

Минобрнауки России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

«Оренбургский государственный университет»

Кафедра биохимии и микробиологии

## **РАБОЧАЯ ПРОГРАММА**

### **ДИСЦИПЛИНЫ**

«Б.1.В.ОД.4 Методы исследования в биологии»

Уровень высшего образования

**БАКАЛАВРИАТ**

Направление подготовки

06.03.01 Биология

(код и наименование направления подготовки)

Биохимия

(наименование направленности (профиля) образовательной программы)

Тип образовательной программы

Программа академического бакалавриата

Квалификация

Бакалавр

Форма обучения

Очная

Год набора 2018

Рабочая программа рассмотрена и утверждена на заседании кафедры

Кафедра биохимии и микробиологии

*наименование кафедры*

протокол № 7 от "25" января 2018 г.

Заведующий кафедрой

Кафедра биохимии и микробиологии

*наименование кафедры*

*подпись*

Е.С. Барышева

*расшифровка подписи*

Исполнители:

Профессор

*должность*

*подпись*

Нотова С.В.

*расшифровка подписи*

СОГЛАСОВАНО:

Председатель методической комиссии по направлению подготовки

06.03.01 Биология

*код наименование*

*личная подпись*

*расшифровка подписи*

Заведующий отделом комплектования научной библиотеки

Н.Н. Грицай

*личная подпись*

*расшифровка подписи*

Уполномоченный по качеству факультета

Барышева Е.С.

*личная подпись*

*расшифровка подписи*

№ регистрации \_\_\_\_\_

© Нотова С.В., 2018

© ОГУ, 2018

## 1 Цели и задачи освоения дисциплины

**Цель (цели)** освоения дисциплины: иметь представление о современных методах биологических исследований

**Задачи:**

- знать основные методы и методические приемы, применяемые в современных исследованиях в области биохимии и молекулярной биологии;
- уметь выбирать адекватные методы лабораторной диагностики, а также находить наиболее простые и экономически выгодные пути решения поставленных практических задач;
- иметь навыки работы с биологическим материалом и осуществления лабораторных опытов.

## 2 Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к обязательным дисциплинам (модулям) вариативной части блока 1 «Дисциплины (модули)»

Пререквизиты дисциплины: *Б.1.В.ОД.6 Основы строения и кинетики ферментов в биологических системах, Б.2.В.У.1 Практика по получению первичных профессиональных умений и навыков, учебная практика по ботанике и зоологии, Б.2.В.У.2 Практика по получению первичных профессиональных умений и навыков, учебно-полевая практика по экологии*

Постреквизиты дисциплины: *Б.1.В.ДВ.4.1 Биохимические процессы пищевых производств*

## 3 Требования к результатам обучения по дисциплине

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих результатов обучения

Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций	Формируемые компетенции
<p><b>Знать:</b> современные экспериментальные методы работы с биологическими объектами в полевых и лабораторных условиях.</p> <p><b>Уметь:</b> выполнять лабораторные исследования с использованием требуемого оборудования, правильно эксплуатировать аппаратуру и оборудование, определять основные параметры.</p> <p><b>Владеть:</b> экспериментальными методами работы с биологическими объектами.</p>	ОПК-6 способностью применять современные экспериментальные методы работы с биологическими объектами в полевых и лабораторных условиях, навыки работы с современной аппаратурой
<p><b>Знать:</b> принципы работы современной аппаратуры для исследований биологических объектов на разных уровнях их организации (атомарном, молекулярном, клеточном, органном, организменном...); методические приемы написания научно-исследовательских работ,</p> <p><b>Уметь:</b> работать с живыми объектами и их сообществами в природе, экспериментально-биологической клинике в и лабораторных условиях;</p> <p><b>Владеть:</b> основными методами биологических исследований, методиками анализа получаемых результатов</p>	ПК-1 способностью эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ

