

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
Кафедра біохімії

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

\_\_\_\_\_

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

Програма навчальної дисципліни

	<u>Методи молекулярної діагностики</u> (назва навчальної дисципліни)
напрямок	<u>6.040102 Біологія</u> (шифр, назва напрямку)
спеціальність	<u>8.04010201 – Біологія, 8.04010205 – Біохімія</u> (назва спеціальності)
спеціалізація	<u>Біохімія, Лабораторна діагностика</u> (назва спеціалізації)
факультет	<u>біологічний</u> (назва підрозділу)

2015/2016 навчальний рік

Програму рекомендовано до затвердження Вченою радою біологічного факультету

“ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20\_\_ року, протокол № \_\_\_\_\_

РОЗРОБНИКИ ПРОГРАМИ:

Нікітченко Ірина Василівна, к. б. н.,  
ст. наук. сп., доцент кафедри біохімії

Програму схвалено на засіданні кафедри \_\_\_\_\_ біохімії \_\_\_\_\_.

Протокол від “ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20\_\_ року, № \_\_\_\_\_

Завідувач кафедри \_\_\_\_\_ біохімії \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_ ( Перський Є. Е. )  
(підпис) (прізвище та ініціали)

Програму погоджено методичною комісією

\_\_\_\_\_ біологічного факультету \_\_\_\_\_  
назва факультету, для здобувачів вищої освіти якого викладається навчальна дисципліна

Протокол від “ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20\_\_ року № \_\_\_\_\_

Голова методичної комісії \_\_\_\_\_ біологічного факультету \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_ ( Догадіна Т.В. ) \_\_\_\_\_  
(підпис) (прізвище та ініціали)

## ВСТУП

Програма навчальної дисципліни «Методи молекулярної діагностики»  
складена відповідно до освітньо-професійної програми підготовки  
другого (магістерського) рівня вищої освіти

спеціальності 8.04010201 – Біологія, 8.04010205 – Біохімія.  
спеціалізації Біохімія, Лабораторна діагностика.

**Предметом** вивчення навчальної дисципліни «Методи молекулярної діагностики» є сучасні методи виділення, очищення та аналізу нуклеїнових кислот і їх компонентів.

Програма навчальної дисципліни складається з таких розділів:

1. Методи виділення та очистки нуклеїнових кислот.
2. Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот у біологічних зразках.
3. Електрофоретичні методи фракціонування та аналізу нуклеїнових кислот.
4. Хроматографічні методи фракціонування та аналізу нуклеїнових кислот.

### ***1. Мета та завдання навчальної дисципліни***

1.1. Метою викладання навчальної дисципліни «Методи молекулярної діагностики» є формування у студентів цілісної системи сучасних теоретичних знань та практичних навичок для проведення виділення, очищення та аналізу нуклеїнових кислот із біологічного матеріалу за допомогою сучасних методів.

1.2. Основними завданнями вивчення дисципліни «Регуляція обміну речовин» є здобуття сучасних теоретичних знань і освоєння методів виділення, очищення та якісного і кількісного аналізу нуклеїнових кислот із різного біологічного матеріалу.

1.3. Згідно з вимогами освітньо-професійної програми, студенти мають досягти таких результатів навчання:

1.3.1 Знання:

- структури, фізико-хімічних властивостей нуклеїнових кислот та їх компонентів;
- принципів сучасних методів дослідження нуклеїнових кислот.

#### 1.3.2 Вміння:

- підбирати та адекватно застосовувати методи виділення, очищення й аналізу нуклеїнових кислот відповідно до виду біологічного зразка та мети і задач експерименту;
- планувати та здійснювати дослідження нуклеїнових кислот і їх компонентів, аналізувати отримані результати, формулювати висновки.

#### 1.3.3 Комунікація:

- надавати характеристики препаратам нуклеїнових кислот за результатами їх якісного та кількісного аналізу, використовуючи відповідну термінологію.

