



Біохімічні та фізичні методи аналізу в біотехнології

Робоча програма навчальної дисципліни (Силабус)

Реквізити навчальної дисципліни

Рівень вищої освіти	<i>Другий (магістерський)</i>
Галузь знань	<i>16 Хімічна та біоінженерія</i>
Спеціальність	<i>162 Біотехнології та біоінженерія</i>
Освітня програма	<i>ОНП Біотехнології</i>
Статус дисципліни	<i>Нормативна</i>
Форма навчання	<i>Очна (денна)</i>
Рік підготовки, семестр	<i>1 курс, Осінній семестр</i>
Обсяг дисципліни	<i>4 кредити, в т.ч. лекцій – 18 годин, практичних – 18 годин, СРС – 84 години</i>
Семестровий контроль/ контрольні заходи	<i>Залік / модульна контрольна робота /ДКР</i>
Розклад занять	<i>http://rozklad.kpi.ua 1 год./тиждень лекції, 1 год - практика</i>
Мова викладання	<i>Українська</i>
Інформація про керівника курсу / викладачів	<i>Лектор: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, kharn7428@gmail.com, тел. 0675389990 Практичні: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, kharn7428@gmail.com, тел. 0675389990</i>
Розміщення курсу	<i>Платформа дистанційного навчання «Сікорський»</i>

Програма навчальної дисципліни

1. Опис навчальної дисципліни, її мета, предмет вивчення та результати навчання

Опис дисципліни. Під час навчання студенти ознайомляться з біохімічними та фізичними методами аналізу, специфікою застосування методів для аналізу або впливу на об'єкт дослідження, ознайомляться з критеріями вибору методів аналізу. Знання одержані з курсу дозволять проводити визначення та властивості фрагментів ДНК, РНК, білків і інших молекул, що мають значення як матеріали або цільові речовини.

Мета навчальної дисципліни. Метою є формування у студентів компетентностей: щодо застосування методів для визначення біологічних речовин формування навичок практичного застосування цих методів, вироблення уявлень про роль та місце кожного методу аналізу, критеріїв вибору методів аналізу певних об'єктів, отримання біологічно-активних речовин та продуктів шляхом біосинтезу та/або біотрансформації.

Згідно з вимогами освітньо-наукової програми здобувачі вищої освіти повинні засвоїти **компетентності**, якими повинен оволодіти здобувач:

ЗК 01. Здатність проведення досліджень на відповідному рівні

ФК 05. Здатність розробляти нові біотехнологічні об'єкти і технології та підвищувати ефективність існуючих технологій на основі експериментальних та/або теоретичних досліджень та/або комп'ютерного моделювання;

ФК 06. Здатність планувати і виконувати експериментальні роботи в галузі біотехнології з використанням сучасних обладнання та методів, інтерпретувати отримані дані на основі

сукупності сучасних знань та уявлень про об'єкт і предмет дослідження, робити обґрунтовані висновки;

ФК 07.Здатність розробляти та вдосконалювати комплексні біотехнології на основі розуміння наукових сучасних фактів, концепцій, теорій, принципів і методів біоінженерії та природничих наук.

ФК 09. Здатність застосовувати сучасні методи системного аналізу для дослідження та створення ефективних біотехнологічних процесів;

ФК 10. Здатність застосовувати проблемно-орієнтовані методи аналізу та оптимізації біотехнологічних процесів, управління виробництвом, мати навички практичного впровадження наукових розробок;

ФК 15.Здатність використовувати молекулярно-генетичні технології для створення нових біологічних агентів

ФК 16. Здатність використовувати сучасні біофізичні технології для створення біотехнологічних процесів (продуктів)

Предмет навчальної дисципліни: взаємозв'язок хімічних процесів та явищ, що їх супроводжують, критерії ймовірності перебігу і спрямованості біохімічних процесів, методи спостереження біологічних процесів та визначення будові біологічних речовин, методи впливу на продуцентів.