## 4 Структура и содержание дисциплины

### 4.1 Структура дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 12 зачетных единиц (432 академических часов).

Вид работы	Трудоемкость, академических часов		
	5 семестр	6 семестр	всего
<b>Общая трудоёмкость</b>	<b>252</b>	<b>180</b>	<b>432</b>
<b>Контактная работа:</b>	<b>67,25</b>	<b>85,5</b>	<b>152,75</b>
Лекции (Л)	34	34	68
Практические занятия (ПЗ)	16	34	50
Лабораторные работы (ЛР)	16	16	32
Консультации	1		1
Индивидуальная работа и инновационные формы учебных занятий		1	1
Промежуточная аттестация (зачет, экзамен)	0,25	0,5	0,75
<b>Самостоятельная работа:</b> - выполнение курсовой работы (КР); - самоподготовка (проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий); - подготовка к лабораторным занятиям; - подготовка к практическим занятиям; - подготовка к рубежному контролю и т.п.)	<b>184,75</b>	<b>94,5</b> +	<b>279,25</b>
<b>Вид итогового контроля (зачет, экзамен, дифференцированный зачет)</b>	<b>экзамен</b>	<b>зачет</b>	

Разделы дисциплины, изучаемые в 5 семестре

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
1	Методы исследования в биологии	44	6	4	6	30
2	Методы выделения органелл	32	4	4	4	20
3	Методы исследования в биохимии	176	24	8	6	136
	Итого:	252	34	16	16	186

Разделы дисциплины, изучаемые в 6 семестре

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
4	Физические методы исследования	96	18	18	10	50
5	Методы иммунохимических исследований	84	16	16	6	46
	Итого:	180	34	34	16	96
	Всего:	432	68	50	32	282

### 4.2 Содержание разделов дисциплины

№ 1 Методы исследования в биологии

История развития методов биологических исследований. Классификация методов исследования. Применение биологических методов в медицине, биотехнологии, экологии и др. отраслях. Особенности биологических макромолекул как объектов исследования. Оборудование лаборатории, вивария, специальные материалы и реактивы.

#### № 2 Методы выделения органелл

Центрифугирование. Ультрафильтрация. Разделение белков путем осаждения. Осаждение вследствие избирательной денатурации. Осаждение нуклеиновых кислот. Кристаллизация белков. Приготовление экстракта. Особенности различных видов живых организмов в качестве исходного материала биохимических исследований. Разрушение клеток и экстракция. Растворы, используемые для экстракции. Буферные растворы и специальные добавки. Оптимизация и осветление экстракта. Особенности приготовления экстрактов растительных тканей и микроорганизмов. Методы, используемые при очистке белков, ассоциированных с частицами. Дeterгенты и их применение.

#### № 3 Методы исследования в биохимии

Классификация хроматографических методов. Элементы теории хроматографического процесса. Материалы матриц сорбентов и обменников. Техника колоночной хроматографии. Хроматография при низком давлении. Хроматографические колонки. Детекторы. Хроматография при высоком давлении. Колонки. Хроматография при умеренном давлении. Гель-фильтрация. Методические особенности гель-фильтрации и при низком давлении. Выбор параметров хроматографического процесса. Выбор матрицы. Распределительная хроматография. Распределительная хроматография при высоком давлении. Адсорбционная хроматография. Ионообменная хроматография. Применение статической ионообменной хроматографии. Выбор условий динамической ионообменной хроматографии. Применение динамической ионообменной хроматографии. Ионообменная ЖХВД белков. Хроматофокусирование. Аффинная хроматография. Применение аффинной хроматографии. Аффинная ЖХВД. Тонкослойная хроматография. Особенности метода. Техника ТСХ. Приготовление пластинок.

Принципы электрофореза. Зональный электрофорез в поддерживающей среде с капиллярной структурой. Электрофорез на фильтровальной бумаге. Электрофорез на ацетате целлюлозы. Электрофорез в колонках и блоках гранулированной поддерживающей среды. Электрофорез в агаровом и агарозном гелях. Электрофорез в крахмальных гелях. Теория электрофореза в полиакриламидном геле. Физико-химические свойства составных частей геля. Аналитический электрофорез в полиакриламидных гелях. Препаративный электрофорез в полиакриламидном геле. Изоэлектрическое фокусирование. Принцип метода. Аналитическое и препаративное изоэлектрическое фокусирование. Изотахофорез. Выявление макромолекул по поглощению ультрафиолетового света и флуоресценции. Выявление разделенных при электрофорезе компонентов путем их окрашивания. Сканирование окрашенных электрофореграмм. Фотографирование электрофореграмм. Электрофорез белков. Поведение белков при электрофорезе. Разделение белков в соответствии с размерами молекул: определение их молекулярной массы. Двухмерный электрофорез. Окрашивание белков на электрофореграммах. Обнаружение белков по их ферментативной активности. Электрофорез нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов. Электрофоретические методы разделения нуклеиновых кислот и полинуклеотидов. Изоэлектрофокусирование нуклеиновых кислот. Обнаружение нуклеиновых кислот после электрофореза. Препаративный электрофорез нуклеиновых кислот в геле. Иммуноэлектрофорез. Принцип метода. Реакции антиген-антитело. Иммуноэлектрофорез в агаровых или агарозных гелях. Диффузия и преципитация в геле. Иммунофиксация. Принцип метода. Оценка метода. Область применения. Электросинерез (встречный электрофорез, электроиммуноосмофорез). Электроиммуноанализ (электроиммунодиффузия, ракетный иммуноэлектрофорез).

