

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ им.А.И.ГЕРЦЕНА»

ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

*СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ БИОЛОГИИ*

**ОСНОВНАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА**

**ПОДГОТОВКИ БАКАЛАВРА по направлению**

**020400 Биология**

**профиль «Общая биология»**

Квалификация (степень) выпускника –

**бакалавр**

Утверждено на заседании кафедры  
зоологии

Протокол № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 2013 г.  
Зав. кафедрой

\_\_\_\_\_ Атаев Г.Л.

Утверждено на заседании Совета  
факультета биологии  
РГПУ им. А.И. Герцена

Протокол № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 2013 г.  
Председатель Совета

\_\_\_\_\_ Бредихин В.Н.

Санкт-Петербург  
2013 г.

## Программа дисциплины «Современные методы биологии»

### I. Пояснительная записка

Согласно ФГОСВО по направлению 06.03.01 БИОЛОГИЯ<sup>1</sup> (ранее – 020400 БИОЛОГИЯ<sup>2</sup>), одним из видов профессиональной деятельности, к которым готовятся выпускники бакалавриата, является научно-исследовательская работа. В частности бакалавры биологи должны обладать следующими компетенциями:

– способностью применять современные экспериментальные методы работы с биологическими объектами в полевых и лабораторных условиях, навыки работы с современной аппаратурой (ОПК-6);

– способность эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ (ПК-1).

В настоящее время биология является высокотехнологичной наукой, в которой широко используются последние достижения техники. Публикации в авторитетных изданиях, квалификационные работы (включая диссертации), заявки на гранты и отчеты по ним должны соответствовать современным требованиям выполнения и оформления результатов. Поэтому современная научно-исследовательская деятельность в любой области биологии требует от исследователей владения разнообразными знаниями и навыками в области экспериментальной биологии.

К третьему курсу бакалавриата студенты осваивают большую часть дисциплин естественнонаучного и профессионального циклов и обладают достаточными информационными компетенциями для профессиональной деятельности. Однако, выполнение выпускной квалификационной работы подразумевает полную профессиональную компетентность бакалавра в области биологии и требует владения деятельностным компонентом компетенций. К сожалению, объём лабораторных занятий по профессиональным дисциплинам не всегда позволяет сформировать у обучающихся умения и навыки, необходимые для самостоятельной научно-исследовательской работы.

С целью подготовки к работе в лаборатории для студентов бакалавриата по направлению 06.03.01 (020400) БИОЛОГИЯ в РГПУ им. А.

---

<sup>1</sup> Федеральный государственный образовательный стандарт высшего профессионального образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология, утвержден 7.08.2014.

<sup>2</sup> Федеральный государственный образовательный стандарт высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400 Биология, утвержден 4.02.2010.

И Герцена разработан и внедрён курс «Современные методы биологии». Курс преподаётся после прохождения основных дисциплин учебного плана - в 7-ом семестре в объёме 64 часа и предшествует производственным практикам.

В содержание основной части учебного курса «Современные методы биологии» включены разделы, освещающие современные подходы и методы экспериментальной биологии. Безусловно, в рамках одной дисциплины невозможно сформировать знания и навыки, применяемые в биологических исследованиях. Тем более что со многими методиками студенты знакомятся при освоении дисциплин профессионального цикла (зоологии, физиологии, экологии, цитологии, генетики и др.). Поэтому основное внимание в курсе уделено универсальным, и в тоже время высокотехнологичным методам, широко используемым в экспериментальной биологии сегодня.

## **II. Место дисциплины в учебном плане**

Дисциплина относится к вариативной части цикла профессиональных дисциплин.

Перед изучением курса студент должен освоить следующие дисциплины: «Органическая химия», «Биохимия», «Общая биология», «Цитология», «Гистология», «Биометрия», «Генетика и селекция», «Зоология», «Анатомия и морфология растений», «Функциональная морфология животных», «Иммунология».

Для изучения дисциплины у студента должны быть сформированы следующие компетенции:

- способность работать в коллективе, толерантно воспринимая социальные, этнические, конфессиональные и культурные различия (ОК-6);
- способность к самоорганизации и самообразованию (ОК-7);
- способностью понимать базовые представления о разнообразии биологических объектов, значение биоразнообразия для устойчивости биосферы, способностью использовать методы наблюдения, описания, идентификации, классификации, культивирования биологических объектов (ОПК-3);
- способность обосновать роль эволюционной идеи в биологическом мировоззрении; владением современными представлениями об основах эволюционной теории, о микро- и макроэволюции (ОПК-8).

