Био-938у

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
и образовательным инновациям
_____ О. И. Чуприс
«25» ноября 2019 г.
Регистрационный № УД-7393 /уч.

Биополимеры клетки и методы их анализа

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине для специальности:

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

направления специальности
1-31 01 01-01 Биология (научно-производственная деятельность)
1-31 01 01-02 Биология (научно-педагогическая деятельность)

специализации
1-31 01 01-01 25 Молекулярная биология
1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология

2019 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013_____
_____;

СОСТАВИТЕЛЬ:

Ольга Борисовна Русь, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат химических наук, доцент

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Андрей Александрович Гилеп, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии ГНУ Институт биоорганической химии НАН Беларуси , кандидат химических наук;

Татьяна Ивановна Дитченко, заместитель декана биологического факультета БГУ по учебной работе, кандидат биологических наук, доцент.

(И.О.Фамилия, должность

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой_молекулярной биологии_____
(протокол № 6_ от 05.11.2019);

Научно-методическим Советом БГУ

(протокол № ___ от _____)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Цели и задачи учебной дисциплины

Курс «Биополимеры клетки и методы их анализа» - первый учебный курс, читаемый студентам, распределившимся на кафедру молекулярной биологии. Изучение данной дисциплины – важный этап в подготовке современных специалистов в области молекулярной биологии.

Цель учебной дисциплины - расширить представление студентов, специализирующихся на кафедре молекулярной биологии, о строении природных биополимеров и о разнообразных экспериментальных подходах к исследованию состава и структуры биомолекул. Опыт, полученный студентами в ходе изучения данной дисциплины, будет полезен при выполнении курсовых и дипломных научных работ.

Задачи учебной дисциплины:

1. Сформировать у студентов представление о структурной организации биологических макромолекул;
2. Дать сведения об основных физико-химических методах выделения и анализа биополимеров.

Учебная дисциплина относится к циклу дисциплин компонента учреждения высшего образования.

Учебная программа по дисциплине «Биополимеры клетки и методы их анализа» составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам биологического профиля («Биохимия» и др.).

Требования к компетенциям

Освоение учебной дисциплины «Биополимеры клетки и методы их анализа» должно обеспечить формирование следующих академических, социально-личностных и профессиональных компетенций:

академические компетенции:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-8. Обладать навыками устной и письменной коммуникации.

АК-9. Уметь учиться, повышать свою квалификацию в течение всей жизни.

социально-личностные компетенции: СЛК-1, СЛК-4

СЛК-1. Обладать качествами гражданственности.

СЛК-2. Быть способным к социальному взаимодействию.

СЛК-4. Владеть навыками здоровьесбережения.

профессиональные компетенции: ПК-1, ПК-6

ПК-1. Квалифицированно проводить научные исследования в области биохимии и молекулярной биологии, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, формулировать из полученных результатов корректные выводы.

ПК-6. Квалифицированно проводить научно-производственные исследования, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, давать рекомендации по практическому применению полученных результатов.

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

знать:

- основные классы природных биополимеров,
- принципы физико-химических методов анализа биополимеров (центрифугирования, хроматографии, электрофоретических методов, спектральных методов),
- методы выделения и очистки белков,
- методы определения состава и последовательности аминокислотных остатков в белках,
- принципы организации вторичной, сверхвторичной, третичной и четвертичной структур белков, а также методы исследования биомолекул на различных уровнях организации,
- методы определения молекулярной массы белков и нуклеиновых кислот,
- методы секвенирования нуклеиновых кислот,
- характеристику форм ДНК на уровне вторичной структуры,
- методы исследования вторичной и третичной структур нуклеиновых кислот,
- иметь понятие о белок-белковых взаимодействиях и о взаимодействиях белков с ДНК и с низкомолекулярными лигандами, а также о методах, использующихся для исследования такого рода взаимодействий,
- биологическую роль и уровни структурной организации полисахаридов;

уметь:

- рассчитывать рабочие концентрации веществ, делать разведения препаратов;
- строить калибровочный график с использованием растворов с различным содержанием белка,
- количественно определять общее содержание белков в биологических препаратах различными методами,
- разделять биомолекулы посредством гель-фильтрации и определять коэффициент распределения для биомолекул при проведении гель-фильтрации.

