**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

**Львівський національний університет імені Івана Франка**

**Біологічний факультет**

**Кафедра біохімії**

**ЗАТВЕРДЖЕНО**

на засіданні кафедри біохімії

біологічного факультету

Львівського національного

університету імені Івана Франка

(протокол № \_\_\_ від «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2022 р.)

Завідувач кафедри \_\_\_\_\_\_ проф. Сибірна Н. О.

**Силабус навчальної дисципліни**

**«СУЧАСНІ МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БІОЛОГІЇ»,**

що викладається в межах ОПП Біологія

першого (бакалаврського) рівня вищої освіти для здобувачів

напряму підготовки 091 – Біологія

галузь знань 09 Біологія

Львів 2022

**Силабус курсу «Сучасні методи експериментальної біології»**

**2022–2023 н. р.**

|  |  |
| --- | --- |
| **Назва курсу** | **Сучасні методи експериментальної біології** |
| **Адреса викладання курсу** | вул. Грушевського 4, 79005 Львів |
| **Факультет та кафедра, за якою закріплена дисципліна** | біологічний факультет, кафедра біохімії |
| **Галузь знань, шифр та назва спеціальності** | 09 Біологія  091 Біологія |
| **Викладачі курсу** | доцент кафедри біохімії, к.б.н.  Стасик Олена Георгіївна |
| **Контактна інформація викладачів** | olena.stasyk@lnu.edu.ua |
| **Консультації по курсу відбуваються** | у п’ятницю, 15:05–16:25 год (V пара)  вул. Грушевського 4, ауд. 319 |
| **Сторінка курсу** | https://e-learning.lnu.edu.ua/course/view.php?id=2432 |
| **Інформація про курс** | Курс розроблено таким чином, щоб слухачі навчилися визначати та розв’язувати складні комплексні проблеми у галузі молекулярної та клітинної біології при здійсненні професійної та дослідницько-інноваційної діяльності, що передбачає глибоке переосмислення наявних та створення нових цілісних знань, оволодіння методологією наукової та науково-педагогічної діяльності, проведення самостійного наукового дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення. |
| **Коротка анотація курсу** | Програма вивчення варіативної навчальної дисципліни «Сучасні методи експериментальної біології» складена відповідно до освітньо-професійної програми підготовки бакалавра зі спеціальності 091 «Біологія», яка викладається в 8 семестрі в обсязі 3 кредитів (за Європейською Кредитно-Трансферною Системою).  Програма дисципліни структурована на модулі, до складу яких входить два змістових модулі «Методи структурного аналізу біомолекул та їхніх комплексів» та «Методи функціонального аналізу біологічних компонентів клітини» |
| **Мета та цілі курсу** | Метою курсу є сформувати у студентів чітке розуміння методів молекулярної та клітинної біології, розвинути навички володіння сучасними методами та методичними прийомами планування та проведення експериментів, аналітичної оцінки результатів досліджень для вирішення конкретної науково-практичної задачі.  Основним завданням вивчення дисципліни «Сучасні методи експериментальної біології» є:   * сформувати уявлення про сучасні методи молекулярної та клітинної біології, що застосовуються для вирішення конкретної науково-практичної задачі; * розвинути навики застосування методів і методичних прийомів планування та проведення експериментальних досліджень у галузі молекулярної та клітинної біології; * виробити навики аналітичної оцінки результатів досліджень; * розвинути уміння адаптувати сучасні методи молекулярної та клітинної біології для власного експериментального дослідження * сформувати сучасні уявлення про теоретичні основи та принципи, які лежать в основі конкретного методу молекулярно- та клітинно-біологічних досліджень. |
| **Література для вивчення дисципліни** | ***Базова***   1. Molecular biology of the cell / Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter ; with problems by John Wilson, Tim Hunt. - Sixth edition. 2015. - 1465 p. 2. Cox, Michael M. (2015-03-16). Molecular biology: principles and practice. Doudna, Jennifer A., O'Donnell, Michael (Biochemist) (Second ed.). New York. ISBN 978-1-4641-2614-7. OCLC 905380069 3. Bioanalytics: Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology. Friedrich Lottspeich (Editor), Joachim W. Engels (Editor). ISBN: 978-3-527-33919-8 May 2018. 1134 Pages. 4. Методичні вказівки до навчальної дисципліни «Основи молекулярної діагностики» / Упорядники: д.б.