### III. Трудоемкость дисциплины и виды учебной работы и аттестации

Виды учебной работы	Часов	Кредитов
<b>Теоретическое обучение</b>	108	3
Аудиторная нагрузка	60	
– лекции	24	
– лабораторные занятия	36	
Самостоятельная работа	48	
<b>Итоговая аттестация (экзамен)</b>	36	1

### IV. Цель и ожидаемые результаты изучения дисциплины

**Цель дисциплины «Современные методы биологии»** — содействовать становлению профессиональных и общекультурных компетентностей бакалавров, необходимых для научно-исследовательской работы, путем формирования у студентов системы знаний о современных методах экспериментальной биологии и возможностях их применения в научно-исследовательской деятельности, а также формирование основных общелабораторных навыков работы.

**Задачи:** (1) формирование теоретического представления о возможностях методов экспериментальной биологии для решения конкретных исследовательских задач; (2) ознакомление с принципами работы основных типов лабораторного оборудования и методик; (3) знакомство с основами разработки методологии и планирования биологического эксперимента, а также интерпретации полученных результатов; (4) формирование навыков работы с основным общелабораторным оборудованием.

В результате освоения дисциплины студент должен обладать следующими *компетенциями*:

– использует в познавательной и профессиональной деятельности базовые знания в области математики и естественных наук, применяет методы математического анализа и моделирования, теоретического и экспериментального исследования (ОК-6);

– использует методы наблюдения, описания, идентификации, классификации, культивирования биологических объектов (ПК-2);

– применяет современные экспериментальные методы работы с биологическими объектами в полевых и лабораторных условиях, навыки работы с современной аппаратурой (ПК-5);

– способен эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ (ПК-15).

В результате изучения дисциплины студент должен:

**знать:**

– принципы работы основных общелабораторных приборов и методик, которые используются в биологических исследованиях;

– правила работы в научной лаборатории;

– требования, предъявляемые к проведению биологического эксперимента.

**иметь представление:**

– о многообразии и особенностях применения различных методов научных исследований (теоретических и эмпирических) в области биологических наук;

**уметь:**

– использовать фундаментальные биологические представления в сфере профессиональной деятельности для постановки и решения новых задач;

– использовать общелабораторное оборудование для осуществления научной деятельности в лаборатории;

– подбирать адекватные методы исследования для решения конкретных научно-исследовательских задач;

– осуществлять сбор, обработку, анализ и систематизацию научной информации по теме (заданию);

– использовать современные компьютерные технологии для решения научно-исследовательских задач профессиональной деятельности, для сбора и анализа биологической информации.

**владеть:**

– навыками планирования и осуществления научного эксперимента под руководством куратора;

- методиками решения практических профессиональных задач в выбранной области научно-исследовательской деятельности;
- методами обработки получаемых экспериментальных данных и их интерпретации.

## **V. Содержание дисциплины**

Программа курса в основном имеет линейную структуру и требует последовательного освоения знаний и умений. Аудиторный объём разработанного курса – 60 часов. При этом теоретическая лекционная (24 часа) составляющая вычитывается в начале курса. Оставшееся время посвящается лабораторному практикуму (36 часов) и самостоятельной работе студентов - углублённому знакомству различными методиками современной экспериментальной биологии. Дифференцированный подход также осуществляется за счёт самостоятельной подготовки студентами рефератов по методам, используемым в выбранной области научных интересов.

### **V.1. Содержание теоретического курса**

Раздел 1. МИКРОСКОПИЯ. История изобретения микроскопа. Общие сведения, типы микроскопов. Устройство светового микроскопа. Оптическая система. Аберрации. Установка света по Келеру. Разрешающая способность микроскопа. Объективы: типы, характеристика. Окуляры: типы, характеристика. Конденсор, апертурная диафрагма. Классические и современные методы световой микроскопии. Широкопольная микроскопия. Темнопольная микроскопия. Фазово-контрастная микроскопия. Интерференционная микроскопия. Поляризационная микроскопия. Флуоресцентная микроскопия: красители, фильтры. Конфокальная микроскопия: область применения, разрешающая способность, конфокальная диафрагма, STED- микроскопия. Микроскопия в отраженном свете. Стереомикроскопы. Трансмиссионная электронная микроскопия. Растровая электронная микроскопия. Сканирующая зондовая микроскопия: основы метода, возможности применения в биологии. Микрорезонансы (кантилеверы), пьезоэлементы. Бесконтактный, полуконтактный, резонансный режимы сканирования. Методы цифровой фотовизуализации биологических объектов.