владеть:

- навыками приготовления растворов и построения калибровочных графиков;

- базовыми методами, применяемыми для выделения и анализа белков и нуклеиновых кислот.

Структура учебной дисциплины

Дисциплина изучается в 4 семестре. Всего на изучение учебной дисциплины «Биополимеры клетки и методы их анализа» отведено:

– для очной формы получения высшего образования отводится – 64 часа, в том числе 34 аудиторных часа, из них: лекции – 24 часа, лабораторные занятия – 8 часов, управляемая самостоятельная работа – 2 часа;

– для заочной формы получения высшего образования отводится 16 аудиторных часов, из них лекции – 12 часов, практические занятия – 4 часа.

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 1,5 зачетные единицы.

Форма текущей аттестации– зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Раздел 1. Введение

Тема 1.1 Основные классы природных биополимеров. Размеры и форма биомолекул. Визуализация макромолекул. Фракционирование клеточного содержимого (гомогенизация, экстракция, центрифугирование). Способы разрушения клеток (физические, химические, химико-ферментативные методы).

Раздел 2. Принципы физико-химических методов анализа биополимеров

Тема 2.1 Методы разделения.

Центрифугирование (дифференциальное, зонально-скоростное, равновесное). Препаративное и аналитическое центрифугирование. Хроматография (адсорбционная, распределительная, ионообменная, проникающая, аффинная (биоспецифическая); ВЭЖХ). Разделение с помощью мембран: диализ, ультрафильтрация.

Электрофоретические методы. Электрофорез нативный и в денатурирующих условиях. Зональный электрофорез и электрофорез со свободной границей; ступенчатый (диск-электрофорез) и градиентный электрофорез. Изоэлектрическое фокусирование, изотахофорез, капиллярный электрофорез. Одномерный и двумерный электрофорез. Способы детекции белков в полиакриламидном геле. Радиоизотопные метки, нерадиоактивные метки (флуоресцентные метки, биотин-стрептавидиновая система, метод ECL). Особенности электрофореза нуклеиновых кислот: разделение и детекция. Пульсовый электрофорез.

Тема 2.2 Спектрометрические методы.

Спектрофотометрия в видимой и УФ-областях, спектрофлуориметрия, ЭПР, ЯМР, масс-спектрометрия.

Раздел 3. Методы исследования белков

Тема 3.1 Молекулярная масса, размер и форма белковых молекул.

Методы определения молекулярной массы белков (ультрацентрифугирование, гель-фильтрация, ДСН-ПААГ электрофорез, масс-спектрометрия).

Тема 3.2 Методы выделения и очистки белков.

Классификация методов по используемому характерному параметру макромолекул: (1) заряд: ионообменная хроматография, электрофорез, изоэлектрическое фокусирование, высаливание; (2) полярность: адсорбционная, гидрофобная хроматографии; (3) размер: диализ и ультрафильтрация, гель-электрофорез, гель-фильтрационная хроматография, ультрацентрифугирование; (4) специфичность: аффинная хроматография. Оценка гомогенности белкового препарата.

Тема 3.3 Методы количественного определения белка в биологическом материале

Колориметрические методы: биуретовый метод, метод Лоури, метод Брэдфорд; спектрофотометрический метод.

Тема 3.4 Аминокислотный анализ белков. Устройство аминокислотного анализатора.

Тема 3.5 Определение последовательности аминокислот в белках (первичной структуры).

Разделение и очистка полипептидных цепей. Разрыв дисульфидных связей внутри полипептидной цепи. Определение N- и С-концевых остатков полипептида. Фрагментация полипептидной цепи (ферментативные и химические методы). Разделение пептидов, получаемых при расщеплении белков. Определение аминокислотного состава каждого из фрагментов (метод Эдмана, автоматическое определение аминокислотной последовательности, масс-спектрометрия). Реконструкция полипептидной цепи. Локализация дисульфидных связей. Определение первичной структуры белка по нуклеотидной последовательности ДНК.

