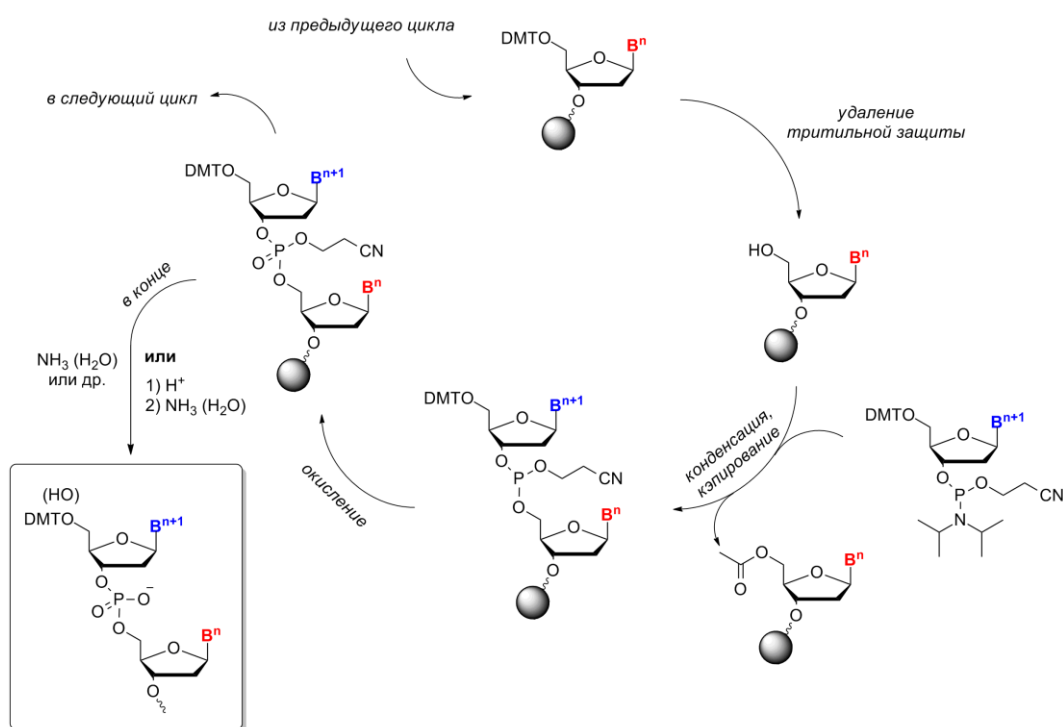


Н.В. ТЕРЁХИНА, С.В. ПАНТЕЛЕЕВ, А.О. АНДРЕЕВ

ЛАБОРАТОРНЫЙ СИНТЕЗ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ МАГИСТРОВ
направления подготовки 06.04.01 «Биология»,
профиль «Биофарминжиниринг»



Ульяновск, 2024

Рекомендовано решением Координационного совета Передовой инженерной школы «ФармИнжиниринг» Ульяновского государственного университета к использованию в учебном процессе
(протокол № 2 от 05.06.2024г.)

Рецензенты – декан экологического факультета, заведующий кафедрой общей и биологической химии, кандидат биологических наук
Шроль Ольга Юрьевна
доцент кафедры общей и биологической химии, кандидат химических наук
Андреева Татьяна Сергеевна

Терёхина Н. В., Пантелеев С.В., Андреев А.О.

Лабораторный синтез олигонуклеотидов: Методические указания для самостоятельной работы магистров направления подготовки 06.04.01 «Биология», профиль «Биофарминжиниринг» / Н.В. Терёхина, С.В. Пантелеев, А.О. Андреев – Ульяновск: УлГУ, Передовая инженерная школа "ФармИнжиниринг". - 2024. – 18 с.

Методическое пособие по дисциплине «Лабораторный синтез олигонуклеотидов» предназначено в помощь магистрам, обучающимся по направлению подготовки 06.04.01 «Биология», профиль «Биофарминжиниринг», для самостоятельного изучения отдельных разделов курса. Методические указания включают в себя требования к результатам освоения дисциплины, тематический план дисциплины, список рекомендуемой литературы, лабораторные работы, контрольные вопросы к зачету.

