделения, очистки и анализа субклеточных структур. Тема 3. Идентификация и анализ субклеточных структур.	1	8		1	2	1	5	Реферат Доклад КСР

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.)		
1	Тема 1.1 Введение в геномику.	Работа над конспектом лекции. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросу: «Геномика и биоинформатика», «Структурная геномика», «Функциональная геномика», «Сравнительная геномика», «Применение геномики в медицине», «Связь геномики с системной биологией».	1-2	4	Устный опрос	Лекционный материал. V а) 1 (1-3) V г)
1	Тема 1.2 Методы выделения и очистки ДНК.	Работа над конспектом лекции. Изучение, анализ рекомендованной литературы.	1-2	5	Коллоквиум Тестирование	Лекционный материал. V а) 1 (1-4) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 1.3 Особенности выделения ДНК разного происхождения.	Подготовка к письменному опросу с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Выделение ДНК из животных организмов» «Выделение ДНК из растительных организмов», «Выделение ДНК из митохондрий и хлоропластов».	2-3	2	Письменный опрос	Лекционный материал. V а) 1 (1-3) V а) 2 (1, 2) V г)

Семестр	Название раздела, темы	Самостоятельная работа обучающихся			Оценочное средство	Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
		Вид самостоятельной работы	Сроки выполнения	Трудоемкость (час.)		
1	Тема 2.1 Электрофоретический анализ ДНК. Рестрикционный анализ ДНК.	Подготовка к практическому занятию с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы.	2-3	5	Коллоквиум Письменный опрос	Лекционный материал. V а) 1 (1-3) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 2.2 Полимеразная цепная реакция.	Подготовка к тестированию с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Использование в ПЦР ДНК-полимераз, ДНК-полимераз, выделенных из термофильных бактерий: Thermus aquaticus (Taq-полимераза), Pyrococcus furiosus (Pfu-полимераза), Pyrococcus woesei (Pwo-полимераза)», «Разновидности ПЦР», «Использование ПЦР в научных и прикладных целях».	3-4	4	Тестирование	Лекционный материал. V а) 1 (1-3) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 2.3 Саузерн-гибридизация.	Подготовка к письменному опросу с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросу: «Метод получения статистического набора олигонуклеотидов», «Блот-гибридизация ДНК на капроновых мембранах».	3-4	4	Письменный опрос	Лекционный материал. V а) 1 (1-3) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 2.4 Технологии, основанные на ДНК-чипах.	Подготовка к письменному опросу с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Основные направления в создании ДНК-чипов», Области применения ДНК-чипов в биологии и медицине».	4-5	4	Письменный опрос	Лекционный материал. V а) 1 (1-3) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 3.1 Введение в протеомику.	Написание реферата по теме: «Дизайн протеомного эксперимента», «Top-down протеомика», «Bottom-up протеомика». Подготовка доклада и презентацию по теме реферата.	5-6	3	Устный опрос Реферат Доклад	Теоретический материал на Educa. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)

Семестр	Название раздела, темы	Самостоятельная работа обучающихся			Оценочное средство	Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
		Вид самостоятельной работы	Сроки выполнения	Трудоемкость (час.)		
1	Тема 3.2 Хроматографические методы фракционирования белков.	Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам: «Высокоэффективная жидкостная хроматография», «Нанопоточная жидкостная хроматография». Написание реферата по указанным темам.	5-6	4	Реферат	Теоретический материал на Educa. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 3.3 Электрофоретический анализ белков.	Подготовка к практическому занятию с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Подготовка реферата и доклада по указанной теме и темам «BN–PAGE и CN-PAGE. Сходства и различия», «2D-электрофорез. Анализ 2D-карт», «Определение активности ферментов и белковых комплексов в ПААГе».	7-8	5	Коллоквиум Реферат Доклад	Теоретический материал на Educa. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 3.4 Масс-спектрометрические методы изучения белков.	Ознакомление с конспектом лекции и рекомендуемой литературой. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросам «MALDI-TOF», «Техника мягкой ионизации – ионизация электрораспылением, electrospray ionization (ESI)», «Фрагментация пептидов. Тандемная масс-спектрометрия». Написание реферата по указанным темам.	8-9	5	Реферат	Лекционный материал. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 3.5 Вестерн-блот-гибридизация.	Подготовка к практическому занятию с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросу: «Применение современных методов ИФА». Подготовка реферата и доклада.	10-11	5	Коллоквиум Реферат Доклад	Лекционный материал. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)
1	Тема 4.1 Разделение субклеточных структур ткани. Изоляция и очистка митохондрий.	Подготовка к практическому занятию с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросу: «Мультимерные подходы для изучения мембранных белков клеточных органелл». Написание реферата по теме: «Blue-Native, 2D и 3D электрофорез для изучения протеома клеточных органелл». Подготовка доклада и презентации по теме реферата.	11-13	9	Реферат Доклад	Лекционный материал. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)

Семестр	Название раздела, темы	Самостоятельная работа обучающихся			Оценочное средство	Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
		Вид самостоятельной работы	Сроки выполнения	Трудоемкость (час.)		
1	Тема 4.2 Идентификация и анализ субклеточных структур	Подготовка к практическому занятию с использованием конспекта лекции и рекомендуемой литературы. Самостоятельное изучение теоретического материала по вопросу: «Флуоресцентные зонды для изучения митохондрий *in situ*», подготовка реферата и доклада.	13-14	5	Реферат Доклад	Лекционный материал. V а) 1 (3, 4) V а) 2 (1, 2) V г)
Общий объем самостоятельной работы по дисциплине (час) – **66**						
Из них объем самостоятельной работы **с использованием электронного обучения и дистанционных образовательных технологий 30 (час)**						

4.3 Содержание учебного материала

Раздел 1. Методы геномики

Тема 1. Введение в геномику. История возникновения геномики. Геномика как направление молекулярной биологии, связанное с секвенированием полных геномов прокариот и эукариот. Аннотирование геномов. Компьютерная биология как условие развития геномики. Геномика и биоинформатика. Разделы геномики. Структурная геномика. Функциональная геномика. Сравнительная геномика. Применение геномики в медицине. Связь геномики с системной биологией.

