

Белорусский государственный университет



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

А.Л. Толстик

10 октября 2013 г.

Регистрационный № УД- 926/257 р.

Спецпрактикум

Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности:

1-31 01 01 Биология

направления 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

специализаций 1-31 01 01-01 25 и 1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология

Факультет биологический
(название факультета)

Кафедра молекулярной биологии
(название кафедры)

Курс (курсы) 3 / 4

Семестр (семестры) 6 / 8

Лекции _____
(количество часов)

Экзамен _____
(семестр)

Практические (семинарские)
занятия _____
(количество часов)

Зачет 6-8
(семестр)

Лабораторные
занятия 230
(количество часов)

Курсовой проект (работа) _____
(семестр)

УСР _____
(количество часов)

Аудиторных часов по
учебной дисциплине 230
(количество часов)

Всего часов по
учебной дисциплине 278
(количество часов)

Форма получения
высшего образования дневная

Составили О.Б. Русь, к.х.н., доцент; А.Л. Лагоненко, к.б.н., доцент;
Д.В. Галиновский, к.б.н.

(И.О., Фамилия, степень, звание)

2013 г.

Учебная программа составлена на основе учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине «Спецпрактикум», 07.10.2013 г., регистрационный № УД-9774/уч.

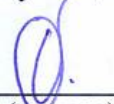
(название типовой учебной программы (учебной программы (см. разделы 5-7 Порядка)), дата утверждения, регистрационный номер)

Рассмотрена и рекомендована к утверждению кафедрой
молекулярной биологии

(название кафедры)

17.10.2013 г., протокол № 6
(дата, номер протокола)

Заведующий кафедрой


(подпись)

А.Н. Евтушенков
(И.О.Фамилия)

Одобрена и рекомендована к утверждению учебно-методической комиссией биологического факультета

24.10.2013 г., протокол № 4
(дата, номер протокола)

Председатель


(подпись)

В.Д. Поликсенова
(И.О.Фамилия)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Практикум по специализации для студентов, специализирующихся на кафедре молекулярной биологии, является важной составной частью учебного процесса, направленного на подготовку высококвалифицированных специалистов в области молекулярной биологии, владеющих глубокими теоретическими знаниями и разнообразными практическими навыками научно-исследовательской работы.

Целью настоящего раздела учебной программы является освоение студентами современных методов микробиологических и молекулярно-биологических исследований, усвоение ими принципов лабораторной практики и формирование у них устойчивых навыков использования основных молекулярно-биологических методик. В соответствии с целью практикума, на занятиях предполагается решить следующие **задачи**, предполагающие освоение:

1. основных принципов составления, приготовления и стерилизации питательных сред и растворов для культивирования микроорганизмов
2. методических подходов, позволяющих выделять микроорганизмы из естественной среды обитания и охарактеризовывать их физиолого-биохимические свойства;
3. основных принципов определения и расчета активностей ферментов;
4. основных методов работы с ДНК и белками;
5. методов введения ДНК в клетки микроорганизмов;
6. основных компьютерных программ, используемых для планирования и обработки результатов экспериментальных исследований в области молекулярной биологии;

Программа курса составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам («Микробиология», «Генная инженерия», «Биохимия» и др.).

В ходе выполнения спецпрактикума студенты должны **знать**:

- принципы приготовления и стерилизации питательных сред для культивирования микроорганизмов;
- принципы выделения микроорганизмов из их естественной среды обитания;
- особенности транспорта углеводов в бактериальную клетку, основные компоненты ФТС-системы энтеробактерий;
- принципы определения и расчета активностей ферментов;
- механизмы полимеразной цепной реакции и секвенирования ДНК по Сэнгеру;
- принципы трансформации бактерий;
- принцип электрофореза биополимеров в агарозном или полиакриламидном геле;
- типы рестриктаз и правила работы с ферментами; иметь представление о системах рестрикции и модификации;
- основные компьютерные программы, используемые для планирования и обработки результатов экспериментальных исследований в области молекулярной биологии;

уметь:

- получать накопительную культуру, выделять чистую культуру микроорганизмов;
- определять уровни активностей ферментов;
- выделять плазмидную ДНК методом щелочного лизиса;

- выделять хромосомную ДНК из бактерий;
- осуществлять ферментативные реакции с ДНК (рестрикция, лигирование и др.);
- трансформировать бактерии кальциевым методом;
- проводить электрофорез ДНК в агарозном геле;
- осуществлять амплификацию ДНК посредством полимеразной цепной реакции;
- секвенировать ДНК;
- проводить электрофорез белков в системе Леммли;
- определять концентрацию белка в растворе методом Брэдфорда и спектрофотометрически в УФ-области;
- осуществлять диализ растворов белка;
- осаждать белки различными способами;
- детектировать белки в смесях методом вестерн-блоттинга.

