

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НА УКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
УЛЬЯНОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Экологический факультет
Кафедра биологии, экологии и природопользования

Ю.В. Саенко, Д.А. Лямина

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Методические указания
для самостоятельной работы магистрантов
направления подготовки 06.04.01 Биология



Ульяновск
2017

УДК 57.08.

ББК 28.С

С-12

*Печатается по решению Ученого совета ИМЭиФК
Ульяновского государственного университета*

Рецензент:

Михеев В.А., кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова».

Саенко, Ю.В., Лямина, Д.А.

Современные методы биологического исследования: методические указания для самостоятельной работы магистрантов направления подготовки 06.04.01 Биология/ Ю.В. Саенко, Д.А. Лямина. – Ульяновск :УлГУ, 2017. - 23 с.

Методическое пособие по дисциплине «Современные методы биологического исследования» предназначено в помощь студентам, обучающимся по направлению подготовки 06.04.01 Биология, для самостоятельного изучения обозначенного курса. Методические указания включают в себя требования к результатам освоения дисциплины, тематический план дисциплины, список рекомендуемой литературы, тесты для самоподготовки, контрольные вопросы к зачету.

Учебное издание может быть полезно преподавателям и специалистам в области биологии.

© Саенко Ю.В., Лямина Д.А. 2017

© Ульяновский государственный университет, 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ	4
2. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ	4
3. СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ	5
4. РАЗДЕЛЫ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНЫХ ЗАНЯТИЙ	7
5. ТЕМАТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ	9
6.КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ)	14
7.ТЕСТЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ СТУДЕНТОВ	16
7.1.РЕЙТИНГОВЫЙ КОНТРОЛЬ УСВОЕНИЯ ЗНАНИЙ	24
8. ЗАДАНИЯ ОТКРЫТОГО ТИПА.	25
9.СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ:	25

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Цель дисциплины – обеспечить усвоение необходимого объема знаний, позволяющих студенту получить глубокое представление о специфике использования современных методов исследования в биологии, об организации диагностической и научно-исследовательской лаборатории, технике безопасности на рабочем месте, выработать умения использовать современные приборы, аппараты, микроскопы для биологических исследований, освоить методики биологических исследований.

Задачами изучения курса являются:

- изучение специфики использования современных методов исследования в биологии;
- получение представлений об организации диагностической и научно-исследовательской лаборатории;
- обобщение и систематизация ранее полученных знаний об использовании современных приборов, аппаратов, микроскопов для биологических исследований; , освоить методики биологических исследований;
- выработка умений и навыков практического использования полученных знаний при работе в диагностической и научно-исследовательской лаборатории и методик биологического исследования.

2. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Процесс изучения дисциплины «Современные методы биологического исследования» направлен на формирование следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО:

- Способность творчески использовать в научной и производственно-технологической деятельности знания фундаментальных и прикладных разделов дисциплин (модулей), определяющих направленность (профиль) программы магистратуры (ПК-1);
- Способность генерировать новые идеи и методические решения (ПК-4);
- Готовность использовать знание нормативных документов, регламентирующих организацию проведения научно-исследовательских и производственно-технологических биологических работ (в соответствии с направленностью (профилем) программы магистратуры) (ПК-5).

В результате изучения дисциплины студент должен:

Знать:

- Основные подходы к самоорганизации рабочего места в диагностической и научно-исследовательской лабораториях
- Основные методы биологических исследований в современных лабораториях.
- Устройство научных и диагностических лабораторий. Основные технологии, методы и методики исследований в биологии.

Уметь:

- Организовать самостоятельную работу с лабораторными приборами, микроскопом; представлять результаты экспериментов и анализа в виде схем, рисунков, описаний
- Самостоятельно применять современные технологии и методики в биологических исследованиях.
- Самостоятельно научно обосновывать и интерпретировать полученные результаты исследования. Проявлять способность к самообразованию (работа с сайтами, компьютерными сетями, электронными пособиями, литературными источниками).
- Соблюдать технику безопасности на рабочем месте. Основные правила работы с компьютерной техникой.

Владеть:

- Компьютерной техникой с целью самоорганизации и самообразования (работа с сайтами, компьютерными сетями, электронными пособиями).
- Основными современными методами биологических исследований.

3. СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Список рекомендуемой литературы

а) основная литература:

1. Наноструктуры в биомедицине / под ред. К. Е. Гонсалвес, К. Р. Хальберштадт, К. Т. Лоренсин, Л. С. Наир; пер. с англ. С. А. Бусева и др. - М. : Бином : Лаборатория знаний, 2013. - 519 с.
2. Плескова, С. Н. Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях : учеб. пособие / Плескова Светлана Николаевна. - Долгопрудный : Интеллект, 2011. - 184 с.

