



**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНІКА
Факультет природничих наук
Кафедра біохімії та біотехнології**

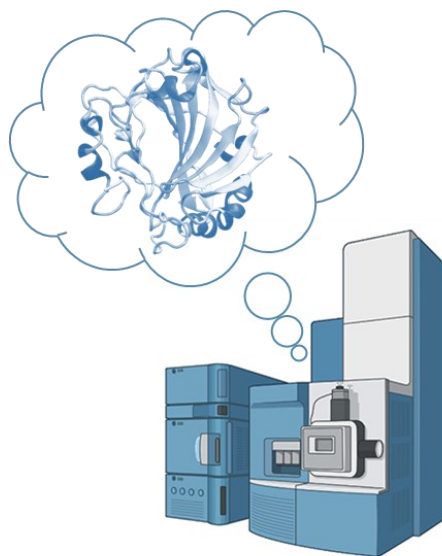


**СИЛАБУС НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
ІНСТРУМЕНТАЛЬНІ МЕТОДИ В БІОЛОГІЇ**

Для спеціальності
091 Біологія

Освітній рівень Магістр

6 кредитів ECTS
32 год. – лекції
32 год. – практичні заняття
116 год. – самостійна робота



Затверджено на засіданні
Вченої ради
факультету природничих наук
Протокол № ____
від __ грудня 2025 р.

м. Івано-Франківськ – 2025

ОПИС КУРСУ

Цей курс розглядає сучасні методи вивчення структури та взаємодій біологічних молекул, визначення їх вмісту та локалізації в клітинах. Основа його мета – дати загальне уявлення про інструментальні методи, які зараз використовуються в дослідженнях, їх переваги й недоліки та те, який з методів коректно застосовувати в певних випадках.

Зокрема розглядаються основи хроматографії та мас-спектроскопії, методи встановлення розмірів молекул, методи вивчення конформації, флуоресцентна та електронна мікроскопія, основи підготовки й аналізу зразків рентгеноструктурного аналізу та ЯМР, мічення протеїнів. Велику увагу приділено полімеразній ланцюговій реакції та її застосуванням.

ЦІЛІ КУРСУ

Основна мета курсу – розповісти студентам про можливості та обмеження найпопулярніших інструментальних методів, які застосовуються в сучасних біологічних дослідженнях та пояснити, як обрати найпростіший та найефективніший підхід для відповіді на конкретне експериментальне питання.

ПРОГРАМА КУРСУ



Лекції

1. Огляд інструментальних методів в біології

Препаративні та аналітичні методи. Вивчення локалізації (мікроскопія). Встановлення розмірів молекул. Встановлення структури. Вивчення взаємодій. Методи розділення та вивчення складу сумішей.

2. Встановлення розмірів молекул

Електрофорез білків та олігонуклеотидів. Аналітичне ультрацентрифугування. DLS. FCS. FCCS.

3. Хроматографія, мас-спектрометрія та LC-MS

Загальні принципи, види. Афінна хроматографія. Хроматографія витіснення. Іонообмінна хроматографія. Мас-спектрометрія. ESI, MALDI та інші іонізаційні методи. Типи мас-детекторів. Фрагментація. Комбінація рідинної хроматографії та мас-спектрометрії.

4. Рентгеноструктурний аналіз. ЯМР та ЕПР.

Принципи рентгеноструктурного аналізу. Кристалізація білків. SAXS. Спін. ^{13}C та ^{15}N мічення білків. ЯМР для аналізу структури білків. Твердотільний ЯМР. МРТ-візуалізація. ЕПР та вільні радикали.

5. Світло.

Колір і довжина хвилі світла. Заломлення, розсіювання та поглинання світла. Спектри абсорбції й флуоресценції. Спектрофотометри. ІЧ спектри. Поляризація світла. CD спектроскопія.

6. Інструментальні методи засновані на флуоресценції.

Флуоресценція. Флуорометри. Квантовий вихід. Сольватохромія. Анізотропія флуоресценції. Час життя збудженого стану. Гасіння флуоресценції. FRET.

