

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Факультет биоинженерии и биоинформатики

УТВЕРЖДАЮ

Декан
факультета биоинженерии
и биоинформатики,
академик

_____/В.П. Скулачев /

« ____ » _____ 20__ г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

Наименование дисциплины:

Методы исследования биологических макромолекул

Уровень высшего образования:

специалитет

Направление подготовки (специальность):

06.05.01 Биоинженерия и биоинформатика

Форма обучения:

очная

очная, очно-заочная

Рабочая программа рассмотрена и одобрена

Ученым советом факультета

(протокол № _____, _____)

Москва 20__

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с самостоятельно установленным МГУ образовательным стандартом (ОС МГУ) для реализуемых основных профессиональных образовательных программ высшего образования по специальности 06.05.01 «Биоинженерия и биоинформатика» (программы специалитета) в редакции приказа МГУ от 30 декабря 2016 г.

Год (годы) приема на обучение – 2016, 2017, 2018, 2019.

© Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М.В. Ломоносова

Программа не может быть использована другими подразделениями университета и другими вузами без разрешения факультета.

Цель и задачи дисциплины

Цель курса

Целью курса является освоение студентами практических навыков при работе с ферментами и структурными белками.

Задачи курса

- Свойства растворов электролитов. pH растворов и буферная емкость. Способы выражения концентраций. Методы определения pH. pH-чувствительные индикаторы. Стекланный электрод.
- Спектрофотометрическое определение концентрации белка. Уравнение Бугера-Ламберта-Бера. Коэффициент молярного поглощения белка. Коэффициент удельного поглощения белка. Уравнение Калькара. Строение спектрофотометра. Виды кювет. Ограничения метода.
- Колориметрические методы определения концентрации белка. Качественные реакции аминокислот, пептидов и белков. Метод Брэдфорд. Метод Лоури. Биуретовый метод. Метод с бичинхониновой кислотой. Макро- и микроанализ. Ограничения метода.
- Методы осаждение белков. Высаливание и pH-фракционирование белков. Принципы методов, их возможности и ограничения. Первичная структура белка и методы ее установления. Природа пептидной связи. Упорядоченные (α -спираль, β -слои) и неупорядоченные структуры полипептидных цепей. Уровни структурной организации белков (первичная, вторичная, третичная, четвертичная и надмолекулярные структуры). Природа межмолекулярных взаимодействий, обеспечивающих структуру белков (ионные взаимодействия, водородные связи, гидрофобные взаимодействия, дисульфидные связи). Посттрансляционная модификация белков. Конформационная стабильность и подвижность белка. Денатурация белка и проблема ее обратимости.
- Хроматографические методы разделения белков. Аффинная хроматография. Ионно-обменная хроматография. Гидрофобная хроматография. Гель-хроматография.
- Гель-фильтрация. Принцип метода. Области применения гель-фильтрации и варианты стационарной фазы, используемой для гель-фильтрации. Сефадексы.
- Молекулярная масса белка. Принципы электрофоретических методов. Электрофорез в полиакриламидном геле в нативных условиях и в присутствии додецилсульфата натрия. Гель-электрофорез. Диск-электрофорез. Изоахофорез. Электрофорез в градиенте концентрации геля. Электрофорез в импульсных электрических полях. Понятие об электроэндоосмосе. Капиллярный электрофорез. Изоэлектрическое фокусирование.
- Самостоятельный анализ мировой литературы по заданной контрольной задаче.
- Доклад в устной форме и в виде письменного отчета своих экспериментальных данных

1. Место дисциплины в структуре ОПОП ВО – вариативная часть, курс III – семестр 6.

2. Входные требования для освоения дисциплины, предварительные условия (если есть):

освоение дисциплины «Биохимия».

3. Планируемые результаты обучения по дисциплине:

Знать: стандартные методы обработки наблюдений, неорганическую и органическую химию, физическую химию, биохимию, основы молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований

Уметь: выработать на основе рационального анализа литературных данных и экспериментальных результатов свою точку зрения о физико-химических основах методов, позволяющих выделить из клеток белки, отличающихся по своим свойствам, локализации и функциям в клетке; читать и анализировать научную литературу, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

Владеть: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

Иметь опыт: работы в химической лаборатории, навыки работы с сильно-пахнущими веществами и химически агрессивными реактивами (щелочами и кислотами).

4. Формат обучения - лабораторные занятия.

5. Объем дисциплины (модуля) составляет 2 з.е., в том числе 32 академических часов, отведенных на контактную работу обучающихся с преподавателем, 40 академических часов на самостоятельную работу обучающихся.

