

ПРОГРАММА
дисциплины «Методы биохимии»

1. Цели и задачи.

Целью освоения дисциплины «Методы биохимии» является подготовка высококвалифицированных биохимиков, способных самостоятельно формулировать цель, задачи исследования, планировать ход работы и подбирать необходимые методы для каждого конкретного исследования.

Для достижения цели решаются следующие задачи:

- изучить теоретические основы биохимических методов исследований, основные методологические и методические приемы, а также приобретение практических навыков работы с биологическим материалом на современном биохимическом лабораторном оборудовании;
- подготовить аспирантов к самостоятельной работе и применению полученных знаний при осуществлении конкретного исследования;
- научить слушателей анализировать литературные и собственные экспериментальные данные и использовать теоретические знания для формирования новых идей.

2. Место дисциплины в структуре образовательной программы аспирантуры.

Дисциплина «Методы биохимии» входит в состав модуля «Биохимия» и изучается в 4-ом семестре. Необходимые базовые знания для изучения этой дисциплины закладываются при освоении программ магистратуры и бакалавриата по направлению «Биология», и при освоении дисциплин 3-его семестра аспирантуры (дисциплины «Физико-химические основы биохимии» и «Ферментативный катализ»).

3. Требования к результатам освоения дисциплины и компетенции.

В результате освоения дисциплины обучающийся должен:

а) **знать:** биохимию белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, минеральных веществ и витаминов и гормонов; сущность биохимических превращений, происходящих в тканях организма, механизмы их регуляции и их роль в обеспечении жизнедеятельности организма; теоретические основы биохимических методов исследований. Иметь понятие о ферментах, о их каталитических свойствах, о единицах активности (удельная активность, международные единицы), о влиянии факторов на скорость ферментативной реакции (концентрация фермента и субстрата, рН, температуры), о начальной скорости реакции, К_м, о кофакторах ферментативных реакций. Знать, как определять активность и количество ферментов в биологических образцах, как использовать сочетанное действие ферментов для точного определения концентрации субстрата (например, измерение концентрации АТФ в присутствии гексокиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы). Иметь понятие об антителах (моноклональные, поликлональные), антигенах (структура и специфичность), о их специфическом взаимодействии, лежащем в основе иммунологического метода определения количества ферментов (ИФА), о ферментах, используемых в ИФА в качестве меток.

б) **уметь:** самостоятельно приобретать новые знания по данной дисциплине, анализировать их и применять на практике. Самостоятельно готовиться и проводить эксперименты по заданной схеме, используя лабораторное оборудование и приборы; анализировать полученные экспериментальные данные. Подвергать их статистической обработке, оформлять в виде отчетов, тезисов и статей.

в) **владеть:** методами и навыками работы на приборах и оборудовании, которые используются в биохимических лабораториях научно-исследовательского профиля (спектрофотометры, флуориметры, центрифуги, рН-метры).

Освоение дисциплины «Методы биохимии» вносит вклад в формирование универсальных компетенций:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);
- способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного

мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки (УК-2);

- готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);
- способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5).

и **обще профессиональных** компетенций:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);
- готовность к преподавательской деятельности по основным образовательным программам высшего образования (ОПК-2);

а также расширяет активные знания в следующих **профессиональных** компетенциях:
аспирант

- знает и использует в научных исследованиях основные биологические теории и принципы (ПК-1);
- знаком с основами математического описания биологических объектов и процессов и их моделированием (ПК-2);
- имеет представление о молекулярных структурах и физико-химических свойствах низкомолекулярных соединений и биополимеров, входящих в состав биологических объектов (ПК-3);
- обладает знаниями о механизмах преобразования энергии и веществ в биологических системах (ПК-4)
- творчески применяет современные методы исследования, демонстрирует ответственность за качество проведенных экспериментов и научную достоверность результатов (ПК-5);
- имеет навык применения современных компьютерных технологий при сборе, хранении и анализе биологической информации (ПК-6);
- профессионально оформляет и докладывает результаты научных исследований, знает правила подготовки научных публикации в отечественных и зарубежных изданиях биологической направленности (ПК-7);

4. Структура дисциплины и виды учебной работы

Объем учебного времени, необходимого для освоения дисциплины, - 2 зачетные единицы, что составляет 72 академических часа, в том числе: установочные лекции - 8 часов, семинары - 16 часов, самостоятельная работа в объеме не менее 48 часов.