№ 4 Физические методы исследования История развития спектральных методов исследований. Спектр электромагнитного излучения, его основные характеристики и способы их выражения. Энергетический спектр электромагнитного излучения. Классификация спектроскопических методов. Правила отбора в оптической спектроскопии.

Классификация спектральных методов исследования в биохимии. Теоретические основы спектральных методов. Применение спектральных биохимических методов в медицине, биотехнологии, экологии и др. отраслях. Законы поглощения электромагнитного излучения и способы их выражения. Закон Бугера-Ламберта-Бера, его математическое выражение. Величины, характеризующие поглощение. Атомная спектрометрия. Молярный коэффициент поглощения. Оптическая плотность. Оптимальный интервал измеряемых значений оптической плотности (кривая ошибок). Критерии соблюдения законов поглощения и оценка чувствительности фотометрической реакции. Построение калибровочного графика. Способы определения концентраций веществ. Атомно-эмиссионный анализ: тео-

ретические основы и применение. Атомно-эмиссионный анализ с индуктивно связанной плазмой ИСП-АЭС (ОЭС). Атомно-эмиссионная фотометрия пламени. Атомноабсорбционная спектрофотометрия Рентгеновская спектрометрия: теоретические основы и применение. Радиометрические методы. Молекулярная спектрометрия. Электронные спектры поглощения основных классов органических соединений. Спектрофотометрический анализ: теоретические основы и применение. фотометрическое титрование; фототурбидиметрическое титрование. Спектрофотометрический метод анализа. Сущность метода. Дифференциальный метод. Спектрофотометрическое титрование. Использование спектрофотометрии в хроматографии. Фотоэлектроколориметры и спектрофотометры. Применение колориметрии и спектрофотометрии. Флуориметрический анализ. Инфракрасная спектрометрия. Спектрометрия магнитного резонанса. Масс-спектрометрия: теоретические основы и применение.

#### № 5 Методы иммунохимических исследований

История становления иммунохимии. Определение, предмет, методы и задачи иммунохимии. Антитела. Структура и функции и иммуноглобулинов. Мембранные иммуноглобулины как основа рецептора В-клеток для антигена. Силы, участвующие во взаимодействии антиген-антитело. Аффинность. Авидность. Взаимодействие антитела с моновалентным антигеном. Способы расчета констант комплексообразования реакции антиген-антитело. Взаимодействие двух субпопуляций антител с моновалентным антигеном. Гетерогенность по аффинности к антигену. Показатели гетерогенности. График Сипса. Способы расчета констант комплексообразования реакции антиген-антитело. Средняя аффинность. Истинная аффинность. Преципитационные методы иммунохимического анализа. Иммуноэлектрофорез. Метод иммуноблоттинга. Агглютинационные методы иммунохимического анализа Индикаторные методы иммунохимического анализа. Радиоиммунологический анализ. Иммуноферментный анализ. Иммунофлуоресцентные методы. Специальные методы иммунохимического анализа. Иммуносенсоры

