МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.03.01 Биология
Профиль подготовки Биохимия
Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
на тему:
«РАЗРАБОТКА ОНЛАЙН КУРСА «СОВРЕМЕННЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ»

Студент _____ Андриякина Дарья Михайловна

Руководитель _____ Кручинина А.Д

Нормоконтролер _____ Клыченков С.В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 19.06.23 №14)

Заведующий кафедрой _____ Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично

(протокол заседания ГЭК от 14.07.23 № 1)

Секретарь ГЭК _____ Клыченков С.В.

Пенза, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....3

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....5

1.1 Основные понятия и термины дистанционных образовательных технологий 5

1.2 Классификация и характерные особенности дистанционных образовательных технологий 11

1.3 Анализ современных физико-химических методовисследования.....19

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....25

2.1 Обоснование выбора темы и структуры онлайн курса.....25

2.2 Методы исследования..... 28

2.2.1 Методы выделения и очистки пептидов.....28

2.2.2 Методы количественного определения пептидов и углеводов.....32

2.2.3 Электрофорез 33

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....35

3.1 Пробоподготовка.....35

3.2 Хроматография.....39

3.3 Спектрофотометрия.....47

3.4 Электрофорез.....49

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....56

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....58

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В настоящее время требования общества к будущим специалистам значительно выше, чем были десять или двадцать лет назад, что связано с быстро ускоряющимся техническим прогрессом в производстве, науке и образовании. В связи с этим высококвалифицированным специалистам необходимо постоянно обновлять свои знания и навыки, а понятие "образование на всю жизнь" превращается в "образование через всю жизнь". Дистанционные образовательные технологии позволяют гибко организовывать самообразование и получение новых знаний в соответствии с индивидуальным графиком, независимо от места проживания, осуществлять обучение на рабочем месте и совмещать его с работой.

Элементы дистанционного обучения, являющегося одной из современных форм организации учебного процесса, позволяющей реагировать на динамику изменения содержания предметной области путем обновления учебного контента, могут быть применены при подготовке обучающихся направления 06.03.01 Биология, профиль Биохимия. Платформа Moodle, используемая в ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», обеспечивает возможность загрузки дополнительных материалов и создания онлайн-курсов для студентов.

Студенты-биохимики должны владеть навыками работы на современном лабораторном оборудовании для решения профессиональных задач и выполнения фундаментальных, прикладных и поисковых научных исследований и разработок в области медицины и биологии. В связи с этим актуальным является разработка материалов, посвященных современным физико-химическим методам, реализуемым на базе кафедры и исследованиям, выполняемым сотрудниками кафедры.

Одним из актуальных направлений исследований кафедры является изучение биологической активности пептидов, выделенных из различных

продуктов пчеловодства. Перспективность темы обусловлена ее практической значимостью и возможностью применения результатов для создания биологических активных добавок с различным спектром действия. Работы по выделению и очистке пептидов, а также изучению белково-пептидного спектра требуют углубленных знаний, умений и навыков в области хроматографических исследований, спектрометрии и электрофореза.

Целью выпускной квалификационной работы является разработка фрагмента онлайн-курса «Современные физико-химические методы исследования».

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

–рассмотреть основные понятия и особенности дистанционных образовательных технологий;

–проанализировать современные физико-химические методы, широко применяемые в практике;

–провести выделение и очистку пептидов из продуктов пчеловодства, подготовить видеоматериалы по основным этапам эксперимента;

–обработать результаты исследования и разработать практико-ориентированные задания по ним.

Выпускная квалифицированная работа написана на 62 листа, содержит 17 рисунков, 2 таблицы и список литературы на английском и русском языках из 26 источниках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Основные понятия и термины дистанционных образовательных технологий

В области дистанционных образовательных технологий нет единства терминологии, в различной литературе часто используются такие термины, как дистанционное обучение, дистанционное образование, интернет-обучение, дистанционные образовательные технологии. Их используют для описания особенностей обучения на расстоянии с применением современных информационных технологий или традиционной почтовой и факсимильной связи [7].

Попробуем более подробно разобраться с понятием «дистанционное обучение» (ДО).

В настоящее время отсутствует общепринятое определение дистанционного обучения. Исследователи и эксперты в этой области часто используют этот термин с разными значениями, что приводит к неоднозначности. Для того чтобы лучше понять сущность дистанционного обучения и прояснить его определение, необходимо изучить различные трактовки этого термина, которые предлагают ученые.

Зарубежные ученые, такие как А. Чут, Л. Бальтазар и Л. Шатзер, придают важное значение телекоммуникациям в организации дистанционного обучения. Они определяют его как "теле-обучение" - комплексную систему, которая включает в себя планирование, распространение и управление программами обучения, используя передовые средства дальней связи.

И.В. Роберт считает, что дистанционное обучение – это процесс передачи знаний, формирования умений и навыков при интерактивном взаимодействии как между обучающим и обучающимся, так и между ними и

интерактивным источником информационного ресурса, отражающий все присущие учебному процессу компоненты (средства обучения, содержание, цели, организационные формы, методы), осуществляемый в условиях реализации средств информационно-коммуникационных технологий (ИКТ) [21].

Похожее определение этому понятию дает Е.С. Полат: дистанционное обучение – это система обучения, основанная на взаимодействии преподавателя и студента, студентов между собой на расстоянии, отражающая все присущие учебному процессу компоненты (средства обучения, содержание, цели, организационные формы, методы) специфичными средствами ИКТ и Internet-технологий [20].

А.В. Хуторской определяет ДО как обучение, при котором удаленные друг от друга субъекты обучения осуществляют образовательный процесс с помощью средств телекоммуникаций [25].

Особняком стоит трактовка данного понятия А.М. Бершадским и И.Г. Кревским. По их мнению, дистанционное обучение – это метод, который может использоваться как в рамках новой формы получения образования, так и в рамках традиционных форм - очной и заочной, а также при обучении, не имеющем целью получение систематического образования [6].

В "Педагогическом энциклопедическом словаре" дистанционное обучение определяется как методика целенаправленного и организованного управления учебно-познавательной деятельностью учащихся, находящихся на дистанции от образовательного учреждения, независимо от уровня образования. Эта методика может использоваться в любой форме обучения.

Д.М. Джусубалиева предлагает определить ДО как новый вид организации процесса обучения, характеризующийся специализированной информационно-образовательной средой с использованием современных информационных технологий информатизации учебно-воспитательного процесса [9].

Кроме того, можно привести следующие выдержки из различных работ,где дистанционное обучение понимается как:

–технология обучения на расстоянии, при которой преподаватель и обучаемые физически находятся в различных местах;

– форма обучения, при которой преподаватель и обучаемые физически;

–разделены во времени или в пространстве, отличающуюся от заочной формы обучения применением особых технологий;

–обучение, которое основано на использовании специальных компьютерных технологий и средств Internet, обеспечивающих оптимальное управление процессом обучения;

–организация учебного процесса в условиях опосредованного взаимодействия обучающегося и преподавателя с преимущественным использованием средств информатизации и телекоммуникаций;

–совокупность технологий, методов и средств, обеспечивающая возможность обучения без посещения учебного заведения, но с регулярными консультациями у преподавателей учебного заведения или лиц,

– сертифицированных этим учебным заведением (тьюторов);

–целенаправленный процесс интерактивного асинхронного или синхронного взаимодействия преподавателя и обучающихся между собой и со средствами обучения, индифферентный к их расположению в пространстве ивремени;

–новая форма обучения, которая существует в настоящее время наряду с другими формами обучения – очной, заочной, экстернатом в системе непрерывного образования [4].

Обучение – это процесс, в котором преподаватель и студент совместно трудятся над достижением общей цели, которой является развитие личности, ее образование и воспитание. В случае дистанционного обучения мы имеем дело с конкретной формой обучения, которая представляет собой систему, требующую этапа проектирования для успешной организации учебного

процесса. Этап проектирования включает в себя определение общей концепции системы обучения, установление соответствующих целей, выбор подходящего содержания обучения, его структурирование в соответствии с особенностями дистанционного обучения и предмета, выбор методов и педагогических технологий, организационных форм обучения, а также использование информационных технологий и других учебных материалов для эффективной организации учебного процесса.

Таким образом, исследовав различные взгляды ученых, мы соглашаемся с мнением Е.С. Полат и придерживаемся точки зрения, что дистанционное обучение – это новая форма обучения, которая существует в настоящее время наряду с другими формами обучения – очной, заочной, экстернатом в системенепрерывного образования; дистанционное обучение – это система и процессобучения, в котором преподаватель и студент находятся на расстоянии друг отдруга, и потому опираются на электронные средства и печатные пособия для организации учебного процесса. Дистанционное обучение включает дистанционное преподавание и дистанционное учение [20].

Дистанционное обучение представляет собой процесс, в котором обучающийся работает самостоятельно под контролем преподавателя. Он может выбирать удобное для себя место и время для обучения, составлять индивидуальное расписание и использовать специальные средства обучения. В этом случае дистанционное обучение является целенаправленным и интерактивным процессом, где субъекты и объекты обучения взаимосвязаны друг с другом и со средствами обучения. Педагогическая система дистанционного обучения включает в себя несколько подсистем: цели обучения, содержание обучения, средства и методы обучения, организационные формы обучения, контроль, экономика и правовые аспекты. Использование IT-технологий, базирующихся на принципах интенсивности и самостоятельности обучения по индивидуальному графику, является

фундаментом дистанционного обучения. В целом, дистанционное обучение представляет собой современную и доступную форму получения образования, где используются новейшие инновационные методы, средства и формы обучения.

Специалисты лаборатории дистанционного обучения Института содержания и методов обучения РАО определяют дистанционное образование как образование, которое реализуется через дистанционное обучение. Следует отметить, что при использовании термина "дистанционное образование" необходимо учитывать разницу между понятиями "открытое образование" и "дистанционное образование". В отличие от открытого образования, которое может быть представлено в форме очного, заочного, дистанционного и экстерната, дистанционное образование ориентировано на стандарты и программы, разработанные для конкретных областей образования.

На сегодняшний день в российском законодательстве используются понятия: «электронное обучение» и «дистанционные образовательные технологии». В Федеральном законе №273-ФЗ в редакции от 29.12.2015 г. «Об образовании в Российской Федерации» [1], в статье № 16 «Реализация образовательных программ с применением электронного обучения и дистанционных образовательных технологий» в частности говорится: «Под электронным обучением понимается организация образовательной деятельности с применением содержащейся в базах данных и используемой при реализации образовательных программ информации и обеспечивающих ее обработку информационных технологий, технических средств, а также информационно-телекоммуникационных сетей, обеспечивающих передачу по линиям связи указанной информации, взаимодействие обучающихся и педагогических работников. Под дистанционными образовательными технологиями понимаются образовательные технологии, реализуемые в основном с применением информационно-телекоммуникационных сетей при опосредованном (на расстоянии) взаимодействии обучающихся и

педагогических работников». Таким образом, понятие «дистанционное обучение» заменено более широким понятием «электронное обучение», в состав которого включены дистанционные образовательные технологии.

Электронное обучение имеет аналогичный компонентный состав, включающий цели, определяемые социальным заказом для всех форм обучения, содержание, которое частично зависит от программ, используемых в конкретной учебной организации, методы, организационные формы и средства обучения. Создание методического обеспечения и инфраструктуры электронного обучения основано на определенных принципах, которые позволяют максимально эффективно использовать информационные технологии в процессе непрерывного образования. И.В. Сергиенко [22] отмечал, что «основными принципами построения дистанционной модели обучения являются:

- информационная телекоммуникационная технология обучения;
- индивидуальное учебное планирование;
- система аттестации знаний;
- академическая мобильность обучающихся.