Програмні результати навчання.

ПР 05. Знати молекулярну організацію та регуляцію експресії генів, реплікації, рекомбінації та репарації, рестрикції та модифікації генетичного матеріалу у про- та еукаріотів, стратегію створення рекомбінантних ДНК для цілеспрямованого конструювання біологічних агентів.

ПР 06. Знати та оцінювати основні методичні прийоми культивування еукаріотичних клітин тваринного та рослинного походження, розробляти нові технології їх застосування у наукових цілях, медицині, сільському господарстві тощо.

ПР 07. Мати навички виділення, ідентифікації, зберігання, культивування, іммобілізації біологічних агентів, здійснювати оптимізацію поживних середовищ, обирати оптимальні методи аналізу, виділення та очищення цільового продукту, використовуючи сучасні біотехнологічні методи та прийоми, притаманні певному напрямку біотехнології.

ПР09. Вміти розробляти, обґрунтовувати та застосовувати методи та засоби захисту людини та навколишнього середовища від небезпечних факторів техногенного та біологічного походження.

ПР 10. Упроваджувати найбільш ефективні біотехнологічні методи та прийоми у практичну виробничу діяльність на основі оцінки ефективності передових біотехнологій та врахування загальних тенденцій розвитку новітніх біотехнологій у провідних країнах.

ПР13. Оцінювати актуальність досліджуваних наукових проблем, придатність відомих наукових методів для їх дослідження на основі аналізу наявних даних та публікацій у провідних виданнях.

ПР 18. Мати навички використання молекулярно-генетичних технологій для створення нових біологічних агентів.

ПР 19. Вміти створювати та використовувати спеціалізоване програмне забезпечення для аналізу та управління біотехнологічними об'єктами (процесами)

2. Пререквізити та постреквізити дисципліни (місце в структурно-логічній схемі навчання за відповідною освітньою програмою)

Пререквізити: мати базові знання з біохімії, цитології, біофізики.

Постреквізити: отримані результати навчання будуть використані в подальшому при роботі над магістерською дисертацією.

3. Зміст навчальної дисципліни

Розділ 1. Фізичні методи аналізу

Тема 1.1. Седиментаційні методи

Тема 1.2. Хроматографічні методи

Тема 1.3. Електрофоретичні методи

Тема 1.4. Спектральні методи

Тема 1.5. Флуоресцентні методи

Розділ 2. Біохімічні методи аналізу

Тема 2.1. Методи ДНК аналізу

Тема 2.2. Імунологічні методи

Тема 2.3. Методи виділення генетичного матеріалу з клітин

Тема 2.4. Застосування методів аналізу в процесах культивування біологічних агентів

4. Навчальні матеріали та ресурси

Базова література:

1. Кучеренко М.Е., Бабенюк Ю.Д. та ін. Сучасні методи біохімічних досліджень : навчальний посібник. - Київ: Фітосоціоцентр, 2001. - 424 с.
2. А.С.Мороз, Л.П.Яворська, Д.Д.Луцевич та ін. Біофізична та колоїдна хімія. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 600 с.
3. Мчедлов-Петросян М.О., Лебідь В.М., Глазкова О.М., Ельцов С.В., Дубина О.М., Панченко В.Г. Колоїдна хімія. – Харків: Фоліо, 2005. – 304 с
4. Афанасьєва К.С. Фізичні методи в молекулярній генетиці. Київський університет, 2016. – 127 с.
5. Мороз А.С., Луцевич Д.Д., Яворська Л.П. Медична хімія. Видання 2 – Вінниця: Нова книга, 2008. – 776 с.
6. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія. – К.: ВПЦ «Київ. ун-т», 2008.
7. Остапченко Л.І., Андрійчук Т.Р., Бабенюк Ю. Д. та ін. Біохімія. – К.: ВПЦ «Київ. ун-т», 2012.

