

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Кафедра біохімії імені академіка М.Ф. Гулого



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Декан факультету ветеринарної медицини

Микола Цвіліховський  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

«СХВАЛЕНО»

на засіданні кафедри біохімії

ім. акад. М.Ф. Гулого

протокол № 12 від «14» 05 / 2024 р.

Завідувач кафедри

Віктор Томчук

«РОЗГЛЯНУТО»

Гарант ОП «Біологія»

Гарант ОП

Лілія Калачнюк

РОБОЧА ПРОГРАМА  
НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

**НОВІТНІ МЕТОДИ У БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ**

Галузь знань 09 «Біологія»

Спеціальність 091 «Біологія та біохімія»

Освітня програма «Біологія»

Факультет ветеринарної медицини

Розробники: професор, д.б.н., професор Л.Г. Калачнюк, доцент, к.б.н., доцент  
В.І. Цвіліховський

(посада, науковий ступінь, вчене звання)

Київ – 2024 р.

## Опис навчальної дисципліни

### НОВІТНІ МЕТОДИ У БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

(назва)

Галузь знань, спеціальність, освітня програма, освітній ступінь		
Галузь знань	09 Біологія	
Освітній ступінь	доктор філософії	
Спеціальність	091 «Біологія та біохімія»	
Освітня програма	Біологія	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	вибіркова	
Загальна кількість годин	180	
Кількість кредитів ECTS	6	
Кількість змістових модулів	Не передбачено	
Курсовий проект (робота) (за наявності)	Не передбачено	
Форма контролю	<i>екзамен</i>	
Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форм здобуття вищої освіти		
	Денна форма здобуття вищої освіти	Заочна форма здобуття вищої освіти
Курс (рік підготовки)	1	1
Семестр	2	2
Лекційні заняття	30 год	12 год
Практичні, семінарські заняття	- год	- год
Лабораторні заняття	30 год	12 год
Самостійна робота	120	156 год
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми здобуття вищої освіти	4 год.	6 год

## **1. Мета, завдання, компетентності та програмні результати навчальної дисципліни**

Предметом дисципліни «Новітні методи у біологічних дослідженнях» є питання методичних підходів із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) за вивчення і характеристики біохімічних процесів у біооб'єктах.

**Мета** дисципліни «Новітні методи у біологічних дослідженнях» - сформулювати в аспірантів цілісну систему знань, до якої входять теоретичні й методичні основи використання полімеразної ланцюгової реакції у біологічних дослідженнях.

**Завдання** курсу «Новітні методи у біологічних дослідженнях» освоїти основні методичні підходи із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції за характеристики біохімічних процесів у біооб'єктах, а також вивчити переваги, обмеження та етичні питання використання ПЛР у біологічних дослідженнях.

**Набуття компетентностей:** *інтегральна компетентність* (ІК) - здатність розв'язувати комплексні завдання в галузі біології у процесі проведення дослідницько-інноваційної діяльності, що передбачає переосмислення наявних та створення нових цілісних знань, оволодіння методологією наукової та науково-педагогічної діяльності, проведення самостійного наукового дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення і інтегруються у світовий науковий простір через публікації; *загальних компетентностей:* знання та розуміння предметної області, здатність до пошуку, оброблення та комплексного аналізу інформації з різних джерел, здатність застосовувати знання в практичних ситуаціях; *фахові компетентності:* здатність виявляти, формулювати та вирішувати проблеми дослідницького характеру в галузі біології, оцінювати та забезпечувати якість досліджень, які проводять; здатність дотримуватись етики досліджень, а також правил академічної

доброчесності в наукових дослідженнях та науково-педагогічній діяльності; здатність до ретроспективного аналізу наукового доробку у напрямі дослідження біохімічних процесів у живих організмах.

**Програмні результати навчання:** мати концептуальні та методологічні знання з біології і на межі предметних галузей, а також дослідницькі навички, достатні для проведення наукових і прикладних досліджень на рівні світових досягнень з відповідного напрямку, отримання нових знань та/або здійснення інновацій; планувати і виконувати експериментальні та/або теоретичні дослідження з біології та дотичних міждисциплінарних напрямів з використанням сучасного інструментарію, критично аналізувати результати власних досліджень і результати інших дослідників у контексті всього комплексу сучасних знань щодо досліджуваної проблеми.