В зарубежной литературе по дистанционному образованию и дистанционному обучению существует огромное количество терминологии: elearning, виртуальное обучение, смешанное обучение, сетевое обучение, TEL(technology enhanced learning – обучение с использованием технических средств), CBT (computer-based training – обучение при помощи компьютера), WBT (web-based training – обучение на основе сети Интернет), WSCL (websupported collaborative learning – сетевая поддержка совместного обучения), мобильное обучение, виртуальное обучение и т.д. [27]. Также для зарубежных исследователей характерно использование термина «learning» применительно к дистанционному образованию. Это можно объяснить тем, что глагол «to learn» в английском языке переводится как «учиться», следовательно, подчеркивается важность самостоятельной работы студента

в процессе дистанционного обучения. Приведенные выше термины дистанционного обучения представлены во взаимосвязи на (рис. 1) [24].

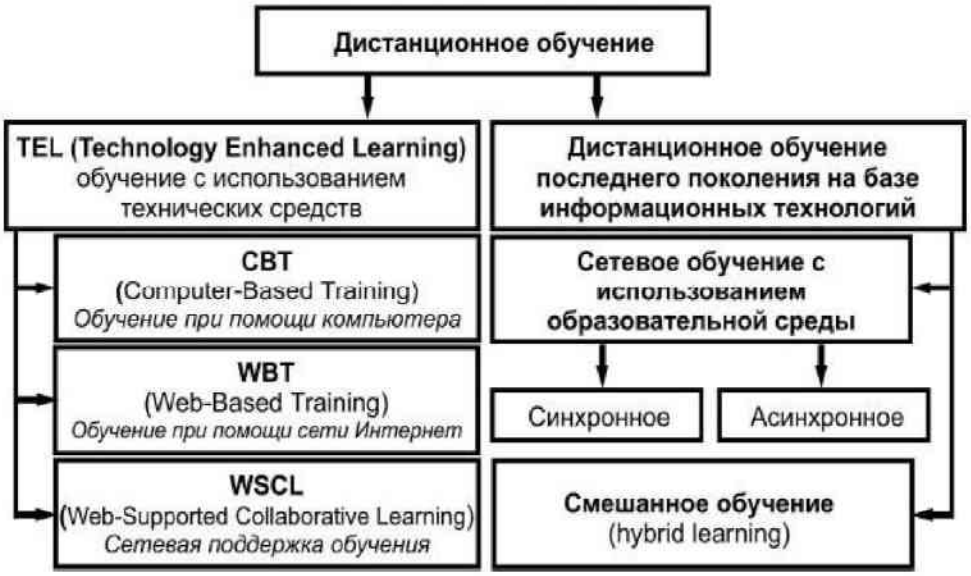

Рисунок 1. Взаимосвязь терминологии дистанционного обучения с уровнем его использования образовательным учреждением

В данной работе будет использоваться следующая терминология: LMS (Learning Management System) - система управления обучением, и СДО (система дистанционного обучения), которая является русскоязычным аналогом LMS. Проведя анализ основных понятий и терминов, связанных с дистанционным обучением в российской системе образования, можно сделать вывод о том, что отечественное дистанционное обучение приближается к полноценной форме обучения.

1.2 Классификация и характерные особенности дистанционных образовательных технологий

Необходимо рассмотреть и описать основные формы дистанционного

образования, которые широко распространены как в мировом образовательном пространстве, так и в России. Существуют три основных типа дистанционных образовательных технологий, которые изображены на (рис. 2).

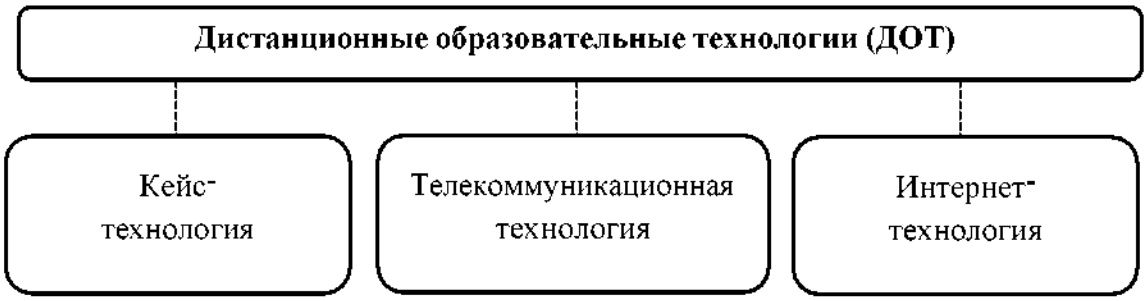

Рисунок 2. Схема классификации ДОТ

Кейс-технология. Эти технологии представляют собой совокупность учебно-методических материалов, собранных в специальную форму, то есть в «кейс», который по сетям индивидуального или группового пользования направляется обучающемуся для его изучения в режиме самостоятельной работы. Если по ходу изложения информационного материала данного занятия у обучающегося возникают вопросы, замечания или уточнения, то эта ситуация подразумевает возможность обращений к «преподавателям-консультантам» в соответствующие филиалы или учебные центры как «напрямую», то есть посредством программы «Skype», так и через переписку по электронной почте [9].

Телекоммуникационная технология. Данные технологии дистанционного обучения имеют своим основанием телевизионные лекции. Необходимо отметить, что по данным на середину 2012 г. на Западе, и прежде всего в США, эти технологии не востребованы, так как отстают от более продуктивных технологий современного мира. Однако во многих странах

мира продолжаются исследования, разработки и создание учебных курсов такого формата в полном соответствии со стандартом цифрового телевидения, который сертифицирован как американской «Федеральной комиссией по телекоммуникациям», так и его российской аналогичной службой. Сейчас подготавливаются планы и программы федерального уровня для применения технологии WebTV, которая дает возможность пользоваться учебными программами такого формата сразу (напрямую) через Интернет – на домашний компьютер при помощи небольшого электронного устройства декодера [12].

Интернет-технология. На данный момент, Интернет-технологии являются наиболее актуальными и надежными разработками в области дистанционного образования, предоставляя широкий спектр возможностей. Они представляют последние достижения в области мультимедиа и обеспечивают интерактивное взаимодействие между студентами и преподавателями. Благодаря доступности учебных материалов и возможности постоянного контакта с учебным центром и его персоналом, Интернет-технологии обеспечивают эффективное дистанционное обучение.

В современном российском дистанционном образовании интернет-технологии играют важную роль. Система дистанционного обучения, основанная на использовании Интернета, представляет собой комплекс программно-технических средств, методик и организационных мероприятий,которые обеспечивают доставку образовательной информации учащимся через интернет, а также проверку знаний, полученных в рамках конкретного курса обучения.

Современный российский рынок систем дистанционного образования следует подразделить и систематизировать следующим образом – по критерию иерархической значимости:

–сектор №1 – корпоративное дистанционное образование;

–сектор №2 – дистанционное образование в системе высшего и среднего профессионального образования;

–сектор №3 – дистанционное образование в органах государственного и местного управления.

Корпоративное обучение является наиболее динамично развивающимся видом образования. Это связано с растущей зависимостью эффективности работы организаций от квалификации персонала. Практика показывает, что использование дистанционного обучения в организациях и компаниях позволяет значительно снизить расходы и оптимизировать процессповышения квалификации персонала.

Эффективность дистанционных образовательных технологий возможно оценить с позиции характерных особенностей дистанционного обучения на основе следующих критериев (рис. 3):

1. Гибкость. Система электронного обучения обладает гибкостью, так как обучаемые не обязаны посещать регулярные занятия в формате лекций, семинаров или лабораторных работ. Вместо этого, они могут работать в удобном для себя режиме, а также параллельно заниматься профессиональной деятельностью.

2. Модульность. Система электронного обучения основана на модульном принципе, что позволяет создавать учебные планы из независимых модулей, соответствующих индивидуальным или групповым потребностям обучаемых.

3. Экономическая эффективность. Сравнительный анализ мировых образовательных систем демонстрирует, что электронное обучение стоит примерно в 2 раза дешевле, чем традиционные формы образования. Таким образом, оно обладает большей экономической эффективностью.

Новая роль преподавателя. В современных образовательных системах преподавателю поручаются различные функции, включая координацию учебного процесса, корректировку курсов, консультирование по индивидуальному учебному плану, управление учебными проектами и другие. Таким образом, роль преподавателя значительно изменилась в настоящее время.

4. Специализированный контроль качества обучения. В электронном обучении для контроля качества используются различные формы, такие как дистанционно организованные экзамены, собеседования, практические задания, курсовые и проектные работы, а также компьютерные интеллектуальные тестирующие системы. Это позволяет обеспечить специализированный контроль качества обучения.

Технология электронного обучения – это совокупность методов, форм и средств взаимодействия с человеком в процессе самостоятельного, но контролируемого освоения им определенного массива знаний.

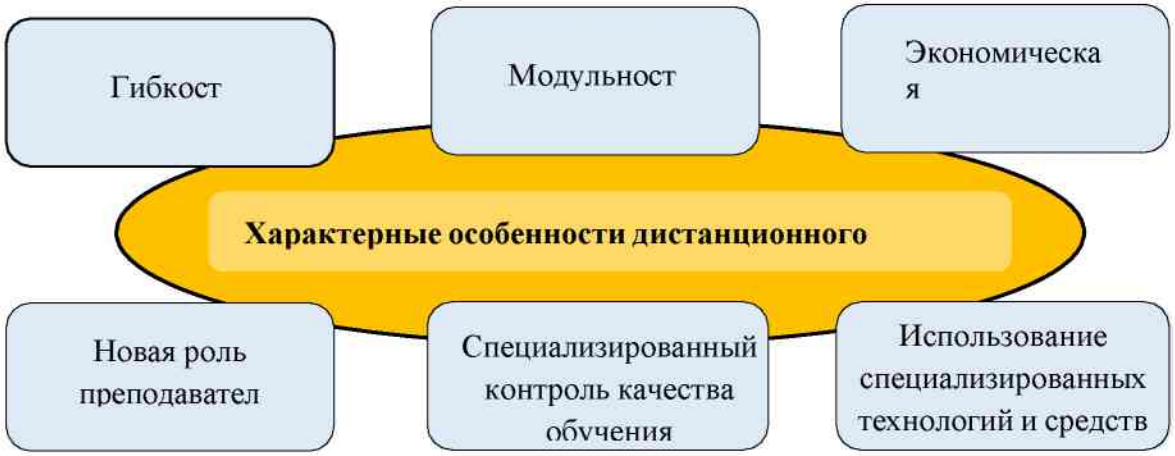

Рисунок 3. Критерии характерных особенностей дистанционного обучения

Отметим наиболее часто упоминаемые недостатки обучения с помощьюдистанционных образовательных технологий (рис 3):

Многие учебные материалы, которые используются для традиционного обучения, не подходят для e-Learning, поэтому возникает необходимость специальной подготовки преподавателей для разработки учебных on-line материалов.

1. Отсутствие в e-Learning «живого» общения между обучающимися и преподавателем.

2. Многие электронные курсы разработаны таким образом, что они могут преподаваться только одним учебным заведением или только одним конкретным преподавателем.

3. Слушатель, обучаясь только с помощью СДО, может не иметь возможности приобрести те необходимые практические навыки, которыми он мог бы овладеть на традиционных лекциях, семинарах и практических занятиях.