© Терёхина Н.В., Пантелеев С.В., Андреев А.О. 2024

© Ульяновский государственный университет, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

1. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ
2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОПОП
3. ПЕРЕЧЕНЬ ПЛАНИРУЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ
4. СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ
5. РАЗДЕЛЫ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНЫХ ЗАНЯТИЯ
6. ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ДИСЦИПЛИНЫ
7. ПРАВИЛА РАБОТЫ В ХИМИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ
8. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ. ВОПРОСЫ ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ
9. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Цели освоения дисциплины:

формирование системных знаний, умений и навыков в области основных принципов, методов и средств лабораторного синтеза олигонуклеотидов и его роли в современной технологии.

Задачи освоения дисциплины:

1. формирование представлений об организации и синтезе молекул олигонуклеотидов;
2. обучение основным этапам химического синтеза, очистки и идентификации олигонуклеотидов;
3. получение навыков проведения операций лабораторного синтеза олигонуклеотидов с использованием современного оборудования;
4. рассмотрение перспектив использования химического синтеза олигонуклеотидов в различных областях современной науки.

2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОПОП

- Дисциплина «Лабораторный синтез олигонуклеотидов» изучается в 2 семестре и относится к дисциплинам по выбору 3 (Б1.В.ДВ.03.02).
- Изучение данной дисциплины приведет к формированию комплекса теоретических знаний и практических навыков использования в профессиональной деятельности современных методов лабораторного синтеза олигонуклеотидов.

3. ПЕРЕЧЕНЬ ПЛАНИРУЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ, СООТНЕСЕННЫХ С ПЛАНИРУЕМЫМИ РЕЗУЛЬТАТАМИ ОСВОЕНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

Код и наименование реализуемой компетенции	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине (модулю), соотнесенных с индикаторами достижения компетенций
<p>ПК-1 Способен производить подготовительные работы для осуществления биотехнологического процесса получения биомедицинского продукта: тест-систем/генно-инженерного продукта/радиофарм-препарата</p>	<p>ИД-1.1пк1 Знает основные принципы и этапы биотехнологического процесса, правила безопасности при работе с биологическими материалами и реагентами</p> <p>ИД-1.2пк1 Умеет выбирать и подготавливать необходимые реагенты и материалы для проведения биотехнологических процессов</p> <p>ИД-1.3пк1 Владеет навыком работы с лабораторным оборудованием и приборами, необходимыми для проведения биотехнологических процессов</p>
<p>ПК-3 Способен проводить исследования по разработке биомедицинского продукта, а также управлять процессом</p>	<p>ИД-1.1пк3 Знает правила безопасности при проведении исследований по разработке биомедицинского продукта</p> <p>ИД-1.2пк3 Умеет: формулировать цели и задачи исследований по разработке биомедицинского продукта, анализировать результаты исследований и делать выводы о возможности использования полученного продукта в медицинских целях</p> <p>ИД-1.3пк3 Владеет навыком выбора оптимальных методов и подходов для проведения исследований по разработке биомедицинского продукта, навыком планирования и организации проведения исследований по разработке биомедицинского продукта</p>
<p>ПК-4 Способен осуществлять контроль качества сырья, промежуточных продуктов и готовых биомедицинских продуктов в соответствии с регламентами, а также контроль выполнения установленных требований при производстве биомедицинского продукта</p>	<p>ИД-1.1пк4 Знает методы управления качеством сырья, промежуточных продуктов и готовых биомедицинских продуктов, нормативно-правовые акты и стандарты, регулирующие вопросы контроля качества в области биотехнологии и медицины</p> <p>ИД-1.2пк4 Умеет разрабатывать и применять методики контроля качества сырья, промежуточных продуктов и готовых биомедицинских продуктов, контролировать качество получаемого продукта на всех этапах его производства</p> <p>ИД-1.3пк4 Владеет навыком проведения анализа результатов контроля качества и принимать соответствующие меры в случае обнаружения отклонений от установленных требований, навыком работы с системами управления качеством и внедрения их в производственный процесс</p>

4. СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Основная литература

1. Комов, В. П. Биохимия : учебник для вузов / В. П. Комов, В. Н. Шведова ; под общей редакцией В. П. Комова. — 4-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2024. — 684 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-13939-6. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/543995>

2. Якупов, Т. Р. Молекулярная биотехнология. Биоинженерия : учебное пособие / Т. Р. Якупов. — Казань : КГАВМ им. Баумана, 2018. — 157 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/122951>

3. Биосинтез нуклеиновых кислот и белков : краткое пособие для студентов и врачей по современным вопросам биохимии и биологии процессов анаболизма нуклеиновых кислот и белков в функционирующей клетке / С. Н. Афолина, М. М. Павлова, Е. Н. Лебедева [и др.]. — Оренбург : Оренбургская государственная медицинская академия, 2008. — 102 с. — Текст : электронный // Цифровой образовательный ресурс IPR SMART : [сайт]. — URL: <https://www.iprbookshop.ru/33243.html>

Дополнительная литература

1. Щелкунов, С. Н. Генетическая инженерия : учеб. -справ. пособие / С. Н. Щелкунов. - 4-е изд. , стер. - Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2010. - 514 с. - ISBN 978-5-379-01064-5. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785379010645.html>

2. Хаитов, Р. М. Иммуногеномика и генодиагностика человека / Р. М. Хаитов, Л. П. Алексеев, Д. Ю. Трофимов - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 256 с. - ISBN 978-5-9704-4139-8. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970441398.html>

3. Нечипуренко, Ю. Д. Анализ связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами / Ю. Д. Нечипуренко. — Москва, Ижевск : Институт компьютерных исследований, 2019. — 190 с. — ISBN 978-5-4344-0698-7. — Текст : электронный // Цифровой образовательный ресурс IPR SMART : [сайт]. — URL: <https://www.iprbookshop.ru/92102.html>

4. Цымбаленко, Н. В. Практикум по молекулярно-биологическим методам : учебное пособие / Н. В. Цымбаленко, А. А. Жукова, П. С. Кудрявцева. — Санкт-Петербург : РГПУ им. А. И. Герцена, 2020. — ISBN 978-5-8064-2888-3. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/252530>

Профессиональные базы данных, информационно-справочные системы

1. Электронно-библиотечные системы:

1.1. Цифровой образовательный ресурс IPRsmart : электронно-библиотечная система : сайт / ООО Компания «Ай Пи Ар Медиа». - Саратов, [2022]. – URL: <http://www.iprbookshop.ru>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. - Текст : электронный.

1.2. Образовательная платформа ЮРАЙТ : образовательный ресурс, электронная библиотека : сайт / ООО Электронное издательство ЮРАЙТ. – Москва, [2022]. - URL: <https://urait.ru>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. - Текст : электронный.

1.3. База данных «Электронная библиотека технического ВУЗа (ЭБС «Консультант студента») : электронно-библиотечная система : сайт / ООО Политехресурс. – Москва, [2022]. – URL: <https://www.studentlibrary.ru/cgi-bin/mb4x>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.4. Консультант врача. Электронная медицинская библиотека : база данных : сайт / ООО Высшая школа организации и управления здравоохранением-Комплексный медицинский консалтинг. – Москва, [2022]. – URL: <https://www.rosmedlib.ru>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.5. Большая медицинская библиотека : электронно-библиотечная система : сайт / ООО Букап. – Томск, [2022]. – URL: <https://www.books-up.ru/ru/library/>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.6. ЭБС Лань : электронно-библиотечная система : сайт / ООО ЭБС Лань. – Санкт-Петербург, [2022]. – URL: <https://e.lanbook.com>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.7. ЭБС Znanium.com : электронно-библиотечная система : сайт / ООО Знаниум. - Москва, [2022]. - URL: <http://znanium.com> . – Режим доступа : для зарегистрир. пользователей. - Текст : электронный.

