

**Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)»**

УТВЕРЖДЕНО

**Директор физтех-школы
биологической и медицинской
физики**

Д.В. Кузьмин

	Рабочая программа дисциплины (модуля)
по дисциплине:	Физико-химические методы исследования биополимеров
по направлению:	Биотехнология
профиль подготовки:	Биотехнология
	Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики
	кафедра молекулярной и клеточной биологии
курс:	4
квалификация:	бакалавр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 7 (осенний) - Дифференцированный зачет

Аудиторных часов: 30 всего, в том числе:

лекции: 0 час.

семинары: 30 час.

лабораторные занятия: 0 час.

Самостоятельная работа: 15 час.

Всего часов: 45, всего зач. ед.: 1

Программу составил: П.М. Рубцов, д-р биол. наук, профессор

Программа обсуждена на заседании кафедры молекулярной и клеточной биологии 02.04.2020

Аннотация

Целью данной дисциплины является освоение и понимание студентами физических и физико-химических основ всех наиболее используемых методов биохимии и молекулярной биологии. Соединение теоретических знаний, полученных на первых трех курсах МФТИ с практическими методиками. Студент после освоения курса будет понимать фундаментальные основы методов современной биохимии и молекулярной биологии, методики и материалы, используемые в биохимии и биотехнологии, возможности приложения полученных знаний в медицине, фармакологии, биотехнологии и других смежных областях.

1. Цели и задачи

Цель дисциплины

освоение и понимание студентами физических и физико-химических основ всех наиболее используемых методов биохимии и молекулярной биологии. Соединение теоретических знаний, полученных на первых трех курсах МФТИ с практическими методиками.

Задачи дисциплины

- создание физико-химических основ знаний методов биохимии;
- создание четкого представления о том, на чем основаны методики; которыми они пользуются и каковы границы их применимости;
- формирование фундаментальных основ, необходимых для серьезной экспериментальной работы в области биохимии и молекулярной биологии.

2. Перечень формируемых компетенций

Освоение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций:

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
УК-1 Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	УК-1.1 Анализирует задачу, выделяя этапы ее решения, действия по решению задачи
	УК-1.2 Находит, критически анализирует и выбирает информацию, необходимую для решения поставленной задачи
	УК-1.3 Рассматривает различные варианты решения задачи, оценивает их преимущества и недостатки
	УК-1.4 Грамотно, логично, аргументированно формирует собственные суждения и оценки
	УК-1.5 Определяет и оценивает практические последствия возможных вариантов решения задачи
УК-2 Способен определять круг задач в рамках поставленной цели и выбирать оптимальные способы их решения, исходя из действующих правовых норм, имеющихся ресурсов и ограничений	УК-2.1 Формулирует совокупность взаимосвязанных задач в рамках поставленной цели работы, обеспечивающих ее достижение. Определяет ожидаемые результаты решения поставленных задач
	УК-2.2 Проектирует решение конкретной задачи проекта, выбирая оптимальный способ ее решения, исходя из действующих правовых норм и имеющихся ресурсов и ограничений
ОПК-1 Способен изучать, анализировать, использовать биологические объекты и процессы, основываясь на математических, физических, химических, биологических законах, закономерностях и взаимосвязях	ОПК-1.1 Способен анализировать поставленную задачу, намечать пути ее решения
	ОПК-1.2 Способен строить математические модели, производить количественные расчеты и оценки
	ОПК-1.3 Способен определять границы применимости полученных результатов

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю)

В результате освоения дисциплины обучающиеся должны знать:

- ☐ фундаментальные основы методов современной биохимии и молекулярной биологии;
- ☐ методики и материалы, используемые в биохимии и биотехнологии;
- ☐ возможности приложения полученных знаний в медицине, фармакологии, биотехнологии и других смежных областях.

уметь:

- ☐ формулировать задачу и понимать возможности используемых методов;
- ☐ владеть техникой поиска и анализа информации, находящейся в Интернете;
- ☐ делать правильные выводы из сопоставления результатов теории и эксперимента;
- ☐ пользоваться своими знаниями для решения фундаментальных и прикладных задач и технологических задач.

владеть:

- ☐ Основными методами биохимии и молекулярной биологии;
- ☐ навыками самостоятельной работы в лаборатории и Интернете;
- ☐ культурой постановки и моделирования в молекулярной биологии;
- ☐ навыками грамотной обработки результатов опыта и сопоставления с теоретическими данными;
- ☐ практикой исследования и решения теоретических и прикладных задач.

4. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

4.1. Разделы дисциплины (модуля) и трудоемкости по видам учебных занятий

№	Тема (раздел) дисциплины	Трудоемкость по видам учебных занятий, включая самостоятельную работу, час.			
		Лекции	Семинары	Лаборат. работы	Самост. работа
1	Адсорбционная хроматография		2		1
2	Аффинная хроматография		2		1
3	Биочипы		2		1
4	Введение. Общий подход к выделению биополимеров.		2		1
5	Гель-фильтрация как метод разделения макромолекул в растворе		2		1
6	Изоэлектрофокусирование		2		1
7	Иммунохимические методы		2		
8	Иммуноэлектрофорез		2		1
9	Ионообменная хроматография		2		1
10	Методы получения экстрактов биологических материалов		2		1
11	Микро- и ультрафильтрация		2		1
12	Общие принципы устройства хроматографической системы высокого давления (HPLC)		2		1
13	Ультрацентрифугирование		2		1
14	Электрофез нуклеиновых кислот		2		1
15	Электрофорез		1		1
16	Электрофорез в ПААГ в присутствии SDS		1		1
Итого часов			30		15
Подготовка к экзамену		0 час.			
Общая трудоёмкость		45 час., 1 зач.ед.			

4.2. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам)

Семестр: 7 (Осенний)

1. Адсорбционная хроматография

Адсорбционная хроматография. Носители. Гидроксилапатит. Пористое стекло, возможности применения пористого стекла для эффективной очистки вирусных частиц.

2. Аффинная хроматография

Аффинная хроматография. Общие принципы метода и возможности метода. Типы химической прививки лигандов при аффинной хроматографии. Различные виды лигандов. Псевдоаффинная хроматография на окрашенных сорбентах. Нанесение материала. Иммуносорбенты, поликлональные и моноклональные антитела. Нанесение материала и элюция с аффинного сорбента. Способы элюции. Хаотропные соли. His-6 хвосты как способ выделения белков.

3. Биочипы

Что такое биочипы. Типы биочипов. Для чего применяются.

4. Введение. Общий подход к выделению биополимеров.

Критерии хорошего выделения. Масштабы выделения. (Lab. Scale, Pilot scale, Large scale). Методы измерения количества белка в гомогенате. (Специальные субстраты, аффинные лиганды, иммунные методы. Цветные реакции для определения содержания фермента). Химическая и ферментативная чистота ферментов.

5. Гель-фильтрация как метод разделения макромолекул в растворе

Принципы метода. Общие характеристики матриц для гель-фильтрации. Возможности метода: от обессоливания до определения молекулярного веса макромолекул. Размеры колонок, скорость элюции, свободный объем.

6. Изоэлектрофокусирование

Изоэлектрофокусирование. Принцип метода. Амфолины. Изоэлектрофокусирование в колонке в градиенте сахарозы. ИЭФ в геле. Препаративное ИЭФ в суспензии. Двумерный электрофорез. Метод О'Фаррелла.

7. Иммунохимические методы

Иммунохимические методы. Методы, основанные на агглютинации: реакция РПГА, латексы. Применение латексов для обнаружения ревматоидного фактора (РФ). Метод ELISA. Варианты метода ELISA. Новые методы иммунохимии: метод ABICAP.

8. Иммуноэлектрофорез

Общие принципы метода. Метод двойной радиальной иммунодиффузии Ухтерлони. Иммуноэлектрофорез по Грабар и Уильямс. Метод Лорелла («Ракетный электрофорез»). Двумерный иммуноэлектрофорез по методу Кларка и Фримена. Иммуноблоттинг – «Вестерн блот».

9. Ионообменная хроматография

Ионообменная хроматография. Катионообменники и анионообменники. Химическая природа ионогенных групп. Методы нанесения материала. Способы элюции. Градиенты. Колоночная и «бэтч» хроматография. Гидрофобная хроматография. Носители. Элюция.

10. Методы получения экстрактов биологических материалов

Способы разрушения клеток. Основные типы гомогенизаторов. Солюбилизация белков. Методы начальной очистки макромолекул – высаливание, осаждение органическими растворителями, низкоскоростное центрифугирование. Ингибиторы протеаз.