3. Современные проблемы биохимии. Методы исследований [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Е.В. Барковский [и др.].— Электрон. текстовые данные.— Минск: Вышэйшая школа, 2013.— 492 с. - Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/24080.html>.— ЭБС «IPRbooks»

б) дополнительная литература

1. Биологические методы научных исследований (избранные лекции) [Электронный ресурс] : учебное пособие / . — Электрон. текстовые данные. — Омск: Сибирский государственный университет физической культуры и спорта, 2014. — 76 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/64973.html>
2. Вознесенский Э.Ф. Методы структурных исследований материалов. Методы микроскопии [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Вознесенский Э.Ф., Шарифуллин Ф.С., Абдуллин И.Ш.— Электрон. текстовые данные.— Казань: Казанский национальный исследовательский технологический университет, 2014.— 184 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/61986.html>.— ЭБС «IPRbooks»
3. Кларк Э.Р. Микроскопические методы исследования материалов [Электронный ресурс]: монография/ Кларк Э.Р., Эберхард К.Н.— Электрон. текстовые данные.— М.: Техносфера, 2007.— 376 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/12728.html>.— ЭБС «IPRbooks»
4. Коржевский Д.Э. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии [Электронный ресурс] / Д.Э. Коржевский. — Электрон. текстовые данные. — СПб. : СпецЛит, 2014. — 112 с. — 978-5-299-00596-7. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/45725.html>
5. Магнитно-резонансная силовая микроскопия и односпиновые измерения : монография / Г. П. Берман [и др.] ; пер. с англ. Е. В. Бондаревой; под науч. ред. С. В. Капельницкого. - М. ; Ижевск : Регулярная и хаотическая динамика : Ин-т компьютерных исследований, 2010. - 196 с.
6. Нечипуренко Ю.Д. Анализ связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами [Электронный ресурс] : монография / Ю.Д. Нечипуренко. — Электрон. текстовые данные. — Ижевск: Регулярная и хаотическая динамика, Институт компьютерных исследований, 2015. — 190 с. — 978-5-4344-0295-8. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/69338.html>
7. Плескова, С.Н. Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях : учеб. пособие / Плескова Светлана Николаевна. - Долгопрудный : Интеллект, 2011. - 184 с.

8. Справочник по микроскопии для нанотехнологии : пер. с англ. / под ред. Нан Яо, Чжун Лин Ван; науч. ред. И. В. Яминский. - М. : Научный мир, 2011. - 712 с.
9. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия [Электронный ресурс] : учебно-справочное пособие / С.Н. Щелкунов. — Электрон. текстовые данные. — Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2017. — 514 с. — 978-5-379-02024-8. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/65273.html>

в) программное обеспечение

- операционная система семейства Microsoft Windows Professional 8.1; Windows SL 8.1;
- офисное программное обеспечение - MicrosoftOfficeStd;
- браузеры - Internet Explorer, Mozilla FireFox, Google Chrome, Opera;
- «Антиплагиат ВУЗ»: программная система для обнаружения текстовых заимствований в учебных и научных работах;
- Антиплагиат-интернет: программный комплекс поиска текстовых заимствований в открытых источниках сети интернет.

г) базы данных, информационно-справочные и поисковые системы

- Электронный каталог библиотеки УлГУ
- ЭБС «IPRbooks»
- ЭБС «Лань»
- ЭБС «Консультант студента»
- ЭБД РГБ
- База данных научных работ на английском языке «NationalCenterforBiotechnologyInformation» (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Микроскоп инвентированный Nikon «EclipseTi», микроскоп «ZOEFluorescentCellImager», центрифуга «CenturionScientificK3 Series», ДНК-синтезатор «ASM-800», генетический анализатор «IlluminaMiSeq», МСО-СО2-инкубатор, ламинарная система «Ламинар-С», амплификатор «T100», хроматографическая система «NGC», камера для вертикального и горизонтального электрофореза, вортекс, термошейкер, суспензионные и адгезивные клеточные культуры, мультимедийные презентации.

4. РАЗДЕЛЫ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНЫХ ЗАНЯТИЙ

Название и разделов	Всего	Виды учебных занятий	
---------------------	-------	----------------------	--

и тем		Аудиторные занятия		Занятия в интерактивной форме		Самостоятельная работа
		лекции	лабораторные занятия	лекции	лабораторные занятия	
Раздел 1. Лабораторный минимум.						
Тема: Лабораторная посуда. Автоклав.	6				2	4
Тема: Автоматическая пипетка. Ферменты	6				2	4
Тема: Потенциометрия, оборудование для перемешивания и подогрева исследуемых веществ.	7				2	5
Тема: Центрифугирование.	6				2	4
Тема: Микроскопия. Взвешивание.	6				2	4
Тема: Ламинарный бокс, инкубатор CO ₂ .	6				1	5
Тема: Реактивы. Расчет и приготовление растворов. Буферные растворы.	7				2	5
Раздел 2. Культивирование клеточных культур						
Тема: Клетка как объект научного исследования.	6				2	4
Тема: Ведение клеточных культур. .	6				2	4
Раздел 3. Флуоресцентная микроскопия.						
Тема: Микроскопия, флуоресцентный микроскоп.	7				2	5
Тема: Фиксаторы и биологические красители.	6				2	4
Раздел 4. Работа с нуклеиновыми кислотами.						
Тема: Выделение ДНК и РНК из клеток.	6				2	4
Тема: Электрофорез нуклеиновых кислот.	6				2	4
Тема: Полимеразная цепная реакция (ПЦР).	7				2	5
Тема: Флуориметрия.	6				2	4
Тема: Синтез ДНК и РНК.	7				2	5

Раздел 5. Постгеномные технологии.						
Тема: Секвенирование.	7				2	5
ИТОГО	108	0	0	0	33	75

5. ТЕМАТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

Раздел 1. Лабораторный минимум.