1.8. Clinical Collection : научно-информационная база данных EBSCO // EBSCOhost : [портал]. – URL: <http://web.b.ebscohost.com/ehost/search/advanced?vid=1&sid=9f57a3e1-1191-414b-8763-e97828f9f7e1%40sessionmgr102> . – Режим доступа : для авториз. пользователей. – Текст : электронный.

1.9. База данных «Русский как иностранный» : электронно-образовательный ресурс для иностранных студентов : сайт / ООО Компания «Ай Пи Ар Медиа». – Саратов, [2022]. – URL: <https://ros-edu.ru>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

2. КонсультантПлюс [Электронный ресурс]: справочная правовая система. /ООО «Консультант Плюс» - Электрон. дан. - Москва : КонсультантПлюс, [2022].

3. Базы данных периодических изданий:

3.1. База данных периодических изданий EastView : электронные журналы / ООО ИВИС. - Москва, [2022]. – URL: <https://dlib.eastview.com/browse/udb/12>. – Режим доступа : для авториз. пользователей. – Текст : электронный.

3.2. eLIBRARY.RU: научная электронная библиотека : сайт / ООО Научная Электронная Библиотека. – Москва, [2022]. – URL: <http://elibrary.ru>. – Режим доступа : для

авториз. пользователей. – Текст : электронный

3.3. Электронная библиотека «Издательского дома «Гребенников» (Grebinnikon) : электронная библиотека / ООО ИД Гребенников. – Москва, [2022]. – URL: <https://id2.action-media.ru/Personal/Products>. – Режим доступа : для авториз. пользователей. – Текст : электронный.

4. Федеральная государственная информационная система «Национальная электронная библиотека» : электронная библиотека : сайт / ФГБУ РГБ. – Москва, [2022]. – URL: <https://нэб.рф>. – Режим доступа : для пользователей научной библиотеки. – Текст : электронный.

5. SMART Imagebase : научно-информационная база данных EBSCO// EBSCOhost : [портал]. – URL: <https://ebSCO.smartimagebase.com/?TOKEN=EBSCO-1a2ff8c55aa76d8229047223a7d6dc9c&custid=s6895741>. – Режим доступа : для авториз. пользователей. – Изображение : электронные.

6. Федеральные информационно-образовательные порталы:

6.1. [Единое окно доступа к образовательным ресурсам](http://window.edu.ru/) : федеральный портал . – URL: <http://window.edu.ru/> . – Текст : электронный.

6.2. [Российское образование](http://www.edu.ru/) : федеральный портал / учредитель ФГАУ «ФИЦТО». – URL: [http://www.edu.ru.](http://www.edu.ru/) – Текст : электронный.

7. Образовательные ресурсы УлГУ:

7.1. Электронная библиотечная система УлГУ : модуль «Электронная библиотека» АБИС Мега-ПРО / ООО «Дата Экспресс». – URL: <http://lib.ulsu.ru/MegaPro/Web>. – Режим доступа : для пользователей научной библиотеки. – Текст : электронный.

