

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное автономное учреждение  
высшего профессионального образования  
"Казанский (Приволжский) федеральный университет"  
Институт фундаментальной медицины и биологии



**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор  
по образовательной деятельности КФУ  
Проф. Минзарипов Р.Г.

\_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Программа дисциплины**

Большой практикум: Методы молекулярной биологии М2.В.1

Направление подготовки: 020400.68 - Биология

Профиль подготовки: Биохимия и молекулярная биология

Квалификация выпускника: магистр

Форма обучения: очное

Язык обучения: русский

**Автор(ы):**

Невзорова Т.А.

**Рецензент(ы):**

Абрамова З.И.

**СОГЛАСОВАНО:**

Заведующий(ая) кафедрой:

Протокол заседания кафедры No \_\_\_\_ от " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 201\_\_ г

Учебно-методическая комиссия Института фундаментальной медицины и биологии:

Протокол заседания УМК No \_\_\_\_ от " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 201\_\_ г

Регистрационный No

Казань  
2014

## Содержание

1. Цели освоения дисциплины
2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы
3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины /модуля
4. Структура и содержание дисциплины/ модуля
5. Образовательные технологии, включая интерактивные формы обучения
6. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины и учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов
7. Литература
8. Интернет-ресурсы
9. Материально-техническое обеспечение дисциплины/модуля согласно утвержденному учебному плану

Программу дисциплины разработал(а)(и) доцент, к.н. (доцент) Невзорова Т.А. кафедры биохимии ИФМиБ отделение фундаментальной медицины, Tatyana.Nevzorova@kpfu.ru

### **1. Цели освоения дисциплины**

Целями освоения дисциплины Большой практикум Методы молекулярной биологии являются: получение магистрами современных теоретических знаний и освоение методов выделения нуклеиновых кислот из различных биологических источников, количественного анализа полученных препаратов РНК и ДНК и их характеристики по электрофоретической подвижности; сформировать представление о возможностях применения полученных знаний и умений в профессиональной деятельности, что является неотъемлемым этапом формирования и развития профессиональных навыков и компетенций обучающихся в соответствии с требованиями ФГОС ВПО по направлению подготовки Биология.

### **2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы высшего профессионального образования**

Данная учебная дисциплина включена в раздел " М2.В.1 Профессиональный" основной образовательной программы 020400.68 Биология и относится к вариативной части. Осваивается на 1 курсе, 1 семестр.

Дисциплина Большой практикум Методы молекулярной биологии является составной частью содержания профессиональной подготовки магистра по направлению Биология (Профессиональный цикл Учебного плана согласно ФГОС ВПО направления 020400 Биология) и является обязательной к изучению дисциплиной. Цикл М2.В1. Проводится на 1 курсе 1 семестре.

Дисциплина является одной из основных и логически взаимосвязана с другими профессиональными дисциплинами, необходимыми для реализации профессиональных функций выпускника.

Предшествующими дисциплинами, на которых базируется курс Большой практикум Методы молекулярной биологии, являются Общая и неорганическая химия, Органическая химия, Биохимия, Молекулярная биология, логически связана с дисциплинами Основы молекулярной онкологии, Сравнительная биохимия живых систем, Молекулярная медицина наследственных заболеваний, Спецпрактикум "Биохимия крови", Программируемая клеточная гибель.

Курс Большой практикум Методы молекулярной биологии является основополагающим для изучения следующих дисциплин: Новое в биохимии и вопросы биоэтики, Современные проблемы биологии, Иммуномодуляторы, Молекулярная биология старения и др. дисциплины на выбор студента

### **3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины /модуля**

В результате освоения дисциплины формируются следующие компетенции:

В результате освоения дисциплины студент:

1. должен знать:

структуру, физико-химические свойства нуклеиновых кислот, принципы современных методов исследования нуклеиновых кислот

2. должен уметь:

применять методы выделения, очистки и фракционирования ДНК и РНК из различных источников, а также методы их количественного определения в биологическом материале для достижения поставленных целей и задач; осуществлять поиск, анализировать, оценивать и применять полученные знания при изучении других дисциплин и в профессиональной деятельности

3. должен владеть:

информацией современных методах молекулярной биологии и подходах к изучению молекулярных механизмов жизнедеятельности клетки

к практическому применению полученных знаний при решении профессиональных задач

#### 4. Структура и содержание дисциплины/ модуля

Общая трудоемкость дисциплины составляет зачетных(ые) единиц(ы) 108 часа(ов).