Допоміжна література:

Інтернет ресурси

Навчальний контент

5. Методика опанування навчальної дисципліни (освітнього компонента)

5.1. Лекційні заняття

№ з/п	Назва теми лекції та перелік основних питань (перелік дидактичних засобів, посилання на літературу та завдання на СРС)
Розділ 1. Фізичні методи аналізу	
1.	Вступ в дисципліну. Седиментаційні методи Фізичні основи седиментації для ДНК та РНК. Швидкісна та рівноважна седиментація. Центрифугування. Буферні розчини. Особливості що пов'язані з розділенням фрагментів нуклеїнових кислот та білків за числом седиментації. Література: 1

2.	<p>Хроматографічні методи. Основи хроматографії. Види хроматографії. Розділення речовин за допомогою хроматографії. Можливості хроматографії для розділення білків і фрагментів нуклеїнових кислот. Особливості розрахунку хроматографічних колон для виділення продуктів біологічного походження. Література: 2</p>
3.	<p>Електрофоретичні методи Загальна теорія електрофорезу. Електрофоре з білків та нуклеїнових кислот. Електрофоре з у пульсуючому полі. Кометний електрофорез. Стаціонарні фази. Література: 3</p>
4.	<p>Спектральні методи Спектрофотометрія білків та нуклеїнових кислот. Загальні принципи поглинання світла молекулами. Вплив структур білків і нуклеїнових кислот на їх спектральні властивості. Література: 4</p>
5.	<p>Флуоресцентні методи Основи флуоресцентної теорії. Явище флуоресценції. Маркери та методи їх внесення і підбору. Література: 4</p>
Розділ 2. Біохімічні методи аналізу	
6.	<p>Методи ДНК аналізу Природа ДНК та РНК. ПДРФ- та ПЛР-аналіз. ДНК-фінгерпринт. ПЛР для РНК. Література: 5</p>
7.	<p>Імунологічні методи. Основи ІФА. Кількісний ІФА-метод. Імуноелектрофорез. Імуноблотинг. Література: 5</p>
8.	<p>Методи виділення цільових продуктів з клітин. Принципи підготовки біомаси до виділення компонентів та речовин з клітин. Методи руйнування клітин і структур. Методи захисту цільового продукту від руйнування та втрати функцій. Література: 5</p>
9.	<p>Методи культивування біологічних агентів Культивування в різних умовах. Обладнання для культивування. Особливості культивування рослинних і тваринних клітин для подальшого виділення продуктів біологічного походження. Література: 7</p>

5.2. Практичні заняття

№ з/п	Теми практичних занять	
1.	Седиментаційні методи 1.Типи центрифугування. Хроматографічні методи 1.Розрахунок точності. 2.Будова хроматографічних колонок. 3.Основи розділення речовин хроматографією.	2

	Література: 1-3	
2.	Електрофоретичні методи 1. Розділення ДНК та РНК в електричному полі 2. Стаціонарні та рухливі фази. Література: 1-3	2
3.	Спектральні методи 1. Закон Бугера Ламберта Бера. 2. Перерахунок результатів вимірювань для біомолекул. Література: 1-3	2
4.	Модульна контрольна робота	2
5.	Методи ДНК аналізу 1. ДНК та РНК аналіз. 2. ПДРФ та ПЛР. Література: 4-6	2
6.	Імунологічні методи 1. ІФА та його використання Література: 6-9	2
7.	Методи виділення генетичного матеріалу з клітин. 1. Застосування методів аналізу в процесах культивування біологічних агентів. 2. Створення умов для культивування і використання методів контролю. Література: 6-9	2
8.	Розв'язання задач з дисципліни	2
9.	Залік	2

Самостійна робота студента

1) Для самостійної роботи студента передбачено: підготовка до аудиторних занять 36 год., 6 год підготовка до заліку, 4 год. підготовка до модульної контрольної роботи, 10 год ДКР, 28 годин для самостійного вивчення тем.