5. РАЗДЕЛЫ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНЫХ ЗАНЯТИЙ

Название разделов и тем	Всего	Виды учебных занятий					Форма текущего контроля знаний
		Аудиторные занятия			Занятия в интерактивной форме	Самостоятельная работа	
		лекции	Практические занятия, семинары	Лабораторные работы, практикумы			
Раздел 1. Лабораторный синтез олигонуклеотидов							
Тема 1.1. История химического синтеза олигонуклеотидов	8	2	--	--	--	6	Устный опрос
Тема 1.2. Общая стратегия химического синтеза олигонуклеотидов (защитные группы 2'-дезоксирибонуклеозидного звена, введение фосфатов)	9	3	--	--	--	6	Устный опрос
Тема 1.3. Пути образования межнуклеотидной связи (фосфодиэфиры, фосфотриэфиры, фосфиттриэфирный метод, N-Фосфонатный метод)	8	2	--	--	--	6	Устный опрос
Тема 1.4. Твердофазный синтез олигодезоксирибонуклеотидов (иммобилизация первого 2'-дезоксирибонуклеозида на твердофазном носителе, наращивание олигодезоксирибонуклеотидной цепи, деблокирование и удаление олигодезоксирибонуклеотидов с полимерного носителя, выделение (очистка))	32	2	--	24	--	6	Устный опрос, защита лабораторной работы Лабораторная работа 1
Тема 1.5. Синтез олигорибонуклеотидов (защитные рибонуклеотидные блоки, блокирование гетероциклических оснований, наращивание олигорибонуклеотидной цепи, деблокирование и очистка)	9	3	--	--	--	6	Устный опрос

Тема 1.6. Синтез модифицированных олигонуклеотидов (модификация гетероциклического основания, 3'-5'-концевые модификации, модификации межнуклеотидной фосфатной группы и углеродного фрагмента)	8	2	--	--	--	6	Устный опрос
Раздел 2. Хроматографический анализ и очистка							
Тема 2.1. Хроматографические методы анализа (виды, принципы и инструменты)	6	2	--	--	--	4	Устный опрос
Тема 2.2. Хроматографический анализ и очистка олигонуклеотидов	11	2	--	4		5	Устный опрос, защита лабораторной работы Лабораторная работа 2
Раздел 3. Методы спектрофотометрии							
Тема 3.1. Спектрофотометрические методы анализа (виды, принципы и инструменты)	6	2	--	--	--	4	Устный опрос
Тема 3.2. Современные методы спектрофотометрического анализа олигонуклеотидов	11	2	--	4	--	5	Устный опрос, защита лабораторной работы Лабораторная работа 3
Итого	108	22	0	32	0	54	

6. ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ДИСЦИПЛИНЫ

Раздел 1. Лабораторный синтез олигонуклеотидов

Тема 1.1. История химического синтеза олигонуклеотидов.

Тема 1.2. Общая стратегия химического синтеза олигонуклеотидов (защитные группы 2'-дезоксирибонуклеозидного звена, введение фосфатов).

Тема 1.3. Пути образования межнуклеотидной связи (фосфодиэфиры, фосфотриэфиры, фосфиттриэфирный метод, Н-Фосфонатный метод).

Тема 1.4. Твердофазный синтез олигодезоксирибонуклеотидов (иммобилизация первого 2'-дезоксирибонуклеозида на твердофазном носителе, наращивание олигодезоксирибонуклеотидной цепи – 4 этапа, деблокирование и удаление олигодезоксирибонуклеотидов с полимерного носителя, выделение (очистка) олигодезоксирибонуклеотидов – электрофорез в полиакриламидном геле, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.).

Тема 1.5. Синтез олигорибонуклеотидов (защитные рибонуклеотидные блоки, блокирование гетероциклических оснований, наращивание олигорибонуклеотидной цепи, деблокирование и очистка).

Тема 1.6. Синтез модифицированных олигонуклеотидов (модификация гетероциклического основания, 3'-5'-концевые модификации, модификации межнуклеотидной фосфатной группы и углеродного фрагмента).

Раздел 2. Хроматографический анализ и очистка

Тема 2.1. Хроматографические методы анализа (виды, принципы и инструменты).

Теоретические основы хроматографии. Основные характеристики хроматографического процесса и параметры хроматограмм. Теории хроматографических процессов. Качественный и количественный анализ в хроматографии.

Тема 2.2. Хроматографический анализ и очистка олигонуклеотидов.

Обращенно-фазовая, ион-парная и ионообменная хроматография олигонуклеотидов. Высокоэффективная жидкостная хроматография в анализе олигонуклеотидов.

Раздел 3. Методы спектрофотометрии

Тема 3.1. Спектрофотометрические методы анализа (виды, принципы и инструменты).