В соответствии с учебным планом продолжительность специального практикума на 3 курсе составляет 60 аудиторных часов, на 4 курсе – 170 часов. Программа практикума включает 4 взаимосвязанных раздела.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ разделов и тем	Наименование разделов и тем	Аудиторные часы	
		Всего	Лабораторные занятия
3 курс			
1.	Микробиологические и биохимические методы исследования	40	40
2.	Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий <i>Escherichia coli</i>	20	20
4 курс			
3.	Методы работы с ДНК	120	120
4.	Методы работы с белками	50	50
ИТОГО:		278	230

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. Микробиологические и биохимические методы исследования

Раздел I предполагает овладение наиболее общими методами исследования и методическими приемами в микробиологии, которые нашли широкое применение в молекулярной биологии. Раздел практикума, рассчитанный на 40 часов, включает 10 лабораторных занятий по темам:

1. Техника приготовления необходимых питательных сред, растворов, реактивов.
2. Взятие образцов из природных источников; получение накопительных культур.
3. Получение чистых культур бактерий на плотных питательных средах.
4. Изучение биологических свойств бактерий; описание роста исследуемой культуры на плотной и в жидкой питательной среде.
5. Изучение физиолого-биохимических свойств: отношение микроорганизмов к кислороду; определение роста при различных температурах.
6. Исследование способности бактерий образовывать внеклеточные ферменты и пигменты: определение лецитиназной активности, разжижение желатины, определение целлюлолитической, амилолитической, протеолитической активностей; выявление пигментов.
7. Построение кривой роста бактериальной культуры.

- Измерение активностей внутриклеточных и внеклеточных активностей бактерий.
- Количественное определение белка с Кумасси G-250 по методу Бредфорда.

II. Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий *Escherichia coli*

Раздел II, рассчитанный на 20 часов занятий, знакомит студентов с основными особенностями транспорта углеводов в бактериальные клетки и позволяет получить навыки выявления мутантных штаммов и бактерий дикого типа. Для работы предложены 8 различных штаммов бактерий *Escherichia coli*: дикий тип, мутанты по *lac*-оперону, мутанты по ФТС-системе. В ходе прохождения спецпрактикума студентам предлагается определить, какие из данных штаммов являются мутантными и по каким генам.

Данный раздел спецпрактикума включает 5 лабораторных занятий по следующим темам:

- Приготовление необходимых сред и реактивов. Приготовление растворов нужной концентрации (молярная концентрация, массовая доля вещества и др.).
- Исследование способности бактерий утилизировать углеводы: ФТС-субстраты (глюкозу, фруктозу), не-ФТС субстраты I (лактозу), неФТС-субстраты II (ксилозу) с использованием индикаторной среды ЭМС.
- Обнаружение эффекта диауксии у исследуемых бактерий *E. coli*.
- Измерение активности β -галактозидазы в клетках бактерий исследуемых штаммов.
- Количественное определение белка с Кумасси синим G-250 по методу Бредфорда.

III. Методы работы с ДНК

Раздел, рассчитанный на 120 часов занятий, предполагает освоение студентами базовых методик выделения ДНК и ферментативных реакций с ней, а также осуществление нескольких экспериментов, включающих последовательную постановку ферментативных реакций и анализ продуктов методом гель-электрофореза с последующим выделением и рестрикционным анализом рекомбинантных молекул ДНК.

Данный раздел практикума включает 18 лабораторных занятий по следующим темам:

- Выделение хромосомной и плазмидной ДНК из клеток бактерий (методы СТАВ, щелочного лизиса, очистка ДНК).
- Электрофорез ДНК в агарозном геле (горизонтальный электрофорез в агарозном геле).
- Полимеразная цепная реакция.
- Клонирование продуктов амплификации в клетках *E. coli* (принципы работы с ферментами, освоение методов рестрикции, лигирования ДНК, кальциевой трансформации и электропорации бактериальных клеток).
- Секвенирование ДНК.

IV. Методы работы с белками

Раздел IV предполагает ознакомление студентов с основными методами работы с белками, которые наиболее часто используются в молекулярно-биологических экспериментах, и рассчитан на 50 часов.

Данный раздел практикума включает 9 лабораторных занятий по следующим темам:

- Электрофорез белков в системе Леммли. Построение зимограммы.
- Фракционирование белков, методы осаждения и концентрирования белков.
- Диализ растворов белков.
- Определение концентрации белка в растворе.
- Вестерн-блоттинг.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ
Дневная форма получения высшего образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов						Формы контро- ля знаний
		Лекции	Практиче- ские занятия	Семинарские занятия	Лаборатор- ные занятия	Управляемая самостоя- тельная ра-	Иное	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	<p>Микробиологические и биохимические методы исследования</p> <p>1. Техника приготовления необходимых питательных сред, растворов, реактивов.</p> <p>2. Взятие образцов из природных источников; получение накопительных культур.</p> <p>3. Получение чистых культур бактерий на плотных питательных средах.</p> <p>4. Изучение биологических свойств бактерий; описание роста исследуемой культуры на плотной и в жидкой питательной среде.</p> <p>5. Изучение физиолого-биохимических свойств: отношение микроорганизмов к кислороду; определение роста при различных температурах.</p> <p>6. Исследование способности бактерий образовывать внеклеточные ферменты и пигменты: определение лецитиназной активности, разжижение желатины, определение целлюлолитической, амилолитической, протеолитической активностей; выявление пигментов.</p> <p>7. Построение кривой роста бактериальной культуры.</p> <p>8. Измерение активностей внутриклеточных и внеклеточных активностей бактерий.</p> <p>Количественное определение белка с Кумасси G-250 по методу Бредфорда.</p>				40		Оборудование, растворы, реактивы, необходимые для выполнения работы	Зачет
					4			
					4			
					4			
					4			
					4			
					4			
					8			