4. Отсутствие постоянного контроля со стороны преподавателя.

5. Необходима хорошая техническая оснащенность рабочего места обучающегося.

Сопоставим вышеперечисленные критерии в рассмотренных дистанционных образовательных технологиях (табл. 1).

Несмотря на то, что кейс-технологии гибкие и модульные, они не обеспечивают полной экономической эффективности, контроля качества обучения и реализации новой роли преподавателя. В то же время телевизионные технологии соответствуют только двум из шести критериев - модульности и экономической эффективности. Полностью удовлетворяют всем шести критериям эффективности только Интернет-технологии.

Таблица 1 – Эффективность ДОТ

Критерии	Кейс- технологии	Телевизионные/ спутниковые	Интернет-технологии
1. Гибкость	присутствует	отсутствует	присутствует
2. Модульность	присутствует	присутствует	присутствует
3. Экономическая эффективность	присутствует частично	присутствует	присутствует
4. Новая роль преподавателя	присутствует частично	отсутствует	присутствует
5. Контроль качества обучения	присутствует частично	отсутствует	присутствует
6. Средства обучения и специализированны е технологии	отсутствует	отсутствует	присутствует

Исходя из данных сопоставления при введении электронного обучения с использованием дистанционных образовательных технологий, стоит ориентироваться сразу на Internet-технологию, так как в этом случае воспользоваться учебными материалами смогут не только педагоги в пределах локальной сети (оболочки), но и все пользователи сети Интернет [3].

При создании системы дистанционного обучения на основе Internet-технологий, используется специальная программная оболочка, делающая процесс создания курсов более эффективным, а также позволяющая организовывать процесс обучения и обеспечивать его административное сопровождение. Информационно-образовательная среда (оболочка) представляет собой системно-организованную совокупность средств передачи данных, информационных ресурсов, протоколов взаимодействия, аппаратно- программного и организационно-методического обеспечения, ориентированную на удовлетворение образовательных потребностей пользователей (рис. 4).

Рисунок 4. Структура информационно-образовательной среды

Для организации электронного обучения необходима информационная платформа, или так называемая «оболочка». С.Г. Тютюгина [24] отметила, что «оболочки» для дистанционных курсов можно разделить на два типа:

1. Ориентированные на разработку курса в автономном режиме с последующей его загрузкой в сеть Интернет (представляют собой аналоги редакторов гипертекста, содержащие дополнительно специфические средства разработки, ориентированные на особенности курсов дистанционного обучения).

2. Ориентированные на разработку курса непосредственно в сети Интернет, которые делятся на два подтипа:

–использующие для редактирования и администрирования курсов специализированные программы;

–использующие для редактирования и администрирования курсов стандартные средства просмотра Web.

Оболочка (рис. 4) включает в себя следующие модули: инструментальный, интерактивный, учебный, модуль мониторинга качества обучения, административный, библиотека, медиатека курса.

В настоящее время на российском рынке образовательных услуг существует целый ряд платформ для дистанционного обучения как отечественного, так и иностранного производства.

Таким образом, платформа помогает решить много организационных проблем, так как современные системы электронного обучения помогают

обеспечить [14]:

–централизованное автоматизированное управление обучением;

–быстрое и эффективное размещение и предоставление учебного контента обучаемым;

–единую платформу для решения основных задач в рамках планирования, проведения и управления всеми учебными мероприятиями в организации;

–поддержку современных стандартов в сфере технологий дистанционного обучения;

–персонализацию учебного контента и возможность его многократного использования;

–широкий диапазон средств организации взаимодействия между всеми участниками учебного процесса.

1.3 Анализ современных физико-химические методы исследования

Современные физико-химические методы – это совокупность методов, используемых для изучения физических и химических свойств вещества.

Они позволяют установить связь между структурой вещества и его свойствами, а также между реакционными условиями и кинетическими параметрами реакций.

Основной задачей физико-химических методов является изучение химических реакций, происходящих в системах различных компонентов, на молекулярном и атомном уровне. Используя различные физико-химические методы, можно получить информацию о термодинамических, кинетических и структурных свойствах вещества.

Существует множество современных физико-химических методов исследования (рис. 5), которые используются для изучения биохимических процессов и свойств материалов.

Рисунок 5. Современных физико-химических методы исследования

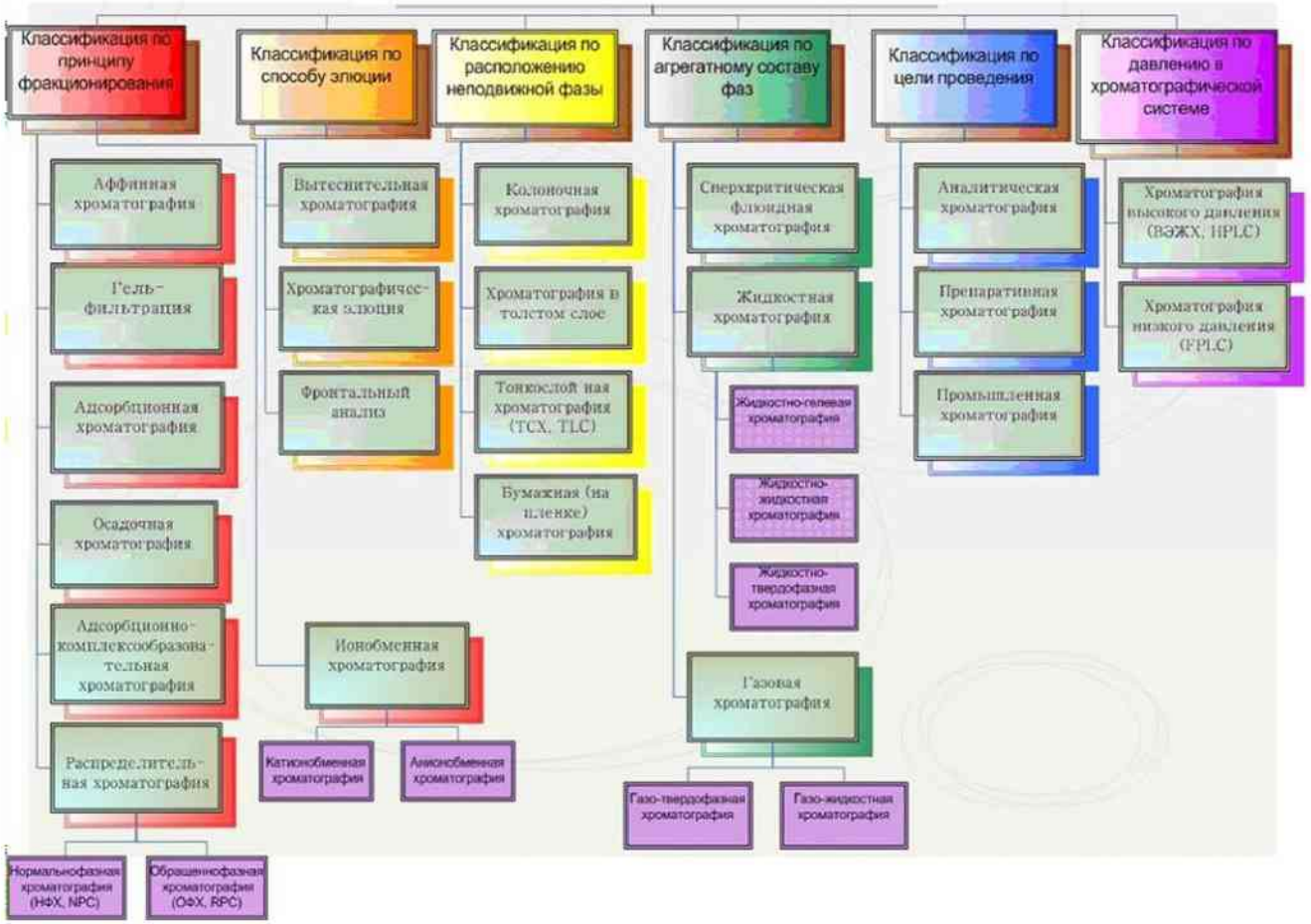

Рисунок 6. Классификация хроматографических методов

В практике работы лабораторий широкое применение находят хроматографические методы, методы электрофореза, спектрометрические методы.

Разнообразие хроматографических методов находится в зависимости от задач исследования. Существующая классификация методов представлена на (рис. 6).

Хроматография – это метод физической сепарации химических соединений, основанный на различной скорости движения компонентов смеси через пористую стационарную фазу. В зависимости от типа стационарной фазы и используемого растворителя различают следующие варианты хроматографии:

–жидкостная хроматография – это метод, в котором жидкая фаза протекает через стационарную фазу в колонке. Существует несколько типов жидкостной хроматографии, таких как обратно-фазная, гель-фильтрационная,ионообменная, аффинная и другие.

–газовая хроматография – это метод, в котором газовая фаза протекает через стационарную фазу в колонке. Этот тип хроматографии используется для анализа летучих органических соединений.

–обращенно-фазная хроматография – это метод, в котором стационарная фаза состоит из гидрофобных частиц, а жидкая фаза содержит высоко-полярный растворитель. Этот тип хроматографии используется для анализа белков и других полярных молекул.

–хроматография на тонком слое – это метод, в котором стационарная фаза представляет собой тонкий слой пористого материала на пластиковой или стеклянной пластине, а жидкая фаза протекает через этот слой.

Гель-фильтрация, также известная как размерно-исключающая хроматография, является примером жидкостной хроматографии, методом фракционирования биомолекул на основе их размера. Он основан на принципе прохождения растворяемых молекул через пористую матрицу геля,

которая действует как стационарная фаза. В процессе гель-фильтрации колонка наполнена гелем определенной пористости, который позволяет разделить молекулы по их размеру. Большие молекулы не могут пройти через поры геля и двигаются быстрее к выходу из колонки, в то время как меньшие молекулы проходят сквозь поры геля и двигаются медленнее. Для гель-фильтрации используются гели различной пористости, что позволяет разделять молекулы широкого диапазона размеров. Этот метод является достаточно простым и быстрым, и может использоваться для очисткибелков и других макромолекул из комплексных смесей. Гель-фильтрация может быть использована для определения относительного размера белков и других макромолекул, для оценки их степеничистоты и для изучения их структуры и функции.

Различные виды хроматографии широко используются в биохимии и общей химии для очистки и анализа различных соединений, таких как белки, нуклеотиды, липиды, углеводы и другие.

Электрофорез - это метод сепарации биомолекул на основе их заряда и размера, используя электрическое поле.

В этом методе биомолекулы разделяются в геле или другой стационарный матрице, которая действует как фильтр на основе их различной подвижности в электрическом поле. В процессе электрофореза образец помещается на один конец геля, а затем применяется электрическое поле, которое перемещает молекулы через гель. Заряженные молекулы движутся к электроду противоположного знака, пока не достигнут точки своей нетипичной жесткости и размера, и не остановятся. Существует несколько видов электрофореза, включая:

–полиакриламидный гель-электрофорез – метод, используемый для разделения белков на основе их размера, формы и заряда.

–агарозный гель-электрофорез – метод, используемый для разделения нуклеиновых кислот на основе их размера.

– изоэлектрическая фокусировка – метод, используемый для разделения белков на основе их изоэлектрической точки, то есть pH, при котором они не имеют нетипичного заряда.

–двумерный гель-электрофорез – метод, который объединяет два вида электрофореза - PAGE и IEF - для создания более сложных карт разделения.

