

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

Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
(Биологический институт)

УТВЕРЖДЕНО:
Директор
Д.С. Воробьев

Рабочая программа дисциплины

Анализ биополимеров

по направлению подготовки

06.03.01 Биология

Направленность (профиль) подготовки:
«Биология»

Форма обучения
Очная

Квалификация
Бакалавр

Год приема
2022

СОГЛАСОВАНО:
Руководитель ОП
Д. С. Воробьев

Председатель УМК
А. Л. Борисенко

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;

– ОПК-2 – Способен применять принципы структурно-функциональной организации, использовать физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания;

Результатами освоения дисциплины являются следующие индикаторы достижения компетенций:

– ИОПК-2.2 – Использует физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания;

– 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 методы и методические подходы, а также принципы их работы, по изучению структуры биополимеров их роли в формировании признаков организма

– Применять лабораторные методы исследования биополимеров

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 6, экзамен.

5. Входные требования для освоения дисциплины

Для успешного освоения дисциплины требуются результаты обучения по следующим дисциплинам: «Органическая химия», «Физическая химия», «Биохимия».

6. Язык реализации

Русский

7. Объем дисциплины (модуля)

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 з. е., 108 часа, из которых:

– лекции: 18 ч.;

– семинарские занятия: 20 ч.

Объем самостоятельной работы студента определен учебным планом.

8. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам

Тема 1. Химия биополимеров

Свойства полимерных молекул. Химический состав живых организмов и биополимеры. Конфигурация, стереохимия, предельные конформации и гибкость нуклеиновых кислот (НК) и полипептидов (ПП). Свойства растворов НК и ПП. Полиэлектrolиты. Самоорганизация НК и ПП. Химические реакции НК и ПП.

Тема 2. Выделение и очистка нуклеиновых кислот и белков из клеток и тканей живых организмов.

Общие принципы и специфика экстракции ДНК, РНК и белков из живых тканей: связанность НК и ПП с клеточными и внеклеточными структурами. Способы выделения ДНК и РНК из тканей живых организмов. Специфика выделения биополимеров из культуры клеток бактерий, грибов, тканей растений и животных, парафиновых срезов, древних остатков, седиментационных осадков, гербарного материала и окружающей среды. Особенности выделения высокомолекулярной ДНК. Выделение ДНК для криминалистики. Выделение ДНК из гелей для электрофореза. Автоматизированные системы выделения и очистки ДНК.

Особенности экстракции белковых молекул.

Тема 3. Определение длины и конформации биополимеров.

Теоретические основы электрофоретического разделения биополимеров: гели, буферы, ячейки, параметры электромагнитного поля. Буферы для загрузки НК, их состав, электрофоретическая подвижность компонентов. Определение длины НК: основные принципы. Особенность разделения молекул с различной конформацией (одноцепочечные, двуцепочечные, кольцевые). Двумерный гельэлектрофорез, его применение для определения конформации ДНК. Денатурирующий градиентный гельэлектрофорез (DGGE) для анализа длины олигонуклеотидов. Пульс-гельэлектрофорез для разделения длинных молекул и дрожжевых хромосом. Детекция двуцепочечных разрывов с помощью гель-электрофореза (COMET). Использование гель-электрофореза для изучения взаимодействия ДНК с белками. Современные автоматизированные системы разделения нуклеиновых кислот. Особенности электрофоретического разделения белков гели, буферы, маркеры веса, визуализация. Разделение по длине, трехмерной структуре, изоэлектрической точке двумерный ЭФ. Вестерн-блоттинг.