Форма промежуточного контроля дисциплины зачет в 1 семестре.

Суммарно по дисциплине можно получить 100 баллов, из них текущая работа оценивается в 50 баллов, итоговая форма контроля - в 50 баллов. Минимальное количество для допуска к зачету 28 баллов.

86 баллов и более - "отлично" (отл.);

71-85 баллов - "хорошо" (хор.);

55-70 баллов - "удовлетворительно" (удов.);

54 балла и менее - "неудовлетворительно" (неуд.).

#### 4.1 Структура и содержание аудиторной работы по дисциплине/ модулю

##### Тематический план дисциплины/модуля

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр	Неделя семестра	Виды и часы аудиторной работы, их трудоемкость (в часах)			Текущие формы контроля
				Лекции	Практические занятия	Лабораторные работы	
1.	Тема 1. Фенольный метод выделения РНК и ДНК из тимуса теленка (по Кирби-Георгиеву)	1	1-4	0	0	0	
2.	Тема 2. Выделение и очистка ДНК из тканей растений с помощью СТАВ-буфера	1	5-7	0	0	0	
3.	Тема 3. Определение содержания нуклеиновых кислот спектрофотометрическим методом	1	8-9	0	0	0	
4.	Тема 4. Количественный анализ ДНК с дифениламином	1	10-12	0	0	0	
5.	Тема 5. Раздельное количественное определение РНК и ДНК в тканях	1	13-15	0	0	0	
6.	Тема 6. Электрофорез в агарозном геле	1	16-18	0	0	0	

N	Раздел Дисциплины/ Модуля	Семестр	Неделя семестра	Виды и часы аудиторной работы, их трудоемкость (в часах)			Текущие формы контроля
				Лекции	Практические занятия	Лабораторные работы	
	Тема . Итоговая форма контроля	1		0	0	0	зачет
	Итого			0	0	0	

#### 4.2 Содержание дисциплины

**Тема 1. Фенольный метод выделения РНК и ДНК из тимуса теленка (по Кирби-Георгиеву)**

**Тема 2. Выделение и очистка ДНК из тканей растений с помощью СТАВ-буфера**

**Тема 3. Определение содержания нуклеиновых кислот спектрофотометрическим методом**

**Тема 4. Количественный анализ ДНК с дифениламином**

**Тема 5. Раздельное количественное определение РНК и ДНК в тканях**

**Тема 6. Электрофорез в агарозном геле**

#### 5. Образовательные технологии, включая интерактивные формы обучения

практические занятия с использованием методических материалов, инновационные образовательные технологии с использованием в учебном процессе активных и интерактивных форм проведения занятий

Проводится обсуждение актуальных тем, разбор конкретных ситуаций.

Изучение дисциплины включает:

- посещение аудиторных работ;
- чтение студентами рекомендованной литературы;
- работу с источниками Интернет;
- подготовку к формам контроля (контрольные работы, коллоквиумы);
- выполнение контрольных работ;
- подготовка к итоговой форме контроля - зачету.

**6. Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины и учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов**

**Тема 1. Фенольный метод выделения РНК и ДНК из тимуса теленка (по Кирби-Георгиеву)**

**Тема 2. Выделение и очистка ДНК из тканей растений с помощью СТАВ-буфера**

**Тема 3. Определение содержания нуклеиновых кислот спектрофотометрическим методом**

**Тема 4. Количественный анализ ДНК с дифениламином**

**Тема 5. Раздельное количественное определение РНК и ДНК в тканях**

**Тема 6. Электрофорез в агарозном геле**

**Тема . Итоговая форма контроля**

Примерные вопросы к зачету:

Главными принципами промежуточного и итогового контроля студентов являются систематичность, объективность, аргументированность.