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2.	<p>Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий <i>Escherichia coli</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Приготовление необходимых сред и реактивов. 2. Исследование способности бактерий утилизировать углеводы: ФТС-субстраты (глюкозу, фруктозу), неФТС субстраты I (лактозу), неФТС-субстраты II (ксилозу) с использованием индикаторной среды ЭМС. 3. Обнаружение эффекта диауксии у исследуемых бактерий <i>E. coli</i>. 4. Измерение активности β-галактозидазы в клетках бактерий исследуемых штаммов. 5. Количественное определение белка 				20		Оборудование, растворы, реактивы, а также бактериальные штаммы, необходимые для выполнения работы	Зачет
3.	<p>Методы работы с ДНК</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Выделение хромосомной и плазмидной ДНК из клеток бактерий (методы СТАВ, щелочного лизиса, очистка ДНК). 2. Очистка препаратов ДНК (метод высаливания, фенол-хлороформная экстракция, методы с использованием ферментов). 3. Электрофорез ДНК в агарозном геле 4. Расчет размера фрагментов ДНК по их подвижности в агарозном геле (параметры электрофореза, реперные молекулы, программы для обработки данных электрофореза). 5. Клонирование продуктов амплификации в клетках <i>E. coli</i> (принципы работы с ферментами, освоение методов рестрикции, лигирования ДНК, кальциевой трансформации и электропорации бактериальных клеток). 				120 20		Оборудование, растворы, реактивы, а также бактериальные штаммы, необходимые для выполнения работы, Доступ в Интернет	Зачет

	6. Рестрикционное картирование (принцип, назначение, возможности для практического использования). 7. Полимеразная цепная реакция 8. Программное обеспечение для дизайна праймеров, хранения и анализа последовательностей. 9. Секвенирование ДНК.				10			
					20			
					10			
					10			
4.	Методы работы с белками 1. Электрофорез белков в системе Леммли. Построение зимограммы. 2. Фракционирование белков, методы осаждения и концентрирования белков. 3. Диализ растворов белков. 4. Определение концентрации белка в растворе. 5. Вестерн-блоттинг.				50		Оборудование, растворы реактивы, а также бактериальные штаммы, необходимые для выполнения работы	Зачет
					10			
					10			
					10			
					5			
					15			

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Основная и дополнительная литература

№№ п/п	Список литературы	Год из- дания
	Основная (ЛО)	
1.	<i>Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.</i> Справочник биохимика	1991
2.	<i>Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж.</i> Молекулярное клонирование	1984
3.	Методы общей бактериологии: в 3 т. / Под ред. Герхардта Ф. и др.	1984
4.	<i>Миллер Дж.</i> Эксперименты в молекулярной генетике	1976
5.	Новое в клонировании ДНК. Методы. / Под ред. Д. Гловера	1989
6.	<i>Остерман Л.А.</i> Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование	1981
7.	<i>Патрушев Л. И.</i> Экспрессия генов	2000
8.	<i>Русь О.Б.</i> Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий <i>Escherichia coli</i> : метод. указания к лабораторным занятиям по разделу спецпрактикума	2007
9.	<i>Скоупс Р.</i> Методы очистки белков	1985
10.	<i>Mathews C.K. et al.</i> Biochemistry	1999
11.	<i>Postma P.W. et al.</i> Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. Microbiol reviews.	1993
12.	Western Blotting. Handbook and troubleshooting guide.	
	Дополнительная (ЛД)	
1.	<i>Дэвени Т., Гергей Я.</i> Аминокислоты, пептиды и белки	1976
2.	<i>Дамбре А.М.</i> Химия белка	1990
3.	<i>Скворцова И.Н.</i> Методы идентификации и выделения почвенных бактерий <i>Pseudomonas</i>	1981
4.	Current protocols in molecular biology / Ed. by F.A.Ausubel, R.Brent, R.F.Kingston e.a.	1992
5.	<i>Ishizuka H. et al.</i> A lowered concentration of cAMP receptor protein caused by glucose is an important determinant for catabolite repression in <i>Escherichia coli</i> . Mol Microbiol.	1993
6.	<i>Kundig W. et al.</i> Phosphate bound to histidine in a protein as an intermediate in a novel phosphotransferase system Proc Natl Acad Sci USA	1964
7.	<i>Walker J.M.</i> The protein protocols handbook. Second edition.	2002

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола) ¹
1.			

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
на ____/____ учебный год

№№ пп	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
_____ (протокол № ____ от _____ 201_ г.)
(название кафедры)

Заведующий кафедрой

_____ (ученая степень, ученое звание)

_____ (подпись)

_____ (И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ (ученая степень, ученое звание)

_____ (подпись)

_____ (И.О.Фамилия)