7. Оптична мікроскопія.

Трансмісійна мікроскопія, фазовий контраст. Принципові схеми мікроскопів. Цифрові зображення. Роздільна здатність, мікрони та пікселі. Будова звичайного та флуоресцентного мікроскопа. Використання лазерів, фільтрів, дихроїчних дзеркал. Канали побудови зображення. Конфокальний мікроскоп та тривимірні зображення. TIRF.

8. Спеціальні методи флуоресцентної мікроскопії.

Колокалізація. FRET, FLIM, FRAP. Флуоресцентна мікроскопія в живих організмах. Двохфотонна мікроскопія *in vivo*. Деконволюція. Дифракційна межа. Подолання ліміту роздільної здатності при мікроскопії, STORM. PALM.

9. Мічення біологічних молекул.

Природні хромофори та флуорофори. Флуоресцентні протеїни. Cys-, Lys-реактивні барвники. Інтеркалюючі барвники. Таги. Клік реакції. Введення ненатуральних амінокислот. Комерційні барвники й мітки. Фотолабільні молекули й фотоперемикачі.

10. Електронна мікроскопія атомно-силова мікроскопія.

Принцип TEM та SEM. Роздільна здатність. Режими. Підготовка зразків. Встановлення структури молекул методом Cryo-EM. Принцип атомно-силової мікроскопії. Роздільна здатність по осях XY та Z. Підготовка зразків. Швидкість сканування та пошкодження зразків. Застосування для вивчення доменів білків (атомно-силова спектроскопія).

11. Полімеразна ланцюгова реакція.

Реагенти сучасних наборів для полімеразної ланцюгової реакції. Принципи вибору реагентів. Схема ампліфікації фрагмента ДНК. Основні різновиди ПЛР. Електрофорез в агарозному гелі та виявлення фрагментів нуклеїнових кислот.

12. Дизайн праймерів.

Спектр застосування олігонуклеотидних послідовностей. Основні характеристики ефективних праймерів. Обмеження дизайну послідовностей олігонуклеотидних фрагментів залежно від застосування. Оптимізація праймерів.

13. Мутагенез за допомогою полімеразної ланцюгової реакції.

Дизайн праймерів для сайт-специфічного мутагенезу. Загальні принципи спрямованого мутагенезу за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Збирання Гібсона.

14. Секвенування за Сенгером.

Принцип секвенування на основі термінації синтезу ланцюга. Мічення дідезоксинуклеотидів. Автоматизація секвенування. Секвенування цілих геномів.

15. Сучасні методи секвенування.

Створення бібліотек фрагментів. Піросеквенування. Емульсійна ПЛР. Твердофазна ПЛР на пластинці, ампліфікація містків та Illumina/Solexa секвенування. Сучасні методи секвенування РНК.

16. Полімеразна ланцюгова реакція в молекулярному клонуванні.

Розширення ділянок, які перекриваються (Overlap extension PCR). Обернена ПЛР для виявлення ділянок інтеграції мобільних генетичних елементів. Синтез довгих фрагментів ДНК.



Практичні

17. Хроматографія та LC-MS

Підбір методу хроматографії під завдання. Аналіз хроматограм. Планування градієнтів. Ручний аналіз простих мас-спектрів пептидів та протеїнів.

18. Дослідження взаємодій білків за допомогою спектроскопії.

Сольватохромія флуоресценції, FRET, анізотропія, CD спектроскопія як способи отримати інформацію про частку прореагованого протеїну. Приклад розрахунку афінності білка до мембрани на основі зміни емісії триптофану.

19. Мічення протеїнів.

Підбір флуорофорів під задачі. Перекривання спектрів. Фотостабільність та фототоксичність. Комерційні барвники й мітки. Флуоресцентні протеїни. Клік реакції. Різниця між зондом і міткою.

20. Поверхневий плазмонний резонанс та ізотермальна калориметрія

SPR: Принцип методу. Стаціонарний режим. Кінетика асоціації та дисоціації.