Раздел 2. МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ. Фиксация материала: основные правила, фиксирующие смеси. Заключение материала в среду: правила, схема проводки. Получение срезов: приборы для изготовления срезов (санный, ротационный и замораживающий микротом, ультратом), устройство, принцип работы. Окраска срезов: методы, классификация красителей и красящих смесей, заключение.

Приготовление временных препаратов. Приготовление тотальных препаратов. Приготовление препаратов для трансмиссионной электронной микроскопии: контрастирование срезов. Приготовление препаратов для сканирующей микроскопии: сушка в критической точке.

Изготовление и окраска мазков и отпечатков. 2. Прижизненное изучение клеток. Фазово-контрастная микроскопия. Витальное и суправитальное окрашивание объектов, основные методы окраски и красители.

Раздел 3. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ. Основные принципы культивирования. Типы питательных сред, солевых растворов, субстратов, газовых режимов. Клоновые и органные культуры. Проточные и непроточные культуры. Однослойные клеточные культуры. Клеточная инженерия, гибридомы.

Раздел 4. ПРОТОЧНАЯ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЯ. Проточная и оптическая системы проточного цитометра. Лазеры и флуорохромы. Сигналы прямого и бокового светорассеивания. Параметры анализа цитофлуорограмм.

Раздел 5. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ. Методы изучения интерфазного хроматина. Получение метафазных пластинок хромосом. Дифференциальное окрашивание хромосом. Составление карิโอ типов. Морфометрические параметры и классификация хромосом.

Раздел 6. СПЕКТРОСКОПИЯ И ХРОМАТОГРАФИЯ. Адсорбционная, поляризационная флуоресцентная спектроскопия. Принципы работы спектрофотометров. Возможности спектрофотометрии. Типы спектрофотометров, светофильтры. Масс-спектрометрия. Хроматографический анализ. Жидкостная и газовая хроматография. Адсорбционная, ионообменная, осадочная аффинная хроматография.

РАЗДЕЛ 7. МЕТОДЫ РАБОТЫ С БЕЛКАМИ И НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ. Выделение нуклеиновых кислот и белков из биологических объектов: принципы и основные подходы к экстракции. Гель-электрофорез.

Электрофорез нуклеиновых кислот и белков и агарозном и полиакриламидном гелях. Одномерный и двумерный, нативный и денатурирующей электрофорез белков. Перенос белков на мембрану, иммуноблоттинг. Экстракция белков и нуклеиновых кислот из гелей. Мечение нуклеиновых кислот и белков. Методы выявления белков *in situ*. Полимеразная цепная реакция. Рестрикционный анализ нуклеиновых кислот. Методы анализа экспрессии генов: ОТ-ПЦР, супрессионная вычитающая гибридизация, *in situ* гибридизация. Фракционирование, мечение, гибридизация НК. Эндонуклеазы рестрикции. Технология рекомбинантных ДНК. Клонирование. Секвенирование: подходы и принципы. Компьютерных программы и базы данных для работы с нуклеотидными последовательностями.

**РАЗДЕЛ 8. БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.** Компьютерных программы и базы данных для работы с нуклеотидными и аминокислотными последовательностями. Онлайн ресурсы для обработки биологических последовательностей. Подбор праймеров для полимеразной цепной реакции. Способы выравнивания нуклеотидных последовательностей. Филогенетический анализ и построение деревьев: метод ближайшего соседа, метод максимального правдоподобия, метод максимальной парасимонии, байесовский анализ.