Тема 2. Методы выделения и очистки ДНК. Выделение ДНК фага лямбда. Выделение плазмидной ДНК методом щелочного лизиса. Выделение плазмидной ДНК центрифугированием в двухступенчатом градиенте хлористого цезия. Выделение хромосомной ДНК из E.coli.

Тема 3. Особенности выделения ДНК разного происхождения. Выделение ДНК из животных организмов. Выделение ДНК из растительных организмов. Выделение ДНК из митохондрий и хлоропластов. Метод с использованием CTAB. Выделение ДНК с помощью микроколоночного метода. Выделение с помощью сорбции ДНК на частицах оксида кремния. Метод выделения геномной ДНК с помощью технологии мембранной адсорбции (фирмы «Fermentas»). Ограничения применения CTAB-метода, обусловленные необходимостью использования хлороформа, обладающего высокой токсичностью и потенциальной канцерогенностью. Использование для выделения ДНК коммерческих наборов («Евроген», «Diamond DNA», «GeneJET» и др.). Наборы реагентов для выделения, очистки и переосаждения ДНК. Полифенолы и полисахариды как ингибиторы ПЦР. Показатели чистоты ДНК (OD260/OD280). Длительность хранения без значимого разрушения и изменения структуры как показатель качества препарата ДНК.

Раздел 2. Методы анализа ДНК

Тема 1. Электрофоретический анализ ДНК. Рестрикционный анализ ДНК. Электрофоретический анализ препаратов ДНК в агарозных гелях. Эндонуклеазы рестрикции II типа: свойства и применение. Свойства эндонуклеаз рестрикции. Гидролиз ДНК рестриктазами.

Тема 2. Полимеразная цепная реакция. Открытие Кэри Маллисом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (1983 г). Длина копируемых в ПЦР ДНК-фрагментов. Принцип метода. Компоненты, требующиеся для проведения ПЦР в простейшем случае. ДНК-матрица. Олигонуклеотидные праймеры. Термостабильная ДНК-полимераза. Использование в ПЦР ДНК-полимераз, выделенных из термофильных бактерий: *Thermus aquaticus* (Taq-полимераза), *Pyrococcus furiosus* (Pfu-полимераза), *Pyrococcus woesei* (Pwo-полимераза). Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dATP, dGTP, dCTP, dTTP). Буферный раствор, обеспечивающий необходимые условия реакции. Стадии, составляющие один цикл ПЦР. Денатурация. Отжиг. Элонгация. Число циклов ПЦР. Разновидности ПЦР. Использование ПЦР в научных и прикладных целях.

Тема 3. Саузерн-гибридизация. Введение метки в ДНК. Введение концевой метки в ДНК. Введение метки с помощью полинуклеотидкиназы фага Т4. Дефосфорилирование фрагментов ДНК. Фосфорилирование. Реакция для фрагментов с выступающими 5’-концами. Реакция для фрагментов с 3’-выступающими или тупыми концами. Введение метки с помощью фрагмента Кленова. Ник-трансляция и метод статистической затравки. Введение метки в ДНК методом ник-трансляции. Оптимизация размера фрагментов. Мечение ДНК со статистической олигонуклеотидной затравкой. Метод получения статистического набора олигонуклеотидов. Блот-гибридизация ДНК на капроновых мембранах.

Тема 4. Технологии, основанные на ДНК-чипах. Принцип комплементарной гибридизации одноцепочечных полинуклеотидных цепей как теоретическая основа создания ДНК-чипов. Строение ДНК-чипа. Плотность размещения олигонуклеотидных ячеек на 1 $см^2$ как основная характеристика ДНК-чипа. Основные направления в создании

ДНК-чипов. Методы размещения на чипах химически синтезированных олигонуклеотидов или одноцепочечных фрагментов ДНК, полученных с помощью ПЦР. Применение в изготовлении ДНК-чипов литографических технологий с использованием ультрафиолетового излучения и синтезом олигонуклеотидов непосредственно на поверхности чипа. Гибридизация готового чипа с меченным различными способами ДНК-субстратом (к-ДНК, синтезированной с помощью обратной транскрипции с м-РНК изучаемых тканей). Детекция меченых нуклеотидов и построение паттерна гибридизации, учитывающего олигонуклеотиды или ДНК-фрагменты, с которыми гибридизировалась меченая ДНК. Интенсивность сигнала как отражение количества меченых молекул в конкретной ячейке чипа. Области применения ДНК-чипов в биологии и медицине.

Раздел 3. Методы протеомики

Тема 1. Введение в протеомику. Протеомика как направление молекулярной биологии, связанное с изучением протеома – комплекса белков, кодируемых в геноме организма. Методы выделения, разделения и анализа белков. Методы разделения белков путем осаждения: высаливание (использование сульфата аммония), осаждение белков органическими растворителями (использование ацетона). Диализ. Выделение тотального белка из животных и растительных тканей. Особенности гомогенизации, состав и pH буфера при выделении белков из различных тканей. Количественное определение концентрации белка.

Тема 2. Хроматографические методы фракционирования белков. Принцип метода колоночной хроматографии. Ионообменная хроматография. Катионообменные и анионообменные смолы. Аффинная хроматография. Матрица, лиганд, спейсерная группа. Эксклюзионная (молекулярно-ситовая) хроматография. Сефадексы, биогели, сефакрил. Гидрофобная хроматография. Фенил-сефароза. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Перистальтические насосы.

Тема 3. Электрофоретический анализ белков. Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГе) в нативных и денатурирующих условиях. Компоненты необходимые для полимеризации полиакриламидных гелей. Одно- (1D-PAGE) и двумерный (2D-PAGE) электрофорез в ПААГе с додецилсульфатом натрия. Электрофорез по Лэммли. Заливка гелей. Изоэлектрофокусирование. Подготовка амфолитов. Голубой нативный электрофорез (BN-PAGE), 1D BN-PAGE и 2D BN-PAGE. Бесцветный нативный электрофорез (CN-PAGE). Комбинация нескольких видов электрофореза при изучении протеома. Определение активности ферментов и белковых комплексов в геле. Оценка результатов электрофореза. Анализ 2D-карт. Пептидный масс-фингерпринтинг.