Электрофорез широко используется в биохимии и биологических исследованиях для сепарации и анализа белков, нуклеиновых кислот и других биомолекул. Он также может использоваться для определения чистоты образцов и изучения структуры и функции биомолекул.

Спектрофотометрия – это метод анализа, основанный на измерении взаимодействия света с образцом. Он используется для измерения поглощения, пропускания или рассеивания света различными типами материалов, включая белки, нуклеиновые кислоты и другие биомолекулы. Существует несколько видов спектрофотометрических методов, включая:

–ультрафиолетовая и видимая спектроскопия – методы, которые используются для измерения изменений поглощения света в зависимости от длины волны при прохождении через образец. Эти методы широко используются для изучения белков, нуклеиновых кислот и других биомолекул.

–флуоресцентная спектроскопия – метод, который используется для измерения спектров флуоресценции биомолекул, которые отдают энергию, поглощенную от света, в форме света с большей длиной волны. Этот метод может использоваться для изучения конформационных изменений белков и других биомолекул.

–круговой дихроизм – метод, который используется для измерения различий в поглощении левой и правой круговой поляризованной света при прохождении через образец. Этот метод может использоваться для изучения структуры белков и других макромолекул.

–инфракрасная спектроскопия – метод, основанный на измерении изменений в пропускании инфракрасного света, который поглощается

биомолекулами. Этот метод широко используется для анализа структуры белков, нуклеиновых кислот и других биомолекул.

Спектрофотометрические методы являются важными инструментами для изучения биологических систем и химических реакций на молекулярном уровне. Они могут быть использованы для измерения конформации, структуры, функции и взаимодействий биомолекул, и имеют множество широких применений в биохимии, биологии и медицине.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Обоснование выбора темы и структура онлайн курса

Онлайн-курсы имеют большую актуальность, так как позволяют получить доступ к информации в любом месте и в любое время. Студенты могут самостоятельно планировать свой график обучения, распределять время для изучения теоретического материала, выполнения практических заданий и тестов. В целом, онлайн курсы являются важным инструментом для повышения уровня знаний и навыков студентов и специалистов в этой области. Наличие видеоматериалов повышает наглядность и обеспечивает наиболее эффективное усвоение материала, облегчает восприятие информации, способствует лучшему понимаю основных этапов экспериментального исследований.

Разрабатываемый фрагмент онлайн-курса «Современные физико-химические методы исследования» предназначен для студентов направления 06.03.01 Биология, профиля Биохимия. Целью курса является углубление знаний о современных физико-химических методах анализа, реализуемых на базе кафедры «Общая биология и биохимия», используемых в лабораторной практике в учреждениях различного профиля г. Пензы и Пензенской области, формирование профессиональных компетенций для успешной профессиональной деятельности в будущем.

Перед началом разработки материалов для онлайн-курса был проведен опрос среди студентов младших курсов направления 06.03.01 Биология с целью выявления наличия заинтересованности среди студентов. В рамках опроса «Потребность в наличии онлайн курса среди студентов» студентам 2-ого и 3-го курса были заданы основные вопросы: насколько они интересуются предлагаемым материалом, заинтересованы ли они в прохождении данного курса, в какой период времени им было бы удобно проходить курс и на какой платформе они предпочли бы его проходить.

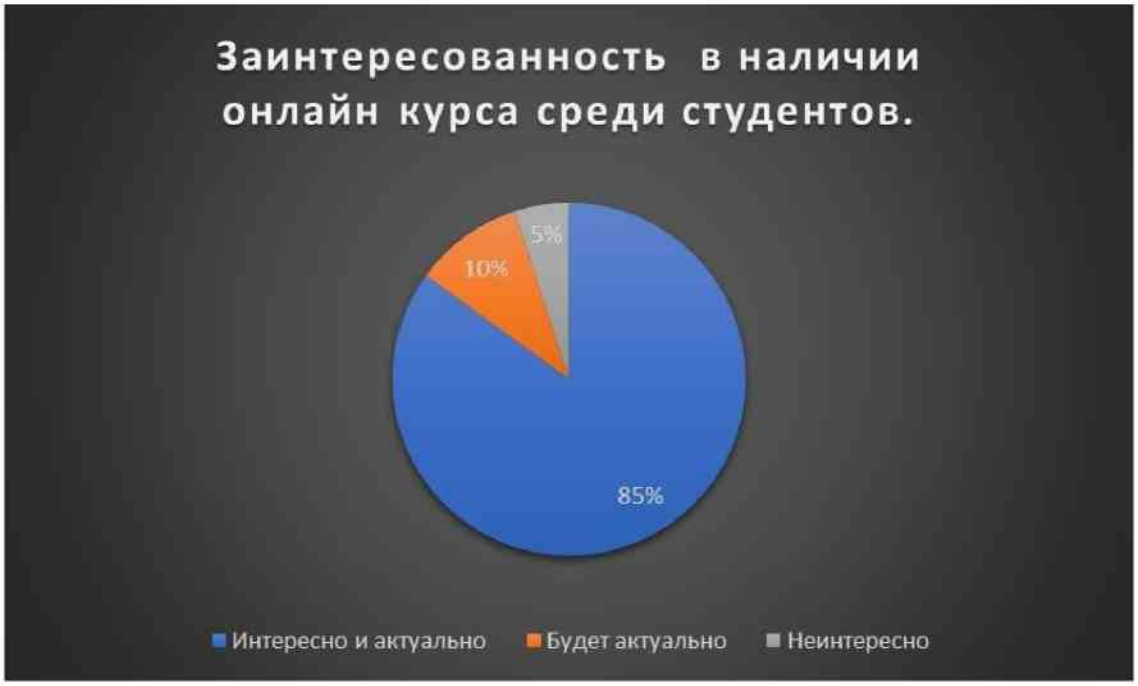

Рисунок 7. Заинтересованность в наличии онлайн курса среди студентов

Согласно полученным результатам опроса на (рис.7) среди студентов, можно сделать вывод, что 85% – считают необходим разработку такого онлайн курса, с целью повышения уровня знаний, и это актуально и интересно, а 10% – считают, что дистанционный формат курса облегчил бы обучение и это будет актуально, и 5% – что это не актуально для них.

Наиболее удобный период прохождения онлайн-курса – во время прохождения практики «Научно-исследовательская работа студента» или параллельно изучению дисциплины «Методы биохимических исследований». Материалы для студентов нашего вуза оптимальнее всего разместить в ЭИОС ПГУ. Результаты опроса свидетельствуют о наличии заинтересованности среди студентов в создании подобного онлайн-курса и необходимости доступа к размещенным материалам для студентов 3, 4 курсов.

Трудоемкость и длительность подготовки видеофрагментов и заданий делает невозможным разработку материалов сразу по широкому спектру современных физико-химических методов. Для выбора тематических разделов

и структуры фрагмента курса было решено провести анализ методов, используемых различными лабораториями г. Пензы, куда трудоустраиваются выпускники.

Таблица 2 – Современные физико-химические методы, применяемые в лабораториях различного профиля в г. Пензы

№	Направление работы лабораторий	Методы
1.	**Лаборатории судебной и судебно-медицинской экспертизы**(ГБУЗ «ОБСМЭ», ФБУ Пензенская ЛСЭ Минюста России)	1.Методы пробоподготовки 2.ПЦР 3.Электрофорез 4.Хроматография 5.Спектрофотометрия(УФ и видимой области, инфракрасную и масс-спектрометрию)
2.	**Медицинские лаборатории** (Лаборатория «KDL», «ИНМЕД», «ЭСКУЛАП», «МедМикс Плюс», «Мое здоровье плюс» и т.д.)	1.Методы пробоподготовки 2.Хроматография 3.Электрофорез 4.Спектрофотометрия
3.	**Лаборатории СЭС**(ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Пензенской области", Федеральный центр гигиены и эпидемиологии, Центр гигиены и эпидемиологии в Пензенской области)	1.Методы пробоподготовки 2.Спектрофотометрия 3.Хроматография 4.Флюорисценция 5.Электрофорез
4.	**Центр доклинических исследований (ЦДИ)**	1.Методы пробоподготовки 2. Электрофорез 3.Хроматография 4. Спектрофометрия
5.	**Фармацевтические предприятия** (Биосинтез, Надежда-Фарм Пенза, Центр сертификации и контроля качества лекарственных средств, Протек и т.д)	1. Методы пробоподготовки 2. Хроматография 3. Спектрофометрия 4. Термический анализ 5. Рентгеноструктурный анализ

Проанализировав и обобщив сведения, было решено включить в структуру онлайн-курса «Современные физико-химические методы исследования» тематические разделы, посвященные особенностям пробоподготовки, хроматографическим методам исследования, электрофорезу и спектрофотометрии в УФ и видимой областях. Каждый раздел должен содержать презентации и видеоматериалы по соответствующим темам, практические задания для выполнения, задания для контроля знаний, размещенные в Moodle ПГУ (https://moodle.pnzgu.ru/course/view.php?id=67611).

На наш взгляд подобный подход к размещению материалов позволит студентам глубже изучить информацию о современных физико-химических методах, более эффективно усваивать материал и применять его на практике, что способствует развитию навыков самостоятельной работы, критического мышления и анализа информации.

Эти навыки являются основополагающими в научной сфере и помогут студентам достичь успеха в будущей работе. Кроме того, доступность курса через интернет позволяет более широкому кругу людей получить знания в этой области, что может привести к расширению возможностей для научных исследований и инноваций. А также интерактивный формат позволяет эффективнее усваивать информацию и использовать ее в будущей научной деятельности.

2.2 Методы исследования

Для подготовки видеоматериалов и заданий для онлайн-курса было выполнено выделение пептидов из меда и изучение пептидного спектра методом электрофореза.

2.2.1 Выделение и очистка пептидов

В качестве исследуемого материала выступал мёд, собранный в 2022 году. Образец хранился в плотно закрытой стеклянной таре в тёмном месте

при комнатной температуре. Каждый раз при отборе образца оценивался его внешний вид и запах, никаких посторонних загрязнений, включений, расслоения выявлено не было.

Выделение и очистка проводится в несколько этапов с использованием современных методов и включает:

1. Выделение пептидов методом ультрафильтрации;
2. Очистка методом ионообменной хроматографии от углеводов;
3. Очистка от буфера методом гель-фильтрации;

Для оценки концентрации пептидов применяется спектрофотометрический метод, для измерения концентрации углеводов используется реакция Селиванова, а для определения молекулярной массы пептидных фракций используется метод электрофореза.

Приготовление рабочего раствора мёда производилось следующим образом: 50 г. мёда растворял в 0,1 литре воды и фильтровал сначала через ватный фильтр для удаления крупных механических элементов, а затем через фильтр «красная лента» на воронке Бухнера (под вакуумом). Полученный 50%-й раствор для концентрирования и разделения на фракции с содержанием >5 кДа и <5 кДа фильтровал на подготовленной следующим образом ультрафильтрационной установке MasterFlex с мембраной Vivaflow:

1. первоначальная промывка мембраны от загрязнителей и консервантов дистиллированной водой (0,5-1 объёмов исходного резервуара);
2. промывка 0,5 н раствором NaOH для омыления неотмывшихся загрязнителей (0,5-1 объёмов исходного резервуара);
3. вторичная промывка мембраны от раствора щёлочи и оставшихся загрязнителей тем же объёмом дистиллированной воды.

Полученный концентрированный фильтрат хранился в плотно закрытой стеклянной таре в морозильной камере и использовался для дальнейшего анализа. После фильтрации мембранный блок очищался по той же схеме, что и перед использованием.