ITC: Принцип методу. Визначення ΔH , ΔG , ΔS реакції. Експеримент витіснення. Застосування до ензиматичних реакцій.

21. Аналіз та візуалізація тривимірної структури молекул

Переваги й недоліки методів встановлення структури (X-ray, Cryo-EM, ЯМР). Онлайн бази даних структур біологічних молекул. PDB. Програми візуалізації структури. Аналіз відстаней й конформації.

22. Планування експерименту та обробка даних

Вибір методу. Як визначити що саме потрібно виміряти чи щоб дізнатись потрібну інформацію? Особливості робота з великою кількістю зразків (HTS). Розробка методів. Аналіз та візуалізація даних. Врахування інструментальних похибок.

23. Аналіз методів використаних в сучасних роботах

Доповіді студентів на основі статей.

24. Аналіз методів використаних в сучасних роботах

Доповіді студентів на основі статей.

25. Обробка зображень отриманих флуоресцентною мікроскопією

ImageJ/Fiji. Кольорова гама, корекція, уникнення свідомої та несвідомої втрати інформації. Обробка тривимірних зображень конфокальної мікроскопії, обробка відеоданих з мікроскопа на прикладі зображень клітин.

26. Діагностична полімеразна ланцюгова реакція

Опосередкована петлею ізотермічна ампліфікація. Цифрова полімеразна ланцюгова реакція. Використання ПЛР в ідентифікації прокаріотів.

27. Специфічні види ПЛР і дотичні методи

Мікрочіпи: принцип методу та особливості аналізу. Полімеразна ланцюгова реакція для виявлення для виявлення ділянок метилювання. Множинна ампліфікація зондів, опосередкованих лігазою.

28. Полімеразна ланцюгова реакція у секвенуванні та діагностиці.

Швидка ампліфікація кінців комплементарної ДНК. Створення бібліотек ДНК. Особливості твердофазної ПЛР. Опосередкована петлею ізотермічна ампліфікація. Цифрова полімеразна ланцюгова реакція. Використання ПЛР в ідентифікації прокаріотів.

29. Кількісна полімеразна ланцюгова реакція

Виділення РНК. Розрахунки реагентів і налаштування ампліфікатора. Синтез кДНК. Дизайн планшету. Підготовка праймерів та мастер-міксу. Аналіз даних полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.

30. Методи секвенування

Секвенування за Сенгером. Сучасні варіанти секвенування за Сенгером. Секвенування цілого геному. Секвенування поодиноких молекул у реальному часі. Секвенування шляхом з'єднання і детекції олігонуклеотидних послідовностей. Секвенування з використанням нанопор.

31. Дизайн олігонуклеотидних послідовностей

Створення праймерів для детекції. Створення праймерів для кількісної ПЛР з використанням онлайн-інструментів (Ensembl, Primer Blast, Primer3Plus, тощо).

32. Розшифровка даних секвенатора:

Ідентифікація генів та аналіз нуклеотидних послідовностей за допомогою вільних онлайн-інструментів.

Підручники

1. Dagmar Klostermeier, Markus G. Rudolph Biophysical Chemistry CRC Press 2017 (ISBN 9781482252255)
2. Methods in Molecular Biophysics Structure, Dynamics, Function. I. N. Serdyuk, N. R. Zaccai, J Zaccai 2017 ISBN: 9781107056374
3. Пивоваренко В.Г. Абсорбційна та флуоресцентна спектроскопія органічних сполук; К.: ВПЦ «Київський університет», 2023
4. Peter Jomo Walla Modern Biophysical Chemistry Detection and Analysis of Biomolecules, Wiley-VCH 2014
5. Introduction to Experimental Biophysics Biological Methods for Physical Scientists, Second Edition, Jay L. Nadeau, 2018, ISBN 9781138088153
6. Сиволоб А. Молекулярна біологія: підручник (2-ге вид., перероб. і доп.) – К.: ВПЦ «Київський університет», 2023. – 511 с. ([доступний на сайті КНУ](#)) // Розділи 9 та 11.
7. Alberts B., Johnson A., Lewis J., et al. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. New York: Garland Science, 2002. Isolating, Cloning, and Sequencing DNA. Доступний на: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26837/>