Тема 4. Масс-спектрометрические методы изучения белков. Масс-спектрометрия (МС) – важнейший аналитический инструмент в структурной биологии. Инструменты пять типов масс-анализаторов: магнитный сектор, квадрупольный масс-фильтр, квадрупольная ионная ловушка, время-пролетные и ионно-циклотронные резонансные устройства. Методы ионизации. Лазерная десорбционно-ионизационная масс-спектрометрия (MALDI). Метод электроспрея (ESI-масс-спектрометрия). Тандемная масс-спектрометрия.

Тема 5. Вестерн-блот-гибридизация. Принцип метода Вестерн-блот-гибридизации. Этапы Вестерн-блот-гибридизации: разделение белков с помощью электрофореза, перенос белков на мембрану, иммунохимический анализ. Нитроцеллюлозные и поливинилиденфторидные (PVDF) мембраны. Способы электрофоретического переноса белков из полиакриламидного геля на мембрану: влажный и полусухой переносы. Буферы для переноса. Блокирующий буфер. Первичные и вторичные антитела. Способы визуализации взаимодействия антитела с антигеном. Система щелочной фосфатазы, хемилюминесцентный метод, флуориметрический метод, система коллоидного золота. Оценка результатов иммуноблоттинга.

Раздел 4. Методы выделения, очистки и анализа субклеточных структур.

Тема 1. Разделение субклеточных структур ткани. Изоляция и очистка митохондрий. Способы гомогенизации материала. Дифференциальное

центрифугирование. Разделение органелл в градиенте плотности. Понятие линейного (непрерывного) и ступенчатого градиентов плотности. Изопикническое центрифугирование. Преимущества и недостатки различных веществ, используемых для создания градиента плотности. Выделение митохондрий из растительных тканей. Очистка митохондрий в градиенте плотности перколла. Особенности подготовки белковых препаратов митохондрий для идентификации суперкомплексов дыхательной цепи. Солюбилизация дигитонином и другими детергентами.

Тема 2. Идентификация и анализ субклеточных структур. Ферменты-маркеры различных субклеточных фракций (митохондрий, плазматических мембран, пероксисом, хлоропластов, эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи, цитозоля). Определение чистоты и качества полученного препарата: электронномикроскопическое исследование, определения ферментативной активности, иммуноблоттинг со специфическими антителами к белкам-маркерам, определение функциональной активности.

Теоретические основы полярографического анализа на твердых электродах. Электрод Кларка. Использование электрода Кларка для определения концентрации кислорода в среде. Определение интактности органелл. Анализ интактности и функциональной активности изолированных митохондрий. Определение окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий с помощью полярографического метода. Полярографическая кривая, расчет параметров активности изолированных митохондрий по Чансу-Вильямсу. Флуоресцентные методы идентификации митохондрий. Флуорофоры.

4.3.1. Перечень семинарских, практических занятий и лабораторных работ

№ п/н	№ 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	**1.2**	Методы выделения ДНК прокариот. Подращивание бактериальных штаммов. Выделение ДНК плазмид.	**3**		Коллоквиум Тестирование	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*
2	**2.1**	Анализ ДНК. Метод электрофореза в агарозном геле. Рестрикционный анализ.	**3**		Коллоквиум Письменный опрос	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*
3	**3.1**	Методы протеомного анализа. Особенности выделения и очистки белков из растительных тканей. Высаливание.	**2**		Устный опрос	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* *ИДК ОПК 1.3* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*
4	**3.3**	Современные методы лектрофоретического анализа белков.	**2**		Тестирование Реферат Доклад	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* *ИДК ОПК 1.3* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*

5	**3.5**	Вестерн-блот-гибридизация. Использование поликлональных и моноклональных антител для выявления белков.	**4**		Коллоквиум Реферат Доклад	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* *ИДК ОПК 1.3* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*
6	**4.1**	Методы выделения и очистки митохондрий из растительных тканей.	**2**		Устный опрос Реферат Доклад	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* *ИДК ОПК 1.3* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*
7	**4.2**	Методы определения интенсивности дыхания тканей, культур клеток, изолированных митохондрий: особенности полярографического анализа. Ингибиторный анализ дыхания.	**2**		Письменный опрос Реферат Доклад	**ОПК-1** *ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2* *ИДК ОПК 1.3* **ОПК-8** *ИДК ОПК 8.1* *ИДК ОПК 8.2*

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

№ п/п	Тема	Задание	Формируемая компетенция	ИДК
1	Тема 1.1. Введение в геномику.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Геномика и биоинформатика», «Структурная геномика», «Функциональная геномика», «Сравнительная геномика», «Применение геномики в медицине», «Связь геномики с системной биологией».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
2	Тема 1.3. Особенности выделения ДНК разного происхождения.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Выделение ДНК из животных организмов» «Выделение ДНК из растительных организмов», «Выделение ДНК из митохондрий и хлоропластов».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
3	Тема 2.2 Полимеразная цепная реакция.	Самостоятельно изучить теоретический материал по вопросам: «Использование в ПЦР ДНК-полимераз, ДНК-полимераз, выделенных из термофильных бактерий: Thermus aquaticus (Taq-	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*

		полимераза), Pyrococcus furiosus (Pfu-полимераза), Pyrococcus woesei (Pwo-полимераза)», «Разновидности ПЦР», «Использование ПЦР в научных и прикладных целях».		
4	Тема 2.3. Саузерн-гибридизация.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Метод получения статистического набора олигонуклеотидов», «Блот-гибридизация ДНК на капроновых мембранах».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
5	Тема 2.4. Технологии, основанные на ДНК-чипах.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Основные направления в создании ДНК-чипов», Области применения ДНК-чипов в биологии и медицине».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
6	Тема 3.2. Хроматографические методы фракционирования белков.	Изучить теоретический материал по вопросам: «Высокоэффективная жидкостная хроматография», «Нанопоточная жидкостная хроматография».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
7	Тема 3.4. Масс-спектрометрические методы изучения белков.	Изучить теоретический материал по вопросам: «MALDI-TOF», «Техника мягкой ионизации – ионизация электрораспылением, electrospray ionization (ESI)», «Фрагментация пептидов. Тандемная масс-спектрометрия».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
8	Тема 4.1 Разделение субклеточных структур ткани. Изоляция и очистка митохондрий.	Изучить теоретический материал по вопросу: «Мультимерные подходы для изучения мембранных белков клеточных органелл».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*
9	Тема 4.2 Идентификация и анализ субклеточных структур	Изучить теоретический материал по вопросу: «Флуоресцентные зонды для изучения митохондрий *in situ*».	ОПК-1	*ИДК ОПК 1.1* *ИДК ОПК 1.2*