коллоквиум

Контрольная работа

защита лабораторного практикума

зачет

Контрольные вопросы к курсу

Контрольная работа ♦1

Билет ♦1

1. Выделить высокомолекулярную ДНК из 100 г. плода томатов.
2. Поглощение света в УФ области спектра нуклеиновыми кислотами обусловлено наличием в составе нуклеиновых кислот: а) водородной связи, б) рибозы, в) азотистых оснований, г) фосфодиэфирной связи, д) фосфорной кислоты.
3. Написать формулу АТФ.

Билет ♦2

1. Выделить препараты ДНК для определения их нуклеотидного состава из 5 образцов ткани печени крыс.
2. Водородные связи не возникают между: а) А-Т; б) А-У; в) Г-Ц; г) Г-5метилЦ; д) Г-А?
3. Написать формулу рибозы-5'-фосфата.

Билет ♦3

1. Выделить препарат ДНК из семян гороха.
2. При полном кислотном гидролизе нуклеиновых кислот образуются все ниже перечисленные вещества, кроме: а) пентозы, б) фосфорной кислоты, в) азотистых оснований, г) АТФ?
3. Написать формулу 5-оксиметилцитозина.

Билет ♦4

1. Выделить препарат ДНК из икры лягушки.
2. Выбрать правильное утверждение: а) РНК и ДНК содержат в своём составе одинаковые пуриновые основания; б) РНК и ДНК содержат в своём составе одинаковые пиримидиновые основания.
3. Написать формулу уридин-3'-монофосфата.

Билет ♦5

1. Выделить ДНК из засохших пятен крови на куске ткани.
2. Средний молекулярный вес аминокислоты равен 110, а нуклеотида - 300 Да. Что тяжелее, белок или его ген?
3. Написать формулу олигонуклеотида ЦфУфАфЦфГф.

Контрольная работа ♦2

Билет ♦1

1. В результате ошибки было смешано 20 мл гидролизата ДНК из клеток петунии и два гидролизата РНК из клеток печени мыши ♦1 и ♦2 суммарным объемом 20 мл. Рассчитайте количество ДНК в навеске петунии и РНК в образцах печени мышей (мкг/мг), если известно, что раствор из 150 мкл смеси гидролизатов и 2850 мкл 5%  $\text{HClO}_4$  характеризуется  $E_{270}=0,45\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,15\text{о.е.}$

Дополнительная информация:

До смешения гидролизатов были получены следующие данные:

- 1) гидролизат ДНК получен из 15 мг клеток петунии. По методу Дише разведенный в 5 раз гидролизат имеет  $E_{590}=0,63\text{ о.е.}$  в 1 см кювете. Калибровочный график описывается уравнением  $y=0,0121x + 0,022$ ;
- 2) гидролизат РНК из клеток печени мыши ♦1 получен из 5 мг ткани. Разведенный 5%  $\text{HClO}_4$  в 10 раз гидролизат имеет  $E_{270}=0,92\text{ о.е.}$  и  $E_{290}=0,22\text{ о.е.}$  в 1 см кювете.

3) гидролизат РНК из клеток печени мыши  $\blacklozenge 2$  получен из 10 мг ткани. Раствор из 100 мкл гидролизата и 1900 мкл 5%  $\text{HClO}_4$  характеризуется  $E_{270}=0,430\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,240\text{о.е.}$  в 5 мм кювете.

2. Сколько мл содержат 10 мкг ДНК, если:  $E_{260}=0,280\text{о.е.}$ , толщина кюветы 2 мм?