Тема 1.1: Лабораторная посуда. Автоклав.

Вопросы к теме:

1. Техника безопасности на рабочем месте.
2. Устройство диагностических и научно-исследовательских лабораторий.
3. Средства индивидуальной защиты. Правила асептики и антисептики, стерильные условия.
4. Работа с фенолом, хлороформом, щелочами, кислотами, эфирами, спиртом, этидиумом бромидом, акриламидом, горючими веществами и газами.
5. Лабораторная стеклянная посуда: пипетки, стаканы, колбы, цилиндры и т.д. Лабораторный пластик: эппендорфы, пробирки, наконечники, флаконы, бутылки, планшеты и т.д. Штативы.
6. Мытье и стерилизация посуды: обработка моющим средством, вымачивание в дистиллированной воде, автоклавирование.
7. Автоклавирование стеклянной и пластиковой посуды. Давление и температура при автоклавировании. Загрузка автоклава, установка необходимой температуры и времени автоклавирования, подача воды, стерилизация, сушка.

Тема 1.2: Автоматическая пипетка. Ферменты.

Вопросы к теме:

1. Виды автоматических пипеток: одноканальная, многоканальная. Работа с автоматической пипеткой. Пипетирование. Правила отбора и сброса жидкости.
2. Правила набора вязких жидкостей. Влияние температуры на жидкость при наборе автоматической пипеткой. Чистка автоматической пипетки.
3. Хранение автоматических пипеток.
4. Краткая характеристика ферментов. Единицы активности. Правила работы с ферментами. Хранение ферментов. Стоковые пробирки с ферментами, аликвоты ферментов.

5. Ферментативная активность. Классы ферментов. Ферментативный катализ. Некаталитическая реакция, ферментативная реакция.

Тема 1.3: Потенциометрия, оборудование для перемешивания и подогрева исследуемых веществ.

Вопросы к теме:

1. Потенциометрия, водородный показатель. Щелочной и кислотный рН. Правила работы с рН-метром, виды рН-метров. Хранение электрода. Калибровка рН-метра.
2. Вортекс – прибор для быстрого перемешивания растворов. Правила работы с прибором. Меры предосторожности в работе на Вортексе.
3. Термошейкер – прибор для одновременного перемешивания и прогрева растворов. Правила работы с прибором.

Тема 1.4: Центрифугирование.

Вопросы к теме:

1. Разделение веществ с помощью центрифугирования. Скорость седиментации. Центробежное ускорение, относительное центробежное ускорение, время, необходимое для осаждения сферических частиц, вязкость среды, плавучая плотность частиц.
2. Препаративное центрифугирование.
3. Дифференциальное центрифугирование.
4. Дифференциальное центрифугирование суспензии частиц в центробежном поле.
5. Зонально-скоростное центрифугирование.
6. Изопикническое центрифугирование.
7. Равновесное центрифугирование в градиенте плотности. Градиенты.
8. Аналитическое центрифугирование.
9. Ультрацентрифугирование.
10. Классификация центрифуг.

Тема 1.5.: Микроскопия. Взвешивание.

Вопросы к теме:

1. Виды микроскопов. Современные технологии микроскопии.
2. Работа с микроскопом.
3. Световой микроскоп.
4. Инвертированный микроскоп.
5. Аналитические весы. Пределы измерения. Правила работы с аналитическими весами. Калибровка весов.
6. Взвешивание реактивов.

Тема 1.6: Ламинарный бокс, инкубатор CO₂.

Вопросы к теме:

1. Ламинарный шкаф. Виды ламинарных потоков. Правила работы в ламинарном шкафу, техника безопасности.
2. Поддержание стерильности в ламинарном боксе. Обработка спиртом поверхностей ламинарного бокса, ультрафиолетовое облучение.
3. Устройство инкубатора. Сферы использования инкубаторов CO₂.
4. Поддержание постоянных температуры и газового состава. Содержание инкубатора.

Тема 1.7: Реактивы. Расчет и приготовление растворов. Буферные растворы.

