

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
и образовательным инновациям



_____ О.Н. Здрок

_____ 2020 г.

Регистрационный № УД- 8762 /уч.

Спецпрактикум

Учебная программа учреждения высшего образования

по учебной дисциплине для специальности:

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

Направления специальности

1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

2020 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013, учебного плана № G31-131/уч., утвержденного 30.05.2013 г.

СОСТАВИТЕЛИ:

Д.В. Галиновский, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук;

А.В. Качан, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент;

Ю.Н. Горовик, ассистент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Ю.В. Полюхович, старший научный сотрудник лаборатории экологической генетики и биотехнологии ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», кандидат биологических наук;

М.И. Чернявская, доцент кафедры микробиологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой молекулярной биологии
(протокол № 23 от 25.05.2020)

Научно-методическим Советом БГУ
(протокол № 5 от 17 июня 2020 г.)

Зав. кафедрой молекулярной биологии,
д.б.н., профессор



А.Н.Евтушенко

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Цели и задачи учебной дисциплины

Целью учебной дисциплины 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.

Задачи учебной дисциплины:

- 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.

Место учебной дисциплины в системе подготовки специалиста с высшим образованием.

Учебная дисциплина относится к **циклу** специальных дисциплин (компонент учреждения высшего образования).

Связи с другими учебными дисциплинами, включая учебные дисциплины компонента учреждения высшего образования, дисциплины специализации и др.

Программа учебной дисциплины составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам «Микробиология», «Генная инженерия», «Генетика» и др.

Требования к компетенциям

Освоение учебной дисциплины «Спецпрактикум» 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-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

социально-личностные компетенции:

СЛК-2. Быть способным к социальному взаимодействию.

СЛК-6. Уметь работать в команде.

профессиональные компетенции:

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

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

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;
- осуществлять ферментативные реакции с ДНК (рестрикция, лигирование, амплификация ДНК посредством полимеразной цепной реакции и др.);
- определять концентрацию белка в растворе методом Брэдфорда и спектрофотометрически в УФ-области;
- осуществлять диализ растворов белка;
- получать зимограмму белков, обладающих ферментативной активностью;
- применять полученные знания для более глубокого понимания современных научных публикаций;
- использовать методы, рассматриваемые в рамках курса в научной и

педагогической практике;

владеть:

- методами определения уровней активностей клеточных ферментов;
- методами выделения плазмидной и хромосомной ДНК из бактерий;
- кальциевым методом трансформации бактерий;
- методами электрофореза ДНК в агарозном геле и электрофореза белков в системе Леммли;
- различными методами осаждения белков.

Структура учебной дисциплины

Дисциплина изучается в 6-8 семестрах дневной формы получения высшего образования. Всего на изучение учебной дисциплины «Спецпрактикум» отведено:

– для очной формы получения высшего образования 414 часов, в том числе 230 аудиторных часов, из них: лабораторные занятия – 230 часов (6 семестр – лабораторные занятия - 60 часов, 7 семестр – лабораторные занятия - 120 часов, 8 семестр – лабораторные занятия - 50 часов).

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 9,5 зачетных единиц.

Форма текущей аттестации – зачёт (6,7,8 семестры).

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Раздел 1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Раздел предполагает овладение наиболее общими методами исследования и методическими приемами в микробиологии, которые нашли широкое применение в молекулярной биологии. Включает 10 лабораторных занятий по темам:

Тема 1.1. Техника приготовления необходимых питательных сред, растворов, реактивов.

Тема 1.2. Взятие образцов из природных источников; получение накопительных культур.

Тема 1.3. Получение чистых культур бактерий на плотных питательных средах.

Тема 1.4. Изучение биологических свойств бактерий; описание роста исследуемой культуры на плотной и в жидкой питательной среде.

Тема 1.5. Изучение физиолого-биохимических свойств: отношение микроорганизмов к кислороду; определение роста при различных температурах.

Тема 1.6. Исследование способности бактерий образовывать внеклеточные ферменты и пигменты: определение лецитиназной активности, разжижение желатины, определение целлюлолитической, амилалитической, протеолитической активностей; выявление пигментов.

Тема 1.7. Построение кривой роста бактериальной культуры.

Тема 1.8. Измерение активностей внутриклеточных и внеклеточных активностей бактерий.

Тема 1.9. Количественное определение белка с Кумасси G-250 по методу Бредфорда.

Раздел 2. ОСОБЕННОСТИ ТРАНСПОРТА УГЛЕВОДОВ В КЛЕТКИ БАКТЕРИЙ *Escherichia coli*

Раздел 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. Студентам предлагается определить, какие из данных штаммов являются мутантными и по каким генам. Данный раздел спецпрактикума включает 5 лабораторных занятий по следующим темам:

Тема 2.1. Приготовление необходимых сред и реактивов. Приготовление растворов нужной концентрации (молярная концентрация, массовая доля вещества и др.).