Додаткові ресурси

8. Schermelleh, L., Ferrand, A., Huser, T. *et al.* Super-resolution microscopy demystified. *Nat Cell Biol* **21**, 72–84 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0251-8>
9. Tam, J. and Merino, D. (2015), Stochastic optical reconstruction microscopy (STORM) in comparison with stimulated emission depletion (STED) and other imaging methods. *J. Neurochem.*, 135: 643-658. <https://doi.org/10.1111/jnc.13257>
10. <https://www.olympus-lifescience.com/en/resources/>
11. <https://www.ibiology.org/online-biology-courses/microscopy-series/fluorescence-microscopy/>
12. <https://www.microscopyu.com/techniques/confocal>
13. Завантаження безкоштовної програми для обробки зображень Fiji <https://fiji.sc/>
14. Peter Bankhead. [Analyzing fluorescence microscopy images with ImageJ](#), 2014
15. Satam H., Joshi K., Mangrolia U., Waghoo S., Zaidi G., Rawool S., Thakare R.P., Banday S., Mishra A.K., Das G., Malonia S.K. Next-generation sequencing technology: current trends and advancements. *Biology (Basel)*. 2023; 12(7): 997. Доступний на: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10376292/>
16. Heather J.M., Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*. 2016; 107(1): 1-8. doi: 10.1016/j.ygeno.2015. Доступний на: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4727787/>
17. Green M.R., Sambrook J. Polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Protoc*. 2019; 2019 (6). doi: 10.1101/pdb.top095109. Доступний на: <https://cshprotocols.cshlp.org/content/2019/6/pdb.top095109.full>.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКЛАДАЧІВ

Володимир ШВАДЧАК



Доцент кафедри біохімії та біотехнології

Захистив дисертацію по розробці двосмугових флуоресцентних барвників для вивчення вірусних протеїнів в університеті Страсбурга (2009). Працював над розробкою сольватохромних флуоресцентних міток для протеїн-мембранних взаємодій (Інститут Біофізичної хімії, Німеччина 2009-2012), засобів контрольованого для фототривання біологічно активних речовин під час мікроскопії речовин Інститут органічної хімії та біохімії АН Чехії 2015-2022). Зараз займається розробкою флуоресцентних барвників для селективного мікроскопічного детектування амілоїдних фібрил.



ORCID [0000-0001-8302-8073](https://orcid.org/0000-0001-8302-8073) (список публікацій)



Scopus-ID [13411269400](https://scopus.org/authorid/13411269400) (список цитувань)



[Сторінка на сайті кафедри](#)



Робочі години: Пн-Пт – 9:00 – 17:00



volodymyr.shvadchak@pnu.edu.ua

Дмитро ГОСПОДАРЬОВ



Доцент кафедри біохімії та біотехнології

Вищу освіту отримав на біологічному факультеті Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (1996–2001), після чого навчався в аспірантурі Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника під керівництвом професора Володимира Луцака за спеціальністю 03.00.04 – біохімія (2001–2004). З 2004 року є штатним працівником кафедри біохімії та біотехнології. Науковий ступінь отримав у 2005 році, а вчене звання – в 2014. З 2021 року працює над докторською дисертацією на тему «Шляхи впливу на енергетичний метаболізм тваринного організму з метою збільшення тривалості життя». На кафедрі біохімії та біотехнології викладає дисципліни «Біологія клітини», «Генетика», «Моделі біохімічних досліджень».