Очистка пептидов от углеводов осуществлялась с помощью ионообменной хроматографии. Для этого колонку для хроматографии закрепляют вертикально и закрывают нижний конец пробкой, в которую вставлен фитинг. Затем в основание колонки помещают кружок фильтровальной бумаги, размер которого должен соответствовать внутреннему размеру колонки.

Навеску ионообменника массой 3 г необходимо залить большим количеством дистиллированной воды и оставить на сутки для того, чтобы она набухла. После этого следует несколько раз взболтать и оставить ионообменник, чтобы гранулы целлюлозы осели. Верхний слой жидкости нужно удалить как можно максимально, а затем на протяжении 45-60 минут на ионообменник залить 0,5 М раствор HCl для полной ионизации ионогенных групп. После этого масса ионообменника осторожно промывается до достижения pH ~ 4. Далее необходимо заменить ионы Cl- на исходные OH-, для этого ионообменник нужно замочить в 0,5 М растворе NaOH на 45-60 минут, а затем промыть до достижения нейтральных значений pH. Следующим шагом становится уравновешивание колонки путём промывки буферным раствором трис-HCl концентрации 0,2 М с pH = 9. Затем проводится хроматографирование, используя два буферных раствора: 0,2 М трис-HCl (pH = 9) и 0,2 М Na- цитратный (pH = 6). Фракции объемом 2 мл собираются, а буфер меняется после каждой восьмой фракции. После сбора всех фракций колонка уравновешивается исходным буфером, закрывается пробкой и хранится в холодильной камере для предотвращения закисления угольной кислотой, возникающей из CO2 воздуха и протонов буфера, и хранится в холодильной камере. Содержание белка во фракциях определяли спектрофотометрически на длине волны λ = 280 нм, содержание углеводов — реакцией Селиванова.

Используя метод ионообменной хроматографии, можно выделить определенные пептиды из сложных смесей белков, таких как кровь или ткани. Этот метод широко используется в биохимических и биомедицинских

исследованиях для изучения структуры и функций белковых молекул, а также для разработки новых лекарственных препаратов.

Метод гель-фильтрации является одним из наиболее распространенных методов для очистки белков и пептидов. Он основан на разделении молекул по размеру, используя пористый гель. Пептиды, как и многие другие биомолекулы, имеют разные размеры в зависимости от своей молекулярной массы.

Для подготовки носителя была использована следующая процедура: 2 грамма сухого порошка сефадекса G-25 залиты дистиллированной водой и оставлены на пропитывание в течение 4-5 часов. Затем несколько раз проводилось взмучивание и декантация для удаления не осевших частиц, обломков гранул и других мусорных элементов. Полученный гель заливался в колонку, на дно которой была уложена фильтровальная бумага для предотвращения потери геля. Когда достигался необходимый объем геля, заполнение колонки останавливалось и колонка продолжала промываться в течение продолжительного времени, чтобы достичь равновесия. После этого сверху на столб геля помещается диск фильтровальной бумаги, который предотвращает колебание уровня геля при элюировании или нанесении образца.

Обессоливание проводилось на колонке с сефадексом G-25, диаметр колонки 7 мм, объём носителя — 14 мл. Подготовка носителя проводилась по следующей схеме: 2 г сухого порошка сефадекса заливались дистиллированной водой для набухания на 4-5 часов, после чего несколькими циклами взмучивания и декантации проводилось удаление неосевших частиц, обломков гранул и другого мусора. Набухший чистый гель заливался в колонку, на дне которой была уложена фильтровальная бумага для предотвращения потери геля. Заполнение колонки проводилось при постоянном токе элюента, преждевременное осаждение всего геля в колонке не допускалось для предотвращения резких колебаний плотности носителя. После достижения нужного объёма геля заполнение прекращалось, скорость

прихода и расхода элюента уравнивалась, и колонка промывалась длительное время для уравновешивания. После уравновешивания сверху на столб геля помещался диск фильтровальной бумаги для исключения колебания уровня геля при элюцировании или нанесении образца.

Сверху аккуратно наслаивалась разделяемая проба — 1 мл концентрированного раствора, содержащего белки и пептиды, а также натриевую соль лимонной кислоты и саму кислоту. После диффузионного впитывания пробы в столб геля начиналась элюция дистиллированной водой, фракции собирались по 2 мл.

2.2.2 Количественное определение пептидов и углеводов

Каждый пептид обладает уникальным спектром поглощения, который можно использовать для его идентификации и отличия от других пептидов в смеси. Это позволяет определить наличие или отсутствие конкретных пептидов в образце.

Рассчитать истинное содержание веществ белковой природы можно по формуле Калькара:

Содержание белка = 1,45* А280 – 0,74* А260 (мг/мл).

Более чувствительным специфичным методом определения белка является измерение оптической плотности при 206 нм (область поглощения пептидной связи). Содержание веществ белковой природы можно рассчитать по формуле: содержание белка = А205/31,45 (мг/мл).

Для наиболее точного определения содержания вводят поправку на содержания триптофата и тирозина. Для чего измеряют оптическую плотность и при 280 нм. Расчет в этом случае проводят по формуле:

Содержание белка = А2о5/(27,0+120*А208/А205) (мг/мл).

Для измерения концентрации раствор помещают в кварцевую кювету длиной оптического пути 1 см и измеряют оптическое поглощение на длине волны 280 нм по отношению к контрольному образцу (чистый растворитель).

Полученные данные используются для построения профиля элюции при проведении хроматографии и определения концентрации белков методом калибровочной кривой в пределах концентраций от 10 мкг/мл до 100мкг/мл, используя стандартный белок - бычий сывороточный альбумин.

Таким образом, спектрофотометрия может быть полезным инструментом для выделения и анализа пептидов. Она позволяет качественно и количественно определять наличие и концентрацию пептидов в образцах с высокой точностью и чувствительностью.

В качестве реакции для определения наличия углеводов в пробе использовалась реакция Селиванова. Данная реакция является качественной только для фруктозы или других кетоз (скорость реакции альдоз намного ниже, чем с кетозами), которые являются маркёрами наличия углеводов в пробе. Реакция основана на образовании фруктозы с крепкой соляной (или другой минеральной) кислотой оксиметилфурфурола, который с резорцином даёт вишнёво–красное окрашивание.

Из каждой фракции после ионообменной хроматографии отбиралась аликвота объёмом 0,5 мл, к которой добавлялся 0,1%-й спиртовой раствор резорцина в количестве 0,5 мл и 1,5 мл 30% HCl, после чего смесь ставилась в кипящую водяную баню для инкубации на 8 минут. Интенсивность окраски измерялась на фотоэлектроколориметре КФК-3 в кювете толщиной 1 см против холостой пробы при длине волны λ = 490 нм. По полученным значениям оптической плотности был составлен график.

2.2.3 Электрофорез

Метод электрофореза является одним из способов анализа пептидного спектра, а также используется для оценки молекулярной массы выделенных пептидов. Разделение пептидов основано на различиях подвижности пептидов в электрическом поле. В ячейку заливается определенное

количество разделяющего геля, достаточное для заполнения до уровня короткого стекла, после чего поверх геля осторожно наслаивают примерно 0,5-1 см воды для получения ровной поверхности геля. В процессе полимеризации геля образуется граница между ним и наслоенной водой, которая становится хорошо видимой через 30-40 минут. После этого вода аккуратно сливается, а остатки удаляются фильтровальной бумагой. Далее подготовленная ячейка заполняется концентрирующим гелем до образования верхнего мениска, после чего вставляется гребенка и ячейка облучается ультрафиолетом. Окончание полимеризации концентрируюшего геля можно обнаружить через 20-30 минут по его помутнению. Образцы растворов в объеме 20 мкл наслаиваются дозатором в кармашки в концентрирующем геле. Затем добавляем 1 мл раствора бромфенолового синего в буферный резервуар, который связан с верхней частью геля. Аппарат для электрофореза помещают в холодильник и подключается к источнику питания. В течение первых 30 минут электрофореза необходимо поддерживать силу тока не более 20 мА, затем ее можно увеличить до 40мА. Продолжать электрофорез нужно до тех пор, пока краситель не пройдет расстояние 0,5-1 см от нижнего края геля. После окончания электрофореза следует разобрать ячейку, разъединитьстекла с помощью шприца и снять гель. Поместить гель в кювету и залить его красящим раствором-фиксатором на 20 минут. Затем многократно промыть окрашенные гели отмывающим раствором.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной главе приведены примеры заданий, разработанные на основе результатов, полученных в ходе экспериментального исследования по выделению и очистке пептидов меда и изучению пептидного спектра методом электрофореза.

3.1 Пробоподготовка

Процесс пробоподготовки, является важным этапом в исследовании, поскольку только правильно подготовленная проба позволяет получить качественные и надежные данные при проведении анализа образцов. Одним важным аспектом пробоподготовки является возможность увеличения чувствительности методов анализа. Хорошо подготовленный образец обычно содержит более высокую концентрацию интересующих веществ, что позволяет точно идентифицировать их и измерить их количество. На этапе пробоподготовки проводится взвешивание, определение плотности и pH растворов, экстракция компонентов, осаждение, разделение компонентов методом центрифугирования.

Задание 1. Ошибки на этапе пробоподготовки могут повлиять на результат всего исследования. Важным является знание оборудования и методов, применяемых на этапе пробоподготовки. Ответьте на вопросы кроссворда (рис.8).

По горизонтали:

1.Чем определяется мера кислотности или щелочности раствора?

6.Как называется наименьшее значение, на которое изменяется показание дисплея аналитических весов?

7. Как называется прибор, используемый для измерения кислотности и щелочности растворов?

8. Как называется устройство, используемое для разделения смесей на основе различий в их плотности?

9.Какая сила образуется в центрифуге, благодаря вращению её корпуса вокруг оси?

10. Какой тип электрода используется в ph-метре?

12. Какие единицы измерения используются для измерения массы на аналитических весах?

По вертикали:

2.На какие части в процессе центрифугирования происходит разделение неоднородных систем по плотности при помощи центробежных сил?

3. Какой тип центрифуги наиболее часто используется в биологии и медицине?

4. Какие единицы измерения используются для определения уровня кислотности и щелочности растворов на ph-метре?

5. Как называется прибор, используемый для измерения массы различных объектов в лаборатории?

11.Назовите процесс разделения смесей исходных материалов на компоненты различной плотности с помощью центробежной силы?

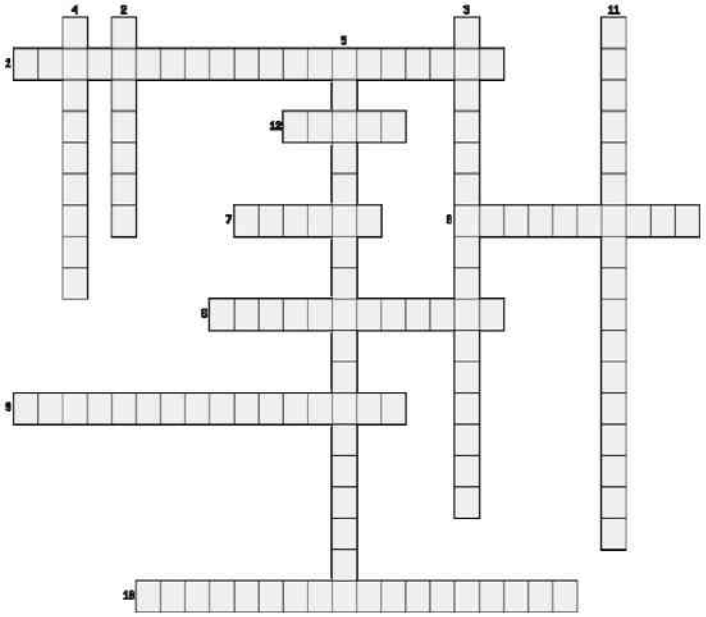

Рисунок 8. Кроссворд

Ответы.