6. Краткое содержание дисциплины (аннотация):

Курс «Методы исследования биологических макромолекул» посвящен ознакомлению с важнейшими принципами и методам экспериментальной биохимии. Студенты за период практикума осваивают основные современные методы биохимии, самостоятельно проводят небольшое экспериментальное исследование с помощью этих методов, результаты своих исследований анализируют и оформляют в форме отчета. На семинарских занятиях параллельно с практической работой разбираются теоретические основы используемых методов и промежуточные результаты исследования.

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины, Форма промежуточной аттестации по дисциплине	Всего (часы)	В том числе			
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем) Виды контактной работы, часы			Самостоятельная работа обучающегося, часы (виды самостоятельной работы – эссе, реферат, контрольная работа и пр. – указываются при необходимости)
		Занятия лекционного типа	Лабораторные занятия	Всего	
Свойства растворов электролитов. рН растворов и буферная емкость. Способы выражения концентраций. Методы определения рН. рН-чувствительные индикаторы. Стекланный электрод.			4		4
Первичная структура белка и методы ее установления. Природа пептидной связи. Упорядоченные (α -спираль, β -слои) и неупорядоченные структуры полипептидных цепей. Уровни			4		4

структурной организации белков (первичная, вторичная, третичная, четвертичная и надмолекулярные структуры). Природа межмолекулярных взаимодействий, обеспечивающих структуру белков (ионные взаимодействия, водородные связи, гидрофобные взаимодействия, дисульфидные связи). Посттрансляционная модификация белков. Конформационная стабильность и подвижность белка. Денатурация белка и проблема ее обратимости.					
Качественные реакции аминокислот, пептидов и белков. Колориметрические методы определения концентрации белка. Метод Брэдфорд. Метод Лоури. Биуретовый метод. Метод с бицинхониновой кислотой. Макро- и микроанализ. Ограничения метода.			4		4
Количественное определение белков. Уравнение Бугера-Ламберта-Бера. Коэффициент молярного поглощения белка. Коэффициент удельного поглощения белка. Строение спектрофотометра. Виды кювет. Ограничения метода.			4		4
Методы осаждение белков. Высаливание и рН-фракционирование белков. Принципы методов, их возможности и ограничения.			4		4
Хроматографические методы разделения белков. Аффинная хроматография. Ионно-обменная хроматография. Гидрофобная хроматография.			4		4 Доклад, коллоквиум
Гель-фильтрация. Принцип метода. Области применения гель-фильтрации и варианты стационарной фазы,			4		4

используемой для гель-фильтрации.					
Молекулярная масса белка. Принципы электрофоретических методов. Электрофорез в полиакриламидном геле в нативных условиях и в присутствии додецилсульфата натрия. Гель-электрофорез. Диск-электрофорез. Изоэлектрофорез. Электрофорез в градиенте концентрации геля. Электрофорез в импульсных электрических полях. Понятие об электроэндоосмосе. Капиллярный электрофорез. Изоэлектрическое фокусирование.			4		4
Контрольные задачи для самостоятельной работы					2Контрольная работа
Устный доклад литературных и экспериментальных данных по теме контрольной задачи					2Устный доклад, реферат
Промежуточная аттестация _____зачёт					4
Итого	72		32		40

7. Фонд оценочных средств (ФОС) для оценивания результатов обучения по дисциплине

7.1. Типовые контрольные задания или иные материалы для проведения текущего контроля успеваемости.

1. Основной принцип хроматографии. Понятие о теоретической тарелке. Причины уширения пиков при хроматографии. Адсорбционная и распределительная хроматография – сходство и отличие.
2. Принцип метода ионнообменной хроматографии. Виды ионно-обменных смол.
3. Гель-фильтрация. Основа метода. Области применения гель-фильтрации и варианты используемых носителей, используемых для гель-фильтрации. Седиментационный анализ.
4. Метод аффинной хроматографии. Разновидности аффинной хроматографии. Условия, предъявляемые к неподвижным фазам и способы их приготовления.
5. Иммуноаффинная хроматография. Основа метода.
6. Гидрофобная хроматография.
7. Теория электрофореза. Виды электрофореза.
8. Tagg-хроматография. Tagg-модифицированные белки.

7.2. Типовые контрольные задания или иные материалы для проведения промежуточной аттестации.

Выделение иммуноглобулина типа IgG из сыворотки крови кролика.

1. Колонку с крупнопористым сорбентом, с которым ковалентно связан протеин А, промывают 100 мМ фосфатным буфером с 150 мМ NaCl pH =7,5.

