

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)

Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
(БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ)

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Биологического института



Д.С. Воробьев

« 29 » _____ 20 23 г.

Рабочая программа дисциплины

Методы экспериментальной биологии

по направлению подготовки

06.03.01 Биология

Направленность (профиль) подготовки:

«Биология»

Форма обучения

Очная

Квалификация

Бакалавр

Год приема

2023

Код дисциплины в учебном плане: Б1.В.ДВ.01.03

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ОП

_____ Д.С. Воробьев

Председатель УМК

_____ А.Л. Борисенко

Томск – 2023

1. Цель и планируемые результаты освоения дисциплины (модуля)

Целью освоения дисциплины является формирование следующих компетенций:

– ОПК-1 – Способен применять знание биологического разнообразия и использовать методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов для решения профессиональных задач;

– ПК-1 – Способен участвовать в исследовании биологических систем и их компонентов, планировать этапы научного исследования, проводить исследования по разработанным программам и методикам, оптимизировать методики под конкретные задачи

Результатами освоения дисциплины являются следующие индикаторы достижения компетенций:

ИОПК-1.1. Ориентируется в разнообразии живых объектов;

ИОПК-1.2. Демонстрирует навыки наблюдения, идентификации и классификации живых объектов при решении профессиональных задач;

ИПК-1.1. Применяет полевые и лабораторные методы исследования биологических объектов с использованием современной аппаратуры и оборудования в соответствии с поставленными задачами

2. Задачи освоения дисциплины

– Знать основные междисциплинарные методы исследования биологических систем;

– Оценивать возможности методов для достижения поставленных задач;

– Интегрировать изученные методы в ход исследовательской работы;

– Организовывать эксперимент на основе имеющегося оборудования и материалов.

3. Место дисциплины (модуля) в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к части образовательной программы, формируемой участниками образовательных отношений, предлагается обучающимся на выбор.

4. Семестр(ы) освоения и форма(ы) промежуточной аттестации по дисциплине

Семестр 1, зачет.

5. Входные требования для освоения дисциплины

Для успешного освоения дисциплины требуются базовые знания по общей биологии за 10 класс.

6. Язык реализации

Русский

7. Объем дисциплины (модуля)

Общая трудоемкость дисциплины составляет 2 з.е., 72 часов, из которых:

– лекции: 20 ч.;

– практические занятия: 4 ч.

в том числе практическая подготовка: 0 ч.

Объем самостоятельной работы студента определен учебным планом.

8. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам

Тема 1. Введение в курс «Экспериментальная биология».

Понятие гипотезы, теории. Переход от описания к эксперименту. Методы изучения живых объектов: наблюдение, сравнительный, исторический и экспериментальный,

моделирование. Виды экспериментов. Проведение эксперимента. Зависимая и независимая переменная. Планирование эксперимента. Валидность. Контрольный эксперимент. Открытия в области экспериментальной биологии и их значение для науки и общества. Физиология, биохимия, молекулярная биологии как экспериментальные дисциплины. Эксперимент *in vivo*, *in vitro*, *in silico*, *in situ*. Задачи экспериментальной биологии. Связь экспериментальной биологии с биотехнологией и медициной.

Тема 2. Радиоизотопные методы

Понятие жизни. Методы обнаружения живого. Изотопный анализ метеоритов, изотопное исключение углерода живыми организмами. Изотопные методы в палеонтологии. Установление возраста ископаемых радиоуглеродным, свинцовыми методами. Распространенные изотопы в биологии. Эксперимент Херши-Чейз и доказательство наследственной роли нуклеиновых кислот. Эксперимент Мезельстона-Сталя. Установление биохимических циклов с помощью изотопов. Методы изотопного разбавления и изучение процессов *in vivo*. Решение задач на радиоизотопные методы.

Тема 3. Иммуноферментный анализ

Иммунитет, антитела и антигены. Использование антител в экспериментальной биологии, диагностике и терапии. Создание гибридома и получение моноклональных антител. Современные способы получения моноклональных антител. Взаимодействие антигена с субпопуляцией антител, авидность. Экспериментальные методы определения ферментативной активности. Ферменты, используемые в ИФА в качестве меток. Классификация методов ИФА. Тест-системы на основе ИФА. Использование антител в терапии рака.

Тема 4. Использование электромагнитного излучения (ЭМИ) в биологии.

Понятие ЭМИ. Влияние ЭМИ на живые организмы. Спектроскопия в видимой и ультрафиолетовой областях. Закон Бугера-Ламберта-Бера и его использование в количественном анализе биомолекул. Принципы и методы колориметрии. Построение калибровочных прямых. Решение задач на колориметрию. Фотоколориметр и спектрофотометр. Флуориметрия в количественном анализе. Спектроскопия в судебной медицине. Биолюминесценция в живых организмах. Зеленый флюоресцирующий белок и его аналоги в биологических исследованиях.

Изучение нано- и микроструктур. Микроскопия в видимом свете. Устройство светового микроскопа, принцип работы. Увеличение и разрешение. Электронная и Флуоресцентная микроскопия.