По горизонтали: 1. Водородный показатель. 6. Дискретность. 7. ph-метр. 8. Центрифуга. 9. Центробежная сила. 10. Стеклянный электрод. 12. Грамм. По вертикали: 2. Фракции. 3. Ультрацентрифуга. 4. Единицы ph. 5. Аналитические весы. 11. Центрифугирование

Задание 2. При проведении исследования недостаточно только знать теорию по оборудованию, нужно и уметь правильно пользоваться приборами для получения более качественных результатов. Перед вами представлены рисунки с обозначениями (рис. 9,10), впишите правильные ответы.

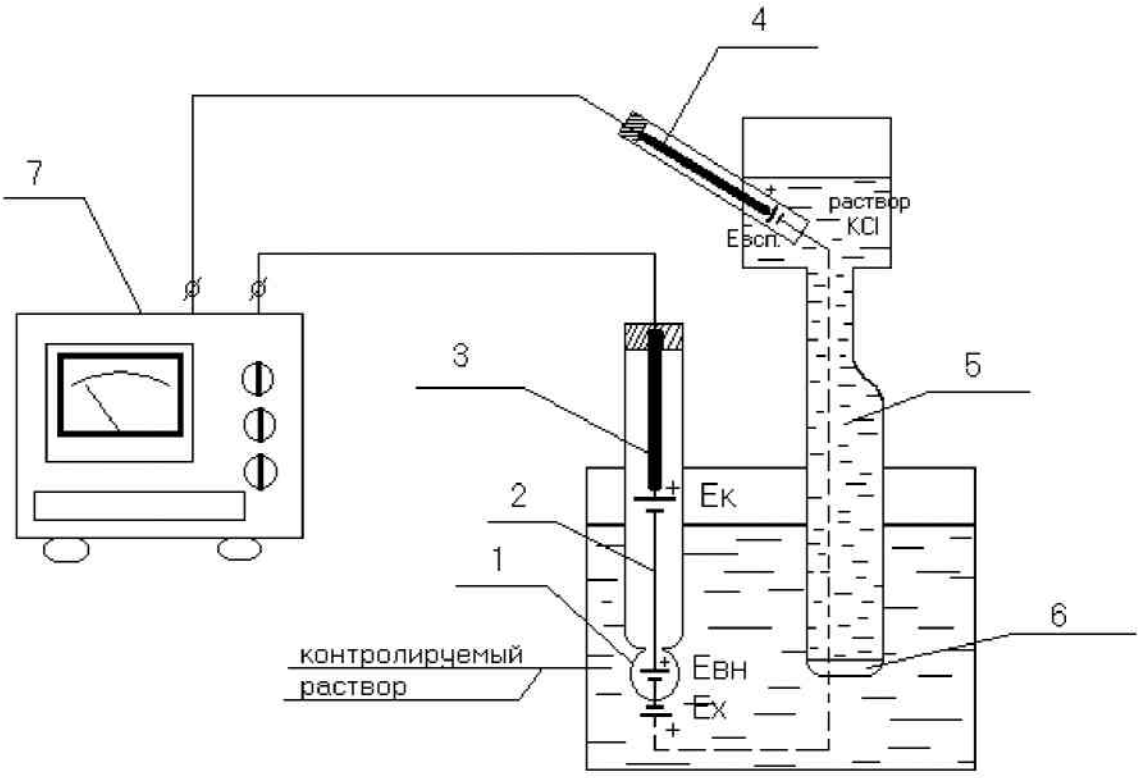

Рисунок 9. Ph-метр

Ответы: 1 — полый шарик из электродного стекла; 2 — стеклянный электрод; 3 — внутренний контактный электрод; 4 — вспомогательный электрод; 5 — электролитический ключ; 6 — пористая перегородка; 7 —милливольтметр.

Рисунок 10. Центрифуга

Ответы: 1-кнопка настройки таймера;2-кнопка пуска/остановки;3-кнопка настройки степени встряхивания;4-индикатор таймера;5-индикатор параметра Об/мин;6-индикатор параметра встряхивания;7-кнопка пуска/остановки встряхивания;8-кожух ротора;9-гайка ротера;10-угловой ротер;11-сетевой выключатель;12-крышка;13-сенсор крышки.

Задание 3. Одним из основных этапов пробоподготовки является приготовление реактивов. С помощью известных вам значений вычислите:

1. Необходимо рассчитать, сколько нужно взять HCI, чтобы получить трис-буферный раствор трис-HCl концентрации 0,2 М с pH = 9 ?

2. Вычислите какой объем (в мл) воды необходимо добавить к концентрированной HCI, чтобы получить 30% р-р HCI?

3. Какой объем (в мл) 0,2 М Na-цитратного раствора нужен для приготовления 250 мл 0,05 М раствора?

3.2 Хроматография

Большое разнообразие хроматографических методов позволяет выбрать наиболее подходящий вариант для исследования. При выделении пептидов из различных природных источников широкое распространение получили методы жидкостной хроматографии, в том числе ионообменной хроматографии, гель-фильтрации. Метод ионообменной хроматографии позволяет разделить сложную смесь на основе заряда отдельных молекул, метод гель фильтрации – на основе молекулярных масс.

Задание 1. При проведении исследования нужно не только знать теорию по оборудованию, но и уметь правильно пользоваться приборами для получения более качественных и точных результатов. Перед вами представлен рисунок с обозначениями (рис.11) , впишите правильные ответы с названиями составных частей прибора.

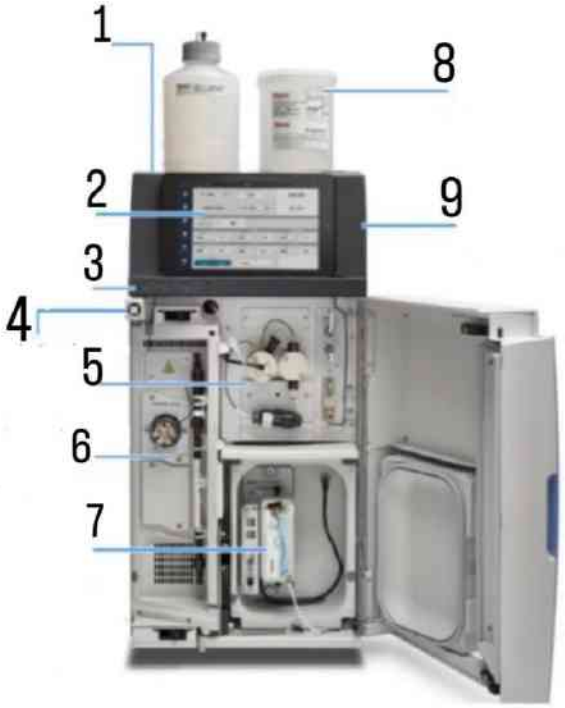

Рисунок 11. Хроматограф

1-область элюента;2-мобильное устройство;3-светодиоды;4-порт для ввода пробы;5-отсек насоса;6-отсек колонок и кранов;7-отсек детектора;8- картридж генератора элюента;8-дополнительные компоненты генератора элюента.

Задание 2. Ответьте на вопросы теста по теме «Ионообменная хроматография как метод выделения пептидов».

1. Какой тип ионообменной хроматографии наиболее эффективен для выделения пептидов?

a) Сильнокислотный

b) Слабокислотный

c) Сильнощелочной

d) Слабощелочной

2. Что такое буфер элюции в ионообменной хроматографии?

a) Раствор, используемый для образования градиента элюента

b) Раствор, используемый для изоляции целевых молекул

c) Раствор, используемый для промывки столба хроматографии

d) Раствор, используемый для регенерации столба хроматографии

3. Какие факторы могут влиять на выбор условий ионообменной хроматографии для выделения пептидов?

a) Изоэлектрическая точка (pI) пептида

b) Размер пептида

c) Зарядовый состав пептида

d) Все вышеперечисленные факторы

4. Какой метод используется для определения эффективности выделения пептидов методом ионообменной хроматографии?

a) Электрофорез

b) Масс-спектрометрия

c) Кольцевая диффузия

d) УФ-спектроскопия

5. Какие типы столбов ионообменной хроматографии существуют?

a) Обратнофазные и прямофазные

b) Сильнокислотные и слабокислотные

c) Сильнощелочные и слабощелочные

d) Анионные и катионные

6. Какой тип ионообменной хроматографии следует использовать для выделения отрицательно заряженных пептидов?

a) Анионный

b) Катионный

c) Слабощелочный

d) Слабокислотный

7. Какой метод используется для подготовки образца перед проведением ионообменной хроматографии?

a) Экстракция со спиртом

b) Иммуноосаждение

c) Фракционирование на геле

d) Никакой, образец можно использовать непосредственно

8. Что такое элюентная соль в ионообменной хроматографии?

a) Соль, добавляемая в буфер элюции для улучшения разделения молекул

b) Соль, используемая для формирования градиента элюента

c) Соль, добавляемая в раствор промывки для удаления непривязанныхмолекул

d) Соль, используемая для регенерации столба хроматографии

Задание 3. Для закрепления материала вам предлагается решить ситуационные задачи.

Задача 1. Вы проводите эксперимент по выделению пептидов из смеси методом ионообменной хроматографии. После прохождения через колонку образца вы обнаруживаете, что один из пептидов не был удержан на колонке. Как можно объяснить это явление?

Задача 2. Вы проводите эксперимент по выделению пептидов из смеси методом ионообменной хроматографии при использовании катионного обменника. Однако, после элюции вы обнаруживаете, что некоторые пептиды имеют низкую чистоту. Дайте определение объему элюции? Как можно улучшить качество выделения?

Задача 3. Вы проводите эксперимент по выделению пептидов методом ионообменной хроматографии с помощью градиента NaCl. Какие проблемы могут возникнуть при использовании этого метода?

Задача 4. Вы проводите эксперимент по выделению пептидов из комплексной смеси методом ионообменной хроматографии. Как вы можете определить, какой пептид соответствует каждому пику на хроматограмме?

Задание 4.

1. На рис. 12 представлен профиль элюции пептидов, полученный методом ионообменной хроматографии.

А) Определите пептид, который имеет наибольший заряд.

Б) Как изменится график хроматограммы при увеличении концентрации пептидов в образце?