Тема 3.6 Вторичная структура белков

Типы вторичной структуры (α-спираль, β-складчатый слой, β-петля, неупорядоченные структуры полипептидных цепей). Методы исследования вторичной структуры (рентгеноструктурный анализ кристаллических образцов, круговой дихроизм, дисперсия оптического вращения).

Сверхвторичные структуры белков, примеры. Понятие о структурных и функциональных доменах.

Тема 3.7 Третичная структура белков.

Глобулярные и фибриллярные белки. Методы изучения третичной структуры (анализ кристаллических образцов и исследование пространственного строения белков и пептидов в растворе).

Тема 3.8 Четвертичная структура олигомерных белков.

Методы исследования четвертичной структуры (рентгеноструктурный анализ, электронная микроскопия, электрофорез, ультрацентрифугирование).

Денатурация и ренатурация белков.

Тема 3.9 Взаимодействие белков с другими белками и с низкомолекулярными лигандами.

Примеры взаимодействий белок-белок. Методы изучения белок-белковых взаимодействий (электрофорез, коиммунопреципитация, аффинная хроматография, FRET, дальний вестерн, двугибридная система). Методы исследования взаимодействия белков с низкомолекулярными лигандами. Примеры взаимодействий белок-низкомолекулярный лиганд. Методы, основанные на разделении свободной и связанной фракций лиганда. Методы, основанные на регистрации изменений физико-химических характеристик в процессе комплексообразования. Регистрация изменений размеров белковой молекулы, фиксирующей лиганд.

Раздел 4. Исследование нуклеиновых кислот

Тема 4.1 Определение молекулярной массы нуклеиновых кислот.

Количественное определение нуклеиновых кислот в биологическом материале (спектрофотометрический метод, флуориметрический метод с использованием этидиум-бромида). Методы выделения тотальной и плазмидной ДНК. Методы выделения РНК. Гидролиз нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые основания. Нуклеозиды и нуклеотиды.

Тема 4.2 Первичная структура нуклеиновых кислот.

Секвенирование нуклеиновых кислот (метод химической деградации, ферментативный метод (метод терминаторов), пиросеквенирование). Автоматическое секвенирование. Определение нуклеотидной последовательности РНК.

Тема 4.3 Вторичная структура нуклеиновых кислот.

Двойная спираль ДНК. Комплементарные и межплоскостные взаимодействия нуклеиновых оснований. Полиморфизм двойной спирали ДНК (B-, A-, C-, T-, Z-формы). Макромолекулярная структура РНК. Различные типы РНК. Методы исследования вторичной структуры нуклеиновых кислот (рентгеноструктурный анализ, круговой дихроизм, дисперсия оптического вращения и др.).

Тема 4.4 Третичная структура нуклеиновых кислот.

Суперспирализация ДНК. Упаковка ДНК в хромосоме. Методы исследования третичной структуры (рентгеноструктурный анализ, метод разрезанных молекул и др.). Денатурация и ренатурация нуклеиновых кислот.

Тема 4.5 Комплексы нуклеиновых кислот с белками. Примеры. Изучение взаимодействий молекул ДНК с белками: связывание на фильтрах, изменение электрофоретической подвижности в геле, футпринтинг, метод разрезанных молекул, спектральные методы.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Дневная форма получения образования с применением дистанционных образовательных технологий

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Введение	2						
2	Принципы физико-химических методов анализа биополимеров	6			4		2 (ДО)	тест
3	Методы исследования белков	10			4			
4	Исследование нуклеиновых кислот	6					2	

Заочная форма получения образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Принципы физико-химических методов анализа биополимеров	6	2					
1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	Методы исследования белков	4	2					
3	Исследование	2						

	нуклеиновых кислот							

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Перечень основной литературы

1. *Албертс Б.* Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, А. Джонсон, Дж. Льюис и др. М.: Ижевск, 2013, Т. 1-3.
2. Биохимия: учебгик для вузов / под ред. Е.С. Северина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.
3. *Кольман Я.* Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем. М: Лаборатория знаний, 2018.
4. *Нельсон Д.* Основы биохимии Ленинджера / Д. Нельсон, М. Кокс. М.: Бином, 2015, Т. 1-3.
5. *Овчинников Ю.А.* Биоорганическая химия / Ю.А. Овчинников. М.: Просвещение, 1987.
6. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / под ред. К Уилсона и Дж. Уолкера. М.: Бином, Лаборатория знаний, 2015.
7. *Чемерис А.В.* Секвенирование ДНК / А.В. Чемерис, Э.Д. Ахунов, В.А. Вахитов. М.: Наука, 1999.
8. *Berg J.M.* Biochemistry / J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer. New York: W.H. Freeman and Co., 2002.