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 «Методы молекулярно-биологических исследований» используются следующие формы самостоятельной учебной работы:

- Работа над конспектом лекции.
- Подбор, изучение, анализ рекомендованной литературы.
- Самостоятельное изучение отдельных тем, параграфов, не изложенных в лекции.
- Подготовка к практическому занятию состоит в теоретической подготовке и выполнении практических заданий (решение задач, ответы на вопросы и т.д.).
- Написание рефератов, подготовка докладов.
- Подготовка к тестированию.
- Подготовка к зачету.

Письменные работы. Для изучения тем, не изложенных в лекции, рекомендуется использовать основную и дополнительную литературу, а также источники, найденные при помощи информационно-справочных и поисковых систем. Для закрепления материала рекомендуется делать краткие конспекты по теме.

Реферат – форма письменной работы, которую рекомендуется применять при освоении вариативных (профильных) дисциплин профессионального цикла. Представляет собой краткое изложение содержания научных трудов, литературы по определенной теме. Объем реферата может достигать 15-20 стр.; время, отводимое на его подготовку – от 2 недель до месяца. Подготовка реферата подразумевает самостоятельное изучение студентом нескольких литературных источников (учебников, монографий, научных статей и т.д.) по определённой теме, не рассматриваемой подробно на лекции, систематизацию материала и краткое его изложение. Цель написания реферата – привитие студенту навыков краткого и лаконичного представления собранных материалов и фактов в соответствии с требованиями, предъявляемыми к научным отчетам, обзорам и статьям.

Структура реферата включает:

- Титульный лист.
- Содержание.
- Введение, где кратко формулируется проблема, цель и задачи реферата.
- Основная часть работы состоит из нескольких разделов, в которых излагается суть темы реферата.
- Заключение.
- Список использованной литературы.

При оформлении реферата следует придерживаться технических требований, предъявляемых к рефератам и курсовым работам, имеющихся на кафедре.

Критерии оценивания реферата:

- Оценка «отлично» выставляется в том случае, если в реферате полностью раскрыта тема, проанализировано современное состояние вопроса, материал изложен логично, последовательно, приведено не менее 10 литературных источников (среди которых преобладает литература за последние 5 лет), реферат оформлен в соответствии с техническими требованиями, предъявляемыми к такого рода работам.
- Оценка «хорошо» - тема раскрыта, приведено достаточное количество материала, но при этом материал в недостаточной степени проанализирован автором, оформление реферата соответствует техническим требованиям.
- Оценка «удовлетворительно» - тема раскрыта поверхностно, материал приведен как простая констатация фактов, не проанализирован, в оформлении имеются технические недостатки, список литературы содержит менее 5 источников.
- Оценка «неудовлетворительно» - тема не раскрыта, скудный объем приведенных материалов.

Устный доклад – это сообщение в течение 10-15 мин, в котором студент в лаконичной форме должен изложить материал по соответствующей теме, придерживаясь следующего плана: введение, основная часть, заключение. Доклад сопровождается презентацией,

отражающей основные положения по соответствующей теме, включающей наглядные материалы (схемы, таблицы, фото и т.д.). По окончании доклада студенту задают вопросы, как преподаватель, так и студенты, на которые докладчик должен дать исчерпывающие ответы.

Критерии оценивания устного доклада:

- Оценка «отлично». В докладе полностью раскрыта тема, проанализировано современное состояние вопроса; студент свободно владеет материалом, излагает его логично, последовательно, лаконично, соблюдая основные правила культуры речи. Доклад сопровождается презентацией, которая отражает основные положения доклада, презентация составлена грамотно с соблюдением общих требований, правил шрифтового оформления, подачи графического материала, имеются ссылки на приведенные фото, рисунки, схемы и т.д., приводится список использованной литературы. При обсуждении доклада студент дает исчерпывающие, аргументированные, корректные ответы на вопросы.

- Оценка «хорошо». Тема раскрыта, приведено достаточное количество материала, но при этом материал в недостаточной степени проанализирован автором. Презентация не в полной степени соответствует общим требованиям. Ответы студента не на все вопросы являются исчерпывающими и аргументированными.

- Оценка «удовлетворительно». Тема раскрыта не полно, материал приведен как простая констатация фактов, не проанализирован, студент показывает поверхностные знания. Презентация частично соответствует установленным требованиям. При обсуждении доклада студент не всегда дает правильные, исчерпывающие ответы на задаваемые вопросы.

- Оценка «неудовлетворительно». Тема доклада не раскрыта, скудный объем приведенных материалов; презентация отсутствует. При обсуждении доклада студент не дает ответы или они не соответствуют заданным вопросам.

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

V. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

а) перечень литературы

1. Основная литература

1. Молекулярная биология: биосинтез и функционирование макромолекул у прокариот [Текст] : учеб. пособие / В. И. Чемерилова, О. А. Секерина ; рец.: Б. Н. Огарков, С. Н. Жданова ; Иркутский гос. ун-т. – Иркутск : Изд-во ИГУ, 2013. – 314 с. : ил. ; 20 см. – ISBN 978-5-9624-0928-3. (61 экз.)

2. Основы геномики и протеомики: технологии рекомбинантных ДНК первого поколения (генная инженерия) [Текст] : учеб. пособие / В. И. Чемерилова ; рец. Ю. М. Константинов, Н. Л. Белькова ; Иркутский гос. ун-т, Биолог.-почв. фак. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 2014. – 218 с. : 20 см. – ISBN 978-5-9624-1217-7. (60 экз.)

3. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии [Электронный ресурс] – 2-е изд. (эл.). [Электронный ресурс] / К. Уилсон, Дж. ред. Уолкер. – Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 855 с. : ил. – Режим доступа: ЭБС «Айбукс». – Неогранич. доступ. – ISBN 978-5-9963-2877-2 : Б. ц.

4. Большой практикум по биохимии [Текст] : учеб.-метод. пособие / О. И. Грабельных [и др.] ; рец.: А. А. Батраева, Л. А. Ломоватская ; Иркут. гос. ун-т, Биол.-почв. фак. - Иркутск : Изд-во ИГУ, 2015. - 167 с. ; 20 см. - ISBN 978-5-9624-1301-3: (10 экз.).

2. Дополнительная литература

1. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений [Текст] : научное издание / ред.: Вл. В. Кузнецов, В. В. Кузнецов, Г. А. Романов. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2012. – 487 с. : ил. ; 25 см. – (Методы в биологии). – Библиогр. в конце ст. – ISBN 978-5-9963-0738-8. (4 экз.).
2. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений [Электронный ресурс] : научное издание. – ЭВК. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2012. – (Методы вбиологии). – Режим доступа: ЭЧЗ «Библиотех». – 20 доступов. – ISBN 978-5-9963-0978-8.

б) периодические издания

в) список авторских методических разработок.

г) базы данных, информационно-справочные и поисковые 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:

Специальные помещения:

Аудитория для проведения занятий лекционного типа оборудована:

специализированной (учебной) *мебелью* на 12 посадочных мест,

техническими средствами обучения: Доска аудиторная меловая, Проектор BenQ MS504, служащими для представления учебной информации большой аудитории по дисциплине;

учебно-наглядными пособиями, обеспечивающими тематические иллюстрации по дисциплине в количестве: таблицы – 3 шт., презентации по каждой теме программы.

Аудитория для проведения занятий семинарского типа оборудована:

специализированной (учебной) *мебелью* на 12 посадочных мест, биохимическая лаборатория (лабораторные столы - 4 шт.); раковина с тумбой - 1 шт., Деревянные тумбы для хранения реактивов - 2 шт., швытяжной ЛК-1500 ШВ - 2 шт., весы аналитические ГОСМЕТР Ленинград - 1 шт., фотоэлектроколориметр КФК-2 - 1 шт., аквадистиллятор электрический АЭ-14-«Я-ФП»-01 - 1 шт., термостат электрический суховоздушный ТС-1/80 СПУ - 1 шт.;

техническими средствами обучения: доска аудиторная меловая, проектор BenQ MS504, служащими для представления учебной информации большой аудитории по дисциплине «Социально-экономические аспекты взаимоотношений человека и природы»;

учебно-наглядными пособиями, обеспечивающими тематические иллюстрации по дисциплинев количестве: таблицы – 3 шт., презентации по каждой теме программы.

Компьютерный класс (учебная аудитория) для групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации, организации самостоятельной работы – Аудитория оборудована: специализированной (учебной) мебелью на 20 посадочных мест, доской меловой; оборудована техническими средствами обучения:

Системный блок PentiumG850, Монитор BenQ G252HDA-1 шт.; Системный блокAthlon 2 X2 250, Монитор BenQ G252HDA – 8 шт.; Системный блок PentiumD 3.0GHz, Монитор Samsung 740N – 3 шт.;

Моноблок IRU T2105P – 2 шт.;

Системный блок Pentium G3250, Монитор BenQG955 – 1 шт.;

Системный блок Pentium G3250, Монитор BenQ GL2250 – 1 шт.;

Системный блок Pentium G3250, Монитор Samsung T200 HD – 1 шт.;

Системный блок Pentium G3250, Монитор Samsung T190N – 1 шт.;

Системный блок Pentium G3250, Монитор Samsung 740N – 1 шт.;

с неограниченным доступом к сети Интернет; Проектор BenQ MX503; экран ScreenVtdiaEcot.

Помещения для хранения и профилактического обслуживания учебного оборудования - Аудитория оборудована:

специализированной мебелью на 8 посадочных мест; Шкаф вытяжной ЛК-1500 ШВ+вентилятор - 2 шт., Стол двухтумбовый - 5 шт., Стол однотумбовый - 4 шт., Стол компьютерный - 1 шт., Металлические тумбы для хранения лабораторной посуды и оборудования - 4 шт., Деревянные тумбы для хранения лабораторной посуды и оборудования - 5 шт., Шкаф-купе двухдверный - 1 шт., Шкаф металлический - 1 шт., Холодильник NORD ДХ-241-0-010 - 1 шт., Электроплита Луч - 1 шт., Раковина с тумбой - 1 шт., Шкаф-купе трехдверный - 1шт., Шкаф книжный - 3 шт., Микроскоп Биомед 2 Led - 7 шт., Микроскоп Levenhuk D870T - 1 шт., Микроскоп Levenhuk D870T тринокуляр - 1 шт., Микроскоп Микромед Р-1-LED - 1 шт., Микроскоп МЛ-5-Б - 1 шт., Микроскоп биологический МБ-1600Б - 1 шт., Микроскоп Р-14 - 4 шт., Микроскоп Levenhuk 2L NG – 5 шт., Светитель ОИ-12 - 1 шт., Фазовый контраст КФ-3 - 1 шт., Фазовый контраст КФС - 1 шт., pH-метр иономер универсальный ЭВ-74 - 1 шт., Спектрофотометр ПЭ-5300 ВИ - 1 шт., Магнитная мешалка ММ-5 - 5 шт., Весы аналитические ВЛР-200 - 1 шт., Весы торсионные ВТП-500 - 4 шт., Весы торсионные WAGA TORSYJNA-WT - 3 шт., Проектор Оверхед GEHA OHP Ecovision 24/3 - 1 шт., Системный блок в комплекте ASUS - 1 шт., Монитор BenQ DL2215 - 1 шт., Ноутбук Lenovo G580 в комплекте - 1 шт., Мультифункциональное устройство SAMSUNG M2070 - 1 шт., Сканер HP Scanjet G2410 - 1 шт., Принтер Canon LBP 2900 – 1 шт.