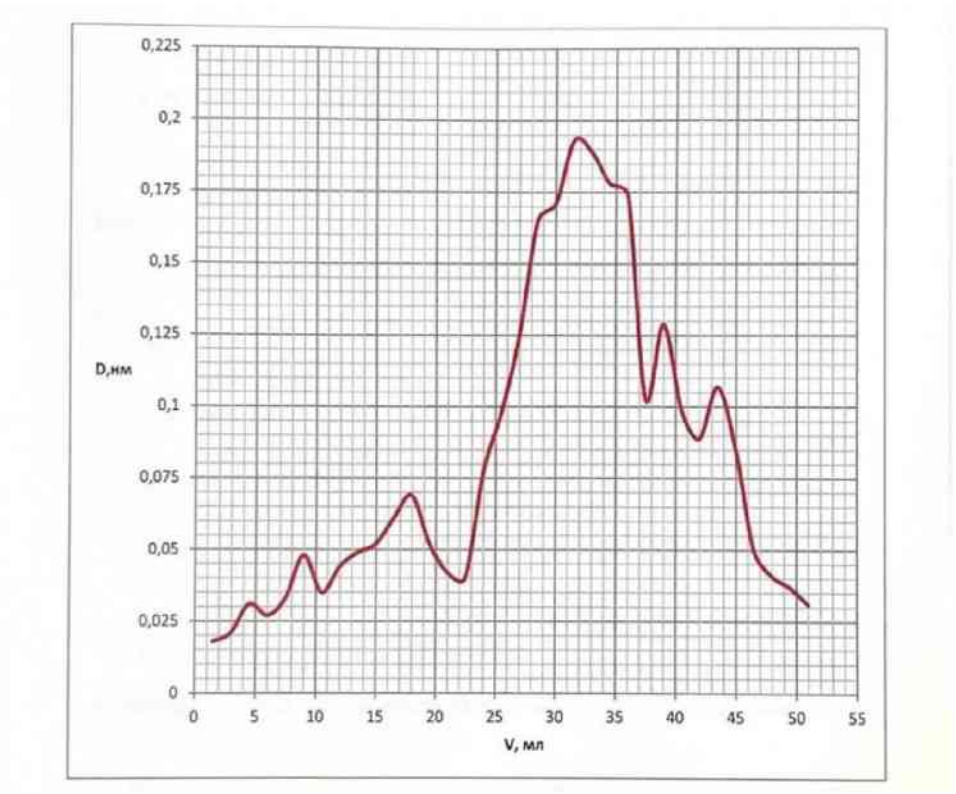

Рисунок 12. Профиль элюции водорастворимых белков и пептидов

2. На рис. 13 представлен профиль элюции пептидов, полученных из гидролизата белка. Определите количество различных пептидов, которые были обнаружены в данном образце. Для того что бы определить количество различных пептидов можно использовать критерий отсечения пика, например, пики, чья высота составляет менее 5% высоты наивысшего пика, могут быть не учтены.

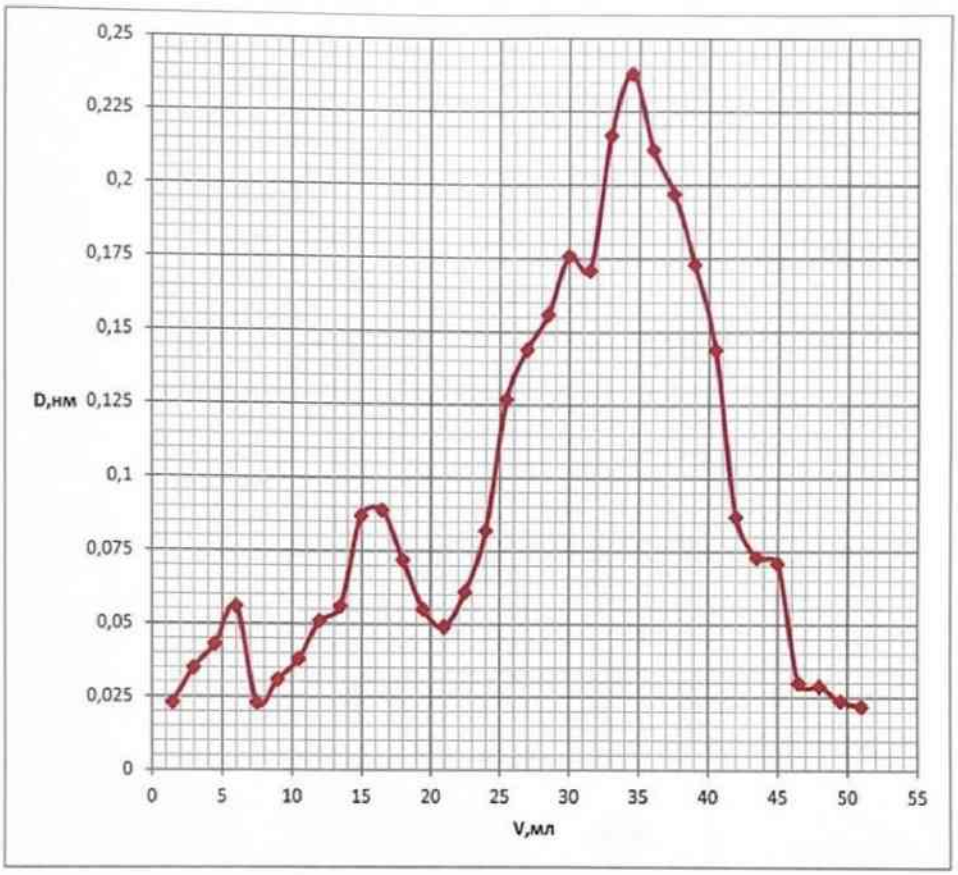

Рисунок 13. Профиль элюции водорастворимых пептидов

Задание 5. Ответьте на вопросы теста по теме «Гель-фильтрация».

1.Как работает метод гель-фильтрации?

a) Разделяет биомолекулы по их заряду

b) Разделяет биомолекулы по их размеру и форме

c) Разделяет биомолекулы по их взаимодействию с растворителем

2. Какой тип геля обычно используется для выделения пептидов методом гель-фильтрации?

a) Агарозный гель

b) Пористый полиакриламидный гель

c) Акриламидный гель

3. Какие пептиды будут проходить через пористый гель быстрее всего?

a) Большие пептиды

b) Маленькие пептиды

c) Все пептиды проходят через пористый гель одинаково быстро

4. Для чего используется метод гель-фильтрации при выделении пептидов?

a) Для разделения пептидов по их заряду

b) Для определения молекулярной массы пептидов

c) Для определения структуры пептидов

5. Как изменится скорость прохождения пептида через пористый гель,если его размер увеличится?

a) Увеличится

b) Уменьшится

c) Останется неизменной

6. Какие два фактора влияют на способность пептида проникать через пористый гель?

a) Размер пептида и его заряд

b) Масса пептида и количество аминокислотных остатков

c) Тип растворителя и температура

7. Как изменится скорость прохождения пептида через пористый гель,если размер пор в геле уменьшится?

a) Увеличится

b) Уменьшится

c) Останется неизменной

8. Какой тип калибровочного стандарта обычно используется при определении молекулярной массы пептида методом гель-фильтрации?

a) Белки с известной молекулярной массой

b) Смесь различных пептидов

c) Раствор глюкозы

9. Что происходит с большими пептидами во время проведения гель-фильтрации?

a) Они задерживаются в пористом геле и проходят через него медленнее

b) Они проходят через пористый гель быстрее, чем маленькие пептиды

c) Они накапливаются на вершине колонны и не проходят через нее

10. Какой тип калибровочного стандарта обычно используется для оценки точности метода гель-фильтрации?

a)Пептиды, извлеченные из разных источников

b)Белки с различными изоэлектрическими точками

c)ДНК или РНК с известной молекулярной массой

Задание 2. Для закрепления материала вам предлагается решить ситуационные задачи.

Задача 1. Какой объем образца следует загрузить на колонку гель-фильтрации для эффективного выделения пептидов?

Задача 2. Какие проблемы возникают при использовании гель-фильтрации для выделения пептидов?

Задача 3. Почему гель-фильтрация является полезным методом для выделения пептидов?

Задача 4. Вы хотите очистить пептиды из смеси различных белков. Каким методом можно это сделать?

Задание 3.

Перед вами представлен график зависимости коэффициента распределения от логарифма молекулярной массы (рис.14).

1. Измерьте коэффициент распределения для каждого образца и рассчитайте логарифм их молекулярной массы.

2. Вопросы: 1. Какова зависимость коэффициента распределения от логарифма молекулярной массы на графике? 2. Каково значение углового

коэффициента прямой на графике? Что он означает?

3. Какие выводы можно сделать из полученных результатов относительно молекулярных масс белков в образцах?

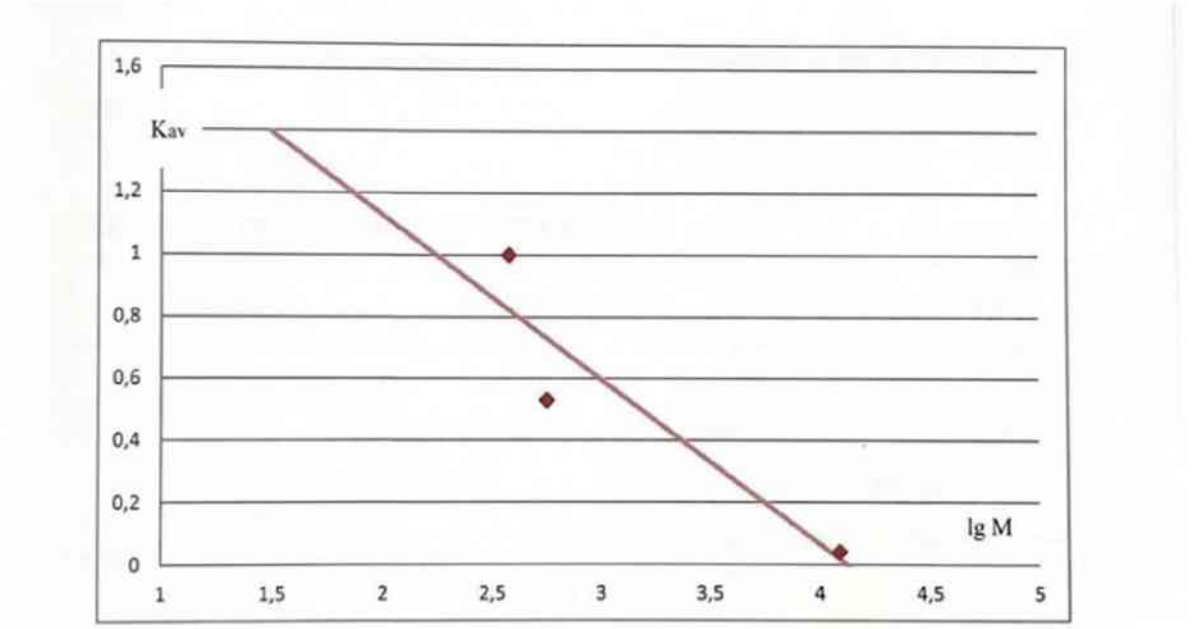

Рисунок 14. График зависимости коэффициента распределения от логарифма молекулярной массы

3.3 Спектрофотометрия

Спектрофотометрический анализ может определить главным образом спектральные свойства вещества: его поглощение или излучение света при определенных условиях.

Задание 1. Ответьте на вопросы теста по теме «Спектрофотометрия».

1. Какой метод используется для выделения пептидов? a) Хроматография b) Электрофорез c) Спектрофотометрия d) РНК-секвенирование

2.Каким методом можно определить аминокислотный состав пептида?

a) Масс-спектрометрия b) Ультрафиолетовая спектроскопия c)

Инфракраснаяспектроскопия d) ЯМР-спектроскопия

3. Какие компоненты используются при подготовке образца для спектрофотометрии? a) Дистиллированная вода и белок b) Растворитель и пептиды c) Трифторуксусная кислота и мочевина d) Глюкоза и хлорид натрия

4. Каким образом спектрофотометрия может использоваться для измерения концентрации пептидов? a) Измерением интенсивности света, поглощаемого образцом при определенной длине волны b) Измерением электрической проводимости образца c) Измерением изменения величины магнитного поля при воздействии на образец радиоволнами d) Измерением скорости протекания реакции гидролиза пептида

5. Какие особенности структуры пептидов могут быть выявлены при помощи спектрофотометрии? a) Первичная структура b) Вторичная структура c) Третичная структура d) Кватерническая структура

6. Какая длина волны используется при измерении поглощения света образцом в спектрофотометрии? a) 200-300 нм b) 400-500 нм c) 600-700 нм d) 900-1000 нм

7. Почему для выделения пептидов методом спектрофотометрии используются трифторуксусная кислота и мочевина? a) Они улучшают растворимость пептидов b) Они обеспечивают оптимальный pH для проведения спектрофотометрии c) Они уменьшают риск денатурации пептидов d) Они повышают чувствительность при измерении интенсивности света.