11. Микро- и ультрафильтрация

Микрофильтрация и ультрафильтрация, основные принципы метода. Области применения, размеры отделяемых частиц. Фильтры глубинного и поверхностного задержания. Способы смены буфера: диализ и обессоливание на колонке с сорбентом типа G-50.

12. Общие принципы устройства хроматографической системы высокого давления (HPLC)

Насосы, сорбенты, инжекторное устройство, колонки. FPLC-хроматографическая система. Область применения и особенности.

13. Ультрацентрифугирование

Общие принципы метода. Плавающая плотность частиц. Константа седиментации. Градиенты плотности. Роторы. Область их применения.

14. Электрофез нуклеиновых кислот

Электрофез нуклеиновых кислот. Элюция нуклеиновых кислот из геля. Секвенирование нуклеиновых кислот. Метод Максама и Гильберта. Метод Сэнджера. Метод PCR. Ассиметричный PCR. Real time PCR. Секвенирование с помощью PCR. Саузерн-блот.

15. Электрофорез

Электрофорез. Основные принципы метода. Основные виды электрофореза (в буфере, в протоке, в капилляре, в условиях микрогравитации, в градиенте, в геле). Основные виды гелей: агарозный, полиакриламидный. Получение гелей. Градиентные гели.

16. Электрофорез в ПААГ в присутствии SDS

Электрофорез в ПААГ в присутствии SDS. Разделение белков по молекулярному весу в системе Лэммли. Нанесение образцов. Окрашивание с помощью Кумасси. Окрашивание серебром с помощью AgNO₃.

5. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

Необходимое оборудование для занятий: учебная аудитория, оснащенная компьютером и мультимедийным оборудованием (проектор, звуковая система).

6. Перечень рекомендуемой литературы

Основная литература

1. Основы биохимии [Текст] : учеб. пособие для вузов / Ю. Б. Филиппович .— 2-е изд., перераб. и доп. — М. : Высшая школа, 1985 .— 503 с.

Предоставляется на кафедре:

2. Б. Нолтинг. Новейшие методы исследования биосистем. М: Техносфера, 2005
3. И. Тиноко, К. Зауэр, Дж. Вэнг, Дж. Паглиси. Физическая химия. Принципы и применение в биологических науках. М: Техносфера, 2005
4. Л.А.Остерман. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Москва, МЦНМО, 2002.
5. Ю.Б.Филиппович. Основы биохимии. Издание четвертое. «Агар», Москва, «Флинта», Москва. 1999

Дополнительная литература

Предоставляется на кафедре:

1. Р.Скоупс. Методы очистки белков. «МИР» Москва. 1985 R.K.Scopes. Protein purification. "Springer-Verlag". New-York, Heidelberg, Berlin.
2. Э.Гааль, Г.Медьеши, Л.Верецкеи. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. "МИР" Москва. 1982.
3. Т. Маниатис. Молекулярное клонирование. Методы генетической инженерии. "МИР", Москва. 1984.
4. Л.А.Остерман. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. "Наука", Москва. 1981.
5. Практическая химия белка. Под ред. А.Дарбре. Мир. Москва. 1989 г. 621с.

7. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети "Интернет", необходимых для освоения дисциплины (модуля)

1. Научные журналы (Молекулярная биология, Биохимия, Acta Naturae, и др.), доступные через Internet научные журналы: <http://scitation.aip.org/>, <http://www.sciencemag.org>.
2. Доступные через Internet базы данных и биоинформатические программы: Pubmed – NCBI, OMIM – NCBI, UCSC Genome Browser и др.

8. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине (модулю), включая перечень необходимого программного обеспечения и информационных справочных систем (при необходимости)

Для части занятий потребуются Zoom. Google Drive для доступа к материалам курса.

Приветствуется наличие во время занятий смартфонов/ноутбуков для участия в интерактивных упражнениях.

9. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины (модуля)

Студент, изучающий дисциплину, должен с одной стороны, овладеть общим понятийным аппаратом, а с другой стороны, должен научиться применять теоретические знания на практике. В результате изучения дисциплины студент должен знать основные определения дисциплины, уметь применять полученные знания для решения различных задач.

Успешное освоение курса требует:

- посещения всех занятий, предусмотренных учебным планом по дисциплине;
- ведения конспекта занятий;
- напряжённой самостоятельной работы студента.

