



# 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 інженерія та біоінженерія</i>
Спеціальність	<i>162 Біотехнології та біоінженерія</i>
Освітня програма	<i>Біотехнології</i>
Статус дисципліни	<i>Нормативна</i>
Форма навчання	<i>Заочна</i>
Рік підготовки, семестр	<i>5 курс, Осінній семестр</i>
Обсяг дисципліни	<i>4 кредити</i>
Семестровий контроль/ контрольні заходи	<i>Залік / модульна контрольна робота /ДКР</i>
Розклад занять	<i><a href="http://schedule.kpi.ua">http://schedule.kpi.ua</a> Лекції – 10 год, практичні – 8 год.</i>
Мова викладання	<i>Українська</i>
Інформація про керівника курсу / викладачів	<i>Лектор: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, <a href="mailto:kharn7428@gmail.com">kharn7428@gmail.com</a>, тел. 0675389990 Семінарські: к.т.н., ст.вик., Левтун Ігор Ігорович, <a href="mailto:kharn7428@gmail.com">kharn7428@gmail.com</a>, тел. 0675389990</i>
Розміщення курсу	<i>Google classroom</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-професійної та освітньо-наукової програм здобувачі вищої освіти повинні засвоїти компетентності, якими повинен оволодіти здобувач:

**ЗК 1.** Здатність проведення досліджень на відповідному рівні.

**ФК 5.** 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 6.** 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 9.** 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;

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

### **Програмні результати навчання.**

**ПРН 7.** 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.

**ПРН 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.

**ПРН 13.** Формулювати і оцінювати вимоги, обґрунтувати вихідну сировину, матеріали та напівпродукти відповідно до умов біотехнологічного виробництва з урахуванням технологічних та інших невизначеностей.

**ПРН 19.** Уміти використовувати молекулярно-біологічні технології для створення та аналізу нових біологічних агентів.

**ПРН 20.** Вміти використовувати методи молекулярної біоінженерії для створення нових біологічних агентів.

## **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 підготовці магістерської роботи та роботи в лабораторіях та виробництві.

## **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. Методи 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:

1. Гиль М.І., Юлевич О.І., Ковтун С.І. Біотехнологія. – Миколаївський державний аграрний університет, 2012 – 472 с.
2. Zahra Naz. Introduction to Biotechnology. - [https://www.researchgate.net/publication/284169166\\_Introduction\\_to\\_Biotechnology](https://www.researchgate.net/publication/284169166_Introduction_to_Biotechnology) . 2015

#### 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)
<b>Розділ 1. Фізичні методи аналізу</b>	
1.	<b>Вступ в дисципліну. Седиментаційні методи. Хроматографічні методи.</b> 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. 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. <b>Література: 1, 2</b>
2.	<b>Електрофоретичні та спектральні методи</b> Загальна теорія електрофорезу. Електрофоре з білків та нуклеїнових кислот. Електрофоре з у пульсуючому полі. Кометний електрофорез. Стаціонарні фази. Спектрофотометрія білків та нуклеїнових кислот. Загальні принципи поглинання світла молекулами. Вплив структур білків і нуклеїнових кислот на їх спектральні властивості. <b>Література: 3, 4</b>
3.	<b>Флуоресцентні методи. Методи ДНК аналізу</b> Основи флуоресцентної теорії. Явище флуоресценції. Маркери та методи їх внесення і підбору. Природа ДНК та РНК. ПДРФ- та ПЛР-аналіз. ДНК-фінгерпринт. ДНК-маркеры. ПЛР для РНК. <b>Література: 4, 5</b>

## Розділ 2. Біохімічні методи аналізу

4.	<p><b>Імунологічні методи. Методи виділення генетичного матеріалу з клітин</b>                  Основи ІФА. Кількісний ІФА-метод. Імуноелектрофорез. Імуноблотинг. Одержання клітинних культур. Розчини для руйнування мембран.  <b>Література: 5, 6</b></p>
5.	<p><b>Методи культивування біологічних агентів</b>                  Культивування в різних умовах. Обладнання для культивування. Особливості культивування рослинних і тваринних клітин для подальшого виділення продуктів біологічного походження.  <b>Література: 7</b></p>

### 5.2. Семінарські заняття

№ з/п	Теми семінарських занять	
1.	Седиментаційні методи 1. Типи центрифугування. Хроматографічні методи 1. Розрахунок точності. 2. Будова хроматографічних колонок. 3. Основи розділення речовин хроматографією. Спектральні методи 1. Закон Бугера Ламберта Бера. 2. Перерахунок результатів вимірювань для біомолекул. <b>Література: 1-3</b>	2
2.	Електрофоретичні методи 1. Розділення ДНК та РНК в електричному полі 2. Стаціонарні та рухливі фази. <b>Література: 1-3</b>	2
3.	Модульна контрольна робота	2
4.	Залік	2

### 6. Самостійна робота студента

1) Самостійна робота включає підготовку до МКР – 4 год. Підготовку до заліку – 6 год. Виконання ДКР – 10 год. На підготовку до аудиторних занять - 18 години, 64 год – для самостійного вивчення матеріалу.