Тема 4. Гибридизационный анализ нуклеиновых кислот

Физико-химические основы гибридизации нуклеиновых кислот. Влияние длины и последовательности нуклеиновых кислот, температуры, рН, ионной силы, вязкости раствора на динамику гибридизации. Общая схема и принцип гибридизационных методов. Модификации нуклеотидов, используемые для получения зондов. Способы встраивания модификаций в олиго- и полинуклеотидную молекулу. Контроль условий гибридизации и отмычки гибридных молекул для регуляции специфичности. Способы усиления сигнала в ходе детекции. Способы количественной оценки гибридизации. Методы на основе гибридизации нуклеиновых кислот и их применение: блот гибридизация (Саузерн, Нозерн и Дот). ДНК-микрочипы. Методы *in situ* гибридизации. Флюоресцентная *in situ* гибридизация (FISH). Модификации FISH: RNA-, M-, Q-, GISH, CGH, 3D-, PRINCE, другие.

Применение гибридизационных методов в практической деятельности.

Тема 5. Методы анализа на основе амплификации нуклеиновых кислот

Классическая ПЦР и принцип амплификации. Компоненты ПЦР-смеси. Условия проведения ПЦР. Разработка праймеров и критерии оценки их качества. Ферменты, используемые для ПЦР. Динамика накопления амплификата в реакционной смеси. Основные задачи, которые решают с использованием ПЦР. Мультиплексная ПЦР. Модификации ПЦР для усиления специфичности. Ферменты, используемые для ПЦР. Модификации классической ПЦР и их назначение. ПЦР в реальном времени. Основные технологии ПЦР в реальном времени. Способы детекции результатов амплификации. Изотермическая ПЦР на основе LAMP. Применение амплификации в практической деятельности.

Тема 6. Анализ последовательности нуклеиновых кислот.

Методы определения и верификации нуклеотидной последовательности с помощью эндонуклеазного расщепления. Геномные библиотеки. Секвенирование по Сенгеру. Технологии массового параллельного секвенирования. Секвенирование путем синтеза: пиросеквенирование (454 Life Sciences), Illumina/Solexa, Ion Torrent. Секвенирование путем гибридизации и лигирования: SOLiD. Нанопоровое секвенирование: Oxford Nanopore. PacBio секвенирование.

9. Текущий контроль по дисциплине

Текущий контроль по дисциплине проводится путем проведения тестов по лекционному и семинарскому материалу и фиксируется в форме контрольной точки не менее одного раза в семестр.

Оценочные материалы текущего контроля размещены на сайте ТГУ в разделе «Информация об образовательной программе» – <https://www.tsu.ru/sveden/education/eduop/>.

10. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации

Экзамен в шестом семестре проводится в устной форме по билетам. Билеты к экзамену состоят из двух вопросов.

Оценочные материалы для проведения промежуточной аттестации размещены на сайте ТГУ в разделе «Информация об образовательной программе» – <https://www.tsu.ru/sveden/education/eduop/>.

Примерный перечень вопросов к экзамену по дисциплине «Анализ биополимеров»

1. Основные свойства полимерных молекул. Химический состав живых организмов и биополимеры.
2. Химическая структура и физико-химические свойства нуклеиновых кислот.
3. Химическая структура и физико-химические свойства полипептидов.
4. Общие принципы и специфика экстракции ДНК, РНК и белков из живых тканей.
5. Способы экстракции ДНК и РНК из тканей живых организмов.
6. Специфика выделения биополимеров из культуры клеток бактерий, тканей грибов, растений и животных.
7. Особенности экстракции белковых молекул.
8. Определение длины и конформации биополимеров.
9. Теоретические основы электрофоретического разделения биополимеров: гели, буферы, ячейки, параметры электромагнитного поля.
10. Буферы для загрузки НК, их состав, электрофоретическая подвижность компонентов.
11. Особенность ЭФ-разделения молекул нуклеиновых кислот с различной конформацией (одноцепочечные, двуцепочечные, кольцевые).
12. Двумерный гель-электрофорез, его применение для определения длины и конформации биополимеров.
13. Денатурирующий градиентный гельэлектрофорез (DGGE) для анализа длины олигонуклеотидов.
14. Пульс-гельэлектрофорез для разделения длинных молекул и дрожжевых хромосом.
15. Использование гель-электрофореза для изучения взаимодействия ДНК с белками.
16. Современные автоматизированные системы разделения нуклеиновых кислот.
17. Особенности электрофоретического разделения белков гели, буферы, маркеры веса и визуализация.
18. Разделение белков по длине, трехмерной структуре, изоэлектрической точке. Двухмерный электрофорез.
19. Методы гибридного анализа нуклеиновых кислот
20. Физико-химические основы гибридизации нуклеиновых кислот.

