

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

Оценочные материалы по дисциплине

Анализ биополимеров

по направлению подготовки

06.03.01 Биология

Направленность (профиль) подготовки:
Биология

Форма обучения
Очная

Квалификация
Бакалавр

Год приема
2024

СОГЛАСОВАНО:
Руководитель ОП
Д. С. Воробьев

Председатель УМК
А. Л. Борисенко

Томск – 2025

1. Компетенции и индикаторы их достижения, проверяемые данными оценочными материалами

Целью освоения дисциплины является формирование следующих компетенций:

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.

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-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. Оценочные материалы текущего контроля и критерии оценивания

Элементы текущего контроля – тесты.

Пример тестов:

1. Сколько этапов включает выделение нуклеиновых кислот из многоклеточной структуры? (ИОПК-2.2)
 - 1) 3
 - 2) 4
 - 3) 5
2. К методам твердофазной очистки нуклеиновых кислот относят (ИОПК-2.2):
 - 1) «Очистка на колонках»
 - 2) Фенол-хлороформный метод
 - 3) Метод центрифугирования в градиенте хлористого цезия
3. Какие вещества не входят в состав лизирующего буфера для выделения ДНК? (ИПК-1.1)
 - 1) Хелатирующие агенты
 - 2) Хаотропные агенты
 - 3) Детергенты
 - 4) Протеиназы
 - 5) Этанол или изопропанол
4. Примеси фенола в составе препарата нуклеиновых кислот изменяют оценку их концентрации при использовании спектрофотометрического метода в сторону (ИОПК-2.2):
 - 1) Завышения по отношению к реальной концентрации
 - 2) Занижения по отношению к реальной концентрации
 - 3) Не влияют на оценку реальной концентрации
5. Какой из образцов приведенных ниже имеет хорошие показатели чистоты препарата ДНК (ИПК-1.1):

- 1) A260/280 – 1,8 и A260/230 – 2,3
 - 2) A260/280 – 2,3 и A260/230 – 1,8
 - 3) A260/280 – 1,6 и A260/230 – 2,4
6. Флюориметрический метод оценки концентрации нуклеиновых кислот имеет преимущество перед спектрофотометрическим по следующей причине (ИОПК-2.2):
- 1) Низкая стоимость анализа
 - 2) Более высокая точность при концентрациях выше 100 нг/мкл
 - 3) Более высокая точность при концентрациях ниже 100 нг/мкл
 - 4) Возможность оценивать наличие примесей белков в растворе
7. В основе метода электрофореза нуклеиновых кислот положен принцип (ИОПК-2.2):
- 1) Молекулы с разным знаком суммарного заряда движутся с разной скоростью
 - 2) Молекулы с разной величиной суммарного заряда движутся с разной скоростью
 - 3) Молекулы с цепочками разной длины движутся с разной скоростью
8. Какой компонент гель-электрофореза нуклеиновых кислот в наименьшей степени влияет на его результат? (ИОПК-2.2)
- 1) Напряженность электрического поля
 - 2) Концентрация геля
 - 3) Тип буфера для электрофореза
 - 4) Краситель для визуализации НК
9. Основным преимуществом метода акриламидного гель-электрофореза по сравнению с агарозным является (ИОПК-2.2):
- 1) Более высокое разрешение
 - 2) Более высокая скорость проведения разделения
 - 3) Возможность получения препаратов нуклеиновых кислот
10. Какой метод был использован для первой сборки генома человека? (ИОПК-2.2)
- 1) Метод Сэнгера
 - 2) Метод Максама – Гилберта
 - 3) Метод Oxford Nanopore
11. Какой метод секвенирования, из перечисленных, позволяет получать самые длинные прочтения? (ИОПК-2.2)
- 1) Метод Сэнгера
 - 2) Метод Oxford Nanopore
 - 3) Метод Illumina
 - 4) Метод пиросеквенирования
12. Какой принцип положен в основу функционирования метода 454? (ИОПК-2.2)
- 1) при присоединении нуклеотида высвобождается пирофосфат
 - 2) в разных ячейках находятся разные ДНК-полимеразы
 - 3) при добавлении пирофосфата в смесь можно определить нуклеотиды
13. Температура плавления ДНК определяется таким состоянием (ИОПК-2.2):
- 1) когда все цепочки в растворе не образуют комплементарных взаимодействий друг с другом
 - 2) когда около половины молекул в растворе денатурированы
 - 3) когда денатурация инициирована у всех двуцепочечных молекул в растворе
14. Какие искусственные модификации не используют для мечения ДНК-проб? (ИОПК-2.2)