Вопросы к теме:

1. Правила работы с общими реактивами. Приготовление растворов.
2. Расчет растворов. Моль, молярный вес, процентное содержание, молекулярный вес.
3. Способы дополнительной очистки растворов: фильтрация, очистка углем, деионизация, автоклавирование, очистка спирта.
4. Три сорта воды: водопроводная, дистиллированная, деионизированная.
5. Работа с токсичными летучими веществами под тягой.
6. Буферные растворы. Приготовление буферных растворов. Влияние рН и температуры на свойства буферного раствора.

Раздел 2. Культивирование клеточных культур.

Тема 2.1: Клетка как объект научного исследования.

Вопросы к теме:

1. Виды клеточных культур.
2. Методики и подходы. Культивирование клеток *in vitro*.
3. Типы культивирования клеток. Системы культивирования клеток.
4. Среды для культивирования клеточных культур.
5. Использование культуры клеток.

Тема 2.2: Ведение клеточных культур.

1. Смена среды в монослойной культуре.
2. Методы асептики.
3. Смена среды во флаконах.
4. Посуда, субстраты, среды для культивирования. Приготовление спиртовых растворов.
5. Контаминация. Контроль контаминации.
6. Подсчет клеток на камере Горяева.
7. Криоконсервация клеток.
8. Разморозка клеточных культур.

9. Контроль клеточной культуры после размораживания. Смена среды.

Раздел 3. Флуоресцентная микроскопия.

Тема 3.1: Микроскопия, флуоресцентный микроскоп.

Вопросы к теме:

1. История развития микроскопии в биологии.
2. Виды микроскопии.
3. Сущность флуоресцентной микроскопии: физические основы, характеристика поглощения и эмиссии. Преимущества и ограничения флуоресцентной микроскопии.
4. Функциональные особенности устройства флуоресцентного микроскопа.

Тема 3.2: Фиксаторы и биологические красители.

Вопросы к теме:

1. Методы фиксации биологических образцов.
2. Фиксаторы. Общая характеристика и классификация биологических красителей.
3. Способы детекции сигнала при флуоресцентной микроскопии: флюорофоры, флюоресцентные метки и зонды.
4. Характеристика и область использования флуоресцентных красителей: DCFH-DA, TMRE, монохлоробиман, бромистый этидий, йодистый пропидий, Yo-Pro1, акридиновый оранжевый, SybrGreen.

Раздел 4. Работа с нуклеиновыми кислотами.

Тема 4.1: Выделение ДНК и РНК из клеток.

Вопросы к теме:

1. Подготовка клеточной культуры к выделению нуклеиновых кислот.
2. Методы выделения нуклеиновых кислот.
3. Выделение ДНК на сорбенте, на магнитном штативе.
4. Выделение РНК тризолом, колоночным способом.

Тема 4.2: Электрофорез нуклеиновых кислот.

Вопросы к теме:

1. Техника проведения электрофореза нуклеиновых кислот: подготовка камеры для электрофореза, приготовление геля, приготовление буферов, нанесение образцов в лунки.
2. Горизонтальный и вертикальный электрофорез.
3. Электрофорез в агарозном геле. Электрофорез в полиакриламидном геле.
4. Работа с флуоресцентными красителями. Техника безопасности при

работе с трансиллюминатором.

5. Интерпретация данных, полученных в результате электрофореза.

Тема 4.3: Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Вопросы к теме:

1. Общая характеристика метода полимеразной цепной реакции.
2. Виды амплификаторов. Виды ДНК-полимераз. dNTP. Праймеры для ПЦР.
3. Буферный раствор. Приготовление реакционной смеси.

Тема 4.4: Флуориметрия.

Вопросы к теме:

1. Флуоресцентный анализ. Виды флуориметров.
2. Работа с прибором Qubit.
3. Измерение концентрации ДНК и РНК в растворах.

Тема 4.5: Синтез ДНК и РНК.

Вопросы к теме:

1. Автоматический синтезатор ДНК и РНК.
2. Синтез олигонуклеотидов: подготовка колонок, ввод протокола синтеза, ввод синтезируемых последовательностей, запуск и управление процессом синтеза, удаление олигонуклеотида с полимера.
3. Применение синтезированных ДНК и РНК.

Раздел 5. Постгеномные технологии.

Тема 5.1: Секвенирование.

Вопросы к теме:

1. Геномика. Протеомика. Метагеномика. Биоинформатика.
2. Классические методы секвенирования: секвенирование с помощью капиллярного электрофореза и пиросеквенирование.
3. Новые методы секвенирования (NGS – NextGenerationSequencing): высокопроизводительное пиросеквенирование, циклическое лигазное и полупроводниковое секвенирование, секвенирование на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченных предшественников.
4. Новейшие методы секвенирования (Next-NextGenerationSequencing): технология секвенирования одной молекулы, секвенирование единичных молекул в реальном времени, секвенирование через нанопоры.