Тема 5. Культуры клеток и тканей.

Технологии *in vitro* и их значение в медицине, науке и технологиях. Условия культивирования живых организмов и или их клеток. Питательные среды и их назначение. Методы стерилизации и работа в асептических условиях. Культуры раковых клеток и их поучение. Культуры растительных тканей. Культуры микроорганизмов. Особенность эксперимента в культуре *in vitro*.

Тема 6. Методы изучения нуклеиновых кислот и белков.

Понятие о нуклеиновых кислотах и белках, их химических и физических свойствах. Методы выделения, очистки, разделения. Электрофорез белковой смеси, 2D-гель электрофорез. Электрофорез нуклеиновых кислот. Постановка полимеразной цепной реакции и особенности репликации *in vitro*. Методы секвенирования нуклеиновых кислот и белков. ПЦР технологии в современной систематике, медицине, биотехнологиях. Рекомбинантная ДНК и ее использование.

9. Текущий контроль по дисциплине

Текущий контроль по дисциплине проводится путем проведения письменной итоговой работы по лекционному и семинарскому материалу, промежуточная письменная работа фиксируется в форме контрольной точки не менее одного раза в семестр.

10. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации

Зачет в первом семестре проводится на основе суммы баллов, которые студент получил за все письменные работы и посещения. Если студент сдал письменные работы на общую сумму баллов, равную 60 % от максимально возможной суммы баллов, то он получает зачет, при этом посещаемость занятий должна составлять не менее 90%.

Формирование ИОПК-1.2. отражается в подготовленных студентом докладах к семинарским занятиям по темам «Современные методы биохимии».

Если набрано меньше 60 % баллов от максимально возможной суммы, то студент сдает устный зачет по билетам. Каждый билет содержит 1 теоретический вопрос и две практико-ориентированные задачи, ответ на которые отражает освоение студентом индикаторов ИОПК-1.1., ИПК-1.1.

Вопросы к зачету по дисциплине «Экспериментальные методы биологии»

1. Понятие гипотезы, теории. Методы изучения живых объектов: наблюдение, сравнительный, исторический и экспериментальный, моделирование.
2. Виды экспериментов. Проведение эксперимента. Зависимая и независимая переменная. Планирование эксперимента. Валидность. Контрольный эксперимент. Эксперимент *in vivo*, *in vitro*, *in silico*, *in situ*.
3. Методы обнаружения и датировки следов жизни.
4. Радиоизотопы в биологических исследованиях: применение, примеры.
5. Метод радиоизотопного разбавления: принцип, применение в биохимических исследованиях
6. Эксперимент Херши-Чейз и доказательство наследственной роли нуклеиновых кислот. Эксперимент Мезельстона-Сталя.
7. Использование антител в экспериментальной биологии, диагностике и терапии. Создание гибридома и получение моноклональных антител. Современные способы получения моноклональных антител.
8. Экспериментальные методы определения ферментативной активности. Ферменты, используемые в ИФА в качестве меток. Классификация методов ИФА. Тест-системы на основе ИФА.
9. Влияние ЭМИ на материю. Спектр поглощения вещества. Каким образом выбирается длина волны для измерения поглощения вещества.
10. Уравнение Бугера-Ламберта-Бэра и построение градуированных прямых. Распространенные ошибки при спектрофотометрическом анализе.
11. Микроскопия в видимом свете. Устройство светового микроскопа, принцип работы. Увеличение и разрешение. Электронная и Флуоресцентная микроскопия.
12. Флуоресценция и биолюминесценция в исследовании биологических систем. Флуориметр: принцип работы.
13. Использование GFP в современной биохимии.
14. Условия культивирования живых организмов и или их клеток. Питательные среды и их назначение. Методы стерилизации и работа в асептических условиях.
15. Культуры раковых клеток и их поучение. Культуры растительных тканей. Культуры микроорганизмов. Особенность эксперимента в культуре *in vitro*.
16. Методы выделения, очистки, разделения нуклеиновых кислот. Электрофорез белковой смеси, 2D-гель электрофорез. Электрофорез нуклеиновых кислот
17. Методы секвенирования нуклеиновых кислот и белков. ПЦР технологии в современной систематике, медицине, биотехнологиях.
18. Рекомбинантная ДНК и ее использование.