## **2. Програма та структура навчальної дисципліни для:**

– повного терміну денної (заочної) форми здобуття вищої освіти;

### **Тема лекційного заняття 1. Полімеразна ланцюгова реакція**

Історія відкриття. Основні принципи. Обмеження, переваги та етика використання у біологічних дослідженнях.

### **Тема лекційного заняття 2. Загальні вимоги до організації роботи у ПЛР-лабораторії**

Поняття контамінації нуклеїновими кислотами і продуктами ампліфікації. «Чиста» і «брудна» зони у ПЛР-лабораторії. Етапи проведення ПЛР. Екстракція нуклеїнових кислот, ампліфікація.

### **Тема лекційного заняття 3. Основні аспекти горизонтального електрофорезу продуктів ампліфікації полімеразної ланцюгової реакції**

Підготовка проб для електрофоретичного аналізу ампліфікаційних продуктів. Підготування гелю для розділення продуктів ампліфікації та їх детекція.

### **Тема лекційного заняття 4. Полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі**

Характеристика флуоресцентних барвників. Основні підходи до мультиплексного аналізу. Ефективність та лінійність полімеразної ланцюгової реакції. Граничний цикл (Ct). Обладнання для ПЛР у реальному часі.

### **Тема лекційного заняття 5. Модифікації полімеразної ланцюгової реакції, їх особливості**

Характеристика зворотної та гніздової ПЛР та ефективність їх використання.

## Структура навчальної дисципліни

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин													
	денна форма							заочна форма						
	тижні	усього	у тому числі					усього	у тому числі					
			л	п	лаб	інд	с.р.		л	п	лаб	інд	с.р.	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Тема 1. Полімеразна ланцюгова реакція	1-3	36	6		6		24	34	2		2			30
Тема 2. Загальні вимоги до організації роботи у ПЛР-лабораторії	4-6	36	6		6		24	34	2		2			30
Тема 3. Основні аспекти горизонтального електрофорезу продуктів ампліфікації полімеразної ланцюгової реакції	7-9	36	6		6		28	34	2		2			30
Тема 4. Полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі	10-12	36	6		6		24	38	3		3			32
Тема 5. Модифікації полімеразної ланцюгової реакції, їх особливості	13-15	36	6		6		24	40	3		3			34
<i>Усього годин</i>	<b>180</b>		<b>30</b>		<b>30</b>		<b>120</b>	<b>180</b>	<b>12</b>		<b>12</b>			<b>156</b>

### 3. Теми лабораторних занять

№ п/п	Назва теми	Кількість годин
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1.	Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти методом сорбції на оксиді кремнію. Принцип методу. Підготовка реактивів, матеріалів та обладнання. Етапи виконання. Пояснення ризику контамінації на етапі екстракції ДНК.	6
2.	Проведення полімеразної ланцюгової реакції на прикладі ідентифікації гену, специфічного для великої рогатої худоби. Принцип методу. Підготовка реактивів, матеріалів та обладнання. Приготування реакційного середовища для ПЛР. Етапи виконання.	6
3.	Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації в агарозному гелі. Підготовка реактивів, матеріалів та обладнання. Приготування агарозного гелю. Етапи виконання.	6

4.	Полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі на прикладі ідентифікації гену лектину сої. Принцип методу. Підготовка реактивів, матеріалів та обладнання. Приготування реакційного середовища для ПЛР. Етапи виконання. Інтерпретація результатів.	6
5.	Проведення мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції на прикладі ідентифікації генетично модифікованої сої. Принцип методу. Підготовка реактивів, матеріалів та обладнання. Приготування реакційного середовища для ПЛР. Етапи виконання. Інтерпретація результатів.	6
<b>Всього</b>		<b>30</b>

#### 4. Теми самостійної роботи

№ п/п	Назва теми	Кількість годин
<b>1</b>	<b>2</b>	3
1.	Полімеразна ланцюгова реакція	24
2.	Загальні вимоги до організації роботи у ПЛР-лабораторії	24
3.	Основні аспекти горизонтального електрофорезу продуктів ампліфікації полімеразної ланцюгової реакції	24
4.	Полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі	24
5.	Модифікації полімеразної ланцюгової реакції, їх особливості	24
<b>Всього</b>		<b>120</b>

#### 5. Засоби діагностики результатів навчання:

- екзамен;
- реферати, презентації;
- захист лабораторних робіт.