6.КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ)

1. Клетка как объект научных исследований. История культивирования.
2. Введение клеток в культуру, их происхождение. Характеристика клеток культивируемых *in vitro*. Преимущества клеток культивируемых *in vitro*
3. Типы культивируемых клеток.
4. Среда для культивирования. Требования, предъявляемые к средам и условиям культивирования клеток животных и человека.
5. Факторы, влияющие на скорость деления клеток в клеточной культуре. Основные системы культивирования клеток.
6. Влияние окружающей среды на культуру клеток. Клеточная адгезия. Клеточная пролиферация. Дифференцировка.
7. Ламинарное оборудование. Инкубаторы.
8. Асептика. Объекты асептического окружения. Стерилизация. Ламинарный поток.
9. Общая безопасность: оператор, оборудование, стеклянная посуда, химическая токсичность.
10. Биологическая опасность.
11. Контаминация. Методы определения контаминации.
12. Посуда и субстраты для культивирования клеток.
13. Подготовительные работы и стерилизация.
14. Характеристика клеток: морфология, хромосомный состав, содержание ДНК и РНК.
15. Клеточный цикл.
16. Криоконсервация клеточных культур.
17. Подсчет клеток. Оценка выживаемости.
18. Техника ведения культуры клеток.
19. Смена среды в монослойной культуре.
20. Мытье и стерилизация стеклянной посуды.
21. Ферменты и ферментативный катализ. Правила работы с ферментами.
22. Взвешивание, правила взвешивания, аналитическое взвешивание.
23. рН-метр (что такое рН, правила работы с рН-метром, хранение электрода).
24. Термошейкер, вортекс (правила работы).
25. Меры безопасности в лаборатории (средства индивидуальной защиты, ультрафиолет, опасные, горючие, вредные вещества).

26. Центрифугирование. Основные формулы (центробежное ускорение (G), ОЦУ, время осаждения (t)). Классификация центрифуг.
27. Лабораторная посуда. Мытье и стерилизация лабораторной посуды.
28. Правила работы с общими реактивами.
29. Расчет растворов. Моль, процентное содержание.
30. Растворение. Сольватация. Таблица растворимости.
31. Способы дополнительной очистки растворов.
32. Лабораторная посуда. Лабораторный пластик.
33. Автоклавирование. Работа с автоклавом. Техника безопасности.
34. Потенциометрия, водородный показатель. Щелочной и кислотный рН.
35. Виды микроскопов. Современные технологии микроскопии.
36. Работа с микроскопом. Световой микроскоп. Инвертированный микроскоп.
37. Приготовление растворов. Расчет растворов.
38. Моль, молярный вес, процентное содержание, молекулярный вес.
39. Способы дополнительной очистки растворов.
40. Буферные растворы. Приготовление буферных растворов
41. История развития микроскопии в биологии. Виды микроскопии
42. Сущность флуоресцентной микроскопии: физические основы, характеристика поглощения и эмиссии.
43. Функциональные особенности устройства флуоресцентного микроскопа.
44. Методы фиксации биологических образцов. Фиксаторы. Общая характеристика и классификация биологических красителей.
45. Способы детекции сигнала при флуоресцентной микроскопии: флюорофоры, флюоресцентные метки и зонды. Характеристика и область использования флуоресцентных красителей.
46. Методы выделения нуклеиновых кислот.
47. Выделение ДНК и РНК из клеток клеточных линий.
48. Техника проведения электрофореза нуклеиновых кислот.
49. Горизонтальный и вертикальный электрофорез.
50. Электрофорез в агарозном геле. Электрофорез в полиакриламидном геле.
51. Общая характеристика метода полимеразной цепной реакции.
52. Виды ДНК-полимераз. dNTP. Праймеры для ПЦР. Буферный раствор. Приготовление реакционной смеси.
53. Флуоресцентный анализ. Виды флуориметров.

54. Работа с прибором Qubit. Измерение концентрации ДНК и РНК в растворах.
55. Автоматический синтезатор ДНК и РНК. Синтез олигонуклеотидов.
56. Применение синтезированных ДНК и РНК.
57. Геномика. Протеомика. Метагеномика. Биоинформатика.
58. Классические методы секвенирования.
59. Новые методы секвенирования.
60. Новейшие методы секвенирования.

7. ТЕСТЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ СТУДЕНТОВ

1. К средствам индивидуальной защиты в научно-исследовательской и диагностической лаборатории относят:

- 1) халат
- 2) перчатки, шапочка
- 3) халат, перчатки, защитные очки
- 4) вытяжной шкаф

2. Последовательность действий при попадании на кожу рук щелочи:

- 1) смыть водой, нейтрализовать буфером для нейтрализации
- 2) смыть водой, промыть кожу с мылом
- 3) промыть с мылом, обработать перекисью водорода
- 4) промыть с мылом, обработать йодом

3. Последовательность действий при попадании на кожу рук кислоты:

- 1) смыть водой, нейтрализовать буфером для нейтрализации
- 2) смыть водой, промыть кожу с мылом
- 3) промыть с мылом, обработать перекисью водорода
- 4) промыть с мылом, обработать йодом

4. Средства защиты при работе с трансиллюминатором:

- 1) халат, очки
- 2) перчатки, закрытая обувь
- 3) халат, перчатки
- 4) перчатки, защитный экран или маска

5. Чем опасны UV-лампы?