Тема 2.2. Исследование способности бактерий утилизировать углеводы: ФТС-субстраты (глюкозу, фруктозу), не-ФТС субстраты I (лактозу), неФТС-субстраты II (ксилозу) с использованием индикаторной среды ЭМС.

Тема 2.3. Обнаружение эффекта диауксии у исследуемых бактерий *E. coli*.

Тема 2.4. Измерение активности β -галактозидазы в клетках бактерий исследуемых штаммов.

Тема 2.5. Количественное определение белка с Кумасси синим G-250 по методу Брэдфорда.

Раздел 3. МЕТОДЫ РАБОТЫ С ДНК

Раздел предполагает освоение студентами базовых методик выделения ДНК и ферментативных реакций с ней. На практических занятиях студенты также выполняют эксперименты, включающие последовательное проведение ферментативных реакций, анализ продуктов данных реакций методом гель-электрофореза, последующие выделение и рестрикционный анализ рекомбинантных молекул ДНК. Данный раздел практикума включает 15 лабораторных занятий по следующим темам:

Тема 3.1. Выделение хромосомной и плазмидной ДНК из клеток бактерий, а также из клеток эпителия ротовой полости человека (методы СТАВ, щелочного лизиса, очистка ДНК).

Тема 3.2. Электрофорез ДНК в агарозном геле (горизонтальный электрофорез в агарозном геле).

Тема 3.3. Полимеразная цепная реакция.

Тема 3.4. Детекция продуктов амплификации и расчет их размера по показателю подвижности.

Тема 3.5. Клонирование продуктов амплификации в клетках *E. coli* (принципы работы с ферментами, освоение методов рестрикции, лигирования ДНК, генетической трансформации и электропорации бактериальных клеток).

Раздел 4. МЕТОДЫ РАБОТЫ С БЕЛКАМИ

Раздел предполагает ознакомление студентов с основными методами работы с белками, которые наиболее часто используются в молекулярно-биологических экспериментах. Включает 15 лабораторных занятий по следующим темам:

Тема 4.1. Электрофорез белков в системе Леммли.

Тема 4.2. Фракционирование белков.

Тема 4.3. Методы осаждения и концентрирования белков.

Тема 4.4. Диализ растворов белков.

Тема 4.5. Анализ электрофореграмм. Определение молекулярной массы

белков с помощью электрофореза.

Тема 4.6. Определение концентрации белка в растворе.

Тема 4.7. Получение зимограмм ферментов.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Дневная 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	Микробиологические и биохимические методы исследования							Защита индивидуальных заданий, устный опрос, реферат
1.1	Техника приготовления необходимых питательных сред, растворов, реактивов				6			
1.2	Взятие образцов из природных источников; получение накопительных культур				4			
1.3	Получение чистых культур бактерий на плотных питательных средах				4			
1.4	Изучение биологических свойств бактерий; описание роста исследуемой культуры на плотной и в жидкой питательной среде.				6			
1.5	Изучение физиолого-биохимических свойств: отношение микроорганизмов к кислороду; определение роста при различных температурах							
1.6	Исследование способности бактерий образовывать внеклеточные ферменты и пигменты: определение лецитиназной активности, разжижение желатины, определение целлюлолитической, амилолитической, протеолитической активностей; выявление пигментов				4			
1.7	Построение кривой роста бактериальной культуры				6			
1.8	Измерение активностей внутриклеточных и внеклеточных активностей бактерий				6			

1.9	Количественное определение белка с Кумасси G-250 по методу Бредфорда				4			
2	Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий <i>Escherichia coli</i>							Защита индивидуальных заданий, устный опрос, реферат
2.1	Приготовление необходимых сред и реактивов. Приготовление растворов нужной концентрации (молярная концентрация, массовая доля вещества и др.).				4			
2.2	Исследование способности бактерий утилизировать углеводы: ФТС-субстраты (глюкозу, фруктозу), не-ФТС субстраты I (лактозу), неФТС-субстраты II (ксилозу) с использованием индикаторной среды ЭМС.				4			
2.3	Обнаружение эффекта диауксии у исследуемых бактерий <i>E. coli</i> .				4			
2.4	Измерение активности β -галактозидазы в клетках бактерий исследуемых штаммов.				4			
2.5	Количественное определение белка с Кумасси синим G-250 по методу Бредфорда.				4			
3	Методы работы с ДНК							Защита индивидуальных заданий, устный опрос, реферат
3.1	Знакомство с планом работ, порядок работы с лабораторным оборудованием и инструментами, выполнение необходимых расчетов, приготовление растворов и реактивов.				6			
3.2	Выделение хромосомной ДНК из клеток бактерий.				6			
3.3	Выделение плазмидной ДНК из клеток бактерий.				6			
3.4	Выделение геномной ДНК из эпителиальных клеток человека				8			
3.5	Электрофорез ДНК в агарозном геле.				16			
3.6	Полимеразная цепная реакция (ПЦР).				14			
3.7	Анализ результатов ПЦР.				6			
3.8	Детекция ГМО				16			
3.9	Клонирование продуктов амплификации в клетках <i>E. coli</i> (принципы работы с ферментами).				6			
3.10	Клонирование продуктов амплификации в клетках <i>E. coli</i> (освоение методов рестрикции, лигирования ДНК).				6			
3.11	Клонирование продуктов амплификации в клетках <i>E. coli</i> (освоение				6			