#### 6. Методи навчання:

- словесний метод (лекція, дискусія, співбесіда тощо);
- практичний метод (лабораторні заняття);
- наочний метод (метод ілюстрацій, метод демонстрацій);
- робота з навчально-методичною літературою (конспектування, тезування, анотування, рецензування, складання реферату);
- відеометод (дистанційні, мультимедійні, веб-орієнтовані тощо);
- самостійна робота (виконання завдань);
- індивідуальна науково-дослідна робота здобувачів вищої освіти.

#### 7. Методи оцінювання.

- екзамен;

- усне або письмове опитування;
- реферати, есе, презентації;
- захист лабораторних робіт;
- презентації та виступи на наукових заходах.

8. **Розподіл балів**, які отримують здобувачі вищої освіти. Оцінювання знань здобувача вищої освіти відбувається за 100-бальною шкалою і переводиться в національні оцінки згідно з табл. 1 чинного «Положення про екзамени та заліки у НУБіП України»

Рейтинг здобувача вищої освіти, бали	Оцінка національна та результати складання	
	екзаменів	заліків
90-100	відмінно	зараховано
74-89	добре	
60-73	задовільно	
0-59	незадовільно	не зараховано

Для визначення рейтингу здобувача вищої освіти із засвоєння дисципліни  $R_{\text{дис}}$  (до 100 балів) одержаний рейтинг з атестації (до 30 балів) додається до рейтингу здобувача вищої освіти з навчальної роботи  $R_{\text{нр}}$  (до 70 балів):  $R_{\text{дис}} = R_{\text{нр}} + R_{\text{ат}}$ .

#### 9. Навчально-методичне забезпечення

- електронний навчальний курс навчальної дисципліни (на навчальному порталі НУБіП України eLearn - <https://elearn.nubip.edu.ua/course/view.php?id=1655>);
- конспекти лекцій та їх презентації (в електронному вигляді);
- підручники, навчальні посібники, практикуми;
- методичні матеріали щодо вивчення навчальної дисципліни для здобувачів вищої освіти денної та заочної форм здобуття вищої освіти.

#### 10. Рекомендовані джерела інформації

##### Основна література

1. Ishchenko L., Ushkalov V., Vygovska L. Principles of molecular diagnostics / in Laboratory practice. Manual / edited by M.Klopčić and T.Ishchenko. –SMC VFPO. – Kyiv. 2020. – 280p. (колективний посібник) <http://www.ag-lab.org/sites/default/files/manuals/Structure%20of%20the%20manual%20and%20WG.pdf>
2. Курс лекцій і методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни: «Спеціальна біохімія», частина 3: «Основи методичних підходів молекулярної діагностики» для студентів факультету

- ветеринарної медицини / С.Д. Мельничук, Л.Г. Калачнюк, Г.І. Калачнюк. К: Видавничий центр НУБіП України, 2014. – 196 с.
3. Спеціальна біохімія: навчальний посібник для підготовки фахівців освітнього рівня «Магістр» у вищих навчальних закладах зі спеціальності “Ветеринарна медицина” за спеціалізацією “Лабораторна справа”/ С.Д. Мельничук, Д.О. Мельничук, С.В. Хижняк, В.А. Грищенко, В.А. Томчук, Л.Г. Калачнюк, Н.М. Мельникова, Л.В. Кліх, Т.М. Кучмеровська, В.І. Цвіліховський, Є.А. Деркач, О.М. Тупицька ; за ред. чл.-кор. НААН України С.Д. Мельничука. – К.: НУБіП України, 2015. – 649 с.
  4. White T. J. The polymerase chain reaction: clinical applications / T. J. White, R. Madej, D. H. Persing, H. A. Erlich // *Adv. Clin. Chem.* – 1992. – V. 29. – P. 161–196.
  5. Стегній Б. Т. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини та біологічних дослідженнях : наук.-метод. посіб. / Б. Т. Стегній, А. П. Герілович, О. Ю. Лиманська ; ред. Б. Т. Стегній, А. П. Герілович. — Х. : НТМТ, 2010. — 227 с.