Виды учебной работы: установочные лекции, семинары,

Самостоятельная работа: освоение рекомендованной литературы, подготовка к зачету, кандидатскому экзамену

5. Содержание разделов дисциплины

№ п/п	Раздел дисциплины	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу студентов и трудоемкость (в часах)			
		Лекции	Семинары		Сам. работа
1	Общие принципы биохимического исследования. рН среды и буферные растворы. Исследования на уровне целого организма. Фракционирование клеток. Получение очищенных митохондрий из мозга и печени. Маркеры чистоты митохондрий.	4	8		24
2	1. Спектрофотометрические методы (кинетические и фиксированные) для определения активности ферментов и концентрации субстратов в биологических образцах. Особенности приготовления проб из разных тканей. 2. Флуориметрические методы для определения активности ферментов и концентрации субстратов в биологических образцах. 3. Люминесцентные методы. 4. Количественное определение газов (ионов аммония, кислорода, CO ₂) при помощи ион-селективных и кислородных электродов.	4	8		24
	Итого	8	16		48
	всего	72			

Формы текущего контроля: устный опрос на семинаре.

Формы промежуточной аттестации – зачет.

6. Образовательные технологии.

Занятия проходят в основном в виде установочных лекций, на которых обсуждается содержание тем дисциплины, их значимость и взаимосвязь. Внимание аспиранта обращается на подходящие источники информации в литературе и Интернете, рекомендуются учебники и монографии по темам дисциплины для самостоятельного изучения. На семинарах выясняется степень освоения тем в результате самостоятельной работы.

7. Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов.

Оценочные средства для текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации по итогам освоения модуля.

Самостоятельная работа студентов предусматривает изучение рекомендованной основной и дополнительной литературы и конспектов установочных лекций, использование доступа к Интернет-ресурсам и электронным библиотекам, подготовку к семинарам, работу в лаборатории и общение с научным руководителем и коллегами.

Оценочные средства для контроля текущей успеваемости включают в себя устный опрос на семинарах по ключевым и трудно усваиваемым темам. Имеется список вопросов, упражнений и задач для контроля усвоения всего материала по каждому разделу дисциплины во время проведения зачета.

Вопросы для зачета:

1. Приготовление тканевых образцов при помощи дифференциального, зонально-скоростного, изопикнического центрифугирования и равновесного центрифугирования в градиенте плотности.

2. Особенности приготовления экстрактов из разных тканей, используемых для определения концентраций метаболитов. Метод быстрой фиксации тканей при температуре жидкого азота.
3. Особенности приготовления проб для определения активности ферментов. Условия хранения проб.
4. Изучение кинетических параметров ферментов. Определение константы Михаэлиса (K_m) и константы ингибирования (K_i).
5. Иммуоферментный анализ, преимущества и недостатки.
6. Антитела (моноклональные, поликлональные).
7. Антигены (структура и специфичность).
8. Ферменты, используемые в ИФА в качестве меток.
9. Использование сочетанных ферментативных реакций для спектрофотометрического/флуориметрического определения концентрации метаболитов в тканевых экстрактах (на примере определения концентрации АТФ).
10. Использование сочетанных ферментативных реакций для спектрофотометрического/флуориметрического определения активности ферментов в тканевых лизатах (на примере активности гексокиназы).
11. Коэффициент молярной экстинкции, его использование для приготовления точных калибровочных растворов (раствор АТФ, НАДН).

8. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины.

ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / редакторы К. Уилсон и Дж. Уолкер ; пер. с англ. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. -848 с.
2. А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев, Е.М. Гаврилова. Теория и практика иммуоферментного анализа. М.: Высш. шк., 1991.-288с.
3. Methods of enzymatic analysis. Edited by H.U. Berdmeyer, 1974. Verlag Chemie Weinheim.
4. Березин И.В., Клесов А.А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. М.: Изд-во Московского ун-та, 1976. – 320 с.
5. Глинн Л, Стьюарт М, Варга Дж. Структура и функции антител. М.: Мир, 200 с.
6. Медведева М.В. Гусев Н.Б. Определение концентрации белка в растворе. М., Макс Пресс, 2010.
7. Уильямс Б., Уилсон К. Методы практической биохимии, «МИР» Москва 1978.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Косенко Е. А. Энергетический обмен в норме и при патологии. Роль возбуждающих нейромедиаторов. Учебное пособие для студентов, обучающихся по направлению «Биология». М.: Ленанд, 2013

9. Материально-техническое обеспечение дисциплины.

Материально-техническое обеспечение модуля состоит из учебного класса, оснащенного компьютерным проектором. Аспиранты могут пользоваться книжным, журнальным и другими фондами ЦБП, а также Интернет ресурсами через компьютеры Пушкинского филиала научной библиотеки по естественным наукам РАН.

Программа дисциплины «Методы биохимии» составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки».

Программу составила д.б.н. Косенко Е.А. _____