Примеры практико-ориентированных задач для промежуточных работ и билетов:

1. К 2 мл раствора вещества X добавили реактив А. Получили раствор интенсивного красного цвета. В мерной колбе довели объем до 150 мл, из полученного раствора отобрали 1 мл и снова в мерной колбе довели объем до 50 мл. Для полученного раствора получили значение поглощения $A = 0,4$. Определить концентрацию вещества М в исходном объеме, если $\epsilon_{\lambda} = 120 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.
2. Дипептиды Thr-Tyr, Asn-Ala, Cys-Met, Lys-Val, Lys-Lys разделяли методом 2D-гель электрофореза. Схематично нарисуйте, как будут распределяться дипептиды в 2D-геле, объясните Ваш выбор.
3. Раствор вещества М желтого цвета, имеет два максимума поглощения – 440 и 670 нм. Нарисуйте спектр поглощения для данного вещества. Какой фильтр необходим для колориметрического исследования раствора вещества М? Определите сдвиг Стокса, если вещество флуоресцирует при 650 нм (максимум флуоресценции).
4. Раствор вещества М в кювете с длиной светового пути 1 см имеет концентрацию 40 мМ, значение поглощения раствора $A = 0,450$. Определить коэффициент молярной экстинкции и значение пропускания раствора вещества М в кювете с длиной светового пути 3 см.
5. Определите первичную последовательность и молекулярную массу трипептида, если методом MS-MS (для положительных ионов) было получено единственное значение $m/z = 189$.
6. При изучении состава сои измеряли содержание метионина в соевом белке. К выделенному белку массой 10 мг добавили 0,2 мкмоль [^3H]лизина (10^4 МБк/моль). После выделения чистого лизина из белка радиоактивность составила 21 Бк/мкг. Определить процентное содержание лизина в соевом белке.
7. Дипептиды Ala-Phe, Phe-Tyr, Arg-Arg, Met-Glu, Asp-Glu разделяли методом 2D-гель электрофореза. Схематично нарисуйте, как будут распределяться дипептиды в 2D-геле, объясните Ваш выбор.
8. Содержание железа в крови измеряли методом радиоизотопного анализа. К 2 мг крови добавили 1,5 мкг ^{59}Fe радиоактивностью 360 Бк/мкг. Выделенное из крови железо имело радиоактивность 250 Бк/мкг. Установить страдает ли человек анемией, если известно, что в норме содержание железа в крови 10 - 30 мкмоль/л.

Критерии оценивания:

Оценка	Критерии оценки
Не зачтено	Нет ответа даже на общие вопросы
Зачтено	Неполный ответ на все вопросы, полный развернутый или частично неполный ответ на все вопросы

11. Учебно-методическое обеспечение

а) Оценочные материалы текущего контроля и промежуточной аттестации по дисциплине.

б) Планы практических занятий по дисциплине представлены в курсе Moodle.

в) Методические указания по организации самостоятельной работы студентов.

Самостоятельная работа студентов предполагается в форме углубленного изучения теоретических вопросов, а также решения практико-ориентированных задач по каждой теме.

12. Перечень учебной литературы и ресурсов сети Интернет

а) основная литература:

– Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии : учебник / ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер ; пер. с англ. - 3-е изд. - Москва : Лаборатория знаний, 2020. - 855 с. - (Методы в биологии).

б) дополнительная литература:

– Omics Technologies and Bio-engineering 1st Edition / eds. D. Barh, V. Azevedo – NY: Academic Press, – 618 P.

– Каныгина, О. Н. Физические методы исследования веществ : учебное пособие / О. Н. Каныгина, А. Г. Четверикова, В. Л. Бердинский ; Оренбургский государственный университет. – Оренбург : Оренбургский государственный университет, 2014. – 141 с.

в) ресурсы сети Интернет:

- База данных Ensembl – URL: <https://www.ensembl.org/>
- База данных NCBI – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- База данных <http://www.scopus.com>
- База данных <https://link.springer.com/>
- База данных <http://www.biolib.de/>
- База данных <https://biomolecula.ru/>
- База данных <https://openlibrary.org/>
- База данных <http://cyberleninka.ru/>
- База данных <https://bioumo.ru>

13. Перечень информационных технологий

а) лицензионное и свободно распространяемое программное обеспечение:

– Microsoft Office Standart 2013 Russian: пакет программ. Включает приложения: MS Office Word, MS Office Excel, MS Office PowerPoint, MS Office On-eNote, MS Office Publisher, MS Outlook, MS Office Web Apps (Word Excel MS PowerPoint Outlook);

– публично доступные облачные технологии (Google Docs, Яндекс диск и т.п.).

б) информационные справочные системы:

– Электронный каталог Научной библиотеки ТГУ – <http://chamo.lib.tsu.ru/search/query?locale=ru&theme=system>

– Электронная библиотека (репозиторий) ТГУ – <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Index>

– ЭБС Лань – <http://e.lanbook.com/>

– ЭБС Консультант студента – <http://www.studentlibrary.ru/>

– Образовательная платформа Юрайт – <https://urait.ru/>

– ЭБС ZNANIUM.com – <https://znanium.com/>

– ЭБС IPRbooks – <http://www.iprbookshop.ru/>

– Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. – М., 2000- . – URL: <http://elibrary.ru/defaultx.asp?>

14. Материально-техническое обеспечение

Аудитории для проведения занятий лекционного типа.

Аудитории для проведения занятий практического типа, индивидуальных и групповых консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации.

Помещения для самостоятельной работы, оснащенные компьютерной техникой и доступом к сети Интернет, в электронную информационно-образовательную среду и к информационным справочным системам.

15. Информация о разработчиках

Плотников Евгений Владимирович, кафедра ботаники Биологического института ТГУ, ассистент.