н., проф. Остапченко Л.І., к.б.н., асист. Драницина А.С., к.б.н., доц. Гребіник Д.М. - Київ, 2017. 5. Федоренко В.О., Осташ Б.О., Гончар М.В., Ребець Ю.В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2007. – 279 с.   ***Допоміжна***   1. «Microarrays». National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine. Retrieved 31 December 2016. 2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Isolating, Cloning, and Sequencing DNA. Retrieved 31 December 2016. 3. Brown T (May 2001). «Southern blotting». Current Protocols in Immunology. Chapter 10: Unit 10.6A. doi:10.1002/0471142735.im1006as06. ISBN 978-0-471-14273-7. PMID 18432697. S2CID 20686993. 4. Bumgarner R (January 2013). Frederick M. Ausubel, et al. (eds.). «Overview of DNA microarrays: types, applications, and their future». Current Protocols in Molecular Biology. Chapter 22: Unit 22.1. doi:10.1002/0471142727.mb2201s101. ISBN 978-0-471-14272-0. PMC 4011503. PMID 23288464. 5. Govindarajan R, Duraiyan J, Kaliyappan K, Palanisamy M (August 2012). «Microarray and its applications». Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences. 4 (Suppl 2): S310-2. doi:10.4103/0975-7406.100283. PMC 3467903. PMID 23066278. 6. He SL, Green R (1 January 2013). «Northern blotting». Methods in Enzymology. 530: 75–87. doi:10.1016/B978-0-12-420037-1.00003-8. ISBN 978-0-12-420037-1. PMC 4287216. PMID 24034315. 7. Josefsen K, Nielsen H (2011). Nielsen H (ed.). RNA methods and protocols. Methods in Molecular Biology. 703. New York: Humana Press. pp. 87–105. doi:10.1007/978-1-59745-248-9\_7. ISBN 978-1-59745-248-9. PMID 21125485. 8. Kurien BT, Scofield RH (April 2006). «Western blotting». Methods. 38 (4): 283–93. doi:10.1016/j.ymeth.2005.11.007. PMID 16483794. – via ScienceDirect (Subscription may be required or content may be available in libraries.) 9. Lee PY, Costumbrado J, Hsu CY, Kim YH (April 2012). «Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments». Journal of Visualized Experiments (62). doi:10.3791/3923. PMC 4846332. PMID 22546956. 10. Lessard, Juliane C. (1 January 2013). «Molecular cloning». Laboratory Methods in Enzymology: DNA. Methods in Enzymology. 529. pp. 85–98. doi:10.1016/B978-0-12-418687-3.00007-0. ISBN 978-0-12-418687-3. ISSN 1557-7988. PMID 24011038 11. Mahmood T, Yang PC (September 2012). «Western blot: technique, theory, and trouble shooting». North American Journal of Medical Sciences. 4 (9): 429–34. doi:10.4103/1947-2714.100998. PMC 3456489. PMID 23050259. 12. Polymerase Chain Reaction (PCR) Fact Sheet. National Human Genome Research Institute (NHGRI). Retrieved 31 December 2016 13. Tarca AL, Romero R, Draghici S (August 2006). «Analysis of microarray experiments of gene expression profiling». American Journal of Obstetrics and Gynecology. 195 (2): 373–88. doi:10.1016/j.ajog.2006.07.001. PMC 2435252. PMID 16890548. 14. Tian J, ed. (2013). Molecular Imaging: Fundamentals and Applications. Springer-Verlag Berlin & Heidelberg GmbH & Co. K. p. 542. ASIN B010BENEB6. ISBN 9783642343032. Retrieved 2019-07-08 15. Tian J, ed. (2013). Molecular Imaging: Fundamentals and Applications. Springer-Verlag Berlin & Heidelberg GmbH & Co.K. pp. 550, 552. ISBN 9783642343032. Retrieved 2019-07-08. |
| **Тривалість курсу** | один семестр |
| **Обсяг курсу** | 90 год, з яких 40 год аудиторних занять та 50 год самостійної роботи |
| **Очікувані результати навчання** | ***знати:***   * сфери застосування різних методів молекулярної та клітинної біології та базові принципи їхнього застосування; * особливості наукових підходів для експериментального дослідження біологічних систем різного рівня складності; * принципи основних методів молекулярної та клітинної біології; * експериментальні моделі (мікроорганізми, клітинні лінії людини та тварин, лабораторні тварини, комп’ютерні моделі біологічних об’єктів, процесів та ін.).   ***уміти:***   * адаптувати та модифікувати протоколи методів молекулярної та клітинної біології для вирішення задач конкретного дослідження; * працювати з лабораторним та комп’ютерним обладнанням; * використовувати електронні бази даних та програмне забезпечення для порівняння та інтерпретації отриманих результатів. |
| **Ключові слова** | Наукове дослідження, науково-дослідна робота, методи молекулярної та клітинної біології |