#### 1.3.4 Автономність і відповідальність:

- самостійний пошук інформації щодо сучасних методів дослідження нуклеїнових кислот та практичне застосування отриманих знань при вирішенні завдань відповідно до спеціалізації;
- відповідальність за аналіз результатів якісного і кількісного визначення нуклеїнових кислот у різних видах біологічних зразків.

## 2. Опис навчальної дисципліни

Найменування показника	Галузь знань (предметна область), напрям, спеціальність, рівень вищої освіти / освітньо-кваліфікаційний рівень	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 4	Галузь знань <u>Біологія</u> Напрямок: <u>6.040102 Біологія</u>	За вибором студента (Цикл професійної та практичної підготовки)	
Індивідуальне завдання _____ (назва)	Спеціальність: 8.04010201 – Біологія, 8.04010205 – Біохімія	Рік підготовки	
Загальна кількість годин для денної/заочної форми навчання <u>120 год/120 год</u>	Рівень вищої освіти (освітньо-кваліфікаційний рівень) <u>другий (магістерський)</u>	1-й	1-й
Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 3; самостійної роботи студента – 3,6		Семестр	
		1-й	1-й
		Лекції	
		– год.	– год.
		Практичні, семінарські	
		– год.	– год.
		Лабораторні	
		54	16
		Самостійна робота	
		66 год.	104 год.
		Індивідуальні завдання:	
		– год.	
		Вид контролю:	
		залік	залік

### Примітка.

Співвідношення кількості годин аудиторних занять до самостійної і індивідуальної роботи становить (%):

для денної форми навчання – 45 / 55

для заочної форми навчання – 13 / 87

### **3. Виклад змісту навчальної дисципліни**

#### **Розділ 1. Методи виділення та очистки нуклеїнових кислот.**

Тема 1. Критерії вибору найбільш оптимального методу виділення нуклеїнових кислот. Методи очистки нуклеїнових кислот (виділення/осадження, хроматографія, центрифугування, афінне розділення). Особливості роботи з ДНК. Виділення і очистка ДНК за методом Мармура.

Тема 2. Особливості роботи з РНК. Виділення препарату РНК методом фенольної екстракції (лізис клітинних мембран додецилсульфатом натрію, екстракція фенолом, осадження етанолом РНК).

#### **Розділ 2. Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот у біологічних зразках.**

Тема 1. Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот, що ґрунтуються на визначенні вмісту їх складових компонентів: азотистих основ, пентоз і фосфору нуклеїнових кислот. Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту нуклеїнових кислот за методом О.С. Спіріна. Оцінка чистоти препаратів ДНК та РНК і ступеня деградації нуклеїнових кислот. Визначення вмісту ДНК з дифеніламіном за модифікацією Бартонна. Електрофоретичний метод оцінки концентрації препаратів ДНК або РНК за інтенсивністю флуоресценції УФ-світлі.

#### **Розділ 3. Електрофоретичні методи фракціонування та аналізу нуклеїнових кислот.**

Тема 1. Гель-електрофорез. Особливості електрофорезу нуклеїнових кислот. Маркери розмірів ДНК і РНК. Фарбування нуклеїнових кислот після електрофорезу. Електрофорез сумарної РНК у агарозополіакріламідному гелі. Фарбування РНК після електрофорезу, сканування електрофореграм і розрахунок процентного вмісту кожної фракції РНК.

#### **Розділ 4. Хроматографічні методи фракціонування та аналізу нуклеїнових кислот.**

Тема 1. Принципи хроматографічного розділення. Типи хроматографії, що застосовуються для фракціонування нуклеїнових кислот. Визначення нуклеотидної складу ДНК методом тонкошарової хроматографії (кислотний гідроліз ДНК, нанесення гідролізату ДНК і розчинів основ-«свідків» на платівку, проведення розділення, визначення локалізації основ на хроматограмі в УФ-світлі, елюція і спектрофотометрія).