6.2. Программное обеспечение:

Kaspersky Endpoint Security для бизнеса - Стандартный Russian Edition;
Foxit PDF Reader 8.0;
LibreOffice 5.2.2.2;
Ubuntu 14.0;
АСТ-Тест Plus 4.0 (на 75 одновременных подключений) и Мастер-комплект (АСТ-Maker и АСТ-Converter).

6.3. Технические и электронные средства:

Презентации по всем темам (разделам) курса.

VII. ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Для освоения дисциплины «Методы молекулярно-биологических исследований» применяются следующие образовательные технологии:

- *Информационная лекция*. Лекция – это сжатое изложение основных научных фактов, что является базой для анализа рассуждений, оценок.

- *Лекция-визуализация*. Учит студентов преобразовывать устную и письменную информацию в визуальную форму, что формирует у них профессиональное мышление за счет систематизации и выделения наиболее значимых, существенных элементов содержания обучения. Задача преподавателя использовать такие формы наглядности, которые на только дополняют словесную информацию, но и сами являются носителями информации (схемы, рисунки, слайды-презентации, и т.п.). Этот вид лекции лучше всего использовать на этапе введения студентов в новый раздел, тему дисциплины.

- *Проблемная лекция*. В отличие от содержания информационной лекции, которое предлагается преподавателем в виде известного, подлежащего лишь запоминанию материала, на проблемной лекции новое знание вводится как неизвестное для обучающихся. Проблемная лекция начинается с вопросов, с постановки проблемы, которую в ходе изложения материала необходимо решить. Лекция строится таким образом, что познания обучающегося приближаются к поисковой, исследовательской деятельности. Здесь участвуют мышление обучающегося и его личностное отношение к усваиваемому материалу.

- *Лекция-беседа*. Предполагает непосредственный контакт преподавателя с аудиторией. Преимущество лекции-беседы состоит в том, что она позволяет привлекать внимание студентов к наиболее важным вопросам темы, определять содержание и темп изложения учебного материала с учетом особенностей студентов.

- *Практические занятия* – это занятие, проводимое под руководством преподавателя в учебной аудитории, направленное на углубление научно-теоретических знаний и овладение определенными методами самостоятельной работы, которое формирует практические умения. Одной из форм практических занятий в вузе является семинар.

- *Семинар-исследование*. Технология проведения такого семинара может быть различной, в зависимости от того, какой метод заложен в его основу. В рамках дисциплины «Экология микроорганизмов» проводится семинар с подготовкой и заслушиванием рефератов по актуальным проблемам теории и практики и последующим их обсуждением.

- *Коллоквиумы* – вид учебного занятия, проводимого с целью проверки и оценивания знаний учащихся. Коллоквиум может проводиться в форме индивидуальной беседы преподавателя со студентом или как массовый опрос. В ходе группового обсуждения студенты учатся высказывать свою точку зрения по определенному вопросу, защищать свое мнение, применяя знания, полученные на занятиях по предмету. В ходе коллоквиума также проверяются рефераты, другие письменные работы студентов, проводится заслушивание докладов.

- *Самостоятельная работа студентов* (см. п.4.4).

- *Дистанционные образовательные технологии*. Под дистанционными образовательными технологиями понимаются образовательные технологии, реализуемые в основном с применением информационно-телекоммуникационных сетей. При освоении дисциплины «Методы молекулярно-биологических исследований» используются следующие технологии:

- кейсовая технология – форма дистанционного обучения, основанная на предоставлении обучающимся информационных образовательных ресурсов в виде специализированных наборов учебно-методических комплексов с использованием различных видов носителей информации (кейсов);

- интернет-технология – способ дистанционной передачи информации, основанный на использовании глобальных и локальных компьютерных сетей для обеспечения доступа обучающихся к информационным образовательным ресурсам и для формирования совокупности методических, организационных, технических и программных средств

реализации и управления учебным процессом независимо от места нахождения его субъектов. Используется Образовательный портал ИГУ - educa.isu.ru.

VIII. ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ

Оценочные материалы для входного контроля

В качестве оценочных средств для входного контроля оценки уровня знаний студентов используется тестирование (тесты с закрытыми вопросами).

В процессе тестирования оценивается уровень владения базовыми знаниями, умениями, навыками, необходимыми для начала обучения по дисциплине «Методы молекулярно-биологических исследований», определяется степень владения новым материалом до начала его изучения.

Оценочные материалы текущего контроля формируются в соответствии с ЛНА университета

В рамках дисциплины «Методы молекулярно-биологических исследований» используются следующие формы текущего контроля:

- письменный и устный опросы по отдельным темам из списка вопросов к зачету;
- контроль самостоятельной работы.

Фонд оценочных средств включает:

- фонд тестовых заданий по дисциплине,
- тематика и материалы заданий,
- тематика и вопросы к коллоквиумам,
- перечень тем рефератов/докладов,
- вопросы для самостоятельного изучения (СРС)
- вопросы для зачета,
- критерии оценки знаний студентов.

Назначение оценочных средств: выявить сформированность компетенции ОПК-1 и ОПК-8 (см. п. III).

Демонстрационный вариант тестового задания для входного контроля при изучении раздела «Методы протеомики»

1. Какие свойства молекулы используются при фракционировании белков с помощью осаждения органическими растворителями: а) заряд, б) размер, в) растворимость, г) гидрофобность, д) сродство.

2. Как можно избавиться от сульфата аммония в белковом препарате: а) с помощью центрифугирования, б) с помощью диализа, в) с помощью эксклюзионной хроматографии, г) с помощью ионообменной хроматографии.

3. Какие свойства белков лежат в основе фракционирования белков с помощью метода ионообменной хроматографии: а) заряд, б) размер, в) растворимость, г) гидрофобность, д) сродство.

4. Какие свойства белков лежат в основе фракционирования белков с помощью аффинной хроматографии: а) заряд, б) размер, в) растворимость, г) гидрофобность, д) сродство.