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
1.	Розглянути седиментаційні методи	2
2.	Розглянути хроматографічні методи	2
3.	Електрофоретичні методи. Методи безперервного розділення електрофорезом	2
4.	Розглянути спектральні методи	2
5.	Підготовка до МКР	2
6.	Розглянути флуоресцентні методи	2
7.	Визначення фрагментів ДНК	4
8.	Застосування ІФА	4
9.	Застосування методів виділення генетичного матеріалу	4

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
10.	Створення умов для культивування	4

Політика та контроль

6. Політика навчальної дисципліни (освітнього компонента)

Система вимог, які ставляться перед студентом:

- відвідування лекційних та практичних занять є обов'язковою складовою вивчення матеріалу;
- на лекції викладач користується власним презентаційним матеріалом; використовує клас на платформі G suite for education для викладання матеріалу поточної лекції, додаткової інформації та інше;
 - для виступу на практичному занятті студент робить доповідь з використанням презентаційних матеріалів, після доповіді відповідає на запитання аудиторії та викладача;
 - написання модульної контрольної роботи відбувається на останньому лекційному занятті без застосування допоміжних засобів (мобільні телефони, планшети та ін.);
 - заохочувальні бали виставляються за участь у конкурсах наукових робіт, підготовку оглядів наукових праць чи виступи на конференціях з доповідями за тематикою дисципліни. Кількість заохочуваних балів не більше 10;

Неприйнятними у навчальній діяльності для студентів є:

- 1) Плагіат – навмисне чи усвідомлене оприлюднення (опублікування), повністю або частково, чужого твору (тексту або ідей) під іменем особи, яка не є автором цього твору, без належного оформлення посилань.
- 2) Шахрайство, а саме:
 - фальсифікація або фабрикація інформації, наукових результатів та наступне використання їх в академічній роботі;
 - підробка підписів в документах;
 - використання під час контрольних заходів заборонених допоміжних матеріалів або технічних засобів (шпаргалки, мікронавушники, телефони, планшети тощо);
 - посилання на літературні джерела, які не було використано в роботі;
 - списування при складанні будь-якого виду контролю;
 - проходження процедур контролю знань підставними особами.
- 3) Несанкціонована співпраця, а саме:
 - надання допомоги для здійснення акту академічної нечесності – навмисна чи усвідомлена допомога або спроба допомоги іншому вчинити акт академічної нечесності;
 - придбання в інших осіб чи організацій з наступним поданням як власних результатів навчальної та наукової діяльності (звітів, рефератів, контрольних).
- 4) Пропонування чи отримання неправомірної винагороди при оцінюванні результатів успішності, виконання навчальних чи дослідницьких завдань.
- 5) Використання родинних або службових зв'язків для отримання позитивної або вищої оцінки при складанні будь-якого виду підсумкового контролю або переваг у роботі.

7. Види контролю та рейтингова система оцінювання результатів навчання (PCO)

Поточний контроль: написання експрес-опитування на лекційних заняттях, МКР, ДКР, доповіді за темами практичних занять.

Календарний контроль: провадиться двічі на семестр як моніторинг поточного стану виконання вимог силабусу.

Семестровий контроль: Залік.

Умови допуску до семестрового контролю: мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу, ДКР та виступи на практиці, а також семестровий рейтинг більше 50 балів.

Рейтинг студента з дисципліни складається з балів, що студент отримує за:

- 1) Написання 1 МКР – 40 балів
- 2) Написання 1 ДКР – 40 балів
- 3) Доповідь на практичних заняттях – 20 балів

2. Критерії нарахування балів:

Кожен варіант МКР містить 4 питання по 10 балів кожне.

Повна і вірна відповідь на питання – 10 балів,

Відповідь містить певні неточності, дрібні помилки в пояснення – 6-9 балів;

Відповідь містить вагомі неточності або є неповною – 0-5 бали.