Классификация спектров. Характеристики спектральных линий. Основные законы поглощения электромагнитного излучения. Классификация и характеристика спектральных приборов.

Тема 3.2. Современные методы спектрофотометрического анализа олигонуклеотидов.

7. ПРАВИЛА РАБОТЫ В ХИМИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Общие правила работы в химических лабораториях

1. Работайте аккуратно, внимательно, без торопливости.
2. Не загромождайте рабочий стол ненужными в данный момент предметами.
3. Содержите рабочее место в чистоте, грязь нередко бывает причиной искажения результатов.

Приборы и посуду мойте сразу после окончания опыта.

Поверхности, на которые пролиты реактивы или вода, вытирайте сразу.

Разбитое стекло не собирайте руками, попросите у лаборанта щетку и совок, аккуратно сметите осколки и выбросите их в мусорное ведро.

4. Приборы и реактивы общего пользования не уносите на свой рабочий стол, они должны всегда находиться на отведенном для них месте.

5. Внимательно читайте надписи на склянках с реактивами.

Реактивы, хранящиеся в закрытой посуде, открывайте только во время пользования ими. Каждая склянка с реактивами должна иметь собственную пипетку или шпатель. При взятии реактивов нельзя пользоваться другими пипетками или шпателями. Не ссыпайте и не сливайте обратно в реактивные склянки взятые в избытке или просыпанные, пролитые реактивы.

6. Реактивы расходуйте экономно, берите их в количествах, указанных методике проведения опыта. И использованные дорогие или редкие реактивы по указанию преподавателя или лаборанта сливайте в специально поставленную для них посуду.

7. Горячие и раскаленные предметы берите только щипцами и ставьте на асбестовую подложку или термостойкую керамическую поверхность.

8. Не делайте записи в черновиках или отдельных листочках. Все наблюдения записывайте в лабораторный журнал сразу после проведения опыта.

9. По окончании работы приведите рабочее место в порядок и сдайте его лаборанту.

Работа в биохимической лаборатории имеет ряд особенностей: для реакций и анализов приходится применять токсические, огнеопасные вещества, концентрированные растворы, работать с биологическим материалом (кровь, моча, желчь, желудочный сок, слюна и др.).

Строгое соблюдение элементарных правил техники безопасности сводит до минимума вероятность несчастных случаев.

Правила техники безопасности при работе в химической лаборатории

1. Работать в лаборатории разрешается только в халатах.
2. В лаборатории нельзя пить и принимать пищу.
3. Необходимо избегать резких движений и быстрого передвижения по лаборатории, чтобы не разлить нечаянно реактивы и не толкнуть соседей.

4. Будьте внимательными и точно соблюдайте порядок и последовательность операций.
 5. На рабочем месте поддерживайте чистоту и порядок.
 6. Нельзя использовать неизвестными реактивами (без надписей и этикеток).
 7. Нельзя использовать поврежденную посуду.
 8. Химикалии не должны соприкасаться с кожей и слизистыми.
 9. При работе с раздражающими, токсическими, концентрированными или летучими веществами нужно пользоваться вытяжным шкафом.
 10. При разливании реактивов не наклоняться низко над сосудом во избежание попадания брызг на лицо и одежду.
 11. После использования реактивов склянки следует тотчас же закрыть и поставить на место.
 12. При нагревании пробирки на открытом огне ее нужно держать в наклонном положении, направляя отверстие в сторону от себя и от соседей. Содержимое пробирки рекомендуется периодически встряхивать. Пробирку во избежание растрескивания вначале прогрейте в пламени горелки, проведя 2–3 раза вдоль пламени, затем нагревайте только нижнюю часть. После закипания содержимого пробирки нагревание прекратите.
 13. Не проливайте и не выливайте в раковину растворы, содержащие ядовитые соединения. Остатки ядовитых реактивов сливайте в специальную посуду по указанию лаборанта.
 14. После работы необходимо тщательно вымыть руки.
- Кроме перечисленных выше общих указаний, ознакомьтесь со специальной инструкцией по технике безопасности, находящейся в лаборатории.