Самостоятельная работа включает в себя:

- чтение рекомендованной литературы;
- проработку учебного материала, подготовку ответов на вопросы, предназначенных для самостоятельного изучения;
- решение задач, предлагаемых студентам на занятиях;
- подготовку к выполнению заданий текущей и промежуточной аттестации.

Показателем владения материалом служит умение без конспекта отвечать на вопросы по темам дисциплины.

Важно добиться понимания изучаемого материала, а не механического его запоминания. При затруднении изучения отдельных тем, вопросов, следует обращаться за консультациями к преподавателю.

Возможен промежуточный контроль знаний студентов в виде решения задач в соответствии с тематикой занятий.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (МОДУЛЮ)

по направлению: Биотехнология
профиль подготовки: Биотехнология
Физтех-школа Биологической и Медицинской Физики
кафедра молекулярной и клеточной биологии
курс: 4
квалификация: бакалавр

Семестр, формы промежуточной аттестации: 7 (осенний) - Дифференцированный зачет

Разработчик: П.М. Рубцов, д-р биол. наук, профессор

1. Компетенции, формируемые в процессе изучения дисциплины

Код и наименование компетенции	Индикаторы достижения компетенции
УК-1 Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	УК-1.1 Анализирует задачу, выделяя этапы ее решения, действия по решению задачи
	УК-1.2 Находит, критически анализирует и выбирает информацию, необходимую для решения поставленной задачи
	УК-1.3 Рассматривает различные варианты решения задачи, оценивает их преимущества и недостатки
	УК-1.4 Грамотно, логично, аргументированно формирует собственные суждения и оценки
	УК-1.5 Определяет и оценивает практические последствия возможных вариантов решения задачи
УК-2 Способен определять круг задач в рамках поставленной цели и выбирать оптимальные способы их решения, исходя из действующих правовых норм, имеющихся ресурсов и ограничений	УК-2.1 Формулирует совокупность взаимосвязанных задач в рамках поставленной цели работы, обеспечивающих ее достижение. Определяет ожидаемые результаты решения поставленных задач
	УК-2.2 Проектирует решение конкретной задачи проекта, выбирая оптимальный способ ее решения, исходя из действующих правовых норм и имеющихся ресурсов и ограничений
ОПК-1 Способен изучать, анализировать, использовать биологические объекты и процессы, основываясь на математических, физических, химических, биологических законах, закономерностях и взаимосвязях	ОПК-1.1 Способен анализировать поставленную задачу, намечать пути ее решения
	ОПК-1.2 Способен строить математические модели, производить количественные расчеты и оценки
	ОПК-1.3 Способен определять границы применимости полученных результатов

2. Показатели оценивания компетенций

В результате изучения дисциплины «Физико-химические методы исследования биополимеров» обучающийся должен:

знать:

- ☐ фундаментальные основы методов современной биохимии и молекулярной биологии;
- ☐ методики и материалы, используемые в биохимии и биотехнологии;
- ☐ возможности приложения полученных знаний в медицине, фармакологии, биотехнологии и других смежных областях.

уметь:

- ☐ формулировать задачу и понимать возможности используемых методов;
- ☐ владеть техникой поиска и анализа информации, находимой в Интернете;
- ☐ делать правильные выводы из сопоставления результатов теории и эксперимента;
- ☐ пользоваться своими знаниями для решения фундаментальных и прикладных задач и технологических задач.

владеть:

- ☐ Основными методами биохимии и молекулярной биологии;
- ☐ навыками самостоятельной работы в лаборатории и Интернете;
- ☐ культурой постановки и моделирования в молекулярной биологии;
- ☐ навыками грамотной обработки результатов опыта и сопоставления с теоретическими данными;
- ☐ практикой исследования и решения теоретических и прикладных задач.

3. Перечень типовых (примерных) вопросов, заданий, тем для подготовки к текущему контролю

Во время текущего контроля студент должен уметь ответить на следующие вопросы:

Критерии хорошего выделения ферментов. Методы оценки концентрации фермента в культуральной жидкости. Метод Лоури и другие способы измерения тотальной концентрации белка.

Методы разрушения клеток и солюбилизации белков. Ингибиторы протеаз.

Физико-химические основы метода гель-фильтрации. Как разделяются тяжелые и легкие белки.

Ионообменная хроматография. Катионообменники и анионообменники. Элюция с ионообменных колонок.

Аффинная хроматография. Общие принципы метода и возможности метода. Нанесение материала и элюция.

Электрофорез. Основные принципы метода. Основные виды электрофореза. Виды гелей для электрофореза.