- 1) повреждением глаз, ожогами на коже
- 2) покраснением кожных покровов
- 3) вдыханием ядовитого газа
- 4) сильным свечением

6. Какие из перечисленных веществ являются горючими?

- 1) органические растворители
- 2) кислота, щелочь
- 3) эфир, спирт, газ
- 4) ферменты, нуклеиновые кислоты, нуклеотиды

7. Какой тип пластика не выдерживает автоклавирование?

- 1) Полипропилен
- 2) Полиэтилен
- 3) Полистерол
- 4) Полистерен

8. Сколько типов наконечников для автоматических пипеток используют в исследовательской лаборатории?

- 1)1
- 2)2
- 3)3
- 4)4

9. Порядок подготовки лабораторной посуды к стерильной работе?

- 1) мытье с моющим средством, вымачивание в дистиллированной воде, автоклавирование
- 2) автоклавирование, мытье с моющим средством, вымачивание в дистиллированной воде
- 3) вымачивание в дистиллированной воде, мытье с моющим средством, автоклавирование
- 4) мытье с моющим средством, автоклавирование, вымачивание в дистиллированной воде

10. Оптимальные давление и температура при автоклавировании?

- 1)2 атм, 134°C
- 2)3 атм, 135 °C
- 3)4 атм, 140 °C
- 4) 2 атм, 200 °C

11. Влияет ли температура на жидкость при наборе автоматической пипеткой?

- 1)да, если температура жидкости и окружающей среды отличаются
- 2)да, если температура жидкости выше 60 °C
- 3) да, если жидкость холодная
- 4)не влияет

12. При какой температуре хранятся ферменты?

- 1)при комнатной
- 2)при 37 °C

3)при 4 °С

4)при -20-40 °С

13. Сколько классов ферментов выделяют?

1)10

2)4

3)6

4)5

14. Каким прибором измеряют водородный показатель?

1)Термошейкер

2)Вортекс

3)рН-метр

4)Микроцентрифуга

15. С помощью какого прибора осуществляют быстрое перемешивание?

1)Термошейкер

2)Вортекс

3)рН-метр

4)Микроцентрифуга

16. С помощью какого прибора осуществляют перемешивание и подог-рев содержимого пробирок?

1)Термошейкер

2)Вортекс

3)рН-метр

4)Микроцентрифуга

17. Центробежное ускорение рассчитывается по формуле:

1) $G=r*W$

2) $G=r^2*W$

3) $G=W^2*r$

4) $W=G*r$

18. В каких единицах выражают центробежное ускорение?

1)Сm

2)Mm

3)g

4)Mm/c²

19. При одинаковых плотностях частицы большего размера оседают , чем мелкие.

1)Медленнее

2)Быстрее

20. Чем больше вязкость среды, тем оседают частицы.

1)Медленнее

2)Быстрее

21. Чему пропорциональна скорость оседания частиц?

1)Квадрату числа оборотов ротора

2)Количеству жидкости в пробирке

3)Количеству времени центрифугирования

22. Какое центрифугирование основано на различиях в скорости оседания частиц, отличающихся друг от друга размерами и плотностью?

1) Равновесное

2) Изопикническое

3) Зонально-скоростное

4) Дифференциальное

23. Какое центрифугирование заключается в наслаивании исследуемого образца на поверхность раствора с непрерывным градиентом плотности?

1) Равновесное

2) Изопикническое

3) Зонально-скоростное

4) Дифференциальное

24. Какие вещества используют для создания градиента плотности?

1)Жиры

2)Белки

3)Нуклеиновые кислоты

4)Соли тяжелых металлов

25. Какую скорость могут развивать аналитические центрифуги?

1)До 70000 об/мин

2)До 7000 об/мин

3)До 15000 об/мин

4)До 100000 об/мин

26. Что является основными элементами оптической системы микроскопа?

1)объект, предметный столик

2)конденсор, окуляр

3)зеркало, объектив

4)окуляр, объектив

27. Чему равно увеличение оптического микроскопа без дополнительных линз между объективом и окуляром?

- 1)произведению их увеличений
- 2)сумме их увеличений
- 3)увеличению объектива
- 4)увеличению окуляра

28. Чем настраивают резкость на световом микроскопе?

- 1)микровинтом
- 2)макрвинтом
- 3)макрвинтом, микровинтом
- 4)диафрагмой

29. У какого микроскопа объектив расположен под наблюдаемом предметом?

- 1)Инвертированный
- 2)Флуоресцентный
- 3)Оптический
- 4)Световой

30. Какое оборудование используют для обеспечения стерильных условий?

- 1)Инкубатор
- 2)Ламинарный бокс
- 3)Вытяжной шкаф
- 4)Амплификатор

31. В каких единицах измеряется количество вещества?