21. Влияние длины и последовательности нуклеиновых кислот, температуры, рН, ионной силы, вязкости раствора на динамику гибридизации нуклеиновых кислот.
22. Общая схема и принцип гибридизационных методов.
23. Модификации нуклеотидов, используемые для получения ДНК-зондов.
24. Способы встраивания модификаций в олиго- и полинуклеотидную молекулу.
25. Контроль условий гибридизации и отмывки гибридных молекул для регуляции специфичности.
26. Способы усиления сигнала в ходе детекции ДНК-зондов.
27. Способы количественной оценки гибридизации нуклеиновых кислот.
28. Методы на основе гибридизации нуклеиновых кислот и их применение: блот гибридизация (Саузерн-, Нозерн- и дот-).
29. ДНК-микрочипы.
30. Методы *in situ* гибридизации.
31. Флюоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).
32. Модификации FISH и их применение
33. Методы анализа на основе амплификации нуклеиновых кислот
34. Классическая ПЦР и принцип амплификации.
35. Компоненты ПЦР-смеси и условия проведения ПЦР.
36. Разработка праймеров и критерии оценки их качества.
37. Ферменты, используемые для ПЦР.
38. Кинетика реакции ПЦР.
39. Три основные группы задач, которые решают с использованием ПЦР.
40. Мультиплексная ПЦР.
41. Модификации ПЦР для усиления специфичности.
42. Модификации классической ПЦР и их назначение.
43. ПЦР в реальном времени. Три основных протокола ПЦР в реальном времени.
44. Способы детекции результатов амплификации.
45. Изотермическая ПЦР на основе LAMP.
46. Применение амплификации в практической деятельности.
47. Анализ последовательности нуклеиновых кислот.
48. Методы определения и верификации нуклеотидной последовательности с помощью эндонуклеазного расщепления.
49. Геномные библиотеки.
50. Секвенирование по Сенгеру.
51. Технологии массового параллельного секвенирования.
52. Секвенирование путем синтеза: пиросеквенирование (454 Life Sciences), Illumina/Solexa, Ion Torrent.
53. Секвенирование путем гибридизации и лигирования: SOLiD.
54. Нанопоровое секвенирование: Oxford Nanopore. PacBio секвенирование.

Критерии оценивания:

Результаты экзамена определяются оценками «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно».

Результаты текущего контроля учитываются в виде дополнения 1 балла к результату промежуточной аттестации в случае, если обучающийся посещал все лекции и семинарские занятия и подготовил не менее 3 развернутых докладов по темам курса.

Оценивание ответа на экзаменационный билет производится по 5-ти балльной шкале, где:

5 баллов (отлично) – на каждый вопрос билета даны полные, самостоятельные без наводящих вопросов ответы, сопровождающиеся пояснительными рисунками, схемами и примерами. Даны исчерпывающие ответы на дополнительные вопросы

демонстрирующие, что отвечающий ориентируется в смежных вопросах и имеет целостное представление о проблеме.

4 балла (хорошо) – на все вопросы даны ответы, сопровождающиеся пояснительными рисунками и схемами. При этом отвечающий нуждается в наводящих вопросах для полного ответа, а примеры, иллюстрирующие понимание проблемы, не приводятся. Также возможен вариант, когда исчерпывающие ответы даются лишь на один вопрос билета, тогда как на второй вопрос ответ дается неполный. Даны ответы на дополнительные вопросы демонстрирующие, что отвечающий ориентируется в смежных вопросах и имеет целостное представление о проблеме.