2.2. Виконання домашньої контрольної роботи (ДКР):

ДКР містить 4 задачі з індивідуальними величинами для розрахунків. Кожна по 10 балів.

Повне і вірне рішення задачі – 10 балів,

Незначні помилки при рішенні задачі – 6-9 балів;

Вагомі неточності або повністю неправильне рішення – 0-5 балів.

2.3. Доповідь на практичному занятті:

Оцінювання доповіді складається з таких основних частин: Розкриття теми – 5 балів,

Відповідь на питання – 3 бали,

Оформлення презентації до доповіді – 2 бали.

Якщо студент отримав протягом семестру більше 60 балів, він отримує залік, якщо менше або хоче підвищити оцінку виконує залікову роботу. Попередні оцінки анулюються.

Залік (письмовий) . Заліковий білет містить 5 питань, кожне з яких оцінюється по 20 балів.

Повні вірні відповіді на питання – 20-19 балів,

Незначні помилки – 16-18 балів;

Вагомі неточності - 12-15 балів

Відповідь невірна 0-11 балів.

Для отримання заліку студент повинен набрати не менше 60 балів

Таблиця відповідності рейтингових балів оцінкам за університетською шкалою:

<i>Кількість балів</i>	<i>Оцінка</i>
100-95	Відмінно
94-85	Дуже добре
84-75	Добре
74-65	Задовільно
64-60	Достатньо
Менше 60	Незадовільно
Не виконані умови допуску	Не допущено

8. Додаткова інформація з дисципліни (освітнього компонента)

- перелік теоретичних питань, які виносяться на семестровий контроль (залік) наведено в додатку 1;

- на початку семестру викладач аналізує існуючі дистанційні курси за тематикою дисципліни та пропонує пройти відповідні безкоштовні курси студентам. Після отриманням студентом сертифікату з успішного проходження дистанційних чи онлайн курсів за відповідною тематикою, викладач закриває відповідну частину курсу (практика чи лекції).

Робочу програму навчальної дисципліни (силабус):

Складено асистентом кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, к.т.н., Левтуном Ігорем Ігоровичем

Ухвалено кафедрою біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології (протокол № 15 від 29.06.2022р.)

Погоджено Методичною комісією факультету (протокол № 9 від 30.06.2022р.)

Перелік теоретичних питань, які виносяться на залік:

1. Фізичні методи дослідження в біотехнології. Загальна характеристика фіз. методів. Особливості їх використання для біомолекул.
2. Седиментація. Методи центрифугування в біологічних дослідженнях. Основи теорії седиментації. Швидкісна та рівноважна седиментація для ДНК та РНК.
3. Хроматографічні методи дослідження в біотехнології. Типи рідинних хроматографій. Гельфільтрація при розділенні фрагментів ДНК та окремих генів.
4. Електрофотометричні методи дослідження. Основні принципи електрофорезу. Типи електрофорезу.
5. Які методи електрофорезу застосовуються для розділення нуклеїнових кислот та білків. У чому особливість та відмінність таких методів.
6. Спектральні методи дослідження в біотехнології. Спектроскопічний та радіоізотопний метод.
7. Спектроскопія УФ, ІЧ, комбінованого розсіювання.
8. Флуоресцентна спектроскопія. Теорія флуоресценції. Резонансне перенесення енергії.
9. Електрохімічні методи аналізу. Кондуктометрія. Потенціометрія. Полярографія. Особливості пов'язані з використанням методів для нуклеїнових кислот та сполук чутливих до впливу електричного поля.
10. Мікроскопічні методи дослідження. Визначення структур нуклеїнових кислот та білків за допомогою мікроскопії.
11. Культивування клітин та протопластів. Особливості культивування еукаріотичних і прокаріотичних клітин.
12. Клітинний цикл. Шляхи дослідження стану культури. Одержання синхронізованої культури.
13. Методи ДНК аналізу ПДРФ та ПЛР аналіз.
14. Маркери при застосуванні ПЛР.
15. Імунологічні методи. Використання та створення антигенів.
16. Застосування експрес аналізу.
17. Флуоресцентна мікроскопія. Забарвлення білків, органел та нуклеїнових кислот для дослідження їх властивостей.