	методов кальциевой трансформации бактериальных клеток).							
3.12	Проверка трансгенных бактерий, несущих химерные плазмиды (blue-white скрининг, рестрикционное картирование, ПЦР-анализ)				24			
4	Методы работы с белками							Защита индивидуальных заданий, устный опрос, реферат
4.1	Электрофорез белков в системе Леммли.				12			
4.2	Фракционирование белков				6			
4.3	Методы осаждения и концентрирования белков.				6			
4.4	Диализ растворов белков.				6			
4.5	Анализ электрофореграмм. Определение молекулярной массы белков с помощью электрофореза.				6			
4.6	Определение концентрации белка в растворе.				12			
4.7	Получение зимограмм ферментов.				12			

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Перечень основной литературы

1. Уилсон К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / К. Уилсон К., Дж. Уолкер. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2020. 855 с.

Перечень дополнительной литературы

1. Досон Р. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. М.: Мир, 1991. 543с.
2. Маниатис Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. М.: Мир, 1984.
3. Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Герхардта Ф. и др. М.: Мир, 1984.
4. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике / Дж. Миллер. М.: Мир, 1976. 436 с.
5. Новое в клонировании ДНК. Методы. / Под ред. Д. Гловера. М. Мир., 1989.
6. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование / Л.А. Остерман. М.: Наука. 1981.
7. Патрушев Л. И. Экспрессия генов / Л. И. Патрушев. М.: Наука, 2000.
8. Русь О.Б. Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий *Escherichia coli*: метод. указания к лабораторным занятиям по разделу спецпрактикума / О.Б. Русь. Мн.: БГУ, 2007. 25с.
9. Скоупс Р. Методы очистки белков / Р. Скоупс. М.: Мир. 1985.
10. Mathews C.K. Biochemistry / C.K. Mathews, K.E. van Holde, K. Ahern, 3d edition. 1999. 1200p.
11. Postma P.W. Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria / P.W. Postma, J.W. Lengeler, G.R. Jacobson. Microbiol reviews. 1993. V. 57, №3. P. 543-594.
12. Western Blotting. Handbook and troubleshooting guide. PIERCE. www.piercenet.com/wb95d.
13. Аминокислоты, пептиды и белки. Дэвени Т., Гергей Я. Москва, Мир, 1976.
14. Дамбре А.М. Химия белка / А.М. Дамбре. М.: Мир, 1990.
15. Скворцова И.Н. Методы идентификации и выделения почвенных бактерий *Pseudomonas* / И.Н. Скворцова. М.: Изд-во МГУ, 1981. – 78 с.
16. Current protocols in molecular biology / Ed. by F.A. Ausubel, R. Brent, R.F. Kingston e.a. – New York: Greene Publishing, Wiley–Intersciens, 1992.
17. Ishizuka H. A lowered concentration of cAMP receptor protein caused by glucose is an important determinant for catabolite repression in *Escherichia*

- coli* / H. Ishizuka, A. Hanamura, T. Kunimura, H. Alba. Mol Microbiol. 1993. V. 10, № 2. P. 341-50.
18. Kundig W. Phosphate bound to histidine in a protein as an intermediate in a novel phosphotransferase system / W. Kundig, S. Ghosh, S. Roseman. Proc Natl Acad Sci USA 1964. V. 52. P. 1067-1074.
 19. The protein protocols handbook. Second edition. Walker J.M. Humana Press, Hatfield, UK, 2002.

Перечень рекомендуемых средств диагностики и методика формирования итоговой оценки

Формой текущей аттестации по учебной дисциплине «Спецпрактикум» является зачет.

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита реферата по одной из выбранных тем;
- устные опросы.

Оценка текущей успеваемости складывается из следующих составляющих:

- защита индивидуальных заданий – 50 %,
- устный опрос – 25 %;
- защита реферата – 25%.