#### Додаткова література

1. Калачнюк Л.Г. Молекулярні механізми регуляції метаболічних процесів за дії екзогенних чинників (монографія). – К: Компрінт, 2016. – 361 с.
2. Калачнюк Л.Г. Трансляційні і транс-трансляційні процеси у клітині та окремі механізми їх регуляції (монографія). – К: Компрінт, 2017. – 155 с.
3. Аналітичні методи досліджень. Імунологічні методи аналізу і методи виявлення генетично модифікованих організмів та їх інгредієнтів: теоретичні основи і методики. Войціцький В.М., Стародуб М.Ф., Хижняк С.В., Іщенко Л.М. – К.: ЦП «Компрінт», 2018.
4. Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions // R. Higuchi, C. Fockler, G. Dollinger, R. Watson // *Biotechnology.* – 1993. – V. 11. – P. 1026-1030
5. Longo M. C. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions / M. C. Longo, M. S. Berninger, J. L. Hartley // *Gene.* – 1990. – V. 93(1). – P. 125-128
6. Умови проведення полімеразної ланцюгової реакції у лабораторній практиці (методичні аспекти) / М.С. Калачнюк, Л. Г. Калачнюк, Д. О. Мельничук [та ін.] // *Біологія тварин.* – 2012. – Т. 14, № 1–2.
7. Визначення чутливості та специфічності засобу для виявлення *Salmonella spp* методом ПЛР-РЧ / Іщенко Л., Виговська Л., Давидовська Л., Калакайло Л., Іщенко В., Ушкалов В., Данчук В.В., Калачнюк Л. // *Матеріали XV Міжнародної науково-практичної конференції «Біологічно активні препарати в рослинництві. Наукове обґрунтування – Рекомендації – Практичні результати» Київ, 25-29 червня 2019 року.* С. 125-126.



8. Вдосконалення способу виявлення генів  $\beta$ -лактамаз (група *ctx-m*- $\beta$ -лактамази) у бактерій групи кишкової палички методом ПЛР / Іщенко Л., Виговська Л., Калакайло Л., Данчук В.В., Ушкалов В., Калачнюк Л., Давидовська Л. // Матеріали XV Міжнародної науково-практичної конференції «Біологічно активні препарати в рослинництві. Наукове обґрунтування – Рекомендації – Практичні результати» Київ, 25-29 червня 2019 року. С. 128-129.
9. Обухов И.Л. Использование полимеразной цепной реакции в практических лабораториях / И.Л. Обухов, К.Н. Груздев, А.Н. Панин // Ветеринария. – 1997. – № 2. – С. 24–26.
10. Aslanzadeh J. Preventing PCR Amplification Carryover Contamination in a Clinical Laboratory / J. Aslanzadeh // Ann. Clin. Lab. Sci. Fall. – 2004. – V. 34(4). – P. 389–396.
11. Ballagi-Pordany A. The use of mimics as internal standards to avoid false negatives in diagnostic PCR // A. Ballagi-Pordany, S. Belak / Mol. Cell. Probes. – 1996. – V. 10. – P. 159–164.
12. Якісне і кількісне визначення генетично модифікованих сільськогосподарських культур та їх компонентів в продуктах харчування й кормах методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (Методичні рекомендації) // В. Г. Спиридонов, Л. М. Іщенко, А. В. Плотницька, М. Ф. Парій, К. Ф. Шитюк, С. Д. Мельничук, М. Д. Мельничук, І. П. Григорюк. – К.: Видавничий центр НУБіП України, 2010. – 38с.
13. Біологічна безпека: Результати моніторингу агроресурсів, продукції АПК та харчових продуктів за 2014-2016 роки. Ушкалов В.О., Данчук В.В., Самкова О.П., Баранов Ю.С. [та ін]. Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2017. – № 103. – С. 88-92.
14. Підбір праймерів та оптимізація методу ПЛР для детекції ДНК вірусу АЧС / С. С. Мандигра, Л. М. Музикіна, Л. М. Іщенко, І. В. Галка, В. Г. Спиридонов, М. П. Ситюк, С. А. Ничик // Ветеринарна медицина. – 2017. – № 103. – С. 304–306.
15. Розробка тест-системи для диференційної діагностики африканської та класичної чуми свиней методом ЗТ-ПЛР у режимі реального часу / С. С. Мандигра, Л. М. Музикіна, Л. М. Іщенко, Г. А. Коваленко, І. В. Галка, М. П. Ситюк, С. А. Ничик, В. Г. Спиридонов // Ветеринарна біотехнологія. – № 31. – 2017. – С. 103–111.
16. Іщенко Л.М., Музикіна Л.М., Коваленко Г.А, Галка І.В., Гудзь Н.В., Ничик С.А., Спиридонов В.Г. Нодулярний дерматит великої рогатої худоби: епізоотологія, характеристика збудника, діагностика. (оглядова стаття) // Ветеринарна біотехнологія. – 2017. – №31 – С. 58-68.
17. Валідація ЗТ-ПЛР тест-системи для диференційної діагностики африканської та класичної чуми свиней / С.С. Мандигра, Л.М. Музикіна, Л.М. Іщенко, Г.А. Коваленко, І.В. Галка, В.Г. Спиридонов, М.П. Ситюк,