### 3. Структура навчальної дисципліни

Назви розділів і тем	Кількість годин											
	Денна форма					Заочна форма						
	Ус ьог о	у тому числі					Ус ьог о	у тому числі				
		л	п	л.б	і н д	с.р		л	п	лб	ін д	с.р
<b>Розділ 1. Методи виділення та очистки нуклеїнових кислот</b>												
Тема 1. Методи очистки нуклеїнових кислот. Особливості роботи з ДНК. Виділення і очистка ДНК за методом Мармура	25			12		13	27				27	
Тема 2. Виділення препарату РНК методом фенольної екстракції. Особливості роботи з РНК.	25			12		13	28			8	20	
Разом за розділом 1	50			24		26	55			8	47	
<b>Розділ 2. Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот у біологічних зразках</b>												
Тема 1. Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот. Спектрофотометричне кількісне визначення вмісту нуклеїнових кислот	10			3		7	14			4	10	
Разом за розділом 2	10			3		7	14			4	10	
<b>Розділ 3. Електрофоретичні методи фракціонування та аналізу нуклеїнових кислот</b>												
Тема 1. Гель-електрофорез. Особливості електрофорезу нуклеїнових кислот. Електрофорез сумарної РНК у поліакриламідно-агарозному гелі.	31			14		17	27				27	
Разом за розділом 3	31			14		17	27				27	
<b>Розділ 4. Хроматографічні методи фракціонування та аналізу нуклеїнових кислот</b>												
Тема 1. Типи хроматографії, що застосовуються для фракціонування нуклеїнових. Визначення нуклеотидної складу ДНК методом тонкошарової хроматографії	29			13		16	24			4	20	
Разом за розділом 4	29			13		16	24			4	20	
<b>Усього годин</b>	<b>120</b>			<b>54</b>		<b>66</b>	<b>120</b>			<b>8</b>	<b>104</b>	

#### 4. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин	
		Денна форма	Заочна форма
1.	Виділення і очистка ДНК за методом Мармура	12	–
2.	Виділення препарату РНК методом фенольної екстракції	12	8
3.	Спектрофотометричне кількісне визначення вмісту нуклеїнових кислот. Оцінка чистоти препаратів ДНК та РНК	3	4
4.	Електрофорез сумарної РНК у поліакріламідно-агарозному гелі	14	–
5.	Визначення нуклеотидної складу ДНК методом тонкошарової хроматографії	13	4
	Разом	54	16

#### 5. Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин		Форма контролю
		Денна форма	Заочна форма	
1.	Методи очистки нуклеїнових кислот. Особливості роботи з ДНК. Виділення і очистка ДНК за методом Мармура. Підготовка до лабораторної роботи	13	27	Усне опитування, захист лабораторної роботи, залік
2.	Особливості роботи з РНК. Виділення препарату РНК методом фенольної екстракції. Підготовка до лабораторної роботи	13	20	Усне опитування, захист лабораторної роботи, залік
3.	Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот. Спектрофотометричне кількісне визначення вмісту нуклеїнових кислот. Оцінка чистоти препаратів ДНК та РНК. Підготовка до лабораторної роботи	7	10	Усне опитування, захист лабораторної роботи, залік
4.	Гель-електрофорез. Особливості електрофорезу нуклеїнових кислот. Електрофорез сумарної РНК у поліакріламідно-агарозному гелі. Підготовка до лабораторної роботи	17	27	Усне опитування, захист лабораторної роботи, залік
5.	Типи хроматографії, що застосовуються для фракціонування нуклеїнових. Визначення нуклеотидної складу ДНК методом тонкошарової хроматографії. Підготовка до лабораторної роботи	16	20	Усне опитування, захист лабораторної роботи, залік
	Разом	66	104	

#### 6. Методи навчання

Лабораторні заняття, методичні вказівки до лабораторних занять, консультації, захист результатів лабораторних робіт.



Лабораторні заняття передбачають здобуття знань про методи біохімічних та молекулярно-біологічних досліджень та набуття практичних навичок їх застосування. Під час лабораторних занять здобуваються вміння підбирати та адекватно застосовувати методи дослідження нуклеїнових кислот, правильно документувати результати, обробляти й тлумачити отримані експериментальні дані.

