

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского»**

Институт биологии и биомедицины
(факультет / институт / филиал)

УТВЕРЖДЕНО
решением ученого совета ННГУ
протокол от
«25» января 2023 г. № 1

Рабочая программа дисциплины

Клеточные технологии

(наименование дисциплины (модуля))

Уровень высшего образования

магистратура

(бакалавриат / магистратура / специалитет)

Направление подготовки / специальность

19.04.01 Биотехнология

(указывается код и наименование направления подготовки / специальности)

Направленность образовательной программы

Общая биотехнология

(указывается профиль / магистерская программа / специализация)

Форма обучения

очная

(очная / очно-заочная / заочная)

Нижегород

2023 год

1. Место дисциплины в структуре ООП

Дисциплина Б1.В.ДВ.03.01 Клеточные технологии относится к части Блока 1 ООП направления подготовки 19.04.01 «Биотехнология», формируемой участниками образовательных отношений.

2. Планируемые результаты обучения по дисциплине, соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями и индикаторами достижения компетенций)

| Формируемые компетенции (код, содержание компетенции) | Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), в соответствии с индикатором достижения компетенции | | Наименование оценочного средства |
|---|---|---|--|
| | Индикатор достижения компетенции (код, содержание индикатора) | Результаты обучения по дисциплине | |
| ПК-1 Способен выполнять фундаментальные, прикладные и поисковые научные исследования и разработки в области биологии и биотехнологии | ПК-1.1. Выполняет работы по обработке и анализу научно-технической информации и результатов исследований в области фундаментальных, прикладных и поисковых научных исследований и разработок в области биологии и биотехнологий. | <i>Знать современные методы клеточных технологий, используемых в экспериментальных исследованиях в области биологии и биотехнологий</i> | <i>Вопросы для устного опроса, доклад с презентацией, дискуссия Вопросы к зачету Контрольная работа Отчет к лабораторной работе</i> |
| | ПК-1.2. Может ставить цели, обосновывать методы и анализировать результаты фундаментальных, прикладных и поисковых научных исследований и разработок в области биотехнологий и биологии. | <i>Уметь построить дизайн эксперимента с применением методов клеточных технологий в соответствии с целями и задачами исследования</i> | |
| | ПК-1.3. Применяет методы проведения научных исследований и разработок, | <i>Владеть методами клеточных технологий для проведения экспериментальных исследований in vitro в области биологии и биотехнологий</i> | |

| | | | |
|---|---|--|--|
| | осуществляет выполнение экспериментов в области биологии и биотехнологий. | | |
| ПК-3. Способен управлять действующими биотехнологическими процессами и производством | ПК-3.1. Понимает принципы организации производственных и технологических процессов производства биотехнологической продукции. | <i>Знать основные нормативные документы и правила построения экспериментального исследования в области биологии и биотехнологий с применением методов клеточных технологий</i> | <i>Вопросы для устного опроса,</i> <i>доклад с презентацией,</i> <i>дискуссия,</i> <i>контрольная работа</i> <i>Вопросы к зачету</i> <i>Отчет к лабораторной работе</i> |
| | ПК-3.2. Может вести основные технологические процессы производства биотехнологической продукции. | <i>Уметь критически анализировать адекватность выбора методов клеточных технологий для проведения экспериментального исследования и адаптировать при необходимости дизайн экспериментального исследования в области биологии и биотехнологий</i> | |
| | ПК-3.3. Осуществляет контроль за выполнением производственных заданий на всех стадиях технологического процесса производства биотехнологической продукции. | <i>Способен осуществлять контроль за корректным выполнением экспериментального исследования в области биологии и биотехнологий с применением методов клеточных технологий</i> | |

3. Структура и содержание дисциплины

3.1 Трудоемкость дисциплины

| | |
|--|-----------------------------|
| | очная форма обучения |
| Общая трудоемкость | 3 ЗЕТ |
| Часов по учебному плану | 108 |
| в том числе | |
| аудиторные занятия (контактная работа): | 86 |
| - занятия лекционного типа | 28 |
| - лабораторные работы | 16 |
| - практические занятия | 42 |

| | |
|---|-----------|
| самостоятельная работа | 21 |
| КСР | 1 |
| Промежуточная аттестация – зачет | |