2. Сыворотку кролика разводят тем же буфером в соотношении 1:3, затем промеряют концентрацию белка в сыворотке.
3. Образец наносят на колонку.
4. Промывают колонку со скоростью 0.5 мл/мин до исчезновения белка в элюате до концентрации белка - 0.02 опт.е.
5. Затем колонку промывают 300 мМ NaCl.
6. Меняют промывочный буфер на 0,2 М глициновый буфер с рН =2,5.
7. Элюат собирают по 0,5 мл и измеряем в них концентрацию белка.
8. Полученные данные по концентрации белка используют для построения графика элюции.
9. Образцы с наибольшим содержанием белка используют для приготовления образцов для фореа.
10. В качестве решения задачи представить электрофореграмму, профиль элюции и объяснить экспериментальный результат.

Шкала и критерии оценивания результатов обучения по дисциплине.

Результаты обучения	«Неудовлетворительно»	«Удовлетворительно»	«Хорошо»	«Отлично»
Знания: стандартных методов обработки наблюдений, неорганической и органической химии, физической химии, биохимии, основ молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии (на уровне программ специалиста), теоретических и методологических основ биологических научных исследований	Знания отсутствуют	Фрагментарные знания	Общие, но не структурированные знания	Сформированные систематические знания
Умения: вырабатывать на основе рационального анализа литературных данных и экспериментальных результатов свою точку зрения о физико-химических	Умения отсутствуют	В целом успешное, но не систематическое умение	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение (допускает неточности принципиального характера)	Успешное и систематическое умение

основах методов, позволяющих выделить из клеток белки, отличающихся по своим свойствам, локализации и функциям в клетке; читать и анализировать научную литературу, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав				
Владения: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком	Навыки владения отсутствуют	Наличие отдельных навыков (наличие фрагментарного опыта)	В целом, сформированные навыки (владения), но используемые не в активной форме	Сформированные навыки (владения), применяемые при решении задач

8. Ресурсное обеспечение:

- Перечень основной и дополнительной литературы

Основная литература

1. Скоупс Р. Методы очистки белков. М., Мир. 1985
2. Е.С. Северин, Г.А. Соловьева (ред.) Практикум по биохимии – Москва:МГУ, 1989
3. Биохимия. Учебник для ВУЗов. под ред. Е.С. Северина, Москва, 2005, ГЭОТАР-Медия
4. Остерман Л.А. - Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. М. Наука., 1981. 288 с.
5. Г.А. Кочетов Практическое руководство по энзимологии. – Москва: Высшая школа, 1980
6. Д.Нельсон, М.Кокс. А.А.Богданов, С.Н.Кочетов (ред). Основы биохимии Ленинджера. - Москва: Бином, 2012
7. Я.Кольман, К-Г.Рем. П.Д.Решетова, Т.И.Соркина (ред). Наглядная биохимия. - Москва: Мир, 2000
8. Б.Альбертс, Д.Брей, Дж.Льюис, М.Рэфф, К.Робертс, Дж.Уотсон Молекулярная биология клетки М.Мир, 1994
9. К.Уилсон, Дж. Уолкер (ред.) Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии - Москва: Бином, 2015

Дополнительная литература

10. Л. Страйер. Биохимия. В 3-х томах. "Мир", М., 1984.

11. Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. Биохимия человека. В 2-х томах. "Мир", М., 1993
 12. Г. Малер, Ю. Кордес. Основы биологической химии. "Мир", М., 1970.
 13. М. Диксон, Э. Уэбб. Ферменты. В 3-х томах. "Мир", М., 1982.
 14. Э. Корниш-Боуден. Основы ферментативной кинетики. "Мир", М., 1979.
 15. Ч. Кантор, П. Шиммел. Биофизическая химия. В 3-х томах. "Мир", М., 1985.
 16. В. Дженкс. Катализ в химии и энзимологии. "Мир", М., 1972.
 17. В. П. Скулачев. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. "Выш. шк.", М., 1989.
 18. П. Хочачка, Дж. Сомеро. Биохимическая адаптация. "Мир", М., 1988.
- Перечень лицензионного программного обеспечения (при необходимости)
Microsoft Word
Microsoft Excel
Origin
 - Перечень профессиональных баз данных и информационных справочных систем
Электронная библиотека МГУ <http://www.nbmgu.ru/publicdb/>
Библиотека научных статей PubMed <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
 - Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»
Хроматографические методы:
<http://www.gelifesciences.com/webapp/wcs/stores/servlet/catalog/en/GELifeSciences/applications/chromatography/>
Электрофорез: <http://info2.gbiosciences.com/complete-protein-electrophoresis-handbook>
 - Описание материально-технического обеспечения.
Факультет Биоинженерии и биоинформатики МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, оборудованием и реактивами для проведения данного практического курса