3 балла (удовлетворительно) – на все вопросы даны неполные ответы. Отвечающий испытывает трудности с использованием терминов и не может привести примеры, предоставить пояснения, схемы. Ответы на дополнительные вопросы либо не демонстрируют полноты понимания проблемы и ее места в смежных областях, либо демонстрируют фрагментарное понимание вопроса.

2 балла (неудовлетворительно) – обучающийся не ответил ни на один вопрос экзаменационного билета.

11. Учебно-методическое обеспечение

а) Электронный учебный курс по дисциплине в электронном университете «Moodle» – <https://moodle.tsu.ru/course/view.php?id=16962¬ifyeditingon=1>

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

в) План семинарских занятий по дисциплине.

Семинарские занятия проводятся по единому плану:

- 1) доклады обучающихся по темам, соответствующим содержанию дисциплины (п. 8.);
- 2) обсуждение представленной информации;
- 3) знакомство с информационными источниками по теме семинара и результатами исследований по соответствующей теме.

Темы семинаров:

Семинар 1. Новые методы экстракции биополимеров.

Семинар 2. Модификации методов экстракции биополимеров из различных источников (прокариоты, грибы, растения, животные, почва, осадочные породы, древняя ДНК, криминалистика).

Семинар 3. Новые методы в электрофоретическом разделении нуклеиновых кислот.

Семинар 4. Новые методы и их применение в гибридизации нуклеиновых кислот.

Семинар 5. Новые методы и их применение в гибридизации белков.

Семинар 6. Модификации *in situ* гибридизации и ее применение.

Семинар 7. Новые методы анализа последовательностей биополимеров.

Семинар 8. Новые методы анализа последовательностей биополимеров.

Семинар 9. Примеры использования аналитических методов в молекулярной генетике и молекулярной биологии.

Семинар 10. Примеры использования аналитических методов в инженерной биологии.

г) Методические указания по проведению лабораторных работ.

Методические указания к проведению лабораторных работ приведены в проекте учебно-методического пособия «Лабораторные работы по генетике».

д) Методические указания по организации самостоятельной работы студентов.

Целью самостоятельной работы обучающихся является:

- закрепление фундаментальных знаний в области биологии клетки, расширение знаний о прикладных аспектах использования достижений клеточной биологии;
- развитие умения самостоятельно работать с учебным материалом;
- приобретение навыков поиска и реферирования доступной научной информации в области клеточной биологии.

Самостоятельная работа студентов предусматривает:

- повторение лекционного материала, подготовку к семинарским занятиям;
- подготовку к экзамену.

Во время самостоятельной работы для подготовки к семинарским занятиям обучающийся может использовать рекомендованные литературные источники и интернет-ресурсы, а также иные источники информации (статьи в периодических изданиях и др.), позволяющие получать современную информацию об исследованиях в области клеточной биологии.

12. Перечень учебной литературы и ресурсов сети Интернет

а) основная литература:

Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. В 3 томах. — М.: Мир, 1994.

Ленинджер А. Основы биохимии. В 3 томах. — М.: Мир, 1985.

б) дополнительная литература:

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Учебник для студентов биологических специальностей университетов. Москва: Изд-во Высшая школа, 1989. – 592 с.

Клаг У., Каммингс М. Основы генетики. М.: Техносфера, 2007. – 896 с.

Новиков Ю.М. Генетика: решение и оформление задач, основные термины, понятия и законы. Учебное пособие. Томск: Изд-во ТГУ, 2006. – 260 с.

Маниатис Т. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук; Пер. с англ. под ред. А. А. Баева, К. Г. Скрыбина. - М. : Мир, 1984. - 479, [1] с.: ил.

в) ресурсы сети Интернет:

Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Курс лекций для студентов 3-его курса. 2007. Эл. версия: <http://bookfi.net/book/1397395>.

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 (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/>

14. Материально-техническое обеспечение

Аудитории для проведения занятий лекционного типа.

Аудитории для проведения занятий семинарского 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

Артемов Глеб Николаевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики и клеточной биологии БИ ТГУ.