3.2. Содержание дисциплины

| Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), | Всего (часы) | в том числе | | | | | Самостоятельная работа обучающегося, часы |
|---|--------------|---|----------------------------|---------------------------|-------|-------|---|
| | | контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы | | | | | |
| | | из них | | | | | |
| | | Занятия лекционного типа | Занятия лабораторного типа | Занятия семинарского типа | Всего | | |
| | Очная | Очная | Очная | Очная | Очная | Очная | |
| Тема 1. Основные правила работы в культуральном боксе. Правила техники безопасности при работе с лабораторным оборудованием и реактивами, выполнение правил асептики и антисептики | 7 | 2 | 0 | 3 | 5 | 2 | |
| Тема 2. Принципы постановки и основные этапы экспериментального исследования in vitro. Правила постановки положительных и отрицательных контролей. | 6 | 2 | 0 | 2 | 4 | 2 | |
| Тема 3. Постоянные клеточные линии и принципы их культивирования: типы клеточных линий и способ их культивирования, видовая идентификация клеточных линий, паспорт клеточной линии, основной состав питательных сред для культивирования, правила посева, контроль контаминации клеточных линий, криоконсервация и правила разморозки клеточных линий | 24 | 6 | 8 | 8 | 22 | 2 | |
| Тема 4. Первичные клеточные культуры, особенности их получения и культивирования. Понятия экспланта, органоида, сфероида, органотипических культур | 10 | 2 | 0 | 4 | 6 | 4 | |
| Тема 5. Методы визуализации культур клеток и тканей. Световая микроскопия, флуоресцентная микроскопия, конфокальная микроскопия, микроскопия с высоким разрешением. Флуоресцентные красители. | 20 | 6 | 0 | 10 | 16 | 4 | |
| Тема 6. Методы оценки жизнеспособности клеточных культур (подсчет клеток в камере Горяева, окраска трипановым синим, МТТ тест, метод оценки жизнеспособности с помощью бисбензимида и пропидиум иодида, препаратная | 19 | 4 | 8 | 5 | 17 | 2 | |

| | | | | | | |
|---|-----|----|----|----|----|----|
| окраска) | | | | | | |
| Тема 7. Иммунохимические методы исследований клеточных культур и тканей | 8 | 2 | 0 | 4 | 6 | 2 |
| Тема 8. Методы генетической трансформации культур клеток и тканей | 13 | 4 | 0 | 6 | 10 | 3 |
| <i>Промежуточная аттестация - зачет</i> | | | | | | |
| Итого | 107 | 28 | 16 | 42 | 86 | 21 |

Текущий контроль успеваемости реализуется в рамках занятий семинарского типа и индивидуальных консультаций.

Промежуточный контроль осуществляется при проведении зачета.

4. Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы обучающихся

Самостоятельная работа направлена на изучение всех тем, рассмотренных на лекциях и занятиях практического типа (согласно таблице Содержание дисциплины) и включает работу в читальном зале библиотеки и в домашних условиях, с доступом к ресурсам Интернет, а также подготовка обучающимися докладов с презентациями.

Цель самостоятельной работы – подготовка современного компетентного специалиста и формирование способностей и навыков к непрерывному самообразованию и профессиональному совершенствованию.

Самостоятельная работа является наиболее деятельным и творческим процессом, который выполняет ряд дидактических функций: способствует формированию диалектического мышления, вырабатывает высокую культуру умственного труда, совершенствует способы организации познавательной деятельности, воспитывает ответственность, целеустремленность, систематичность и последовательность в работе студентов, развивает у них бережное отношение к своему времени, способность доводить до конца начатое дело.

Изучение понятийного аппарата дисциплины.

Вся система индивидуальной самостоятельной работы должна быть подчинена усвоению понятийного аппарата, поскольку одной из важнейших задач подготовки современного грамотного специалиста является овладение и грамотное применение профессиональной терминологии. Лучшему усвоению и пониманию дисциплины помогут учебники, монографии, справочники и интернет ресурсы, указанные в списке литературы.

Самостоятельная работа студента в аудиторное время:

включает интерпретацию результатов лабораторных и инструментальных методов исследования.

Работа над основной и дополнительной литературой

Изучение рекомендованной литературы следует начинать с учебников и учебных пособий, затем переходить к научным монографиям и материалам периодических изданий.

Студент должен уметь самостоятельно подбирать необходимую для учебной и научной работы литературу. При этом следует обращаться к предметным каталогам и библиографическим справочникам, которые имеются в библиотеках.

Для аккумуляции информации по изучаемым темам рекомендуется формировать личный архив, а также каталог используемых источников, что может использоваться не

только в рамках данного курса, но и для последующей подготовки к итоговой аттестации на выпускном курсе.

Изучение сайтов по темам дисциплины в сети Интернет

Ресурсы Интернет являются одним из альтернативных источников быстрого поиска требуемой информации. Их использование возможно для получения основных и дополнительных сведений по изучаемым материалам.