Перелік теоретичних питань, які виносяться на МКР:

1. Типи центрифугувань. Можливості седиментаційного розділення.
2. Віскозиметрія. Застосування методу.
3. Тонкошарова хроматографія. Обмеження та можливості методу.
4. Афінна хроматографія. Типи взаємодій між молекулами в колонці.
5. Іонообмінна хроматографія. Типи стаціонарних ваз для іонообмінної хроматографії.
6. Гель-фільтраційна хроматографія. Типи колонок та стаціонарних фаз гель-фільтраційних колонок.
7. Електрофорез ДНК. Особливості гелів та буферних розчинів. Вертикальна та горизонтальна комірка.
8. 2D-page електрофорез. Створення градієнтів у гелі.
9. Кометний електрофорез. Метод підготовки проб для проведення кометного електрофорезу.
10. Спектрофотометрія. Фотоколориметр та спектрофотометр відмінності та подібності апаратів.
11. Спектрофотометрія. Закон за яким проходить визначення оптичної густини.
12. Мікроскопія світлового поля. Застосування та можливості методу. Структури які можна розглядати в світловому полі.
13. Мікроскопія темного поля. Застосування та можливості методу. Структури які можна розглядати в темновому полі.

14. Диференціальна інтерферентно-контрастна мікроскопія. Застосування та можливості методу.

15. Флуорисцентна мікроскопія. Застосування та можливості методу. Структури які можна розглядати при забарвленні барвниками.

16. Полімеразна ланцюгова реакція. Компоненти необхідні для проведення реакції.

17. Метод виділення клітинних структур та речовин з клітин. Руйнування клітинних мембран так контроль цього процесу.

18. Імуноферментний аналіз. Розміщення та закріплення молекул на слайді. Взаємодії між молекулами при аналізі.

Додаток 3.

Приклади задач ДКР.

Взяти величину X за порядковій номер у списку групи

Задача 1

1,3 Розрахувати процентний вміст діетилового ефіру та етанолу у відгоні після реакції отримання

бутадієну. Як внутрішній стандарт використовували диметилкетон

Загальна маса відгону: $((100 - 2,5X)/2)$ г

Маса диметилкетону: (Загальна маса відгону/5,4) г

Площа піку диметилкетону: (Для $X < 10$ $S=300$, $X > 10$ $S=200$) мм^2

Площа піку ефіру: (Загальна маса відгону/2) мм^2

Площа піку етанолу: $(20X)$ мм^2

Поправочні коефіцієнти:

K диметилкетону = 0,74

K етанолу = 0,64

K ефіру = 0,68

Задача 2

Розрахувати Число теоретичних тарілок (N) та висоту піку (H) для хроматографа з наступними показниками:

Швидкість подачі носія: $90 \text{ см}^3 / \text{хв}$

Відстань від точки початку до вершини піку: $t_R = (200-3X)$

Для $X < 10$ розрахунок ведеться для середини піку. ($\mu_{0,5}$) (у формулі 5,54) Ширина: $(20+X)$

Для $X > 10$ розрахунок ведеться для повної ширини піку. (μ) (у формулі 16) Ширина: $(35-X)$

Довжина колонки: Для $X < 10$ 200 см, Для $X > 10$ 175 см.

Відстань від точки початку до виходу газу носія Для $X < 10$ 7 мм, Для $X > 10$ 5 мм.

Задача 3

Розрахувати швидкість руху частинки білка (v) у центрифугі з наступними даними:

Число седиментації білка: $(40-X)$ сведберг.

Радіус ротора 8 см.

Відносна кутова швидкість: Для ББ – 25000, БТ – 20000, БМ – 17000