- С.А. Ничик, С.Д. Мельничук // Наукові доповіді НУБіП України. – 2017. V.6 (70). – С.
18. Ушкалов В.О., Данчук В.В., Спиридонов В.Г., Іщенко Л.М., Андреев І.В., Калакайло Л.І., Новгородова О.Ю., Бублик О.О. / Обіг генетично модифікованих речовин в Україні // Вісник аграрної науки. – 2018. №3 (780). С. 45-50. [http://agrovisnyk.com/archive\\_en\\_2018\\_03\\_08.html](http://agrovisnyk.com/archive_en_2018_03_08.html)
  19. Іщенко Л.М., Андреев І.В., Плотницька А.В., Шинкаренко Л.М., Калакайло Л.І., Колесникова Т.П., Ушкалов В.О. / Використання молекулярно-генетичних методів дослідження для контролю якості та безпеки продукції агропромислового комплексу // Ветеринарна біотехнологія. – 2018. – №32 (1). – С. 98-105.
  20. Конструювання та апробація праймерів для детекції вірусу нодулярного дерматиту великої рогатої худоби методом ПЛР у реальному часі Л.М. Іщенко, Г.А. Коваленко, Л.М. Музикіна, С.С. Мандигра, І.В. Галка, С.А. Ничик, В.Г. Спиридонов // Ветеринарна біотехнологія. – 2018. – №32 (2). – С. 202-208. [http://vetbiotech.kiev.ua/volumes/JRN32/2\\_25.pdf](http://vetbiotech.kiev.ua/volumes/JRN32/2_25.pdf)
  21. Апробація ЗТ-ПЛР тест-системи для диференційної діагностики африканської та класичної чуми свиней / С.С. Мандигра, Л.М. Музикіна, Л.М. Іщенко, Г.А. Коваленко, І.В. Галка, В. Г. Спиридонов, С.А. Ничик // Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. – № 20(83). – 2018. – С. 221–225. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8343>

### **Інформаційні ресурси**

1. Basic Local Alignment Search Tool (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)
2. Методи класичної і молекулярної біології ([https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Studentam\\_ta\\_aspirantam/Bakalavry/distance\\_learning/5\\_methods1.pdf](https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Studentam_ta_aspirantam/Bakalavry/distance_learning/5_methods1.pdf))
3. Web-сторінки «Вікіпедії» та інших інтернет-ресурсів