Перечень дополнительной литературы

1. *Досон Р.* Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. М.: Мир, 1991.
2. *Карасек Ф.* Введение в хромато-масс-спектрометрию / Ф. Карасек, Р. Клемент. М.: Мир, 1993.
3. *Остерман Л.А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование / Л.А. Остерман. М.: Наука, 1981.
4. *Остерман Л.А.* Исследование биологических макромолекул изоэлектрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами / Л.А. Остерман. М.: Наука, 1983.
5. *Остерман Л.А.*Хроматография белков и нуклеиновых кислот / Л.А. Остерман. М.: Наука, 1985.
6. Руководство по капиллярному электрофорезу: Курс лекций Х.Энгельгардта. - М., 1996.
7. *Сердюк И.Н.* Физические методы в структурной молекулярной биологии в начале XXI века / И.Н. Сердюк. Успехи биологической химии. 2002. Т. 42. С.3-28.
8. *Скоупс Р.* Методы очистки белков / Р. Скоупс. М.: Мир, 1985.
9. *Bloomfield V.A.* Nucleic acids. Structures, properties, and functions / V.A. Bloomfield, D.M. Crothers, I.T. Ir. University Science Books, Sausalito, California, 2000.

Перечень рекомендуемых средств диагностики и методика формирования итоговой оценки

Оценка за ответы на лабораторных занятиях включает в себя полноту ответа, наличие аргументов и примеров из практики.

При оценке открытого (эвристического) задания учитывается оригинальность созданного образовательного продукта, интегрирование знаний из различных областей, личностная значимость достигнутых результатов.

В случае пропуска лекций и лабораторных занятий студент должен их отработать, написав реферат по пропущенной теме.

Формой текущей аттестации по дисциплине «Биополимеры клетки и методы их анализа» учебным планом предусмотрен зачет.

При формировании итоговой оценки используется рейтинговая оценка знаний студента, дающая возможность проследить и оценить динамику процесса достижения целей обучения. Рейтинговая оценка предусматривает использование весовых коэффициентов для текущего контроля знаний и текущей аттестации студентов по дисциплине.

Формирование оценки за текущую успеваемость:

- подготовка реферата – 30 %;
- письменная контрольная работа – 30 %;
- выполнение теста – 40 %.

Рейтинговая оценка по дисциплине рассчитывается на основе оценки текущей успеваемости и экзаменационной оценки с учетом их весовых коэффициентов Весовой коэффициент по текущей успеваемости составляет 30 %, по текущей аттестации – 70 %.

При оценивании реферата обращается внимание на содержание и полноту раскрытия темы, структуру и последовательность изложения, источники и их интерпретацию, корректность оформления и т.д.

Оценка за письменную контрольную работу включает полноту раскрытия вопроса, логичность и грамотность изложения материала.

Тесты оцениваются, исходя из доли правильно выполненных заданий (10 - 100%, 9 – 90%, 8- 80%, 7 – 70%, 6 – 60%, 5 – 50%, 4 – 40%).

Примерный перечень заданий для управляемой самостоятельной работы студентов

Тема 2. Принципы физико-химических методов анализа биополимеров (2 ч.)

Выполнить тест

(Форма контроля – тест).

Примерная тематика лабораторных занятий

Лабораторное занятие № 1.

Физико-химические методы анализа биополимеров (4 ч).

Лабораторное занятие № 2.
Методы исследования белков (4 ч).