## 7. Методи контролю

Методи усного контролю (здійснюється усне опитування з метою контролю засвоєння теоретичних положень, що необхідні для виконання лабораторної роботи), методи письмового контролю (підсумковий семестровий контроль – залік), контроль за веденням лабораторного журналу.

## 8. Розподіл балів, які отримують студенти

Поточний контроль та самостійна робота				Разом	Залік	Сума
Розділ 1		Розділ 2	Розділ 3			
T1	T2	T1	T1	T1		
Розділ включає 2 лабораторні роботи. Загальна сума балів за розділ – 24 бали	Розділ включає 1 лабораторну роботу. Загальна сума балів за розділ – 12 балів	Розділ включає 1 лабораторну роботу. Загальна сума балів за розділ – 12 балів	Розділ включає 1 лабораторну роботу. Загальна сума балів за розділ – 12 балів	60	40	100

T1, T2 ... T12 – теми розділів

За успішне виконання лабораторної роботи (самостійна робота на лабораторних заняттях, оформлення протоколу у лабораторному журналі і захист результатів) студентам присвоюється 12 балів.

До підсумкового семестрового контролю (заліку) допускаються студенти, які виконали всі лабораторні роботи, що передбачені навчальною програмою, та за поточну навчальну діяльність набрали не менше 30 балів.

Підсумковий контроль (залік) проводиться у вигляді письмової контрольної роботи, завдання якої охоплюють основні розділи дисципліни.

## 9. Шкала оцінювання

Сума балів за всі види навчальної діяльності протягом семестру	Оцінка за національною шкалою	
	для екзамену	для заліку
90–100	відмінно	зараховано
70–89	добре	
50–69	задовільно	
1–49	незадовільно	не зараховано

## 9. Рекомендоване методичне забезпечення

### Базова література

1. Антонова О. С., Корнева Н. А., Белов Ю. В., Курочкин В. Е.// Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии (обзор). / Научное приборостроение.- 2010, Т. 20, № 1- С.3-9.
2. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. Пер. с англ./ Под ред О. Микеша. - М.:Мир, 1982.- Ч.1 - 400 с.
3. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. Пер. с англ./ Под ред О. Микеша. - М.:Мир, 1982.- Ч.2 - 381 с.
4. Маниатис Т., Э. Фрич, Дж. Сэмбрук Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984.
5. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. Пер. с англ. (под ред. С Херрингтона, Дж. Макги. – М.: Мир, 1999. – 558 с.
6. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.: Наука, 1981.-288 с.
7. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985.-536 с.
8. Практикум по биохимии: Учеб. пособие/Под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. – М.:Изд.-во МГУ, 1989. – 509 с.
9. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот /Биохимия//1958. – Т. 23. – вып. 5. – с. 656–662.

10. Цанев Р. Г., Марков Г. Г. К вопросу о количественном спектрофотометрическом определении нуклеиновых кислот /Биохимия//1960. – Т. 25. – вып. 1. – с. 151–159.
11. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. // Гааль Э., Медьеши Г., Верецкеи Л./ Пер. с англ. - М.:Мир, 1982. - 448 с.

### **Допоміжна література**

1. Великов В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство: Учеб. пособие для студ. биол. фак. и фак. нано- и биомед. технол.. – Саратов: Издательство «Саратовский источник», 2013. – 84 с.: ил.
2. Девис Р., Бодстайн Д., Рот Дж. Методы генетической инженерии. Генетика бактерий: Пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 176 с., ил.
3. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. – М.: Высш. шк., 2000. – 479 с.
4. Сиволоб, А.В. Молекулярна біологія : підручник. К. : Вид.-поліграф. центр Київський університет, 2008. - 384 с.
5. Транскрипция и трансляция. Методы: Пер. с англ./Под ред. Б. Хеймса и С. Хиггинса. – М.: Мир, 1987. 400 с., ил.
6. Jeremy W. Dale, Malcolm Von Schantz From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology/ John Wiley & Sons Ltd, 2002. – 360 pp.

### **Інформаційні ресурси**

1. Підручники, наукові монографії, обзори на сайті **www.molbiol.ru**
2. Сайт Московського державного університету **www.msu.ru**