Электрофорез нуклеиновых кислот. Секвенирование нуклеиновых кислот. Метод Максама и Гильберта. Метод Сэнджера. Метод PCR.

Электрофорез в ПААГ в присутствии SDS. Разделение белков по молекулярному весу в системе Лэмбли.

Изоэлектрофокусирование. Амфолины. Двумерный электрофорез.

Иммунохимические методы. Методы, основанные на агглютинации: реакция РПГА, латексы. Применение латексов для обнаружения ревматоидного фактора (РФ). Метод ELISA.

Иммуноэлектрофорез. Иммуноблоттинг – Вестерн Блот.

Биочипы. Конструкции чипов. Возможности метода.

Во время занятий могут проходить интерактивные обсуждения в чатах курса, что будет являться домашним заданием. Возможно выполнение патентного поиска в качестве самостоятельной задачи. Успешное выполнение всех заданий по курсу и выполнение контрольных срезов знаний дает преимущество на дифференцированном зачете.

4. Перечень типовых (примерных) вопросов и тем для проведения промежуточной аттестации обучающихся

Примеры билетов на зачете:

Билет №1.

Критерии хорошего выделения ферментов. Методы оценки концентрации фермента в культуральной жидкости. Метод Лоури и другие способы измерения тотальной концентрации белка.

Билет №2

Методы разрушения клеток и солюбилизации белков. Ингибиторы протеаз.

Билет №3

Физико-химические основы метода гель-фильтрации. Как разделяются тяжелые и легкие белки.

Билет №4

Ионообменная хроматография. Катионообменники и анионообменники. Элюция с ионообменных колонок.

Билет №5

Аффинная хроматография. Общие принципы метода и возможности метода. Нанесение материала и элюция.

Билет №6

Электрофорез. Основные принципы метода. Основные виды электрофореза. Виды гелей для электрофореза.

Билет №7

Электрофорез нуклеиновых кислот. Секвенирование нуклеиновых кислот. Метод Максама и Гильберта. Метод Сэнджера. Метод PCR.

Билет №8

Электрофорез в ПААГ в присутствии SDS. Разделение белков по молекулярному весу в системе Лэммли.

Билет №9

Изоэлектрофокусирование. Амфолины. Двумерный электрофорез.

Билет №10

Иммунохимические методы. Методы, основанные на агглютинации: реакция РПГА, латексы. Применение латексов для обнаружения ревматоидного фактора (РФ). Метод ELISA.

Билет №11

Иммуноэлектрофорез. Иммуноблоттинг – Вестерн Блот.

Билет №12

Биочипы. Конструкции чипов. Возможности метода.

Критерии оценивания

Оценка отлично (10 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины, проявляющему интерес к данной предметной области, продемонстрировавшему умение уверенно и творчески применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (9 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений.

Оценка отлично (8 баллов) - выставляется студенту, показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, правильное обоснование принятых решений, с некоторыми недочетами.

Оценка хорошо (7 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но недостаточно грамотно обосновывает полученные результаты.

Оценка хорошо (6 баллов) - выставляется студенту, если он твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач некоторые неточности.

Оценка хорошо (5 баллов) - выставляется студенту, если он в основном знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач достаточно большое количество неточностей.

Оценка удовлетворительно (4 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, недостаточно правильные формулировки базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, но при этом он освоил основные разделы учебной программы, необходимые для дальнейшего обучения, и может применять полученные знания по образцу в стандартной ситуации.

Оценка удовлетворительно (3 балла) - выставляется студенту, показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, допускающему ошибки в формулировках базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, слабо владеет основными разделами учебной программы, необходимыми для дальнейшего обучения и с трудом применяет полученные знания даже в стандартной ситуации.

Оценка неудовлетворительно (2 балла) - выставляется студенту, который не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубые ошибки в формулировках основных принципов и не умеет использовать полученные знания при решении типовых задач.

Оценка неудовлетворительно (1 балл) - выставляется студенту, который не знает основного содержания учебной программы дисциплины, допускает грубейшие ошибки в формулировках базовых понятий дисциплины и вообще не имеет навыков решения типовых практических задач.

5. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности

При проведении устного дифференцированного зачета обучающемуся предоставляется 30 минут на подготовку. Опрос обучающегося по билету на устном дифференцированном зачете не должен превышать одного астрономического часа.