Самостоятельная работа по освоению материала проводится к практическим занятиям семинарского типа с привлечением конспектов лекций, знаний, полученных на предыдущих практических занятиях, основной и дополнительной литературы по всем темам курса. Кроме того, самостоятельная работа студентов по разделам включает подготовку к устным опросам и семинарским занятиям.

В рамках темы «Самостоятельная работа обучающихся» включает работу в библиотеке, в помещениях для самостоятельной работы и в домашних условиях, с доступом к ресурсам Интернет для подготовки к контрольным работам, устному опросу и дискуссии, подготовке доклада с презентацией, подготовке отчетов к контрольным работам

Подготовка к устному опросу, контрольной работе и групповой дискуссии

Устный опрос, контрольная работа и групповая дискуссия представляют собой систему заданий, позволяющих оценить уровень знаний по основным разделам, темам, проблемам дисциплины, а также умений обучающегося синтезировать материал предшествующих дисциплин.

При подготовке к устному опросу, контрольной работе и дискуссии необходимо:

- 1) ознакомиться с соответствующей темой программы изучаемой дисциплины;
- 2) изучить рекомендованную учебно-методическую литературу по данной теме;
- 4) тщательно изучить лекционный материал;
- 5) повторить материалы предшествующих дисциплин.

Подготовка докладов с презентацией

Подготовка докладов позволяет студентам глубже изучить темы курса, самостоятельно освоить изучаемый материал, пользуясь учебными пособиями и научными работами, а также подготовку презентации согласно теме доклада. Тема доклада назначается преподавателем, но также может инициироваться студентом.

При презентации материала на семинарском занятии можно воспользоваться следующим алгоритмом изложения темы: название, актуальность исследования, цели и задачи предмета исследования, оценка современного состояния вопроса, используемые материалы и методы исследования, выводы, перспективы развития и возможности внедрения. Время доклада – 7-10 минут. Презентация должна быть выполнена в программе PowerPoint. Презентация должна быть хорошо иллюстрирована (рисунками, схемами, таблицами), логически согласована с докладом. Желательно свободное изложение доклада без зачитывания печатного текста.

Отчет о лабораторной работе

Предполагает выполнение лабораторных работ согласно темам, представленными в фонде оценочных средств рабочей программы дисциплины «Клеточные технологии», и оформлением проведенного исследования в виде отчета.

Отчет о лабораторной работе предоставляется по следующим темам:

1. Постоянные клеточные линии. Выведение клеточной культуры из криоконсервации. Криоконсервация клеточной культуры.

2. Культивирование постоянных клеточных линий. Процедура пересева и оценка жизнеспособности методом трипанового синего.

3. Исследование острой токсичности in vitro методом МТТ теста.

Отчет должен быть оформлен согласно правилам ведения научной документации. В отчете должны быть отражены следующие разделы:

1. Введение. В данном разделе приводится краткий теоретический анализ литературы, отражающий актуальность проводимого исследования (не менее 3-5 ссылок)

2. Формулировка цели и задачи исследования

3. Перечисление материалов и используемого оборудования

4. Пошаговое описание хода исследования (ход работы)

5. Описание полученных в ходе исследования результатов, подвергнутых корректному статистическому анализу, с приложением иллюстративного материала (например, график, таблица)

6. Четкая формулировка выводов о проведенном исследовании согласно полученным результатам

7. Список использованных источников литературы, оформленный согласно ГОСТ 7.32 2017

Шаблон протокола лабораторной работы представлен в приложении 1 настоящей программы.

Подготовка к зачету

Промежуточная аттестация по итогам освоения дисциплины проходит в форме **зачета**. Подготовка к зачету является концентрированной систематизацией всех полученных знаний по дисциплине «Клеточные технологии».

В начале семестра рекомендуется внимательно изучить перечень вопросов к зачету по данной дисциплине, а также использовать в процессе обучения программу, другие методические материалы, разработанные по данной дисциплине. Это позволит в процессе изучения тем сформировать более правильное и обобщенное видение студентом существа того или иного вопроса за счет:

- а) уточняющих вопросов преподавателю;
- б) подготовки докладов по отдельным темам;
- в) самостоятельного уточнения вопросов на смежных дисциплинах;
- г) углубленного изучения вопросов темы по учебным пособиям.

Вопросы для подготовки к экзамену представлены в п.6 настоящей программы.

Контрольные вопросы и задания для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации по итогам освоения дисциплины приведены в п. 5.2.

5. Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю),

включающий:

5.1. Описание шкал оценивания результатов обучения по дисциплине

| Уровень | Шкала оценивания сформированности компетенций |
|---------|---|
|---------|---|

| сформированности компетенций (индикатора достижения компетенций) | плохо | неудовлетворительно | удовлетворительно | хорошо | очень хорошо | отлично | превосходно |
|--|--|--|---|---|--|---|---|
| | не зачтено | | зачтено | | | | |
| <u>Знания</u> | Отсутствие знаний теоретического материала. Невозможность оценить полноту знаний вследствие отказа обучающегося от ответа | Уровень знаний ниже минимальных требований. Имели место грубые ошибки. | Минимально допустимый уровень знаний. Допущено много негрубых ошибок. | Уровень знаний в объеме, соответствующем программе подготовки. Допущено несколько негрубых ошибок | Уровень знаний в объеме, соответствующем программе подготовки. Допущено несколько несущественных ошибок | Уровень знаний в объеме, соответствующем программе подготовки, без ошибок. | Уровень знаний в объеме, превышающем программу подготовки. |
| <u>Умения</u> | Отсутствие минимальных умений. Невозможность оценить наличие умений вследствие отказа обучающегося от ответа | При решении стандартных задач не продемонстрированы основные умения. Имели место грубые ошибки. | Продemonстрированы основные умения. Решены типовые задачи с негрубыми ошибками. Выполнены все задания, но не в полном объеме. | Продemonстрированы все основные умения. Решены все основные задачи с негрубыми ошибками. Выполнены все задания, в полном объеме, но некоторые с недочетами. | Продemonстрированы все основные умения. Решены все основные задачи. Выполнены все задания, в полном объеме, но некоторые с недочетами. | Продemonстрированы все основные умения, решены все основные задачи с отдельными несущественным недочетами, выполнены все задания в полном объеме. | Продemonстрированы все основные умения, решены все основные задачи. Выполнены все задания, в полном объеме без недочетов |
| <u>Навыки</u> | Отсутствие владения материалом. Невозможность оценить наличие навыков вследствие отказа обучающегося от ответа | При решении стандартных задач не продемонстрированы базовые навыки. Имели место грубые ошибки. | Имеется минимальный набор навыков для решения стандартных задач с некоторыми недочетами | Продemonстрированы базовые навыки при решении стандартных задач с некоторыми недочетами | Продemonстрированы базовые навыки при решении стандартных задач без ошибок и недочетов. | Продemonстрированы навыки при решении нестандартных задач без ошибок и недочетов. | Продemonстрирован творческий подход к решению нестандартных задач |

Шкала оценки при промежуточной аттестации

| Оценка | | Уровень подготовки |
|--------|--------------------|---|
| | превосходно | Все компетенции (части компетенций), на формирование которых направлена дисциплина, сформированы на уровне не ниже «превосходно», продемонстрированы знания, умения, владения по соответствующим компетенциям на уровне, выше предусмотренного программой |

| | | |
|-------------------|----------------------------|--|
| зачтено | отлично | Все компетенции (части компетенций), на формирование которых направлена дисциплина, сформированы на уровне не ниже «отлично», при этом хотя бы одна компетенция сформирована на уровне «отлично» |
| | очень хорошо | Все компетенции (части компетенций), на формирование которых направлена дисциплина, сформированы на уровне не ниже «очень хорошо», при этом хотя бы одна компетенция сформирована на уровне «очень хорошо» |
| | хорошо | Все компетенции (части компетенций), на формирование которых направлена дисциплина, сформированы на уровне не ниже «хорошо», при этом хотя бы одна компетенция сформирована на уровне «хорошо» |
| | удовлетворительно | Все компетенции (части компетенций), на формирование которых направлена дисциплина, сформированы на уровне не ниже «удовлетворительно», при этом хотя бы одна компетенция сформирована на уровне «удовлетворительно» |
| не зачтено | неудовлетворительно | Хотя бы одна компетенция сформирована на уровне «неудовлетворительно», ни одна из компетенций не сформирована на уровне «плохо» |
| | плохо | Хотя бы одна компетенция сформирована на уровне «плохо» |

5.2. Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для оценки результатов обучения.

5.2.1 Контрольные вопросы к зачету

| <i>вопросы</i> | <i>Код формируемой компетенции</i> |
|--|------------------------------------|
| 1. Правила техники безопасности при работе с лабораторным оборудованием, реактивами и работы в культуральном боксе | ПК-3 |
| 2. Основные этапы проведения экспериментального исследования. Понятия положительного и отрицательного контроля при постановке биологического эксперимента | ПК-3 |
| 3. Основные правила биоэтики и правовые документы для проведения экспериментальных исследований. Основные правила составления отчета о проведенном научном исследовании. Основные разделы. | ПК-3 |
| 4. Понятие «культивирование клеток in vitro». Преимущества и недостатки использования клеточных культур в экспериментальных исследованиях | ПК-3 |
| 5. Основные отличия постоянных клеточных линий и первичных культур клеток. Особенности нейрональных клеточных культур | ПК-3 |
| 6. Сфероид. Органоид. Определение, особенности культивирования и области применения в экспериментальных исследованиях | ПК-1 |
| 7. Эксплант. Органотипические культуры. Определение, особенности культивирования и области применения в экспериментальных исследованиях | ПК-1 |

| | |
|---|------|
| 8. Стволовые клетки. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Мезенхимальные стволовые клетки. Определение, особенности культивирования и области применения в экспериментальных исследованиях | ПК-1 |
| 9. Особенности культивирования постоянных клеточных линий. Морфологические типы клеточных культур и способ культивирования, понятие предела Хейфлика и контактного торможения | ПК-1 |
| 10. Паспорт культуры клеточной линии: основные характеристики | ПК-3 |
| 11. Состав культуральных сред: основные компоненты. Понятие кондиционной культуральной среды. Бессывороточное культивирование | ПК-3 |
| 12. Методы определения видовой идентификации клеточной линии | ПК-1 |
| 13. Методы определения контаминации клеточных линий мицелиальными микроорганизмами и дрожжами, бактериями с продолжительным латентным периодом (микрোকки и коринобактерии). Меры борьбы с данными видами контаминации | ПК-1 |
| 14. Микоплазменная инфекция клеточных культур: методы определения контаминации и применяемые меры борьбы | ПК-1 |
| 15. Криоконсервация. Классификация и характеристика отрицательных температур. Криопротекторы. Основные этапы проведения криоконсервации и выведения клеток из криоконсервации. | ПК-3 |
| 16. Понятие жизнеспособности и выживаемости клеток. Понятие острой и хронической токсичности, IC50. Прижизненная оценка жизнеспособности в культурах клеток и тканей (витальные красители) | ПК-3 |
| 17. Методы оценки жизнеспособности, связанные с оценкой целостности морфологии клеток | ПК-1 |
| 18. Методы оценки жизнеспособности, связанные с оценкой метаболической активности клеток | ПК-1 |
| 19. Препаратная окраска клеточных культур (срезов тканей): гистологические методы | ПК-1 |
| 20. Принцип устройства счетных камер. Камера Горяева, правило подсчета клеток | ПК-1 |
| 21. Основные принципы световой микроскопии. Темнопольная микроскопия, фазово-контрастная микроскопия | ПК-1 |
| 22. Понятие свет. Основные принципы флуоресцентной микроскопии. Диаграмма Яблонского. | ПК-3 |
| 23. Понятие флуорохром и флуорофор. Проблема автофлуоресценции биологических объектов. Способы | ПК-3 |

| | |
|---|------|
| снижения автофлуоресценции | |
| 24. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия | ПК-1 |
| 25. Многофотонная флуоресцентная микроскопия | ПК-1 |
| 26. Микроскопия высокого разрешения. 4-Pi микроскопия | ПК-1 |
| 27. Микроскопия высокого разрешения. STED микроскопия | ПК-1 |
| 28. Микроскопия высокого разрешения. STORM и PALM микроскопия | ПК-1 |
| 29. Микроскопия высокого разрешения. FLIM микроскопия | ПК-1 |
| 30. Микроскопия высокого разрешения. FRET микроскопия | ПК-1 |
| 31. Микроскопия высокого разрешения. FLIP микроскопия | ПК-1 |
| 32. Микроскопия высокого разрешения. FLAP микроскопия | ПК-1 |
| 33. Микроскопия высокого разрешения. FRAP микроскопия | ПК-1 |
| 34. Принципы фотоактивации, фотоконверсии, анкейджинга | ПК-1 |
| 35. Флуорофоры для оптического имиджинга. Ион-чувствительные красители | ПК-3 |
| 36. Флуорофоры для оптического имиджинга. Потенциал-зависимые красители | ПК-3 |
| 37. Оптогенетические методы визуализации | ПК-1 |
| 38. Иммугогистохимическое маркирование культур клеток и тканей. Понятие антиген, антитело. Структура антитела. Понятие поликлональных и моноклональных антител. Принцип прямого иммуноцитохимического маркирования и его основные этапы | ПК-1 |
| 39. Принцип непрямого иммуноцитохимического маркирования и его основные этапы. Постановка положительных и отрицательных контролей. Принцип подбора комбинаций антител | ПК-3 |
| 40. Фиксаторы для иммуноцитохимического маркирования: основные типы и их характеристика | ПК-3 |
| 41. Иммунохимическое маркирование культур клеток и тканей. Этап демаскирования | ПК-1 |
| 42. Иммуноферментный анализ. Принцип метода, классификация. | ПК-1 |
| 43. История развития генной инженерии. Способы модификации генома про- и эукариотических клеток. Понятия вектор, трансфекция, трансдукция | ПК-3 |
| 44. Создание рекомбинантной ДНК: основные этапы | ПК-1 |
| 45. Понятие трансдукции. Основные виды трансдукции и их характеристика | ПК-3 |
| 46. Методы трансфекции невирусными векторами. ДЭАЭ-декстрановый метод, кальций-фосфатный метод, катионные полимеры, микроинъекция, магнетофекция. Краткая характеристика, преимущества и недостатки | ПК-1 |
| 47. Методы трансфекции невирусными векторами. Липофекция, электропорация, метод генного пистолета, | ПК-1 |

| | |
|---|------|
| фототрансфекция. Краткая характеристика, преимущества и недостатки | |
| 48. Вирусы, используемые для разработки генетических конструкторов. Сравнение свойств вирусных векторов: краткая характеристика | ПК-3 |
| 49. Маркерные гены, используемые при проведении трансфекции, трансдукции. | ПК-3 |
| 50. Технология CRISPR/Cas9. Системы ZFNs и TALENs | ПК-1 |

5.2. Типовые контрольные задания для текущего контроля сформированности компетенции

5.2.1. Контрольные работы для оценки сформированности компетенции

(ПК-1)

Вариант 1.

В лабораторию от фармакологической компании X поступила разработанная ею лекарственная субстанция X1 – порошок белого цвета массой 10 мкг, хорошо растворим в 1% растворе диметилсульфоксида, для проведения части доклинических исследований. Предварительные исследования показали, что разработанный препарат обладает ярко выраженным нейропротекторным эффектом при ишемическом повреждении. Постройте дизайн эксперимента по оценке острой токсичности разработанной лекарственной субстанции с использованием первичной культуры клеток гиппокампа мыши.

Вариант 2

В лабораторию от фармакологической компании W поступила разработанная ею лекарственная субстанция W1 – порошок белого цвета массой 20 мкг, хорошо растворим в 1% растворе уксусной кислоты, для проведения части доклинических исследований. Предварительные исследования показали, что разработанный препарат обладает ярко выраженными антигипоксическими свойствами. Постройте дизайн эксперимента по оценке острой токсичности разработанной лекарственной субстанции с использованием постоянной клеточной линии легкого китайского хомячка V-79.

(ПК-3)

Вариант 1.

Для проведения части доклинических исследований в лабораторию от фармакологической компании Y поступила разработанная ею лекарственная субстанция Y1 – прозрачная жидкость объемом 1 мл, направленная на поддержание работоспособности почек при пиелонефрите. Согласно разработанному протоколу, материалом для проведения исследований *in vitro* служат клетки постоянной клеточной линии нормальной почки человека RH.

После выведения клеточной линии из заморозки и ее доведения до 3 пассажа, монослой клеток снимали с культурального матраса, подвергали центрифугированию, убирали надосадочную жидкость, а к получившемуся осадку добавляли 1 мл культуральной среды с целью дальнейшей рассадки клеток на эксперимент. При подсчете собранного монослоя в камере Горяева (разведение в 10 раз), количество клеток в верхней камере составило 20, а в нижней – 7. Рассчитайте объем клеточной суспензии, необходимой для проведения эксперимента по оценке хронической токсичности лекарственной субстанции на 24-х луночном планшете (объем

культуральной среды в 1 лунке - 750 мкл), если исходное количество клеток в одной лунке должно составлять 20000.

Вариант 2

В лабораторию от фармакологической компании Z поступила разработанная ею лекарственная субстанция Z1 – порошок желтого цвета массой 10 г, хорошо растворимого в фосфатно-солевом буферном растворе для проведения части доклинических исследований. Согласно разработанному протоколу материалом для исследований *in vitro* должны служить клетки постоянной клеточной линии эпителия молочной железы HBL-100, исходное количество клеток в культуре должно составлять 50 000. После выведения клеточной линии из заморозки и ее доведения до 3 пассажа, монослой клеток снимали с культурального матраса, подвергали центрифугированию, убирали надосадочную жидкость, а к получившемуся осадку добавляли 1 мл культуральной среды с целью дальнейшей рассадки клеток на эксперимент. Для оценки жизнеспособности клеток, 100 мкл суспензии развели в 10 раз с добавлением 0,4% раствора трипанового синего. При подсчете полученной суспензии клеток в камере Горяева общее количество клеток в верхней камере составило 20, в 3-х из которых детектировался флуоресцентный краситель, а в нижней камере -17 и 1 соответственно.

Рассчитайте объем клеточной суспензии, необходимый для проведения эксперимента по оценке острой токсичности лекарственной субстанции на 48-ми луночном планшете (объем культуральной среды в 1 лунке - 450 мкл).

5.2.2. Типовые темы докладов с презентацией для оценки сформированности компетенции

- ПК-3

1. Оборудование клеточного бокса: шкафы биологической безопасности
2. Оборудование клеточного бокса: CO₂-инкубаторы и правила эксплуатации газобаллонного оборудования
3. Оборудование клеточного бокса, предназначенное для стерилизации инструментария, сред и подсобных материалов: сухожаровые шкафы и автоклавы
4. Оборудование для клеточных технологий: спектрофотометр-спектрофлуориметр, хемиллюминиметр, проточный цитофлуориметр
5. Оборудование для проведения генетической трансформации: оборудование для электрофоретического анализа белков и нуклеиновых кислот, гель-документации, амплификации ПК-3

- ПК-1

6. Микроскопия высокого разрешения. FLIM микроскопия
7. Микроскопия высокого разрешения. FRET микроскопия
8. Микроскопия высокого разрешения. FLIP микроскопия
9. Микроскопия высокого разрешения. FLAP микроскопия
10. Микроскопия высокого разрешения. FRAP микроскопия

5.2.3. Темы дискуссий для оценки сформированности компетенции

ПК-1

1. Стоит ли развивать направление оптогенетики для клеточных технологий?
2. Методы генетической трансформации – только фундаментальные исследования или прорыв в клинической практике?

3. Какие основные направления развития методов микроскопии вы видите для клеточных технологий?

ПК-3

1. Каким должен быть культуральный бокс? (особенности помещения и его оснащение (оборудование))
2. Стоит ли использовать стволовые клетки в терапии патологий человека?
3. Какими вы видите дальнейшие направления развития клеточных технологий?

5.2.4. Темы лабораторных работ к отчетам для оценки сформированности компетенции

ПК-3

1. Постоянные клеточные линии. Выведение клеточной культуры из криоконсервации. Криоконсервация клеточной культуры. **ПК-3**
2. Культивирование постоянных клеточных линий. Процедура пересева

ПК-1

Оценка жизнеспособности методом трипанового синего.
Исследование острой токсичности in vitro методом МТТ теста.

5.2.5. Вопросы для проведения устного опроса для оценки компетенций

-ПК-1

1. Сфероид. Органоид. Определение, особенности культивирования и области применения в экспериментальных исследованиях
2. Эксплант. Органотипические культуры. Определение, особенности культивирования и области применения в экспериментальных исследованиях
3. Стволовые клетки. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Мезенхимальные стволовые клетки. Определение, особенности культивирования и области применения в экспериментальных исследованиях
4. Особенности культивирования постоянных клеточных линий. Морфологические типы клеточных культур и способ культивирования, понятие предела Хейфлика и контактного торможения
5. Методы определения видовой идентификации клеточной линии
6. Методы определения контаминации клеточных линий мицелиальными микроорганизмами и дрожжами, бактериями с продолжительным латентным периодом (микрококки и коринобактерии). Меры борьбы с данными видами контаминации
7. Микоплазменная инфекция клеточных культур: методы определения контаминации и применяемые меры борьбы
8. Методы оценки жизнеспособности, связанные с оценкой целостности морфологии клеток
9. Методы оценки жизнеспособности, связанные с оценкой метаболической активности клеток
10. Препаратная окраска клеточных культур (срезов тканей): гистологические методы
11. Принцип устройства счетных камер. Камера Горяева, правило подсчета клеток
12. Основные принципы световой микроскопии. Темнопольная микроскопия, фазово-контрастная микроскопия
13. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия
14. Многофотонная флуоресцентная микроскопия
15. Микроскопия высокого разрешения
16. Оптогенетические методы визуализации

17. Иммуногистохимическое маркирование культур клеток и тканей. Понятие антиген, антитело. Структура антитела. Понятие поликлональных и моноклональных антител. Принцип прямого иммуноцитохимического маркирования и его основные этапы
18. Иммунохимическое маркирование культур клеток и тканей. Этап демаскирования
19. Иммуноферментный анализ. Принцип метода, классификация.
20. Технология CRISPR/Cas9. Системы ZFNs и TALENs

-ПК-3

1. Правила техники безопасности при работе с лабораторным оборудованием, реактивами и работы в культуральном боксе
2. Основные этапы проведения экспериментального исследования. Понятия положительного и отрицательного контроля при постановке биологического эксперимента
3. Основные правила биоэтики и правовые документы для проведения экспериментальных исследований. Основные правила составления отчета о проведенном научном исследовании. Основные разделы
4. Понятие «культивирование клеток *invitro*». Преимущества и недостатки использования клеточных культур в экспериментальных исследованиях
5. Основные отличия постоянных клеточных линий и первичных культур клеток. Особенности нейрональных клеточных культур
6. Паспорт культуры клеточной линии: основные характеристики
7. Состав культуральных сред: основные компоненты. Понятие кондиционной культуральной среды. Бессывороточное культивирование
8. Криоконсервация. Классификация и характеристика отрицательных температур. Криопротекторы. Основные этапы проведения криоконсервации и выведения клеток из криоконсервации
9. Понятие жизнеспособности и выживаемости клеток. Понятие острой и хронической токсичности, IC50. Прижизненная оценка жизнеспособности в культурах клеток и тканей (витальные красители)
10. Понятие свет. Основные принципы флуоресцентной микроскопии. Диаграмма Яблонского
11. Понятие флуорохром и флуорофор. Проблема автофлуоресценции биологических объектов. Способы снижения автофлуоресценции
12. Флуорофоры для оптического имиджинга. Ион-чувствительные красители
13. Флуорофоры для оптического имиджинга. Потенциал-зависимые красители
14. Принцип непрямого иммуноцитохимического маркирования и его основные этапы. Постановка положительных и отрицательных контролей. Принцип подбора комбинаций антител
15. Фиксаторы для иммуноцитохимического маркирования: основные типы и их характеристика
16. Способы модификации генома про- и эукариотических клеток.
17. Понятия вектор, трансфекция, трансдукция
18. Вирусы, используемые для разработки генетических конструкторов. Сравнение свойств вирусных векторов: краткая характеристика
19. Маркерные гены, используемые при проведении трансфекции, трансдукции
20. Понятие трансдукции. Основные виды трансдукции и их характеристика

6. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

а) основная литература:

1. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. - 691 с. [Электронный ресурс]: <http://e-lib.unn.ru/MegaPro/UserEntry?Action=FindDocs&ids=735344&idb=0>
2. Митрошина Е.В., Мищенко Т.А., Ведунова М.В. Определение жизнеспособности клеточных культур, учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: ННГУ, 2015. - 27 с. (20 экз. на кафедре нейротехнологий)
3. Ведунова М.В., Щелчкова Н.А. Иммунохимические методы исследований в клеточных культурах и тканях, учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: ННГУ, 2015, - 64 с. (20 экз. на кафедре общей и медицинской генетики)
4. Широкова О.М., Ведунова М.В. Методы генетической трансформации, учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: ННГУ, 2013, - 30 с. (20 экз. на кафедре общей и медицинской генетики)

б) дополнительная литература:

1. Слюняев, В. П. Основы биотехнологии. Научные основы биотехнологии : учебное пособие / В. П. Слюняев, Е. А. Плоско. — Санкт-Петербург : СПбГЛТУ, 2012. — 112 с. — ISBN 978-5-9239-0487-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/45315>
2. Основы биотехнологии : учебное пособие / Н. Е. Павловская, И. В. Горькова, И. Н. Гагарина, А. Ю. Гаврилова. — Орел : ОрелГАУ, 2013. — 215 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/71482>

в) программное обеспечение и Интернет-ресурсы (в соответствии с содержанием дисциплины)

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
 2. <http://webofknowledge.com/>
 3. <https://www.scopus.com/>
 4. <https://www.elsevier.com/>
 5. <https://elibrary.ru/>
 6. <https://scholar.google.ru/>
-

7. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Учебная аудитория для проведения занятий лекционного типа, занятий семинарского типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации: учебная мебель, доска, экран, проектор, переносное мультимедийное оборудование (ноутбук), беспроводной Интернет, лицензионное программное обеспечение.

Лаборатория: столы лабораторные, табуреты ламинарно-потокоский шкаф, CO₂-инкубатор, настольная центрифуга, холодильник 2-4⁰С, флуоресцентный микроскоп с камерой фиксации флуоресценции с микрообъектов; компьютер с программным обеспечением, планшетный спектрофотометр, дозаторы переменного объема 1-10 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечены доступом в электронную информационно-образовательную среду.

Программа составлена в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению 19.04.01 Биотехнология.

Автор к.б.н., доц. Мищенко Т.А.

Рецензент к.б.н., доц. Брилкина А.А.

Заведующий кафедрой нейротехнологий д.ф-м.н. Казанцев В.Б.

Программа одобрена на заседании методической комиссии ИББМ от «6» сентября 2022 года, протокол № 1.