Меры безопасности при работе с электроприборами

1. При работе с электроприборами запрещается:
2. Включать приборы в сеть без разрешения преподавателя.
3. Пользоваться неисправными электронагревательными приборами и приборами без термоизоляционных прокладок.
4. Прикататься влажными руками к рубильникам, выключателям, электровилкам и т. п.
5. Переносить включенные приборы и ремонтировать их под током
6. Производить включение электроприбора вблизи легковоспламеняющихся жидкостей.
7. Загромождать подступы к электроустройствам (рубильникам, выключателям, розеткам) и вешать на электроустройства различные вещи.

Противопожарные меры

1. При работе с легковоспламеняющимися веществами вблизи не должно быть открытого огня.
2. Горючие вещества должны находиться на рабочем месте лишь в небольших количествах (не более 50 мл).
3. Горючие жидкости, не смешивающиеся с водой (бензин, эфир и др.), категорически запрещается сливать в канализацию. Их нужно сдать лаборанту или преподавателю.

Поведение при пожаре

1. Удалить воспламенившиеся реактивы.
2. Выключить электронагревательные приборы.
3. Использовать огнетушитель.
4. Горящую одежду тушить завертыванием в одеяло.
5. При значительном пожаре вызвать пожарную команду, сообщить инженеру по технике безопасности.
6. Все лица, не занятые тушением пожара, немедленно покидают помещение.

Оказание первой помощи в лаборатории

1. При попадании на кожу концентрированных кислот следует немедленно промыть обожженное место сильной струей водопроводной воды, после чего наложить повязку из ваты или бинта, смоченную раствором гидрокарбоната натрия. При попадании на кожу концентрированных щелочей следует немедленно промыть обожженное место сильной струей водопроводной воды, после чего наложить повязку из ваты или бинта, смоченную раствором борной кислоты. Все указанные выше вещества от ожогов есть в лабораторной аптечке. При сильных ожогах после оказания первой помощи следует немедленно обратиться к врачу.
2. При попадании брызг кислоты или щелочи в глаза необходимо немедленно промыть поврежденный глаз большим количеством воды комнатной температуры, после чего сейчас же обратиться к врачу.
3. При ожоге кожи горячими предметами наложить на обожженное место сначала повязку из раствора перманганата калия, а затем повязку из мази от ожогов.
4. При отравлении хлором, бромом, сероводородом, оксидом углерода(II) необходимо вынести пострадавшего на воздух, а затем обратиться к врачу.
5. При отравлении соединениями мышьяка, ртути и цианистыми солями необходимо немедленно обратиться к врачу.

8. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ. ВОПРОСЫ ДЛЯ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

8.1. Лабораторные работы

Раздел 1. Лабораторный синтез олигонуклеотидов

Лабораторная работа 1

«Твердофазный синтез олигодезоксирибонуклеотидов»

Цель работы: получить навыки твердофазного синтеза олигодезоксирибонуклеотидов.

Этапы работы: приготовление реагентов и колонок для синтеза, подготовка оборудования к работе (загрузка реагентов, настройка прибора, проверка работоспособности, загрузка последовательностей для синтеза, загрузка программы), запуск прибора и контроль во время работы, контроль последнего этапа синтеза, оценка успешности, снятие отсинтезированных олигонуклеотидов с носителя, сушка олигонуклеотидов.

Методические указания: работа проводится на автоматическом синтезаторе ДНК/РНК ASM 800 (Биосет, Россия) согласно стандартному протоколу.

Раздел 2. Хроматографический анализ и очистка

Лабораторная работа 2

«Хроматографический анализ и очистка олигонуклеотидов»

Цель работы: изучить и применить возможности хроматографического метода в анализе и очистке синтезированных олигонуклеотидов.

Методические указания: работа проводится с использованием хроматографической системы NGC.

Раздел 3. Методы спектрофотометрии

Лабораторная работа 3

«Контроль качества и измерение концентрации олигонуклеотидов на спектрофотометре»

Цель работы: получить практические навыки использования спектрофотометра для анализа олигонуклеотидов.