Студент допускается к сдаче зачета при условии отработки лабораторных занятий и получении отметки не ниже 4 баллов по контрольным работам.

Описание инновационных подходов и методов к преподаванию учебной дисциплины

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

- освоение содержание образования через решения практических задач;
- приобретение навыков эффективного выполнения разных видов профессиональной деятельности;
- ориентацию на генерирование идей, реализацию групповых студенческих проектов, развитие предпринимательской культуры;
- использованию процедур, способов оценивания, фиксирующих сформированность профессиональных компетенций.

При организации образовательного процесса также используется *метод группового обучения*, который представляет собой форму организации учебно-познавательной деятельности обучающихся, предполагающую функционирование разных типов малых групп, работающих как над общими,

так и специфическими учебными заданиями.

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы студентов

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 зачету, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др., список рекомендуемой литературы, информационных ресурсов и др.).

Темы реферативных работ

1. Методы стерилизации в микробиологии.
2. Видовое разнообразие и особенности микроорганизмов, обитающих в почве.
3. Видовое разнообразие и особенности микроорганизмов филлосферы.
4. Регуляция экспрессии лактозного оперона *E. coli*.
5. Фосфотрансферазная система *E. coli*.
6. Реакция ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.
7. Диагностическая ценность гена, кодирующего ангиотензин превращающий фермент.
8. Поверхностный рецептор CCR5: структура, функции, изоформы.
9. Алгоритмы расчета размера фрагментов ДНК по их подвижности.
10. Цифровая ПЦР: возможности и ограничения метода.
11. Сравнение методов количественной оценки содержания белков в растворах.
12. Принципы и применение метода ДСН-ПААГ-электрофореза белков.
13. Характеристика способов осаждения и концентрирования белков.
14. Принципы измерения и расчёта ферментативной активности.
15. Зимография как методов специфического обнаружения белков с ферментативной активностью.

Примерный перечень вопросов к зачету

Раздел 1. Микробиологические и биохимические методы исследования

1. Питательные среды для культивирования микроорганизмов.

2. Методы выделения микроорганизмов из окружающей среды.
3. Отличие накопительных культур микроорганизмов от чистых.
4. Принципы идентификации микроорганизмов.
5. Техники определения физиолого-биохимических свойств микроорганизмов.
6. Методика определения титра микроорганизмов.

Раздел 2. Особенности транспорта углеводов в клетки бактерий *Escherichia coli*

1. Строение лактозного оперона *E. coli*.
2. Негативная регуляция лактозного оперона.
3. Позитивная регуляция лактозного оперона.
4. Строение фосфотрансферазной системы *E. coli*.
5. Понятие диауксии и ее выявление.

Раздел 3. Методы работы с ДНК

1. Принципы выделения ДНК, основные этапы при выделении ДНК.
2. Оценка качества препаратов ДНК.
3. Математическая модель ПЦР, динамика накопления ПЦР продукта.
4. Реактивы, необходимые для проведения ПЦР, расчет компонентов ПЦР смеси.
5. Разделение фрагментов ДНК методом электрофореза, расчет размера фрагментов ДНК по их подвижности в геле.
6. Подбор условий проведения электрофореза, прогнозирование подвижность фрагментов ДНК по их размеру.
7. Критерии подбора праймеров для ПЦР, расчет температуры плавления праймеров.
8. Программа ПЦР, шаг и цикл в ПЦР, подбор оптимальных условий ПЦР.
9. Флуоресцентные красители, детекция продуктов ПЦР.
10. Дизайн эксперимента по клонированию гена.
11. Особенности клонирования ПЦР продукта в плазмиды бактерий.

Раздел 4. Методы работы с белками

1. ДСН-ПААГ-электрофорез и электрофорез в нативных условиях.
2. Диализ растворов макромолекул.
3. Анализ электрофореграмм. Определение молекулярной массы белков с помощью электрофореза.
4. Фракционирование клеток *Escherichia coli*.
5. Осаждение и концентрирование белков.
6. Измерение ферментативной активности на примере альфа-амилазы, бета-галактозидазы, щелочной фосфатазы. Расчёт активности ферментов.
7. Измерение количества белка методом Брэдфорд.

8. Получение зимограммы белков с ферментативной активностью.

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)
Основы молекулярной биологии	Микробиологии	Отсутствуют	Изменений не требуется (протокол № 23 от 25.05.2020 г.)
Генная инженерия	Молекулярной биологии	Отсутствуют	Изменений не требуется (протокол № 23 от 25.05.2020 г.)
Трансгенные эукариотические организмы	Микробио-логии	Отсутствуют	Изменений не требуется (протокол № 23 от 25.05.2020 г.)

**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