- 1)Моль
- 2)Проценты
- 3)Мл
- 4)Гр

32. В каких единицах измеряется отношение количества данного вещества к количеству всего раствора?

- 1)Моль
- 2)Проценты
- 3)Мл
- 4)Гр

33. При каком способе очистки растворов используются колонки, ячейки и шприцы?

- 1)Очистка углем
- 2)Фильтрация
- 3)Автоклавирование
- 4)Деионизация

34. При каком способе очистки растворов используют высокую температуру и давление?

- 1) Очистка углем
- 2) Фильтрация
- 3) Автоклавирование
- 4) Деионизация

35. При каком способе очистки растворов удаляются ионы?

- 1) Очистка углем
- 2) Фильтрация
- 3) Автоклавирование
- 4) Деионизация

36. С помощью какого вещества проводят очистку спирта?

- 1) Перманганат калия
- 2) Перманганат железа
- 3) Перманганат натрия
- 4) Перманганат кальция

37. Какая клеточная линия относится к суспензионным?

- 1) К-562
- 2) НСТ-116
- 3) СНО-К1

38. Какая клеточная линия относится к адгезивным?

- 1) К-562
- 2) НСТ-116
- 3) НЛ-60

39. По наличию каких веществ различаются среды для культивирования клеток?

- 1) Глюкоза
- 2) Глутамин
- 3) Витамины
- 4) Всех вышеперечисленных

40. Какое вещество добавляют в среду для культивирования клеток при разморозке клеточной линии?

- 1) Витамины
- 2) Минералы
- 3) Mg
- 4) Бычьей сыворотку

41. Что называется контаминацией клеточной культуры?

- 1) Попадание в культуру бактерий
- 2) Разрастание культуры клеток в несколько слоев

3) Прекращение роста культуры клеток

4) Смены среды

42. Для чего используется камера Горяева?

1) Для подсчета клеток

2) Для выращивания клеток

3) Для фиксации клеток

4) Для окрашивания клеток

43. Из каких клеток возможно выделение нуклеиновых кислот?

1) Из клеток клеточной линии

2) Из клеток растений

3) Из клеток крови

4) Из всех вышеперечисленных

44. Какие молекулы визуализируются в агарозном геле при помощи ультрафиолета и этидиума бромиды?

1) Белки

2) Углеводы

3) Жиры

4) Нуклеиновые кислоты

45. Концентрацию каких молекул определяют с помощью флуориметра?

1) ДНК

2) РНК

3) Белков

4) Всех вышеперечисленных

46. Из каких молекул происходит сборка олигонуклеотидов во время синтеза?

1) Аминокислоты

2) Нуклеотиды

3) РНК

4) Дезоксирибозы

47. В каком веществе растворяют все реактивы для синтеза ДНК?

1) Ацетонитрил

2) Спирт

3) Эфир

4) Дистиллированная вода

48. Как называется раздел молекулярной биологии, занимающийся изучением и расшифровкой генетической информации?

1) Геномика

2) Биоинформатика

3)Метагеномика

4)Протеомика

49. Как называется раздел молекулярной биологии, изучающий геном "сверхорганизма", состоящего не только из HomoSapiens как такового, но и из его бесчисленных обитателей?

1)Геномика

2)Биоинформатика

3)Метагеномика

4)Протеомика

50. Как называется раздел молекулярной биологии, изучающий белки, в частности, экспрессию белков в различных типах клеток в определенный период времени?

1)Геномика

2)Биоинформатика

3)Метагеномика

4)Протеомика

51. Как называется использование компьютерных, математических, статистических методов, программ и алгоритмов для решения биологических задач?

1)Геномика

2)Биоинформатика

3)Метагеномика

4)Протеомика

52. К какому методу секвенирования относится метод Сэнгера?

1)Классический

2)Новый

3)Новейший

53. К какому методу секвенирования относится пиросеквенирование?

1)Классический

2)Новый

3)Новейший

54. К какому методу секвенирования относится секвенирование на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченных предшественников?

1)Классический

2)Новый

3)Новейший

55. К какому методу секвенирования относится циклическое лигазное секвенирование?

- 1) Классический
- 2) Новый
- 3) Новейший

56. К какому методу секвенирования относится полупроводниковое секвенирование?

- 1) Классический
- 2) Новый
- 3) Новейший

57. К какому методу секвенирования относится технология секвенирования одной молекулы?

- 1) Классический
- 2) Новый
- 3) Новейший

58. К какому методу секвенирования относится секвенирование единичных молекул в реальном времени?

- 1) Классический
- 2) Новый
- 3) Новейший

59. К какому методу секвенирования относится секвенирование через нанопоры?

- 1) Классический
- 2) Новый
- 3) Новейший

7.1. РЕЙТИНГОВЫЙ КОНТРОЛЬ УСВОЕНИЯ ЗНАНИЙ

Критерии оценивания — правильные ответы на поставленные вопросы.

Показатель оценивания - процент верных ответов на вопросы.