Методические указания: работа проводится с использованием спектрофотометра NanoDrop 2000 или другого спектрофотометра, предназначенного для измерения концентрации ssDNA.

Все лабораторные работы проводятся с соблюдением требований **ГОСТ Р ИСО 20688-1-2023** Биотехнология. Синтез нуклеиновых кислот. Часть 1. Требования к производству и контролю качества синтезированных олигонуклеотидов.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ **ГОСТ Р**
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

**ИСО 20688-1—
2023**

Биотехнология
СИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Часть 1

**Требования к производству и контролю качества
синтезированных олигонуклеотидов**

(ISO 20688-1:2020, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2023

8.2. Вопросы для текущего контроля при выполнении лабораторных работ

Раздел 1. Лабораторный синтез олигонуклеотидов

Лабораторная работа 1

«Твердофазный синтез олигодезоксирибонуклеотидов»

1. Структурные компоненты нуклеиновых кислот. Биологическое значение и функции нуклеиновых кислот.
2. Олигонуклеотиды: строение, свойства, функции и перспективы их применения.
3. История химического синтеза олигонуклеотидов.
4. Общая стратегия химического синтеза олигонуклеотидов.
5. Характеристика основных этапов твердофазного синтеза олигодезоксирибонуклеотидов.
6. Иммобилизация первого 2'-дезоксирибонуклеозида на твердофазном носителе.
7. Нарастивание олигодезоксирибонуклеотидной цепи.
8. Деблокирование и удаление олигодезоксирибонуклеотидов с полимерного носителя.
9. Выделение (очистка) олигодезоксирибонуклеотидов.
10. Характеристика основных этапов синтеза олигорибонуклеотидов.
11. Защитные рибонуклеотидные блоки.
12. Блокирование гетероциклических оснований.
13. Нарастивание олигорибонуклеотидной цепи.
14. Деблокирование и очистка олигорибонуклеотидов.
15. Характеристика основных этапов синтеза модифицированных олигонуклеотидов.
16. Модификация гетероциклического основания и 3'-5'-концевые модификации.
17. Модификации межнуклеотидной фосфатной группы и углеродного фрагмента.
18. Перспективы использования химического синтеза олигонуклеотидов в различных областях современной науки.

Раздел 2. Хроматографический анализ и очистка

Лабораторная работа 2

«Хроматографический анализ и очистка олигонуклеотидов»

1. Теоретические основы хроматографии.
2. Основные характеристики хроматографического процесса и параметры хроматограмм.
3. Качественный и количественный анализ в хроматографии.
4. Обратнo-фазовая, ион-парная и ионообменная хроматография олигонуклеотидов.
5. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) в анализе нуклеотидов.

Раздел 3. Методы спектрофотометрии

Лабораторная работа 3

«Контроль качества и измерение концентрации олигонуклеотидов на спектрофотометре»

1. Спектрометрия: сущность метода, достоинства и недостатки.
2. Классификация спектров и характеристики спектральных линий.
3. Основные законы поглощения электромагнитного излучения.
4. Классификация и характеристика спектральных приборов.
5. Современные методы спектрофотометрического анализа олигонуклеотидов.

9. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ (ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ)

1. Олигонуклеотиды: строение, свойства, функции и перспективы их применения.
2. История химического синтеза олигонуклеотидов.
3. Общая стратегия химического синтеза олигонуклеотидов.
4. Твердофазный синтез и выделение олигодезоксирибонуклеотидов.
5. Синтез и очистка олигорибонуклеотидов.
6. Синтез модифицированных олигонуклеотидов.
7. Хроматографические методы анализа.
8. Хроматографический анализ и очистка олигонуклеотидов.
9. Спектрофотометрические методы исследования.
10. Современные методы спектрофотометрического анализа олигонуклеотидов.
11. Перспективы использования химического синтеза олигонуклеотидов в различных областях современной науки.