### **V.1. Перечень лабораторных работ**

№ п/п	Название лабораторной работы	Часов
1	Организация работы в научно-исследовательской лаборатории. Общелабораторное оборудование	2
2	Приготовление гистологических срезов: заливка, резка, покраска	4
3	Прижизненное изучение клеток с помощью фазово-контрастной микроскопии	2
4	Визуализация биологических структур с помощью атомно-силового микроскопа	2
5	Культивирование клеток и тканей	2
6	Принципы цитофлуориметрического анализа	2
7	Морфометрический анализ хромосом и составление	2



	кариотипов	
8	Выделение нуклеиновых кислот и белков	4
9	Полимеразная цепная реакция	2
10	Электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном и полиакриламидном гелях	4
11	Электрофорез белков	3
12	Анализ чистоты препаратов и определение концентрации белков и нуклеиновых кислот на спектрофотометре	3
13	Работа с базами данных нуклеотидных последовательностей и белков	1
14	Работа с нуклеотидными последовательностями: подбор праймеров, анализ секвенограмм, выравнивание нуклеотидных последовательностей	4
Всего часов:		36

## VI. Тематический план и распределение часов по видам учебной работы

№ п/п	Название темы	Виды занятий, часы		
		Лекции	Лабораторные занятия	Самостоятельная работа
1	Микроскопия	2	4	6
2	Методика приготовления препаратов	4	6	6
3	Культивирование клеток и тканей	2	2	6
4	Проточная цитофлуориметрия	2	2	4
5	Цитогенетический анализ	2	2	4
6	Спектроскопия и хроматография	2	2	4
7	Методы работы с белками и нуклеиновыми кислотами	6	13	4
8	Биоинформатический анализ	4	5	14
Всего часов:		24	36	48

## VII. Содержание самостоятельной работы студентов

№ темы п/п	Темы дисциплины	Инвариантная составляющая	Вариативная составляющая
1	Микроскопия	Проработка специальной литературы по теме.	Подробное ознакомление с устройством приборов, используемых в научно-исследовательской работе.
2	Методика приготовления препаратов	Подбор гистологических красителей и фиксаторов для разных объектов и тканей.	Подбор методики исследования объекта, используемого для выполнения выпускной квалификационной работы.
3	Культивирование клеток и тканей	Работа с учебными материалами. Составление схем процессов.	Составление схемы эксперимента в соответствии с задачами выпускной квалификационной работы с обоснованием использования различного оборудования и типов методик.
4	Проточная цитофлуориметрия	Подбор набора антител и красителей для выделения различных популяций крови человека и различных животных.	
5	Цитогенетический анализ	Составление обобщающих таблиц и схем.	
6	Спектроскопия и хроматография	Подготовка доклада с презентацией с демонстрацией возможностей изучаемой методики для решения	

		различных биологических задач.	
7	Методы работы с белками и нуклеиновыми кислотами	Проработка специальной литературы по теме. Ознакомление с коммерческими наборами для молекулярно-биологических исследований. Сопоставление предлагаемых методик. Оценка их возможной эффективности.	
8	Биоинформационный анализ	Поиск в базах данных нуклеотидных и белковых последовательностей по заданным параметрам. Подбор специфических праймеров. Выравнивание нуклеотидных последовательностей с использованием различных алгоритмов. животных и растений.	Анализ работ по популяционной генетике исчезающих видов. Филогенетические построения. Построение вторичных структур нуклеиновых кислот.

### **VIII. Основные понятия дисциплины**

агарозный гель	мазок
витальный препарат	масс-спектрометрия
временный препарат	метафазная пластинка
выравнивание	метод ближайшего соседа
газовая хроматография	метод максимального правдоподобия

гель-электрофорез	микроскоп
гибридомы.	микротом
гистологический краситель	нативный электрофорез
гистологический срез	объектив
гистология	окуляр
гистохимия	фазово-контрастная микроскопия
денатурирующий электрофорез	фиксирующие смеси
дифференциальное окрашивание	филогенетический анализ
жидкостная хроматография	флуоресцентная микроскопия
заключение материала	флуорохром
иммуноблоттинг	хроматография
иммуноцитохимия	центромерный индекс
кантилеверы	цитогенетика
кариотип	широкопольная микроскопия
клеточная инженерия	экстракция белков
клонирование	экстракция нуклеиновых кислот
клоновые культуры	эндонуклеазы рестрикции
конфокальная микроскопия	<i>in situ</i> гибридизация
культивирование	