ORCID [0000-0001-8302-8073](https://orcid.org/0000-0001-8302-8073) (список публікацій)



Scopus-ID [8914696900](https://scopus.org/authorid/8914696900) (список цитувань)



[Сторінка на сайті кафедри](#)



Робочі години: Пн-Пт – 11:00 – 19:00



dmytro.gospodaryov@pnu.edu.ua

ПОЛІТИКА КУРСУ

Загальні положення

Основою політики курсу є взаємоповага у спілкуванні та фокусування на навчанні. Телефони під час занять повинні бути переведені в беззвучний режим і відлучення з аудиторії для спілкування допускаються тільки в нагальних випадках. Очікується використання імені а прізвища студента під час онлайн спілкування (назви профілів в Zoom та месенджерах). При оформленні робіт у вигляді файлів необхідно надавати назви що ідентифікують автора та тип роботи. Також очікується що файли надані студентами мають містити всю необхідну інформацію для розуміння та оцінювання й не вимагати додаткових усних пояснень. Під час онлайн занять студенти повинні бути готові вмикати камеру та мікрофон за потреби. Вживання напоїв під час лекцій допускається, якщо це не заважає іншим.

Лекції

Запитання до викладача та коментарі під час лекцій вітаються. Коментарі щодо робіт інших студентів та запитання повинні мати конструктивний характер та бути виваженими. Студенти мають змогу підготувати короткі *довповіді* що розширюють чи поглиблюють розуміння лекції, чи *задати практичні запитання* які вони хотіли б розглянути занятті про що треба повідомити про них до початку занять.

Практичні заняття

Виконання практичних робіт необхідне для допуску до іспиту, ці роботи мають бути надіслані викладачеві у електронній формі. Курс розрахований на наявність у студентів *можливості працювати за власним комп'ютером* під час практичних занять. За потреби практичні завдання можна виконувати удома.

Відвідування

У випадку пропусків лекційних чи лабораторних занять з поважної причини допускається зарахування результатів неформальної освіти у формі проходження курсів на платформах Udemy, Prometheus, Coursera чи аналогічних **за умови попереднього погодження теми онлайн-курсів з викладачем.**

Академічна доброчесність

Копіювання матеріалів практичних робіт інших студентів (в тому числі студентів, що проходили курс іншого року) призводить до повторного виконання та зниження оцінки на 3 бали або, при незначній частці скопійованого, до зниження оцінки на 1 бал. При повторному порушенні студенту буде надана можливість приготувати доповідь на основі однієї з нових статей по темі курсу для допуску до повторного виконання практичної чи лабораторної роботи.

- Під час іспиту допускається використання конспектів, електронних та друкованих підручників, пошук інформації в інтернеті. Проте будь-яке спілкування з іншими людьми призведе до завершення іспиту з незадовільною оцінкою.

Неформальна освіта

Сертифікат про успішне проходження курсу зміст якого частково або повністю відповідає змісту дисципліни дає можливість замінити або доповнити підсумковий контроль згідно з «Положенням про порядок зарахування результатів неформальної освіти у Прикарпатському національному університеті імені Василя Стефаника». Цю можливість, а також назви та програми курсів бажано обговорити з викладачем завчасно. Як загальне правило, курси по мікроскопії, спектроскопії, хімічній біології, секвенуванню ДНК будуть зараховані.

ОЦІНЮВАННЯ

Активність	% від оцінки	термін	примітки
Активність на лекціях	15	впродовж курсу	Оцінка ставиться по найкращій з відповідей студента.
Лабораторні	20	2 тижні з дня заняття	По 5 балів за кожну лабораторну. Мінімум 2 бали за кожну для допуску до заліку.
Практичні	15	2 тижні з дня заняття	По 5 балів за кожну практичну. Мінімум 2 бали за кожну для допуску до заліку.
Іспит	50	в кінці курсу	Тест на 8 запитань з короткими відповідями (32 бали) та одне розвернуте запитання (18 балів)

За підсумками вивчення курсу студент зможе отримати максимально 100 балів: 50 балів впродовж курсу та 50 балів за іспит.

Сума балів	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою
90 – 100	A	відмінно
80 – 89	B	добре
70 – 79	C	добре
60 – 69	D	задовільно
50 – 59	E	задовільно
25 – 49	Fx	незадовільно з можливістю повторного складання
0 – 24	F	незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни