

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

Биотехнология клеточных культур
(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.03.02 Биотехнология клеточных культур 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 биотехнологии клеточных культур, используемых в экспериментальных исследованиях в области биологии и биотехнологий</i>	<i>Тестовые задания, Доклад с презентацией, Дискуссия</i> <i>Вопросы к зачету</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 биотехнологии клеточных культур в соответствии с целями и задачами исследования</i>	<i>Устный опрос,</i> <i>Тестовые задания</i>
	ПК-1.3. Применяет методы проведения научных исследований и разработок,	<i>Владеть методами биотехнологии клеточных технологий для проведения экспериментальных исследований in vitro в области биологии и биотехнологий</i>	<i>Отчет к лабораторной работе</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	<i>Знать основные нормативные документы и правила построения экспериментального исследования в области биологии и биотехнологий с применением биотехнологии клеточных культур</i>	<i>Устный опрос, доклад с презентацией, дискуссия, тестовые задания</i> <i>Вопросы к зачету</i>
	ПК-3.2. Может вести основные технологические процессы производства биотехнологической продукции.	<i>Уметь критически анализировать адекватность выбора методов биотехнологии клеточных культур для проведения экспериментального исследования и адаптировать при необходимости дизайн экспериментального исследования в области биологии и биотехнологий</i>	<i>Дискуссия, Отчет к лабораторной работе</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 биотехнологии клеточных культур</i>	<i>Отчет к лабораторной работе</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				
		контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы				Самостоятельная работа обучающегося, 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 пересева, 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 йодида, препаратная окраска)	19	4	8	5	17	2

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>						
<i>Итого</i>	107	28	16	42	86	21

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

Промежуточный контроль осуществляется при проведении зачета.

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 учебных аудиториях кафедры и в домашних условиях, с доступом к ресурсам Интернет для подготовки к устному опросу и дискуссии, тестовым заданиям, подготовке доклада с презентацией, подготовка отчетов по лабораторным работам.

Подготовка к устному опросу, тестовым заданиям и дискуссии

Устный опрос, тестирование 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, тесту 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.

Требования к оформлению отчетов по лабораторным работам

Все отчеты должны быть оформлены в форме единого документа (в одной тетради либо отдельные листы сшиты в единый документ). В каждом отчете должны быть приведены название работы, ее цель, принцип метода; словесно или графически представлен ход работы. Раздел “Результаты” должен включать первичные данные и их обработку в объеме,

достаточном для подтверждения достижения цели работы и сделанных выводов. Работы, включающие качественный анализ биомолекул, должны быть проиллюстрированы схемами необходимого оборудования (при использовании установок или приборов), содержать словесное описание и/или изображение полученных результатов качественных реакций. Работы, включающие количественный анализ, должны включать расчетные формулы, первичные данные (в т.ч. калибровочную таблицу и калибровочный график), расчет требуемых величин по собственным первичным данным. Вывод работы должен быть развернутым, полностью соответствовать полученным результатам. Отчеты за пропущенные лабораторные работы к проверке не допускаются.

Подготовка к зачету

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

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 натеящей 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 сформированности компетенций (индикатора достижения компетенций)	Шкала оценивания сформированности компетенций						
	плохо	неудовлетворительно	удовлетворительно	хорошо	очень хорошо	отлично	превосходно
	не зачтено		зачтено				
<u>Знания</u>	Отсутствие знаний теоретического материала. Невозможность оценить полноту знаний вследствие	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	Уровень знаний в объеме, соответствующем программе подготовки. Допущено несколько несущественны	Уровень знаний в объеме, соответствующем программе подготовки, без ошибок.	Уровень знаний в объеме, превышающем программу подготовки.

	отказа обучающегося от ответа			негрубых ошибок	х ошибок		
<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 несущественными 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

<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 (микροкокки 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 снижения автофлуоресценции	ПК-3
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. Иммуоферментный 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, фототрансфекция. Краткая характеристика, преимущества и недостатки	ПК-1
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

5.2.2. Типовые тестовые задания по вариантам для оценки сформированности компетенции

ПК-1:

ВАРИАНТ 1

1. Дизайн эксперимента предполагает:

- А. наличие контрольной группы
- Б. наличие опытной группы
- В. наличие интактной группы
- Г. все ответы верны

2. Лаборатория X оснащена настольной центрифугой, радиус ротора которой составляет 100 мм. Рассчитайте центробежное ускорение центрифуги, если частота вращения составляет 1800 об/мин.

- А. 362 g
- Б. 400 g
- В. 370 g
- Г. 350 g

3. В лаборатории X был проведен эксперимент по определению жизнеспособности клеток в первичной культуре гиппокампа после воздействия острой нормобарической гипоксии путем окрашивания флуоресцентными красителями пропидиумом иодидам и бисбензимидам. Рассчитайте процент жизнеспособных клеток в экспериментальной группе культур, если среднее количество клеток, визуализируемых на флуоресцентном микроскопе при возбуждении одного из красителей в ультрафиолетовой части спектра, составило 364, а среднее количество клеток, визуализируемых при возбуждении другого красителя длиной волны 535 нм - 355:

- А. 2.5%
- Б. 14%
- В. 97.5%
- Г. 98.6%

4. Проведено окрашивание клеток трипановым синим для последующего подсчета в камере Горяева. При подсчете было установлено: в верхней камере – 40 клеток в 5 больших квадратах, 38 из которых окрашены красителем; в нижней камере – 70 клеток больших квадратах, 61 из которых окрашены красителем. Что можно сказать о полученном результате?

- А. Можно приступать к рассаживанию клеток на субстрат в необходимой концентрации.
- Б. Следует произвести повторный подсчет в камере Горяева.
- В. Следует произвести повторный подсчет в камере Горяева и приступить к рассаживанию клеток на субстрат в необходимой концентрации.
- Г. О гибели культуры.

5. При подсчете клеток в камере Горяева в квадрате считаются клетки:

- А. лежащие внутри квадрата, а также касающиеся правой и верхней границ
- Б. лежащие внутри квадрата, а также касающиеся левой и верхней границ
- В. лежащие внутри квадрата, а также касающиеся правой и нижней границ
- Г. лежащие внутри квадрата, а также касающиеся левой и нижней границ

6. Метод микроскопии, при котором возбуждение флуорохромов осуществляется лазерным излучением инфракрасного или длинноволнового видимого диапазона называется:

- А. Конфокальная микроскопия
- Б. Оптическая когерентная микроскопия
- В. Электронная микроскопия
- Г. Мультифотонная флуоресцентная микроскопия

7. В основе системы CrispR/Cas9 положены:
- А. Короткие палиндромные кластерные повторы участков ДНК бактерий
 - Б. Короткие палиндромные кластерные повторы участков РНК вирусов
 - В. Спейсеры
 - Г. Плазмиды вирусов
8. Трехмерное образование из разнородных клеток и образованное *in vitro* из стволовых клеток путем самоорганизации называется:
- А. Клеточный сфероид
 - Б. Гибридома
 - В. Органоид
 - Г. Клеточный клон
9. Ограничениями к применению темнопольной микроскопии являются:
- А. Невозможность детектирования объекта при ярком освещении
 - Б. Невозможность проведения прижизненной визуализации объекта
 - В. Невозможность анализа неокрашенных препаратов
 - Г. Невозможность использования линз с высокой числовой апертурой
10. Определение микоплазменной контаминации клеточных культур проводится с помощью:
- А. метода окраски Hoechst-33258
 - Б. использования контрольных индикаторных клеток
 - В. постановка ПЦР реакции
 - Г. метода окраски трипановым синим
11. Микроскопия, основанная на применении нескольких объективов с низкой числовой апертурой, называется:
- А. Микроскопия STORM
 - Б. Микроскопия FRAP
 - В. Микроскопия STED
 - Г. 4-Pi микроскопия
12. Для проведения иммуноцитохимического маркирования культур и тканей используют антитела следующего класса иммуноглобулинов:
- А. А
 - Б. G
 - В. М
 - Г. D
13. Fc-фрагмент молекулы иммуноглобулина:
- А. одинаков по строению и аминокислотному составу у всех классов антител млекопитающих
 - Б. определяет видоспецифичность антител
 - В. отвечает за иммуногенность антитела
 - Г. участвует во взаимодействии антигена с антителом
14. Преимуществом методики непрямого иммуноцитохимического окрашивания является:
- А. первичные антитела свободны от метки и легче проникают к антигенам
 - Б. с одним первичным антителом может связаться несколько молекул вторичных антител
 - В. высокий уровень флуоресцентного или ферментативного сигнала
 - Г. все ответы верны

15. При проведении непрямого иммуноцитохимического маркирования для блокировки неспецифического связывания используют:
- А. высокие концентрации поликлональных антител
 - Б. низкие концентрации поликлональных антител
 - В. моноклональные антитела
 - Г. дополнительный этап демаскирования

ВАРИАНТ 2

1. Дизайн эксперимента по оценке острой токсичности вещества предполагает:
- А. наличие контрольной группы
 - Б. наличие опытной группы
 - В. наличие интактной группы
 - Г. все ответы верны
2. Лаборатория X оснащена настольной центрифугой, радиус ротора которой составляет 100 мм. Рассчитайте частоту вращения центрифуги, если центробежное ускорение составляет 350 g.
- А. 1224 об./мин
 - Б. 1570 об./мин
 - В. 1770 об./мин
 - Г. 1652 об./мин
3. В лаборатории X был проведен эксперимент по определению жизнеспособности клеток в первичной культуре гиппокампа после воздействия острой нормобарической гипоксии путем окрашивания флуоресцентными красителями пропидиумом иодидам и бисбензимидам. Рассчитайте процент жизнеспособных клеток в экспериментальной группе культур, если среднее количество клеток, визуализируемых на флуоресцентном микроскопе при возбуждении одного из красителей в ультрафиолетовой части спектра, составило 275, а среднее количество клеток, визуализируемых при возбуждении другого красителя длиной волны 535 нм - 154:
- А. 12.5%
 - Б. 44%
 - В. 77.5%
 - Г. 98.3%
4. Проведено окрашивание клеток трипановым синим для последующего подсчета в камере Горяева. При подсчете было установлено: в верхней камере – 40 клеток в 5 больших квадратах, 6 из которых окрашены красителем; в нижней камере – 85 клеток больших квадратах, 5 из которых окрашены красителем. Что можно сказать о получившемся результате?
- А. Можно приступить к рассаживанию клеток на субстрат в необходимой концентрации.
 - Б. Следует произвести повторный подсчет в камере Горяева.
 - В. Следует произвести повторный подсчет в камере Горяева и приступить к рассаживанию клеток на субстрат в необходимой концентрации.
 - Г. О гибели культуры.
5. При подсчете клеток в камере Горяева не считаются клетки:
- А. касающиеся правой и верхней границ квадрата
 - Б. касающиеся левой и верхней границ квадрата
 - В. касающиеся правой и нижней границ квадрата
 - Г. касающиеся левой и нижней границ квадрата

6. Микроскопия на основе измерения длительности флуоресценции называется:

- А. FRET
- Б. FLIM
- В. FLAP
- Г. FLIP

7. Предел Хейфлика обусловлен:

- А. смещением центромер
- Б. укорочением теломер
- В. удлинением теломер
- Г. активацией теломеразной обратной транскриптазы

8. Ключевым преимуществом мультифотонной микроскопии по сравнению с другими методами оптического имиджинга является:

- А. Снижение времени съемки биологического образца
- Б. Меньшие временные затраты на пробоподготовку биологического образца
- В. Низкая степень повреждения живых клеток фотоиндуцированными процессами
- Г. Одновременная визуализация 2-х и более каналов флуоресценции

9. Определение заражения клеточных культур бактериальными инфекциями проводится с помощью:

- А. проведения визуальной оценки культуральной среды на наличие помутнений
- Б. проведения визуальной оценки изменения цвета культуральной среды
- В. посева на питательные среды для бактерий
- Г. проведение окраски Hoechst-33258

10. Для получения первичных культур клеток проводят механическую, а затем ферментативную диссоциацию путем обработки ткани следующим ферментом:

- А. Щелочной фосфатазой
- Б. Трипсином
- В. Пероксидазой хрена
- Г. АТФазой

11. В проведении иммуноцитохимического маркирования культур и тканей не используются антитела следующего класса иммуноглобулинов:

- А. А
- Б. G
- В. М
- Г. D

12. Fab-фрагмент молекулы иммуноглобулина:

- А. Обладает высокой вариабельностью
- Б. Обладает низкой вариабельностью
- В. Определяет видоспецифичность антител
- Г. Обеспечивает взаимодействие с эпитопом антигена

13. Одним из недостатков методики непрямого иммуноцитохимического окрашивания является:

- А. низкий уровень флуоресцентного и ферментативного сигнала
- Б. на одну молекулу искомого антигена приходится только одно меченное антитело
- В. повышается вероятность неспецифических перекрестных реакций
- Г. метод применяется только для антигенов с высоким уровнем экспрессии

14. При проведении непрямого иммуноцитохимического маркирования постановка отрицательного контроля заключается в:

- А. проведении полного протокола иммуноцитохимического исследования без добавления первичных антител
- Б. проведении полного протокола иммуноцитохимического исследования без добавления вторичных антител
- В. проведении полного протокола иммуноцитохимического исследования без этапа демаскирования
- Г. проведении полного протокола иммуноцитохимического исследования без этапа фиксации

15. Трехмерное образование *in vitro* из однородных клеток, сформированный в результате специальных внешних воздействий называется:

- А. клеточный сфероид
- Б. гибридома
- В. органоид
- Г. клеточный клон

ПК-3:

ВАРИАНТ 1

1. Основным направлением научных исследований является:

- А. Фундаментальные научные исследования
- Б. Доклинические исследования
- В. Научно-исследовательские и опытно-конструкторские разработки
- Г. Прикладные научные исследования

2. Исследования, направленные на выявление токсических доз и основных органов и систем организма, подверженных повреждающему действию фармакологического средства это:

- А. Доклинические исследования
- Б. Исследования специфической токсичности
- В. Исследования общей токсичности
- Г. Клинические исследования

3. Проведение доклинических исследований осуществляется по следующим стандартам:

- А. GCP
- Б. GLP
- В. GMP
- Г. все ответы верны

4. Химические вещества, обладающие острой токсичностью при попадании на кожу, пероральном или ингаляционном введении обозначаются как:



5. Основным отличием постоянной клеточной линии от первичной культуры является:

- А. Ограниченный срок культивирования
- Б. Получение непосредственно от ткани животного/человека
- В. Неограниченная способность к делению
- Г. Получение путем ферментативной диссоциации тканей

6. Ультрацентрифугирование применяется для:
- А. Перемешивания суспензии до однородной массы
 - Б. Разделения на фракции биологических жидкостей
 - В. Для разделения белков, нуклеиновых кислот, олиго- и полисахаридов, коллоидных частиц
 - Г. Разделения клеточных органелл
7. Для человеческих клеток предел Хейфлика составляет:
- А. 20-40 делений
 - Б. 30-50 делений
 - В. 50-70 делений
 - Г. 70-90 делений
8. К наиболее часто используемым криопротекторам относят:
- А. параформальдегид
 - Б. глутаровый альдегид
 - В. диметилсульфоксид
 - Г. акролеин
9. Продолжительность процедуры выведения культуры из криоконсервации должна составлять:
- А. не более 15-20 минут
 - Б. не менее 1 часа
 - В. более 2-х часов
 - Г. более 24 часов
10. В паспорте культуры постоянной клеточной линии не отражается:
- А. Морфология клеточной линии
 - Б. Эффективность клонирования
 - В. Жизнеспособность после выведения из криоконсервации
 - Г. Дата выведения из криоконсервации
11. Сродство кальциевых индикаторов к ионам кальция отражает:
- А. Константа деградации
 - Б. Константа диссоциации
 - В. Константа сродства
 - Г. Константа связывания
12. К витальным красителям для оценки жизнеспособности следует отнести:
- А. гематоксилин
 - Б. нейтральный красный
 - В. трипановый синий
 - Г. кислый фуксин
13. Перенос генетического материала из одной клетки в другую с использованием вирусных частиц называется:
- А. Липофекция
 - Б. Электропорация
 - В. Трансформация
 - Г. Трансдукция
14. Для сборки полноценного вируса используют клетки постоянной клеточной линии:

- А. U-251
- Б. BT-20
- В. HEK-293T
- Г. HBL-100

15. Количественные измерения уровня содержания внутриклеточного кальция проводят с использованием следующего красителя:

- А. Fluo-4
- Б. Oregon Green 488 BAPTA
- В. Fura Red
- Г. Rhod-2

ВАРИАНТ 2

1. Эксперимент – это:

- А. Метод исследования некоторого явления, процессов (модели) в управляемых наблюдателем условиях
- Б. Выполнение целенаправленного наблюдения за процессом в условиях регламентированного изменения отдельных характеристик условий его протекания
- В. Особый метод познания, представляющий системное и многократно воспроизводимое наблюдение объекта в процессе преднамеренных и контролируемых пробных воздействий субъекта на объект исследования
- Г. Все ответы верны

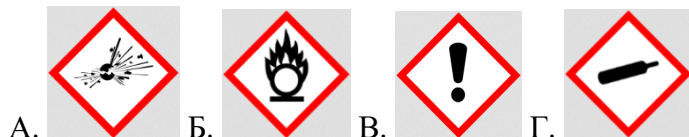
2. Исследования, направленные на выявление репродуктивной токсичности, аллергенности, иммунотоксичности, мутагенности и канцерогенности фармакологического средства это:

- А. Исследования общей токсичности
- Б. Доклинические исследования
- В. Исследования специфической токсичности
- Г. Клинические исследования

3. Любая экспериментальная биологическая работа должна выполняться в рамках этических норм, установленных:

- А. Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей
- Б. Европейской конвенцией по защите позвоночных и беспозвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей
- В. Этическим комитетом Министерства образования и науки Российской Федерации
- Г. Этическим комитетом организации, на базе которой выполняется исследование

4. Легковоспламеняющиеся и чрезвычайно легковоспламеняющиеся газы, жидкости, аэрозоли обозначаются как:



5. Основным отличием первичной культуры от постоянной клеточной линии является:

- А. Неограниченный срок культивирования
- Б. Однородность клеток, обладающих определенными и относительно постоянными свойствами и характеристиками
- В. Получение непосредственно от ткани животного/человека
- Г. Возможность клонирования, селекции

6. Процесс перехода электрона из основного энергетического уровня на более высокий энергетический уровень при поглощении кванта света определенной длины волны атомом флуорофора описывается:

- А. законом Стокса
- Б. диаграммой Яблонского
- В. законом Цейса
- Г. правилом Асахина

7. К наиболее часто используемым криопротекторам относят:

- А. метанол
- Б. параформальдегид
- В. глицерин
- Г. глютаровый альдегид

8. Продолжительность процедуры криоконсервации должна составлять:

- А. не более 15-20 минут
- Б. не более 1 часа
- В. более 2-х часов
- Г. более 24 часов

9. Криоконсервация по методу Асахина проводится:

- А. в 1 этап
- Б. в 1 этап с дополнительным проведением оценки жизнеспособности клеток
- В. в 2 этапа
- Г. в 2 этапа с дополнительным проведением оценки жизнеспособности клеток

10. К фотоактивируемым белкам, используемых в оптогенетике, относятся:

- А. Родопсины
- Б. Потенциал-зависимые Na^+ -каналы
- В. Потенциал-зависимые K^+ -каналы
- Г. Металлопсины

11. К наиболее часто используемым крослинкерам относят:

- А. параформальдегид
- Б. хлороформ
- В. метанол
- Г. формалин

12. Трансдукция, при которой фрагмент ДНК-донора остается в цитоплазме клетки-реципиента, называется:

- А. Специфическая трансдукция
- Б. Неспецифическая трансдукция
- В. Абортивная трансдукция
- Г. Фототрансдукция

13. Для качественного определения уровня содержания кальция в клетках нервной системы используется краситель:

- А. Indo
- Б. Oregon Green 488 BAPTA
- В. Fura-2

Г. Rhod-5N

14. Для корректной постановки эксперимента, материалом для которого служат постоянные клеточные линии, необходимо учитывать следующие их особенности:

- А. Гистологическая однородность и связанные с нею биохимические признаки
- Б. Низкая способность к делению, но с большим выходом биомассы
- В. Ограниченный срок культивирования
- Г. Возможность клонирования, селекции, получения чистых клеточных линий

15. Проведение исследований, в которых подразумевается участие человека в качестве испытуемого, осуществляется по следующим стандартам:

- А. GCP
- Б. GLP
- В. GMP
- Г. все ответы верны

5.2.3. Типовые темы докладов с презентацией для оценки сформированности компетенции ПК-1 и ПК-3

1. Оборудование клеточного бокса для биотехнологии клеточных культур: шкафы биологической безопасности ПК-3
2. Оборудование клеточного бокса для биотехнологии клеточных культур: CO₂-инкубаторы и правила эксплуатации газобаллонного оборудования ПК-3
3. Оборудование клеточного бокса для биотехнологии клеточных культур, предназначенное для стерилизации инструментария, сред и подсобных материалов: сухожаровые шкафы и автоклавы ПК-3
4. Оборудование для биотехнологий клеточных культур: спектрофотометр-спектрофлуориметр, хемиллюминиметр, проточный цитофлуориметр ПК-3
5. Использование лабораторных животных в биотехнологии клеточных культур. Основные биоэтические нормы ПК-3
6. Микроскопия высокого разрешения для биотехнологий клеточных культур. FLIM микроскопия ПК-1
7. Микроскопия высокого разрешения для биотехнологий клеточных культур. FRET микроскопия ПК-1
8. Микроскопия высокого разрешения для биотехнологий клеточных культур. FLIP микроскопия ПК-1
9. Микроскопия высокого разрешения для биотехнологий клеточных культур. FLAP микроскопия ПК-1
10. Микроскопия высокого разрешения для биотехнологий клеточных культур. FRAP микроскопия ПК-1

5.2.4. Темы дискуссий для оценки сформированности компетенции ПК-1 и ПК-3

1. Каким должен быть культуральный бокс для биотехнологии клеточных культур? (особенности помещения и его оснащение (оборудование)) ПК-3
2. Стоит ли развивать направление оптогенетики для биотехнологии клеточных культур? ПК-1
3. Методы генетической трансформации в биотехнологии клеточных культур – только фундаментальные исследования или прорыв в клинической практике? ПК-1

4. Стоит ли использовать стволовые клетки в терапии патологий человека? ПК-3
5. Какими вы видите дальнейшие направления развития биотехнологий клеточных культур? ПК-3
6. Какие основные направления развития методов микроскопии для биотехнологий клеточных культур вы видите? ПК-1

5.2.5. Отчет о лабораторной работе предоставляется по следующим темам:

1. Постоянные клеточные линии. Выведение клеточной культуры из криоконсервации. Криоконсервация клеточной культуры (ПК-3).
2. Культивирование постоянных клеточных линий. Процедура пересева и оценка жизнеспособности методом трипанового синего (ПК-3).
3. Исследование острой токсичности *in vitro* методом МТТ теста (ПК-1).

5.2.6. Вопросы для проведения устного опроса для оценки компетенций ПК-1 и ПК-3

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 (микροкокки 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. Иммуоферментный 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 in vitro». 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. 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. Плошко. — 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-поточный 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., Смирнова 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.