| **Формат курсу** | очний |
|  | проведення лекцій і консультацій, виконання самостійної роботи для кращого розуміння тем |
| **Теми** | Наведено у табл. 1 |
| **Підсумковий контроль, форма** | залік у кінці семестру |
| **Пререквізити** | Для вивчення курсу студенти потребують базових знань з біохімії, молекулярної біології, генетики |
| **Навчальні методи та техніки, які будуть використовуватися під час викладання курсу** | лекції, презентація (ілюстрація, демонстрація), розповіді, пояснення, дискусія |
| **Необхідне обладнання** | персональний комп’ютер, загальновживані комп'ютерні програми і операційні системи, проектор |
| **Критерії оцінювання (окремо для кожного виду навчальної діяльності)** | Оцінювання проводиться за 100-бальною шкалою. Бали нараховуються за таким співвідношенням:   * 2 контрольні заміри (модулі): 60% семестрової оцінки; максимальна кількість балів за 1 контрольний замір – 30 * оцінювання самостійної роботи: 40% семестрової оцінки; максимальна кількість балів – 40 (реферат – 15 балів, презентація – 25 балів).   Залік студент отримує на підставі результатів виконання студентом усіх видів робіт і контрольних замірів впродовж семестру.  ***Академічна доброчесність.*** Роботи здобувачів є винятково оригінальними дослідженнями чи міркуваннями. Жодні форми порушення академічної доброчесності (відсутність посилань на використані джерела, фабрикування джерел, списування, втручання у роботу інших аспірантів та ін..) не толеруються. Виявлення ознак академічної недоброчесності в письмовій роботі є підставою для її незарахування викладачем, незалежно від масштабів плагіату чи обману.  ***Відвідування занять.*** Студенти відвідають усі лекції та практичні заняття курсу. Студенти повинні інформувати викладача про неможливість відвідати заняття. Студенти зобов’язані дотримуватись усіх строків визначених для виконання письмових робіт, передбачених курсом.  ***Література.*** Уся література, яку студенти не зможуть знайти самостійно, буде надана викладачем виключно в освітніх цілях без права її передачі третім особам. Студенти заохочуються до використання також іншої літератури та джерел, яких немає серед рекомендованих. |
| **Питання до модульних контролів (замірів знань)** | **Очищення білка**  Локалізація білка та стратегія очищення  Гомогенізація та руйнування клітин  Преципітація  Центрифугування  Видалення солей та гідрофільних забруднень  Концентрування  Детергенти та їх видалення  Підготовка зразка до аналізу протеомів  **Визначення білка**  Кількісне визначення за допомогою фарбування  Спектроскопічні методи  Радіоактивне маркування пептидів та білків  **Імунологічні методи**  Антитіла як реагенти  Властивості антитіл  Взаємодія антигенів зі сатйами зв’язування  Поводження з антитілами  Реакція антиген-антитіло  Фіксація комплементу  Методи в клітинній імунології  Зміна біологічних функцій  Виробництво антитіл  **Методи світлової мікроскопії - візуалізація**  Кроки на шляху до мікроскопії - від простих лінз до мікроскопів високої роздільної здатності  Сучасні програми  Основні фізичні принципи  Методи виявлення  Підготовка зразків  Спеціальний флуоресцентний мікроскопічний аналіз  **Хроматографічні методи розділення**  Основні терміни та поняття в хроматографії  Біофізичні властивості пептидів та білків  Режими хроматографічного розділення пептидів та білків  Розробка методу від аналітичної до підготовчої шкали, проілюстрована для HP-RPC  Багатовимірна HPLC  **Електрофоретичні методи**  Обладнання для гелевих електрофорезів  Препаративні методи  Електроелюація з гелів  Електрофорез препаративної зони  Препаративне ізоелектричне фокусування  Електрофорез із вільним потоком  Двовимірний електрофорез із високою роздільною здатністю  **Аналіз амінокислот**  Рідка хроматографія з оптичними системами виявлення  Аналіз амінокислот за допомогою мас-спектрометрії  **Аналіз послідовності білка**  Аналіз послідовності N-кінців пептидів: Деградація Едмана  Аналіз послідовності C-кінців пептидів  **Мас-спектрометрія**  Методи іонізації  Мас-аналізатори  Іонні детектори  Методи фрагментації  Визначення маси  Ідентифікація, виявлення та з'ясування структури  LC-MS та LC-MS / MS  **Білково-білкові взаємодії**  Двогібридна система  TAP-мічення та очищення білкових комплексів  Аналіз взаємодій in vitro  Коімунопреципітація  