## **IX. Примерные вопросы к экзамену**

1. Основные правила и организация работы в лаборатории
2. Микроскопические методы изучения живых объектов
3. Световая микроскопия, электронная микроскопия, трансмиссионная микроскопия, конфокальная микроскопия: особенности и возможности
4. Правила и особенности хранения биоматериала и реактивов
5. Гистологические и гистохимические методы в биологических исследованиях
6. Методы полевого сбора биологического материала
7. Витальное и суправитальное окрашивание объектов, основные методы окраски и красители
8. Фиксаторы и фиксация живых объектов для последующего приготовления постоянных микропрепаратов

9. Изготовление и окраска мазков и отпечатков. Методы подсчёта количества клеток
10. Прижизненное изучение клеток. Фазово-контрастная микроскопия. Витальные красители. Проточная цитометрия
11. Метод изготовления парафиновых срезов: этапы их содержание. Конструкции микротомов
12. Использование гистохимических и иммуногистохимических методов для решения конкретных задач
13. Анализ чистоты препаратов и определение концентрации белков и нуклеиновых кислот на спектрофотометре
14. Особенности работы с рН-метром. Калибровка. Измерение кислотности раствором и титрование
15. Культивирование клеток и тканей. История, методы, возможности, применение, перспективы
16. Методы выделения нуклеиновых кислот и белков
17. Гель-электрофорез: разновидности и применение
18. Методы анализа нуклеиновых кислот
19. Полимеразная цепная реакция
20. Стратегии расшифровки геномов

## **Х. Рекомендуемые информационные ресурсы**

а) основная литература:

1. Бисерова Н. М. Методы визуализации биологических ультраструктур. М.: КМК, 2013. —104 с.;
2. Зурочка А. В., Хайдуков С. В, Кудрявцев И. В., Чершнеv В. А. Проточная цитометрия в медицине и биологии. Екб., 2014. — 576 с.;
3. Мухитов А. Р., Архипова С. С., Никольский Е. Е. Современная световая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях. М.: Наука, 2011. —144 с.;
4. Семченко В. В., Барашкова С. А., Ноздрин В. Н., Артемьев В. Н. Гистологическая техника: учебное пособие. – 3-е издание. Омск-Орел, 2006. – 290 с.;

б) дополнительная литература:

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. — М.: Мир, 2002. — 589 с.;
2. Кларк Э.Р., Эберхардт К. Н. Микроскопические методы исследования биологических материалов. М.: Техносфера, 2007. — 376 с.;
3. Кэррил Ф. М., Бабушкин С. А. Как работать со световым микроскопом. Москва: Вест Медика, 2010. — 112 с.;
4. Лейси А. Световая микроскопия в биологии. Методы. М.: Мир, 1992. — 464 с.;
5. Херрингтон С., Макги Дж. (ред.). Молекулярная клиническая диагностика. М.: Мир, 1999. — 558 с.;
6. Цымбаленко Н.В. Биотехнология. Часть 1. Технология рекомбинантной ДНК. СПб.: РГПУ им А.И. Герцена, 2011. — 138 с.;
7. Штейн Г.И. Руководство по конфокальной микроскопии. - СПб: ИНЦ РАН, 2007. - 77 с.;
8. Щипков В. П., Кривошеина Г. Н. Практикум по медицинской генетике. — М.: Академия, 2003. — 112 с.
9. Лукашов В. В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. — М.: Бином. 2000. — 256 с.
10. Liebler D.C. 2002. Introduction to proteomics. Tools for the new biology. Humana press Inc., Totowa, NJ. 198 P.

в) электронные образовательные ресурсы:

1. <http://ibooks.ru> – Учебники и учебные пособия для университетов.
2. <http://www.iprbookshop.ru>– Учебники и учебные пособия для университетов.
3. <http://www.biblioclub.ru> – Университетская библиотека онлайн.
4. <http://www.humbio.ru> — База знаний по биологии человека. Поддержка — Институт молекулярной генетики РАН. Электронные учебники, монографии, публикации, описания методических подходов
5. <http://www.molbiol.ru> — электронные учебники, монографии, публикации, описания методических подходов.
6. <http://www.microscopyu.com/> — Ресурс, посвящённый микроскопам и микроскопическим исследованиям;

7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> — Информационный портал, содержащий базы данных литературы, нуклеотидных последовательностей, инструменты для биоинформатического анализа.

Автор-составитель программы, доцент кафедры зоологии РГПУ им. А. И. Герцена, к.б.н., доцент Е. Е. Прохорова

Заведующий кафедрой зоологии

Г. Л. Атаев