- 1) Ацетильные или метильные группы
 - 2) Флюорофоры
 - 3) Радиоактивные группы
 - 4) Биотин или дегюксигенин
15. С какой целью в гибридизационный раствор добавляют блокирующие агенты? (ИПК-1.1)
- 1) Предотвратить неспецифическую гибридизацию
 - 2) Усиление контрастности сигнала на этапе детекции
 - 3) Поддержание pH раствора
16. В какой из следующих стадий полимеразной цепной реакции (ПЦР) корректно описаны происходящие в ней изменения? (ИПК-1.1)
- 1) Элонгация — праймеры связываются с комплементарными последовательностями на матричной ДНК
 - 2) Отжиг — Taq-полимераза удлиняет праймеры, синтезируя ДНК
 - 3) Денатурация — высокая температура вызывает разрушение двуцепочечной структуры ДНК
17. Полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяет получать миллионы копий молекулы ДНК всего за несколько часов. Какой естественный внутриклеточный процесс имеет наибольшее сходство с ПЦР? (ИПК-1.1)
- 1) Трансляция
 - 2) Митоз
 - 3) Транскрипция
 - 4) Репликация
18. Какими преимуществами обладают изотермические реакции амплификации по сравнению с ПЦР? (ИПК-1.1)
- 1) Высокая точность, скорость проведения и низкая стоимость анализа
 - 2) Простота разработки праймеров и протокола амплификации, возможность использовать реагенты для классической ПЦР
 - 3) Не требует долгого обучения персонала, возможность выполнять анализ в полевых условиях, высокая скорость анализа
19. Какая особенность изотермической амплификации является наиболее значимой для ее проведения? (ИПК-1.1)
- 1) Полимераза с активностью вытеснения цепи
 - 2) Белки, стабилизирующие одноцепочечные НК
 - 3) Возможность денатурация матрицы при температуре активности полимеразы
20. Реакция неферментативного изотермического замещения цепи характеризуется (ИОПК-2.2):
- 1) Амплификацией числа фрагментов ДНК
 - 2) Амплификацией длины цепочки ДНК
 - 3) Активностью полимеразы

Ключи: 1)2; 2)1; 3)5; 4)1; 5)1; 6)3; 7)3; 8)3; 9)1; 10)1; 11)2; 12)1; 13)2; 14)1; 15)1; 16)3; 17)4; 18)3; 19)3; 20)2.

3. Оценочные материалы итогового контроля (промежуточной аттестации) и критерии оценивания

Экзаменационный билет состоит из двух частей.

Первая часть представляет собой два вопроса, проверяющие ИОПК-2.2. Каждый вопрос касается разных тем курса. Ответы на вопросы даются в форме развернутого тезиса.

Вторая часть содержит одну задачу, проверяющую ИПК-1.1 и оформленные в виде практических задач. Ответ на вопрос второй части предполагает решение задачи и краткую интерпретацию полученных результатов.

Перечень теоретических вопросов (ИОПК-2.2.):

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 гибридизационного анализа нуклеиновых кислот
20. Физико-химические основы гибридизации нуклеиновых кислот.
21. Влияние длины и последовательности нуклеиновых кислот, температуры, pH, 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.

Примеры задач (ИПК-1.1):

Задача 1. Какой метод необходимо применить для определения длин и разделения двух молекул ДНК длиной более 50 тыс. п. н.?

Правильный ответ: пульс-гельэлектрофорез. Для обоснования правильности ответа должны формулироваться доводы включающие «изменение направления электрического поля», «время, затраченное на смену лидирующего конца молекулы».

Задача 2. Назовите не менее двух способов увеличения выхода продукта в раствор при выделении ДНК из тканей растений

Правильный ответ содержит не менее двух вариантов 1) более продолжительное время гомогенизации; 2) более продолжительное время инкубации в лизирующем буфере 3) использование замораживания в жидком азоте.

Критерии оценивания:

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

Оценка «отлично» выставляется, если даны правильные и развернутые ответы на все вопросы билета, все задачи решены без ошибок.

Оценка «хорошо» выставляется, если даны правильные ответы на все вопросы, задача решена без ошибок, однако ответы не являются развернутыми, либо не получены правильные ответы на уточняющие вопросы.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, если правильный ответ дан только на один вопрос билета, при этом задача решена правильно

Оценка «неудовлетворительно» выставляется, если даны неверные ответы на первые два вопроса, либо неправильно решена задача.

4. Оценочные материалы для проверки остаточных знаний (сформированности компетенций)

Тест

1. Какие три основные задачи решает метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)? (ИОПК-2.2.)
 - а) препаративная – получение большого числа копий ДНК
 - б) определение последовательности нуклеотидов
 - в) определение длины фрагмента ДНК, заключенного между известными последовательностями нуклеотидов
 - г) модификации нуклеиновых кислот путем встройки неканонических нуклеотидов
 - д) лигирование молекул нуклеиновых кислот
 - е) гибридизация молекул нуклеиновых кислот
2. Продукт полимеразной цепной реакции состоит из условных частей (ИОПК-2.2.):
 - а) включает последовательности, гомологичные обоим праймерам
 - б) включает последовательность, гомологичную только прямому праймеру
 - в) включает последовательность, гомологичную только обратному праймеру
 - г) не включает последовательности, гомологичные праймерам
3. Какими будут ваши действия если в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР) образуется неспецифичный продукт? (ИПК-1.1)
 - а) уменьшить температуру отжига праймеров
 - б) увеличить температуру отжига праймеров
 - в) уменьшить температуру денатурации матрицы

Ключи: 1) а, в, г; 2)а; 3)б.

Информация о разработчиках

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