Far-Вестерн  Поверхнево-плазмоно-резонансна спектроскопія  Передача енергії флуоресцентного резонансу (FRET)  Аналітичне ультрацентрифугування  **Біосенсори**  Суха хімія: тест-смужки для виявлення та моніторинг діабету  Біосенсори  Біоміметичні датчики  Від глюкозних ферментних електродів до електронних ДНК-біочипів  **Магнітно-резонансна спектроскопія біомолекул**  ЯМР-спектроскопія біомолекул  ЕПР-спектроскопія біологічних систем  **Аналіз вуглеводів**  **Аналіз ліпідів**  **Аналіз посттрансляційних модифікацій: фосфорилювання та ацетилювання білків**  Функціональна значимість фосфорилювання та ацетилювання  Стратегії аналізу фосфорильованих та ацетильованих білків та пептидів  Розділення та концентрування фосфорильованих та ацетильованих білків та пептидів  Виявлення фосфорильованих та ацетильованих білків та пептидів  Локалізація та ідентифікація амінокислот, модифікованих після трансляції  Кількісний аналіз посттрансляційних модифікацій  **Виділення та очищення нуклеїнових кислот**  Очищення та визначення концентрації нуклеїнової кислоти  Виділення геномної ДНК  Виділення ДНК з низькою молекулярною масою  Виділення вірусної ДНК  Виділення одноланцюгової ДНК  Виділення РНК  Виділення нуклеїнових кислот за допомогою магнітних частинок  **Аналіз нуклеїнових кислот**  Рестрикційний аналіз  Електрофорез  Методи фарбування  Блотинг нуклеїнової кислоти  Виділення фрагментів нуклеїнової кислоти  LC-MS олігонуклеотидів  **Методи гібридизації та виявлення нуклеїнових кислот**  Основні принципи гібридизації  Зонди для аналізу нуклеїнової кислоти  Методи маркування  Системи виявлення  Ампліфікаційні системи  **Ланцюгова полімеразна реакція та її різновиди**  **Секвенування ДНК**  Методи секвенування ДНК з використанням гелів  Безгелеві методи секвенування ДНК  **Аналіз епігенетичних модифікацій**  Огляд методів виявлення модифікацій ДНК  Аналіз метилювання бісульфідним методом  Аналіз метилювання ДНК специфічними ендонуклеазами рестрикції  Аналіз метилювання за допомогою білків, що зв'язують метилцитозин  Аналіз метилювання специфічними до метилцитозину антитілами  Аналіз метилювання методом гідролізу ДНК  Аналіз епігенетичних модифікацій хроматину  Аналіз взаємодії хромосом  **Взаємодія білок-нуклеїнова кислота**  Спеціальні аналітичні методи  ДНК-футпринтинг  Методи фізичного аналізу  РНК-білкові взаємодії  Характерні мотиви білків, які зв'язують РНК  Спеціальні методи аналізу РНК-білкових комплексів  Тригібридний метод  Аптамери та процедура Selex  Направлені мутації у зв'язуючих доменах  **Аналіз даних послідовності**  Аналіз послідовності та біоінформатика  Послідовність: абстракція біомолекул  Інтернет-бази даних та послуги  Аналіз послідовності в Інтернеті  Склад послідовностей  Шаблони послідовностей  Вирівнювання за кількома послідовностями та консенсусами  **Аналіз сили промотора та синтезу РНК**  Методи аналізу транскриптів РНК  Аналіз синтезу РНК in vivo  Транскрипція in vitro у безклітинних екстрактах  In vivo аналіз промоторної активності в клітинах ссавців  **Флуоресцентна гібридизація in situ в молекулярній цитогенетиці**  Методи флуоресцентної гібридизації ДНК  Застосування: Фізичне та генетичне картування геномів FISH та CGH  Генетичне картфування: локалізація генетичних маркерів у геномі  Фізичне картографування  Інтеграція карт геномів  **Технологія ДНК-мікрочипів**  Аналіз транскриптома  Сплайсинг РНК  Генотипування  Дослідження метилювання  ДНК-секвенування  Порівняльна геномна гібридизація (CGH)  Взаємодія білок–ДНК  **Використання олігонуклеотидів як засобів у клітинній біології**  Антисенсові олігонуклеотиди  Рибозими  РНК-інтерференція та мікроРНК  Аптамери: високоафінні РНК- та ДНК-олігонуклеотиди  Редагування геному за допомогою CRISPR / Cas  **Аналіз протеомів**  Загальні аспекти аналізу протеомів  Визначення стартових умов та планування проекту  Підготовка зразка для аналізу протеомів  Кількісний аналііз протеомів на основі білка (протеоміка зверху вниз)  Кількісний аналіз протеомів на основі пептидів (протеоміка знизу вгору)  Стабільне маркування ізотопів у кількісній протеоміці  **Технологічні платформи для метаболомічного метаболізму**  **Інтерактоміка - систематичні білково-білкові взаємодії** |
| **Опитування** | Анкету-оцінку з метою оцінювання якості курсу буде надано по завершенню курсу. |