Описание инновационных подходов и методов к преподаванию учебной дисциплины (эвристический, проективный, практико-ориентированный)

При организации образовательного процесса используется ***эвристический подход,*** который предполагает**:**

- осуществление студентами личностно-значимых открытий окружающего мира;
- творческую самореализацию обучающихся в процессе создания образовательных продуктов.

При организации образовательного процесса используется ***практико-ориентированный подход,*** который предполагает***:***

- освоение содержание образования через решения практических задач;

При организации образовательного процесса используется ***метод анализа конкретных ситуаций (кейс-метод),*** который предполагает***:***

- приобретение студентом знаний и умений для решения практических задач;
- анализ ситуации, используя профессиональные знания, собственный опыт, дополнительную литературу и иные источники.

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные ресурсы: разместить на образовательном портале комплекс учебных и учебно-методических материалов (учебно-программные материалы, учебное издание для теоретического изучения дисциплины, методические указания к лабораторным занятиям, материалы текущего контроля и текущей аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др., список рекомендуемой литературы, информационных ресурсов и др.).

При составлении заданий УСР по учебной дисциплине необходимо предусмотреть возрастание их сложности: от заданий, формирующих достаточные знания по изученному учебному материалу на уровне узнавания, к заданиям, формирующим компетенции на уровне воспроизведения, и далее к заданиям, формирующим компетенции на уровне применения полученных знаний.

Таким образом, задания УСР по учебной дисциплине рекомендуется делить на три модуля:

задания, формирующие достаточные знания по изученному учебному материалу на уровне узнавания;

задания, формирующие компетенции на уровне воспроизведения;

задания, формирующие компетенции на уровне применения полученных знаний.

Темы реферативных работ

1. Препаративное и аналитическое центрифугирование.
2. Хроматографические методы.
3. Электрофорез белков и нуклеиновых кислот.
4. Спектральные методы.
5. Уровни структурной организации белков.
6. Уровни структурной организации нуклеиновых кислот.
7. Методы выделения и очистки белков.
8. Белок-белковые взаимодействия.

Примерный перечень вопросов к зачету

1. Основные классы природных биополимеров. Размеры и форма биомолекул. Исследование биополимеров внутри клетки.
2. Методы выделения и очистки белков. Оценка гомогенности белкового препарата.
3. Фракционирование клеточного содержимого (гомогенизация, экстракция, центрифугирование).
4. Способы разрушения клеток.
5. Методы количественного определения белка в биологическом материале.
6. Полиморфизм двойной спирали ДНК.
7. Методы исследования вторичной структуры ДНК.
8. Центрифугирование. Принцип метода, типы центрифуг, применение. Методы центрифугирования. Препаративное и аналитическое центрифугирование.
9. Аминокислотный анализ белков. Аминокислотные анализаторы.
10. Хроматографические методы: общие принципы, применение.
11. Определение последовательности аминокислот в белках (первичной структуры).

12. Электрофоретические методы: основной принцип, применение. Методы разделения белков и нуклеиновых кислот.
13. Вторичная структура белков.
14. Методы определения вторичной структуры.
15. Третичная структура белков.
16. Методы определения третичной структуры белков.
17. Спектрофотометрия в видимой и ультрафиолетовой областях: основные принципы, типы спектрофотометров, применение.
18. Четвертичная структура олигомерных белков. Методы исследования четвертичной структуры.
19. Взаимодействие белков с другими белками, примеры. Методы изучения белок-белковых взаимодействий.
20. Молекулярная масса, размер и форма белковых молекул. Методы определения молекулярной массы белков.
21. Спектрофлуориметрия: природа флуоресценции, устройство спектрофлуориметра, применение.
22. Первичная структура нуклеиновых кислот. Методы секвенирования нуклеиновых кислот.
23. Методы определения молекулярной массы нуклеиновых кислот. Количественное определение нуклеиновых кислот в образцах.
24. Ферментативный метод секвенирования ДНК.
25. Секвенирование ДНК по Максаму-Гилберту.
26. Пиросеквенирование.

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

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)
Биохимия	Биохимии	Отсутствуют Зав. кафедрой И.В. Семак	Изменений не требуется Протокол № 6 от 5.11.2019

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ

на _____/_____ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

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

Заведующий кафедрой

_____ _____ _____

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ _____ _____