Билет  $\blacklozenge 2$

1. В результате ошибки было смешано 7 мл гидролизата ДНК из культуры клеток почки свиньи  $\blacklozenge 1$  весом 5 мг и гидролизатов ДНК из культуры клеток почки свиньи  $\blacklozenge 2$  (5 мг) и РНК из клеток мозга кролика (10 мг) суммарным объемом 18 мл. Вычислите образец гидролизата, приготовленный с ошибкой, если известно, что раствор из 50 мкл смеси гидролизатов и 2950 мкл 5%  $\text{HClO}_4$  характеризуется  $E_{270}=0,320\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,280\text{о.е.}$ . По методу Дише смешанный гидролизат имеет  $E_{590}=0,773\text{о.е.}$  Калибровочный график характеризуется уравнением  $y=0,0222x + 0,0184$ .

Дополнительная информация:

До смешения гидролизатов были получены следующие данные:

1) культура клеток почки свиньи  $\blacklozenge 1$  содержит ДНК = 70мкг/мг ткани.

Разведенный 5%  $\text{HClO}_4$  в 10 раз гидролизат ДНК имеет  $E_{260}=0,444\text{о.е.}$  и  $E_{290}=0,38\text{о.е.}$  в 1 см кювете.

2) культура клеток почки свиньи  $\blacklozenge 2$  содержит ДНК = 100мкг/мг ткани.

Раствор из 50 мкл гидролизата ДНК и 1450 мкл 5%  $\text{HClO}_4$  характеризуется  $E_{260}=0,630\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,540\text{о.е.}$  в 5 мм кювете.

3) клетки мозга кролика содержат РНК = 150мкг/мг ткани. Разведенный 5%  $\text{HClO}_4$  в 7 раз гидролизат РНК имеет  $E_{260}=1,250\text{о.е.}$  и  $E_{290}=0,270\text{о.е.}$  в 1 см кювете.

2. Рассчитать концентрацию ДНК в растворе, если  $E_{260}=0,3010\text{о.е.}$ ,  $E_{280}=0,1670\text{о.е.}$ , толщина кюветы 5 мм?

Билет  $\blacklozenge 3$

1. Методом Шмидта и Таннгаузера из двух образцов  $\blacklozenge 1$  (7 мг) и  $\blacklozenge 2$  (10 мг) селезенки кролика были получены гидролизаты ДНК и РНК. В результате ошибки были смешаны гидролизат ДНК из образца  $\blacklozenge 1$  с РНК  $\blacklozenge 2$  (смесь А) и гидролизат РНК из образца  $\blacklozenge 1$  с ДНК  $\blacklozenge 2$  (смесь Б) до конечных объёмов - 35 мл. Рассчитайте количество нуклеиновых кислот в образцах селезенки кролика  $\blacklozenge 1$  и  $\blacklozenge 2$  (мкг/мг), если известно, что растворы из 500 мкл смеси гидролизатов и 2500 мкл 5%  $\text{HClO}_4$  характеризуется:

Смесь А:  $E_{270}=0,520\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,430\text{о.е.}$ ; смесь Б:  $E_{270}=0,590\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,510\text{о.е.}$

Дополнительная информация:

1) образец  $\blacklozenge 1$  содержал РНК в 1,5 раза больше, чем ДНК;

2) образец  $\blacklozenge 2$  содержал ДНК 53 мкг/мг ткани селезенки кролика;

3) смесь Б по методу Мейбаум имеет  $E_{670}=0,46\text{о.е.}$  в 1 см кювете. Калибровочный график описывается уравнением  $y=0,0234x + 0,0496$ .

2. Сколько мкг РНК содержится в 15 мкл, если известно:  $E_{260}=0,3890\text{о.е.}$ , толщина кюветы 1 мм?

Билет  $\blacklozenge 4$

1. Из 5 мг ткани мозга мыши был получен гидролизат нуклеиновых кислот, к которому, в результате ошибки, было добавлено 15 мл гидролизата ДНК.