### 4.3 Лабораторные работы

№ ЛР	№ раздела	Наименование лабораторных работ	Кол-во часов
1	1	Работа с лабораторными животными в виварии	4
2	1	Цветные реакции на белки и аминокислоты	2
3	2	Выделение клеточных органелл.	2
4	2	Реакции осаждения и денатурации белков	2
5	3	Бумажная и колоночная хроматография Определение свободных аминокислот методом распределительной хроматографии на бумаге	4
6	3	Определение белковых фракций сыворотки крови методом электрофореза на бумаге	2
7	4	Определение содержания каротина	2
8	4	Определение содержания кальция и фосфора в биосубстратах	4
9	4	Определение содержания Sr <sup>90</sup> в мясных продуктах	4
10	5	Определение содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови	4
11	5	Тестирование антисывороток методом иммуноэлектрофореза	2
		Итого:	32

### 4.4 Практические занятия (семинары)

№ занятия	№ раздела	Тема	Кол-во часов
1	1		2
1	1	Особенности различных видов живых организмов в качестве исходного материала биологических исследований.	2

2	1	Уход, кормление, заболевания лабораторных животных.	2
3	2	Центрифугирование. Ультрафильтрация.	2
4	2	Буферные растворы и специальные добавки.	2
5	3	Хроматография при низком давлении.	2
6	3	Распределительная хроматография при высоком давлении.	2
7	3	Ионообменная хроматография	2
8	3	Изоэлектрофокусирование нуклеиновых кислот.	2
9	4	Электрофоретические методы разделения нуклеиновых кислот и полинуклеотидов.	2
10	4	Законы поглощения электромагнитного излучения и способы их выражения.	2
11	4	Спектрофотометрический метод анализа.	2
12	4	Рентгеновская спектрометрия: теоретические основы и применение. Радиометрические методы	2
13	4	Электронные спектры поглощения основных классов органических соединений.	2
14	4	Спектрофотометрический анализ: теоретические основы и применение. фотометрическое титрование; фототурбидиметрическое титрование.	2
15	4	Спектрофотометрический метод анализа. Сущность метода.	2
16	4	Масс-спектрометрия: теоретические основы и применение.	2
17	4	Инфракрасная спектрометрия	2
18	5	Преципитационные и агглютинационные методы иммунохимического анализа.	2
19	5	Силы, участвующие во взаимодействии антиген-антитело. Аффинность. Авидность. Взаимодействие антитела с моновалентным антигеном.	2
20	5	Иммуноэлектрофорез.	2
21	5	Метод иммуноблоттинга.	
22	5	Радиоиммунологический анализ.	2
23	5	Иммуноферментный анализ.	2
24	5	Иммуносенсоры	2
25	5	Правила работы в иммунологической лаборатории. Ознакомление с оборудованием и методикой проведения ИФА.	2
		Итого:	50

#### 4.5 Курсовая работа (6 семестр)

1. Радиоиммунологический анализ: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
2. Создание и применение различных видов иммуносенсоров
3. Иммуноферментный анализ: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
4. Масс-спектрометрия: этапы проведения и применение в биологии и медицине.
5. Иммуноблоттинг: техника, методика выполнения и применение.
6. Атомно-абсорбционная спектрометрия: теоретические основы и принцип метода.

7. Масс-спектрометрия теоретические основы и принцип метода.
8. Фемтосекундная спектроскопия: типы фемтосекундных лазеров, регистрация спектральных характеристик.
9. Фотоакустическая спектрометрия: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
10. Использование метода рамановской спектрометрии в биохимических исследованиях
11. Рентгенофлуоресцентная спектрометрия: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
12. Инфракрасная спектрометрия: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
13. Использование радиохимического метода в биохимии
14. Применение радиометрического анализа в исследовании живых систем
15. Теоретические основы, техника проведения и использование атомно-эмиссионного спектрального анализа
16. Физические основы спектрометрических методов исследования
17. Иммуногистохимические и иммуноцитохимические методы анализа в биохимии
18. Активационный анализ: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
19. Электронный парамагнитный резонанс: физика явления, основные параметры спектров ЭПР, техника проведения и применение.
20. Ядерно-магнитный резонанс: теоретические основы, техника проведения и применение в биохимических исследованиях
21. Использование метода поляризационно-адсорбционной спектрометрии в биохимии
22. УФ-спектрометрия: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.
23. Метки, используемые в ИФА. Использование новых пероксидаз растений в ИФА.
24. Фотоколориметрия: теоретические основы, техника проведения и применение в биохимических исследованиях
25. Спектрофотометрический анализ: принцип метода, этапы проведения и применение в биологии и медицине.