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
1.	Розглянути седиментаційні методи	6
2.	Розглянути хроматографічні методи	6
3.	Електрофоретичні методи. Методи безперервного розділення електрофорезом	6
4.	Розглянути спектральні методи	6
5.	Розглянути флуоресцентні методи	6
6.	Визначення фрагментів ДНК	6

№ з/п	Назва теми, що виноситься на самостійне опрацювання	Кількість годин СРС
7.	Застосування ІФА	4
8.	Застосування методів виділення генетичного матеріалу	4
9.	Створення умов для культивування	4
10.	Особливості культивування різних біологічних об'єктів	6
11.	Визначення обладнання, що використовується на реальних виробництвах	4
12.	Виконання вправ з встановлення систем контролю та культивування	6

## Політика та контроль

### 7. Політика навчальної дисципліни (освітнього компонента)

#### Система вимог, які ставляться перед студентом:

- відвідування лекційних та семінарських 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 семінарському 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 робіт екологічного спрямування, 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.

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

Поточний контроль: написання експрес-опитування на лекційних заняттях, МКР, ДКР, доповіді за темами семінарських занять та відповіді на питання.

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

Семестровий контроль: Залік.

Умови допуску до семестрового контролю: мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу та виступи на семінарі, а також семестровий рейтинг більше 30 балів.

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

Вид та елементи контролю (Вид робіт)	Кількість	Ваговий бал	Сума балів по елементу контролю
<b>Поточний контроль</b>			
МКР	1	30	30
ДКР	1	30	30
Доповідь на семінарі	1	30	30
Відповіді на семінарських заняттях	2	5	10
<b>Всього за поточний контроль</b>		<b>100</b>	
<b>Семестровий контроль</b>			
<b>Залік</b>		<b>60-100</b>	

## 2. Критерії нарахування балів:

### 2.1. Виконання модульної контрольної роботи (МКР):

Максимальна кількість балів за МКР – 30. Кожен варіант МКР містить 3 питання по 10 балів кожне.

#### Критерії оцінювання:

Повна і вірна відповідь на питання – 10 балів,

Правильна але неповна відповідь на запитання, наявність незначних помилок – 10 – 6 балів;

Суттєві помилки або неповна відповідь – 5 – 1 бали.

Відсутня або неправильна відповідь – 0 – 1 бали.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше 18 балів з 30.

## **2.2. Виконання домашньої контрольної роботи (ДКР):**

Максимальна кількість балів за ДКР – 30. Кожен варіант ДКР містить 3 задачі по 10 балів кожна.

### **Критерії оцінювання:**

Повна і вірна відповідь на питання – 10 балів,

Правильна але неповна відповідь на запитання, наявність незначних помилок – 10 – 6 балів;

Суттєві помилки або неповна відповідь – 5 – 1 бали.

Відсутня або неправильна відповідь – 0 – 1 бали.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше 18 балів з 30.

## **2.3. Доповідь на семінарському занятті:**

Кожний студент робить 1 доповідь за обраною темою. Максимальна кількість балів за доповідь 30.

### **Критерії оцінювання:**

Розкриття теми, помилки відсутні – 30 балів,

Тема розкрита повністю але присутні помилки – 29-20 балів,

Тема розкрита частково але присутні суттєві помилки – 19-10 балів,

Тема не розкрита або велика кількість помилок – 9 –0 балів.

## **2.4. Відповіді на семінарському занятті:**

Максимальна кількість балів за відповідь на питання на семінарському занятті 5 балів. Максимальна кількість балів за всі питання 10.

### **Критерії оцінювання:**

Правильна відповідь без помилок – 10 балів.

Відповідь з незначними помилками або неточна – 9-5 балів.

Відповідь з серйозними помилками або неповна – 4-1 балів.

Неправильна відповідь – 0 балів.

## **2.5. Семестровий контроль**

Наприкінці семестру **умовою допуску до заліку** є мінімально позитивна оцінка за модульну контрольну роботу, Домашню контрольну роботу, виступи на семінарі.

Студенти які виконали умови допуску до семестрового контролю і набрали більше 60 балів можуть, за бажанням, отримати залікову оцінку відповідно до університетської шкали.

Студенти, що набрали менше 60 балів за семестр в обов'язковому порядку мають написати залікову роботу.

Студенти, що бажають підвищити свій семестровий бал і набрали більше 60 балів за семестр можуть підвищити бал написанням залікової роботи. При цьому рейтингові бали, отримані за семестр обнуляються.

Залікова робота виконується у письмовій формі та передбачає 5 питань по 20 балів кожне.

**Критерії оцінювання:**

Повна та правильна відповідь на запитання – 20 балів.

Неточності у відповіді або незначні помилки – 19 – 16 балів.

Велика кількість незначних помилок або неправильно сформульована відповідь – 15 – 12 балів.

Суттєві помилки, відповідь неправильна або відсутня – 11-0 балів.

Робота зараховується якщо студент набирає не менше ніж 60 зі 100 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

**9. 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 (семінари 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 № 18 від 25.05.2023)

**Погоджено** Методичною комісією факультету (протокол №11 від 26.06.2023)



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.

## Задачі ДКР.

Взяти величину X за порядковий номер у списку групи

## Задача 1

Розрахувати процентний вміст діетилового ефіру та етанолу у відгоні після реакції отримання 1,3-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  $X < 10$   $S=300$ ,  $X > 10$   $S=200$ )  $\text{мм}^2$

Площа піку ефіру: (Загальна маса відгону/2)  $\text{мм}^2$

Площа піку етанолу:  $(20X)$   $\text{мм}^2$

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. ( $\mu$ ) (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