Таблиця 1

Схема курсу «**Сучасні методи експериментальної біології**»

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Тиж  день | Тема занять (перелік питань) | Форма діяльності  та обсяг годин | Додаткова література / ресурс для виконання завдань (за потреби) | Термін виконання |
| **Змістовий модуль 1. Методи структурного аналізу біомолекул та їхніх комплексів** | | | | |
| 1 | **Тема 1.** Вступ. Історія створення та основні принципи сучасних методів клітинної біології | Лекції – 2 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 1, 2 | **Тема 2.** Модельні об'єкти в експериментальній біології та біомедицині | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 2, 3 | **Тема 3.** Дослідження структури білків та їхніх комплексів | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 3, 4 | **Тема 4.** Визначення 3-D структури біомолекул | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 4, 5 | **Тема 5.** Структурний аналіз пептидів, вуглеводів та ліпідів. | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 5 | **Тема 6.** Методи дослідження структури нуклеїнових кислот | Лекції – 2 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| **Змістовий модуль 2. Методи функціонального аналізу біологічних компонентів клітини** | | | | |
| 6 | **Тема 7.** Аналіз даних нуклеотидних та амінокислотних послідовностей | Лекції – 2 год,  самостійна робота – 2 год |  | 1 тиждень |
| 6 | **Тема 8.** Аналіз сили промотора та синтезу РНК | Лекції – 2 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 7 | **Тема 9.** Флуоресцентна гібридизація *in situ* в молекулярній цитогенетиці. Фізико-генетичне картування геномів | Лекції – 2 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 7 | **Тема 10.** Технологія ДНК-мікрочипів. Використання олігонуклеотидів як інструментів у клітинній біології | Лекції – 2 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 8 | **Тема 11.** Аналіз протеомів | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 9 | **Тема 12.** Метаболоміка та пептидоміка | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |
| 10 | **Тема 13.** Інтерактоміка – систематизація білок-білкових взаємодій | Лекції – 4 год,  самостійна робота – 5 год |  | 1 тиждень |

Автор Олена СТАСИК

«ПОГОДЖЕНО»

Голова методичної ради

біологічного факультету

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ доц. Віталій ГОНЧАРЕНКО

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2022 р.

Гарант ОПП

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ доц. Ігор ХАМАР

«\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2022 р.