Шкала оценивания — выделено 4 уровня оценивания освоения компетенции.

1. **высокий (отлично)** — более 80% правильных ответов;
2. **достаточный (хорошо)** — 61-80% правильных ответов;
3. **пороговый (удовлетворительно)** — 51-60% правильных ответов;
4. **критический (неудовлетворительно)** — менее 50 % правильных ответов.

8. ЗАДАНИЯ ОТКРЫТОГО ТИПА.

Индекс компетенции	Задания
ПК-1, ПК-4, ПК-5 (уметь, владеть)	<p>Заполните пропуски в следующих предложениях:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Фермент, ответственный за синтез ДНК как при репликации, так и про репарации, называется _____. 2. Фермент, который сшивает разрывы в ДНК во время синтеза ДНК или ее репарации, называется _____. 3. Для ДНК полимеразы в отличие от РНК-полимеразы совершенно необходим свободный 3'-ОН-конец _____, спаренный с расплетенной ДНК, чтобы присоединять к нему новые нуклеотиды. 4. Если ДНК-полимераза ошибочно присоединяет неправильный нуклеотид к 3'-концу, ее отдельный каталитически активный домен, обладающий (3' → 5') - _____ активностью, удалит неподходящее основание. 5. Для инициации синтеза ДНК на отстающей цепи нужны короткие праймеры, возникающие благодаря работе фермента _____, которая в качестве субстратов использует рибонуклеозидтрифосфаты. 6. Расплетание двойной спирали ДНК в зоне репликативной вилки катализируется _____, использующей для направленного движения по ДНК энергию гидролиза АТФ. 7. Способствующие расплетанию ДНК _____ связываются с одноцепочечной ДНК таким образом, что основания становятся доступными для реакции матричного синтеза. 8. Каждая молекула ДНК упакована в _____, а вся генетическая информация, хранящаяся в хромосомах организма, составляет его _____. 9. Для функционирования хромосом необходимы три элемента последовательности ДНК: по крайней мере одна _____ для того, чтобы могло осуществляться копирование хромосом, одна _____ для обеспечения последующего разделения двух копий при митозе и две _____ для поддержания целостности хромосомы в период между делениями. 10. В спирали ДНК каждая область, где синтезируется функциональная молекула РНК, представляет собой _____.

9. СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ:

Индекс компетенции	Задания
ПК-1, ПК-4, ПК-5 (уметь, владеть)	<p><i>Ситуационная задача №1.</i> Рассчитайте массу солей $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ и воды, которые потребуются для приготовления буфера Mg^{2+} 2М, объемом 200 мл.</p> <p><i>Ситуационная задача №2.</i> Рассчитайте массу солей $NaCl$ и NH_4Cl, которые потребуются для приготовления буфера $NaCl, NH_4Cl$ 5М, объемом 50 мл.</p> <p><i>Ситуационная задача №3.</i> Приготовьте раствор Денхарда (Ficoll, Polyvinilpyrolidone, BSA) в концентрации 1%, 200 мл.</p> <p><i>Ситуационная задача №4.</i> Приготовьте 1х ТВЕ-буфер (Trisbase 89mM, Boricacid 89mM,</p>

EDTA 2mM), объемом 1000 мл.

Ситуационная задача №5.

Приготовьте 10x TBE-буфер (Trisbase 0,89M, Boricacid 0,89M, EDTA 20mM), объемом 1000 мл.

Ситуационная задача №6.

Приготовьте буфер PEG-NaCl (NaCl 1.6M, PEG-6000 13%), объемом 150 мл.

Ситуационная задача №7.

Приготовьте нейтрализующий буфер (TrisCl 1M, NaCl 1.5M, HCl 0.81M), объемом 300 мл.

Ситуационная задача №8.

Приготовьте денатурирующий буфер (NaCl 1.5M, NaOH 0.5M), объемом 500 мл.

Ситуационная задача №9.

Приготовьте буфер PEG-NaCl (NaCl 1.6M, PEG-6000 13%), объемом 200 мл.

Ситуационная задача №10.

Приготовьте PBS-буфер (KH₂PO₄ 17mM, Na₂HPO₄ 52mM, NaCl 1.5M), объемом 0.5 л.

Ситуационная задача №11.

Опешите ход работы при выделение и фракционирование нуклеиновых кислот эукариот классическим методом: солевая экстракция ДНК из животных организмов с ДДС –Na (додецилсульфата натрия).

Ситуационная задача №12.

Опешите подробно подготовку и постановку специфической амплификации ДНК с помощью полимеразы, осуществляющей избирательный синтез взаимно комплементарных цепей ДНК, начиная с двух праймеров (затравок).

Ситуационная задача №13.

Опешите последовательность действий при анализе ДНК методом горизонтального электрофореза в агарозном геле.

Учебное издание

Ю. В. Саенко, Д.А. Лямина

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по дисциплине

Современные методы биологического исследования

для самостоятельной работы

магистрантов направления подготовки

06.04.01 Биология