5. Какие свойства белков лежат в основе фракционирования белков с помощью эксклюзионной хроматографии: а) заряд, б) размер, в) растворимость, г) гидрофобность, д) сродство.

6. Правильно ли утверждение, что при фракционировании белков с помощью эксклюзионной хроматографии более крупные молекулы сходят с колонки быстрее, чем более мелкие: а) да, б) нет.

7. Какие реакции лежат в основе метода определения количественного содержания белка по Лоури: а) УФ-поглощение, б) биуретовая, в) биуретовая и Фолина-Чиокальтеу, г) реакция с бицинхониновой кислотой.

8. Какие способы фракционирования белков основаны на их разделении в зависимости от размера молекулы: а) «высаливание»; б) электрофорез в ПААГе в денатурирующих условиях; в) изоэлектрофокусирование.

9. Какой метод фракционирования белков можно проводить при температуре ниже нуля: 1) «высаливание», 2) осаждение органическими растворителями, 3) гель-хроматографию, 4) гель-электрофорез.

10. Какую процентность полиакриламидного геля (Т, %) рекомендуется использовать, если требуется разделить полипептиды с молекулярной массой 10-40 кДа: а) 15–20, б) 10–15, в) 5–10.

Пример вопросов для письменного опроса по теме
«Особенности выделения ДНК разного происхождения»

1. Существуют ли особенности в подходах к выделению ДНК из животных и растительных организмов?
2. Существуют ли особенности в подходах к выделению ДНК из митохондрий и хлоропластов?
3. Охарактеризуйте кратко сущность метода выделения ДНК с использованием CTAB. Какие ограничения применения CTAB-метода, Вы знаете?
4. В чем сущность микроколоночного метода выделения ДНК?
5. В чем сущность метода выделения с помощью сорбции ДНК на частицах оксида кремния?
6. В чем суть метода выделения геномной ДНК с помощью технологии мембранной адсорбции?
7. Какие наборы реагентов используются для выделения, очистки и переосаждения ДНК?
8. Как проверить чистоту ДНК?
9. Может ли длительность хранения без значимого разрушения и изменения структуры служить показателем качества препарата ДНК?

Пример вопросов для устного опроса по теме
«Электрофоретический анализ белков»

1. Охарактеризуйте кратко принцип и методы электрофоретического анализа белков.
2. В чем сущность электрофореза в ПААГе в денатурирующих условиях?
3. В чем особенность подготовки белковых образцов и заливки гелей для электрофореза по Лэммли?
4. Примером какой реакции может служить реакция полимеризация акриламида? Что является катализатором реакции, а что инициатором?
5. В чем состоит основное назначение формирующего геля для электрофореза по Лэммли?
6. Как можно определить молекулярную массу целевых белков после электрофореза по Лэммли? А после электрофореза в ПААге в нативных условиях?
7. Что такое двумерный электрофорез?
8. В чем сущность метода изоэлектрофокусирования?
9. Какие программы Вы знаете для обработки 2D-карт белков?

10. На чем основан принцип пептидного масс-фингерпринтинга?

11. Для чего и каким образом используется метод голубого нативного электрофореза (BN-PAGE) при анализе протеома митохондрий?

12. Чем отличается бесцветный нативный электрофорез в ПААГе (CN-PAGE) от BN-PAGE

Демонстрационные варианты тестов для текущего контроля

1. Какой метод секвенирования преимущественно использовали при реализации проекта «Геном человека»: а) NGS; б) метод Максама-Гилберта; в) метод Сэнгера.

2. Какой вид бактерий преимущественно используется в качестве хозяина в работах по молекулярному клонированию: а) *Bacillus subtilis*; б) *Escherichia coli*; в) *Bacillus thuringiensis*.

3. Структура какого вида РНК была расшифрована задолго до наступления эры секвенирования: а) рРНК; б) мРНК; в) тРНК; г) микроРНК.

4. Работы с использованием методов молекулярно-генетических исследований предполагают в качестве основного условия применение «Правил работ с рекомбинантными ДНК». На основе использования каких форм защиты построены эти правила: а) санитарной и физической; б) технической и санитарной; в) физической и микробиологической; г) физической и биологической.

5. Какие ферменты, образующие систему защиты бактерий от чужеродной ДНК, сыграли важнейшую роль в возникновении методов молекулярного клонирования: а) лигазы; б) рестриктазы; в) метилазы; г) транспозазы.

6. CRISPR-Cas система получила в последние годы широкое распространение в работах по геномному редактированию. У каких представителй прокариот она обнаружена: а) бактерий; б) архей; в) бактерий и архей.

7. На каком уже известном ранее в молекулярной биологии явлении (еще до открытия CRISPR-Cas) основана работа CRISPR-Cas системы: а) обратная транскрипция; б) РНК-интерференция; в) сайленсинг; г) рестрикция-модификация.

8. Помимо CRISPR-Cas системы у бактерий существует еще одна система защиты от вирусов и плазмид, уничтожающая путем расщепления чужеродную ДНК. Каким образом защищена от расщепления собственная ДНК бактерии: а) ацетилирование оснований; б) фосфорилирование оснований; в) метилирование оснований.

9. В фокусе исследований с применением методов молекулярно-генетических исследований находятся биологические механизмы эпигенетики. Одним из важнейших механизмов эпигенетики является метилирование ДНК. Какие два основания в ДНК подвергаются метилированию, причем одно из них метилируется преимущественно: а) гуанин и аденин; б) тимин и гуанин; в) гуанин и цитозин; г) цитозин и аденин.

10. Ферменты рестрикции-модификации, образующие бактериальную R-M-систему, имеют участок узнавания в ДНК, отличающийся по своей структурной организации от рядом расположенных последовательностей. Исходя из особенностей своей структуры, какое название носит этот участок: а) прямой повтор; б) симметричный повтор; в) палиндром; г) нуклеотидный мотив.

11. Рестриктаза BamHI получила свое название в соответствии с общепринятой номенклатурой. Из какого вида бактерий выделена данная эндонуклеаза рестрикции: а) *Bacillus thuringiensis*; б) *Bacillus subtilis*; в) *Bacillus amyloliquefaciens*.