## **5 Учебно-методическое обеспечение дисциплины**

### **5.1 Основная литература**

1. Биохимия [Электронный ресурс] : электронное гиперссылочное учебное пособие / А. В. Дудко, А. Д. Стрекаловская, Е. С. Хайруллина; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 245 Mb). - Оренбург : ОГУ, 2015. -Архиватор 7-Zip
2. 2 Теоретические основы биохимии [Электронный ресурс] : учеб. пособие / Е. С. Барышева, О. В. Баранова, Т. В. Гамбург; М-во образования и науки Рос. Федерации, Гос. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург : ГОУ ОГУ, 2011. -Adobe Acrobat Reader 5.0. Издание на др. носителе [Текст] . - ■ гос. регистрации 0321102524. [http://artlib.osu.ru/web/books/metod\\_all/11\\_20110615.pdf](http://artlib.osu.ru/web/books/metod_all/11_20110615.pdf)

## 5.2 Дополнительная литература

1. Практические основы биохимии [Электронный ресурс] : учеб. пособие / Е. С. Барышева, О. В. Баранова, Т. В. Гамбург; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург : ОГУ, 2011. - Adobe Acrobat Reader 5. Издание на др. носителе [Текст] . - № гос. регистрации 0321103142. [http://artlib.osu.ru/web/books/metod\\_all/2868\\_20111011.pdf](http://artlib.osu.ru/web/books/metod_all/2868_20111011.pdf)
2. Плакунов, В.К. Основы динамической биохимии [Электронный ресурс]: учебное пособие / В.К. Плакунов, Ю.А. Николаев. - Электрон. текстовые дан. - Логос, 2010. - Режим доступа: <http://www.biblioclub.ru / book/ 84985/>. стр. 21-68.
3. Владимирова, Е.Г. Техническая биохимия [Электронный ресурс] : метод. указания к лаб. практикуму / Е. Г. Владимирова, Е. В. Бибарцева, О. П. Кушнарцева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т", Каф. профилактич. медицины. - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург : ОГУ, 2013. - Adobe Acrobat Reader 6.0 стр. 67-90
4. Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии : учеб.-метод. пособие / В. В. Рогожин . - СПб. : Лань, 2006. - 256 с. : ил. - Библиогр. в конце гл. - ISBN 5-8114-0679-7 стр. 34—120.

## 5.3 Периодические издания

Прикладная биохимия и микробиология: журнал – М.: АРСМИ. 2013-2018

## 5.4 Интернет-ресурсы

Биохимия: учебник / Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд., испр. и доп. 2012. - 768 с. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970423950.html>

## 5.5 Программное обеспечение, профессиональные базы данных и информационные справочные системы современных информационных технологий

- 1) Операционная Windows Microsoft;
  - 2) Пакет настольных приложений Microsoft Office.
- 6 Материально-техническое обеспечение дисциплины

## 6 Материально-техническое обеспечение дисциплины

Проведение лабораторного практикума осуществляется в лаборатории биохимических исследований (ауд. № 2311).

Для проведения лабораторных работ предназначено следующее оборудование:

### Биохимическое оборудование

Баня водяная ТW-2 ELM1 (v-4.5л)

Весы OHAUS PA 64с

Источник питания для э/ф УЭФ-01-ДНК-техн. "ЭЛЬФ-8", ДНК-технология O-ELF8

Камера электрофоретическая горизонтальная S-2N (se-2), размер геля 120x170 мм

Рефрактометр ИРФ-454 б2м

РН-метр "эксперт-рн" (ип, термодатчик ТДС-3, электрод ЭСК-10601/7)

Спектрофотометр ПЭ-5400ВИ

Термостат ТС-80

Шкаф вытяжной с подводом воды ШВ-УК-1кг

Трансиллюминатор ЕСХ-F15.С

Микроскоп "МИКРОМЕД-1"

Микроскоп медицинский МИКМЕД-5

Мешалка магнитная MS-3000 BIOSAN

Шейкер-миди OS-20 универсальный, включая блок питания 230 VAS EURO PLUG, BIOSAN

Печь муфельная ЭКПС 10 (тип СНОЛ, рабочая камера из МКРВ, одноступенчатый регулятор автономная вытяжка)

Установка автоматическая для разложения по КБЕЛЬДАЛЮ LK-500