Рассчитайте количество ДНК и РНК в образце ткани мозга мыши (мкг/мг), если известно, что в нем содержатся 102 мкг нуклеиновых кислот в 1 мг ткани.

Дополнительная информация:

1) гидролизат ДНК: раствор из 500 мкл гидролизата и 2500 мкл 5%  $\text{HClO}_4$  характеризуется  $E_{270}=0,690\text{о.е.}$ ,  $E_{290}=0,420\text{о.е.}$ ;

2) смесь гидролизатов из ткани и ДНК: по методу Дише разведенный в 2 раза гидролизат имеет  $E_{590}=0,257\text{о.е.}$  в 5 мм кювете. Калибровочный график описывается уравнением  $y=0,0252x - 0,0111$ ;

3) смесь гидролизатов из ткани и ДНК: по методу Мейбаум имеет  $E_{670}=0,11$  о.е. в 2 мм кювете. Калибровочный график описывается уравнением  $y=0,025x - 0,005$ .

2. Рассчитать концентрацию (мМ) 0,6% раствора ДНК человека?

Билет ♦5

1. Из 8 мг печени крысы и 7 мг печени мыши получен гидролизат нуклеиновых кислот, к которому, в результате ошибки, было добавлено 12 мл гидролизата РНК, раствор которого характеризуется  $E_{270}=0,22$  о.е.,  $E_{290}=0,19$  о.е. Рассчитайте количество РНК в образцах печени (мкг/мг).

Дополнительная информация:

1) печень крысы содержит 18 мкг ДНК/ мг ткани; печень мыши - 25 мкг ДНК/мг ткани;

2) гидролизат по методу Дише имеет  $E_{590}=0,23$  о.е. в 1 см кювете. Калибровочный график описывается уравнением  $y=0,0243x + 0,0191$ ;

3) гидролизат по методу Мейбаум имеет  $E_{670}=0,13$  о.е. в 5 мм кювете. Калибровочный график описывается уравнением  $y=0,0171x - 0,023$ .

2. Раствор РНК, разведённый в 3 раза, характеризуется  $E_{260}=0,305$  о.е., толщина кюветы 1 см. Сколько мкг РНК содержится в 1 мл исходного раствора?

1. Текущий, промежуточный и рубежный контроль проводится с целью определения качества усвоения материала.

Результаты контрольных работ, активность на коллоквиумах, фиксируются в "Ведомости текущего контроля знаний в семестре".

2. Итоговый контроль. Для контроля усвоения данной дисциплины предусмотрен зачет, на котором студентам необходимо ответить на вопросы Преподавателя. Зачет является итоговым по курсам и проставляется в приложении к диплому.

### 7.1. Основная литература:

Разин, С.В. Хроматин: упакованный геном / С. В. Разин, А. А. Быстрицкий. Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2009. 170 с. (2)

### 7.2. Дополнительная литература:

Биологическая химия: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности 032400 "Биология" / [Ю. Б. Филиппович и др.]; под ред. Н. И. Ковалевской. 2-е изд., перераб. и доп. Москва: Академия, 2008. 254, [1] с.: ил.; 22. (Высшее профессиональное образование, Педагогические специальности). (Учебное пособие). Библиогр.: с. 253. ISBN 978-5-7695-4774-4, 2000.

### 7.3. Интернет-ресурсы:

## 8. Материально-техническое обеспечение дисциплины/модуля согласно утвержденному учебному плану

Освоение дисциплины "Большой практикум: Методы молекулярной биологии" предполагает использование следующего материально-технического обеспечения:

Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВПО и учебным планом по направлению 020400.68 "Биология" и магистерской программе Биохимия и молекулярная биология .

Автор(ы):

Невзорова Т.А. \_\_\_\_\_

"\_\_" \_\_\_\_\_ 201\_\_ г.

Рецензент(ы):

Абрамова З.И. \_\_\_\_\_

"\_\_" \_\_\_\_\_ 201\_\_ г.