12. Какого типа (класса) рестриктазы используются в работах по молекулярному клонированию: а) типа I; б) типа II; в) типа IIS.

30. Наличие каких сайтов рестрикции является одним из критериев плазмидных векторов для молекулярного клонирования ДНК в *E.coli*: а) единичных; б) уникальных; в) множественных

Темы рефератов

1. Дизайн протеомного эксперимента.
2. Top-down протеомика.
3. Bottom-up протеомика.
4. Современные хроматографические методы разделения белков.
5. Высокоэффективная жидкостная хроматография.
6. Нанопоточная жидкостная хроматография.
7. BN–PAGE и CN-PAGE. Сходства и различия.
8. Blue-Native, 2D и 3D электрофорез в полиакриламидном геле для изучения протеома клеточных органелл.
9. 2D-электрофорез. Анализ 2D-карт.
10. Определение активности ферментов и белковых комплексов в ПААГе.
11. Флуоресцентные зонды для изучения митохондрий *in situ*.
12. MALDI-масс-спектрометрия.
13. Метод MALDI-TOF.
14. Техника мягкой ионизации – ионизация электрораспылением, electrospray ionization (ESI).
15. Фрагментация пептидов. Тандемная масс-спектрометрия.
16. Определение первичной структуры белков. Секвенирование по Эдману.
17. Определение трёхмерной структуры белков. Метод рентгеновской кристаллографии.
18. Применение современных методов ИФА.
19. Метод пространственной визуализации транскрипции генов.

Оценочные материалы для промежуточной аттестации в форме зачета.

Форма промежуточной аттестации – ***зачет***. ОС этого типа должны выявлять степень освоения теоретических знаний как базу для формирования компетенций, умения их применять в ситуациях, моделирующих профессиональную деятельность, а также сформированность компетенций ОПК-1 и ОПК-8, заявленных в п. III.

Примерный список вопросов к зачету

1. Общая характеристика методов анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших организмов.
2. Выделение и очистка высокомолекулярной и плазмидной ДНК.
3. Особенности выделения ДНК разного происхождения.
4. Полимеразная цепная реакция и ее использование.
5. Саузерн-блот-гибридизация.
6. ДНК-чипы и сфера их использования
7. Рестрикционный анализ ДНК.
8. Методы анализа полиморфизма ДНК.
9. Молекулярные маркеры для решения теоретических и прикладных задач в области молекулярной генетики и смежных отраслях биологии.
10. Подходы к выделению нуклеотидных последовательностей генов и анализ их транскрипционной активности.
11. Подходы к выделению нуклеотидной последовательности целевого гена.
12. Методы анализа транскрипционной активности генов.
13. Технология редактирования генома CRISPR/Cas у прокариот.
14. Принцип функционирования системы CRISPR/Cas.
15. Области применения системы CRISPR/Cas.
16. Общая характеристика векторов для молекулярного клонирования.
17. Общая характеристика векторов инсерционной инактивации, используемых в молекулярном клонировании.
18. Характеристика молекулярно-генетических методов, используемых в медицине.

19. Характеристика молекулярно-генетических методов, используемых в сельском хозяйстве.
20. Характеристика молекулярно-генетических методов, используемых в биотехнологии.
21. Сферы применения современных молекулярно-генетических методов исследований.
22. Риски, проблемы, надуманные и реальные, при использовании методов молекулярно-генетических исследований в прикладных целях (получение ГМО и др.).
23. Основные достижения, ожидаемые результаты в области фундаментальной науки и прикладных областях при использовании методов молекулярно-генетических исследований.
24. Основные этапы эксперимента по клонированию ДНК в плазмидном векторе *pBR322*.
25. Протеомный анализ. Основные этапы количественного анализа сложных белковых смесей.
26. Выбор способов разрушения клеток и требования к составу буфера для экстракции белков.
27. Фракционирование белков. Свойства белковых молекул, позволяющие разделить экстракт белков на фракции.
28. Критерии степени очистки белка.
29. Выбор метода количественного определения содержания белка.
30. Генно-инженерные методы для облегчения выделения белков.
31. Разделение белков путем осаждения (высаливание, осаждение органическими растворителями).
32. Современные хроматографические методы разделения белков. Основные элементы колоночной хроматографии.
33. Высокоэффективная жидкостная хроматография.
34. Электрофоретические методы разделения белков. Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГе) в нативных и денатурирующих условиях.
35. Одномерный электрофорез в ПААГе (1D-PAGE) с додецилсульфатом натрия.
36. Подготовка образцов для денатурирующего электрофореза.
37. Определение активности ферментов и белковых комплексов в геле.
38. Двумерный (2D-PAGE) электрофорез. Изоэлектрофокусирование.
39. Анализ 2D-карт. Пептидный масс-фингерпринтинг.
40. Подготовка белковых препаратов митохондрий для идентификации суперкомплексов дыхательной цепи. Солюбилизация дигитонином и другими детергентами.
41. Голубой нативный электрофорез (BN-PAGE) для анализа мембранных белков.
42. Масс-спектрометрические методы изучения белков. MALDI-масс-спектрометрия. ESI-масс-спектрометрия. Тандемная масс-спектрометрия.
43. Метод MALDI-TOF.
44. Вестерн-блот-гибридизация. Хемилюминесцентный, флуориметрический методы, система коллоидного золота.
45. Флуоресцентные зонды для изучения митохондрий *in situ*.

Разработчики:

_____ профессор Константинов Ю.М.

(подпись)

_____ профессор Грабельных О. И.

(подпись)

Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению 06.04.01 «Биология» и профилям подготовки «Ботаника», «Биохимия и молекулярная биология», «Биотехнология и биоинформационные системы», «Ихтиология и гидробиология», «Микробиология и вирусология», «Психофизиология, физиология регуляторных систем».

Программа рассмотрена на заседании кафедры биохимии, молекулярной биологии и генетики

(наименование)

«06» 03 2025 г.

Протокол № 8 Зав. кафедрой _____

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