

**Тематический план занятий семинарского типа
по дисциплине «Большой практикум по молекулярной биологии»
для обучающихся по образовательной программе
бакалавриата
по направлению подготовки 06.03.01 Биология
направленность (профиль) Биохимия,
форма обучения очная
на 2023- 2024 учебный год**

№	Тематические блоки	Часы (академ.)
1.	<p>Ознакомление с оборудованием, посудой и реактивами для молекулярно-биологических исследований¹. Оборудование: амплификатор, термостат твердотельный, термостат суховоздушный, камера для электрофореза, источник постоянного тока для электрофореза, трансиллюминатор, центрифуга-вортекс, высокоскоростная центрифуга, одноканальные дозаторы переменного объема, штативы (для пробирок, микропробирок, наконечников). Стеклянная посуда общего назначения: лабораторные стаканы, пробирки (химические, биологические, центрифужные), колбы (плоскодонные, круглодонные, конические, Бунзена, Вюрца), воронки (для фильтрования, делительные, капельные), бюксы, кристаллизаторы, эксикаторы, мерная посуда (мерные колбы, мерные цилиндры, мензурки, пипетки), чашки Петри. Фарфоровая посуда общего назначения: ступки с пестиками, стаканы, шпатели, ложки. Пластиковая посуда общего и специального назначения: пробирки, микропробирки, пипетки, пипетки Пастера, чашки Петри, наконечники для дозаторов (с фильтрами, без фильтров), микропланшеты. Реактивы разных квалификаций в упаковках разных производителей: хлорид натрия (чда), динатриевая соль ЭДТА (хч), бромфеноловый синий (reagent grade)².</p>	1
2.	<p>Овладение приемами обращения с оборудованием и посудой, используемыми для молекулярно-биологических исследований.¹ Формирование умений взвешивания, центрифугирования, перемешивания и дозирования жидкостей на примере регенерации силикагеля.²</p>	1
3	<p>Приготовление однокомпонентных растворов с заданной концентрацией.¹ Приготовление растворов из сухих навесок (10% (w/w) додецилсульфат натрия, 5М хлорид натрия, 2н гидроксид натрия, 100мМ хлорид магния, сахара 0,1 г/мл). Приготовление растворов с меньшей концентрацией из растворов с большей концентрацией путем разведения (1% (w/v) додецилсульфат натрия, 3М хлорид натрия, 0,5н гидроксид натрия, 25мМ хлорид магния, сахара 0,04 г/мл).²</p>	2
4	<p>Приготовление буферных растворов с заданной концентрацией и рН-среды.¹ Приготовление 0,08М раствора триса ацетатного (рН 8,0). Приготовление 0,178М раствора триса боратного (рН 8,0). Приготовление 0,025М раствора ЭДТА·Na₃ (рН 8,0). Приготовление</p>	2

	0,08М раствора триса ацетатного (рН 8,0). Приготовление однократного трис-ацетатного буфера (ТАЕ), рН 8,0. Приготовление однократного трис-боратного буфера (ТВЕ), рН 8,0. ²	
5	Определение рН буферных растворов с помощью рН-метра. ¹ Подготовка электрода к работе. Градуировка рН-метра. Измерение рН буферных растворов. ²	2
6	Стерилизация лабораторной посуды, расходных материалов, инструментов и растворов . ¹ Прокаливание бактериологической петли в пламени спиртовки, стерилизация пипеток кипячением, стерилизация стеклянной посуды сухим жаром, стерилизация растворов фильтрованием через бактериальные фильтры (глубинные и мембранные). ²	2
7	Посев штаммов кишечной палочки на плотную и жидкую питательные среды. ¹ Посев штаммов <i>E. coli</i> JM109, рUC19 и рBR322 на агар и в бульон на основе кислотного гидролизата казеина (JM109 – на среды без антибиотиков; рUC19 и рBR322 – на среды с добавлением ампициллина). ²	2
8	Качественные реакции на белки. ¹ Приготовление раствора белка. Проведение цветных реакций на белки. Осаждение белков из растворов. ²	2
9	Выделение водорастворимых белков из культуры кишечной палочки. ¹ Приготовление экстрагирующего раствора для выделения водорастворимых белков из культуры кишечной палочки. Приготовление суспензии клеток из культуры кишечной палочки, выращенной на плотной питательной среде. Выделение водорастворимых белков из культуры кишечной палочки. Проведение цветной реакции с раствором выделенного белка. ²	2
10	Выделение геномной ДНК нейтральным методом из культуры кишечной палочки. ¹ Приготовление взвеси клеток из культуры кишечной палочки в растворе лизоцима (1 мг/мл); осуществление лизиса клеток путем добавления лизирующего раствора (1% додецилсульфат натрия, 25 мМ ЭДТА); высаливание белков 5М раствором хлорида натрия; осаждение ДНК 96%-ным этиловым спиртом. ²	2
11	Выделение геномной ДНК нейтральным методом из культуры кишечной палочки. ¹ Лиофилизация геномной ДНК с последующим растворением в дистиллированной воде. Приготовление агарозного геля и проведение электрофореза геномной ДНК различных штаммов <i>E. coli</i> . ²	2
12	Выделение плазмидной ДНК щелочным методом из культуры кишечной палочки ¹ Приготовление взвеси клеток из осадка бульонной культуры кишечной палочки в растворе, содержащем: лизоцим (1 мг/мл), глюкозу 50мМ, ЭДТА 10мМ, Трис-НСl 25мМ (рН 8,0); осуществление лизиса клеток путем добавления лизирующего раствора (1% додецилсульфат натрия; 0,2М ЭДТА); высаливание белков 3М ацетатом натрия (рН 4,8); осаждение ДНК 96%-ным этиловым спиртом. ²	2

	Выделение плазмидной ДНК щелочным методом из культуры кишечной палочки (Часть 2). ¹ Приготовление взвеси клеток из осадка бульонной культуры кишечной палочки в растворе, содержащем: лизоцим (1 мг/мл), глюкозу 50мМ, ЭДТА 10мМ, Трис-НСl 25мМ (рН 8,0); осуществление лизиса клеток путем добавления лизирующего раствора (1% додецилсульфат натрия; 0,2М ЭДТА); высаливание белков 3М ацетатом натрия (рН 4,8); осаждение ДНК 96%-ным этиловым спиртом. ²	2
13	Выделение плазмидной ДНК щелочным методом из культуры кишечной палочки. ¹ Лиофилизация плазмидной ДНК с последующим растворением в дистиллированной воде. Приготовление агарозного геля и проведение электрофореза плазмидной ДНК различных штаммов <i>E. coli</i> . ²	2
14	Рестрикционный анализ плазмидной ДНК кишечной палочки. ¹ Приготовление реакционной смеси для рестрикции (рестрикционный буфер, эндонуклеаза рестрикции, бидистиллированная вода). Внесение плазмидной ДНК кишечной палочки в реакционную смесь с последующей инкубацией при оптимальной для фермента температуре. ²	2
15	Рестрикционный анализ плазмидной ДНК кишечной палочки. ¹ Приготовление агарозного геля и проведение электрофореза рестрикционных фрагментов плазмидной ДНК <i>E. coli</i> . ²	2
16	Проведение полимеразной цепной реакции с использованием ДНК плазмиды рUC19 кишечной палочки (Часть 1). ¹ Подготовка реакционной смеси, настройка термоциклера и проведение амплификации. ²	2
17	Проведение полимеразной цепной реакции с использованием ДНК плазмиды рUC19 кишечной палочки (Часть 1). ¹ Приготовление агарозного геля. Учет результатов ПЦР методом горизонтального электрофореза. ²	2
18	Промежуточная аттестация	2
	Итого	36

¹ - тема

² - сущностное содержание

Рассмотрено на заседании кафедры молекулярной биологии и генетики «06» июня 2023 г., протокол № 10 а

Заведующий кафедрой



А.В.Топорков