8. Какие типы масс-спектрометрии могут быть использованы для анализа пептидов? a) Тандемная масс-спектрометрия и масс-спектрометрия с временным полем b) Масс-спектрометрия с электронным захватом и масс-спектрометрия с приставкой c) Масс-спектрометрия с пробоподготовкой и индуктивно связанная плазменная масс-спектрометрия d) Высокое разрешение и малая масса

9. Как выполняется гидролиз пептидов перед спектрофотометрическим анализом? a) Нагреванием водяной бани b) Добавлением кислоты или щелочи c) Использованием ферментов, таких как трипсин d) Использованием ультразвуковой обработки.

Задание 2. Для более эффективного освоения изучаемого материала мы предлагаем вам решить ситуационные задачи.

Задача 1. Вы работаете с небольшим количеством образцов и хотите измерить абсорбцию всех образцов, чтобы определить содержание пептидов в каждом. Какой вид спектрофотометра вы должны использовать?

Задача 2. Вы проводите эксперимент по сравнению концентрации пептидов в двух различных образцах. Как вы можете использовать спектрофотометрический метод для определения различий в концентрации пептидов между двумя образцами?

Задача 3. Ваша группа проводит исследование биологически активных пептидов в растительных экстрактах. Как можно использовать метод спектрофотометрии для анализа таких пептидов?

3.4 Электрофорез

Метод электрофореза является важным инструментом для выделения пептидов, так как он позволяет разделить их на основе их электрических свойств и массы.

Задание 1. Для достижения более точных результатов в исследовании требуется иметь навыки правильного обращения с используемым оборудованием. Перед вами представлен рисунок 15 с обозначениями,

впишите правильные ответы.

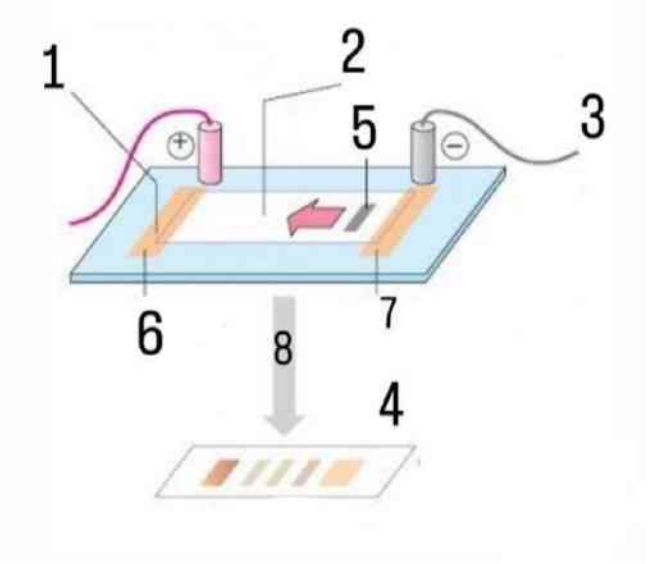

Рисунок 15. Электрофорез

1-полоска фильтровальной бумаги, пропитанная буфером; 2-пленка ацетилцеллюлозы, смоченная буфером; 3- поглощение света; 4-пленка ацетилцеллюлозы; 5-образец сыворотки; 6-анод; 7-катод; 8-процесс электрофореза

Задание 2. Ответьте на вопросы теста по теме «Электрофорез».

1. Что такое метод электрофореза?

a) Метод измерения концентрации белков

b) Метод выделения пептидов

c) Метод разделения частиц в электрическом поле

2. Какие типы электрофореза используются для выделения пептидов?

a) Одномерный и двумерный

b) Изоэлектрический и дифференциальный

c) Поперечный и продольный

3.Какие типы гелей используются для электрофореза пептидов?

a) Агарозный и полиакриламидный

b) Полиуретановый и силикатный

c) Фосфолипидный и целлюлозный

4. Что такое SDS-PAGE?

a) Метод электрофореза с использованием детергента SDS и полиакриламидного геля

b) Метод капиллярной электрофорезы

c) Метод измерения концентрации белков

5. Какой принцип лежит в основе метода электрофореза при выделении пептидов?

a) Разделение молекул на основе их размеров

b) Разделение молекул на основе их заряда

c) Окрашивание молекул разными красителями

6. Какая среда используется для проведения электрофореза при выделении пептидов?

a) Вода

b) Этанол

c) Буферная соль

7.Какие факторы могут повлиять на результаты электрофореза при выделении пептидов?

a) Температура

b) pH-значение

c) Время экспозиции

d) Все перечисленные варианты

8. Что нужно делать после завершения электрофореза при выделении пептидов?

a) Ставить гель на хранение при комнатной температуре

b) Вырезать интересующий участок геля и использовать для дальнейшихисследований

c) Ничего не делать, результаты будут автоматически сохранены в компьютерной программе

9. Каким способом можно визуализировать результаты электрофореза при выделении пептидов?

a) Использовать специальную камеру для фотографирования геля

b) Оценить результаты визуально без дополнительных инструментов

c) Провести анализ с помощью спектрофотометра

10. Какая из нижеперечисленных функций агарозного геля в гель-электрофорезе?

a) Разделение ДНК по размеру

b) Разделение пептидов по заряду

c) Обнаружение мутаций в геноме

d) Разделение белков по размеру

Задание 3. Для более эффективного усвоения изучаемого материала мы рекомендуем вам попрактиковаться в решении ситуационных задач.

Задача 1. Вы используете метод электрофореза для выделения пептидов из образца белка. В процессе эксперимента вы заметили, что на геле образовались несколько полос, которые можно отнести к пептидам различной длины. Что это может означать?

Задача 2. Вы работаете с комплексным образцом, содержащим множество белков, и хотите выделить пептиды каждого из них. Какую стратегию выделения следует выбрать?

Задача 3. Вы хотите проанализировать содержание пептидов в образцах различных белков. Какие этапы нужно пройти для проведения анализа пептидов методом электрофореза?

Задача 4. Вы хотите провести анализ пептидов из сложного образца, содержащего как белковые, так и небелковые компоненты. Какие сложностимогут возникнуть при использовании метода электрофореза для выделения

Задание 4.

1. Перед вами представлена электрофореграмма (рис. 16) белков и пептидов продуктов пчеловодства. Вычислите относительную концентрацию каждого пептида в образце на основе интенсивности окрашенных полос на геле.

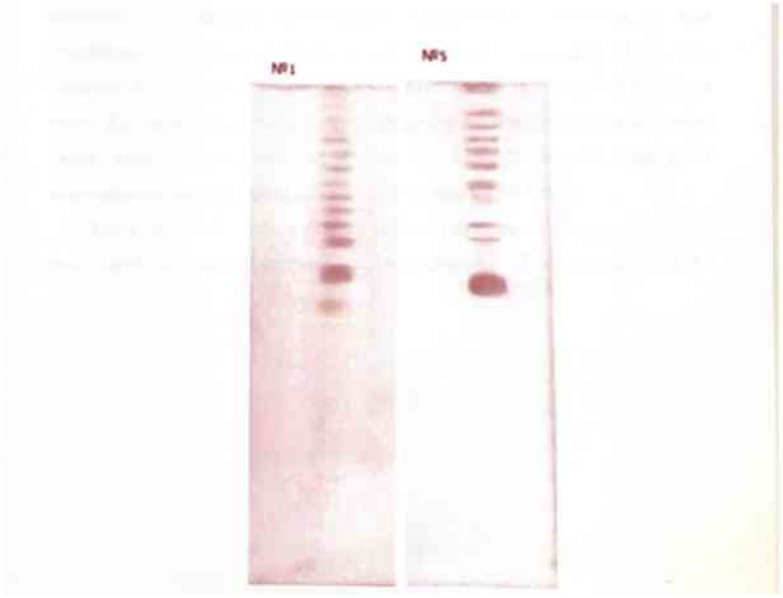

Рисунок 16. Электрофореграмма белков и пептидов продуктов пчеловодства

Перед вами представлена электрофореграмма (рис. 17) профиля белков и пептидов после разделения в 15% ПААГ и фрагментами электрофореграммы на равные участки геля. Определите:

1.Молекулярную массу белков.

2.Сравните фрагменты электрофореграммы с известными стандартами молекулярной массы, чтобы определить молекулярную массу каждого белка

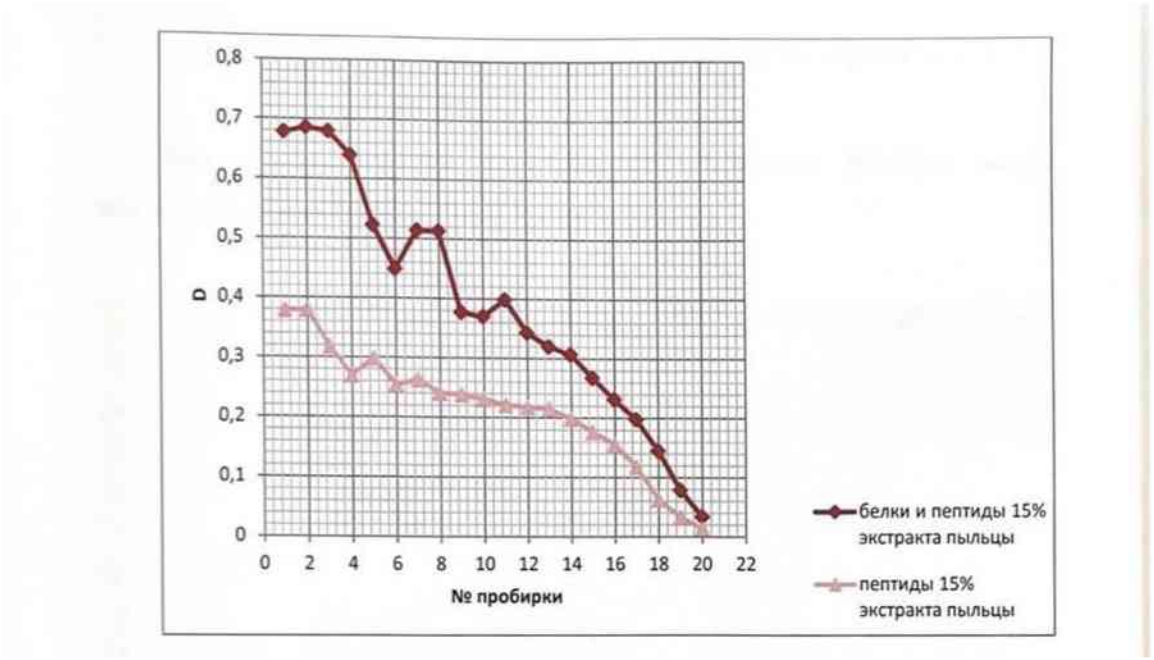

Рисунок 17.Профиль белков и пептидов после разделения в 15% ПААГ и фрагментами электрофореграммы на равные участки геля

По итогам выполнения заданий обучающимся предлагается провести рефлексию, в рамках которой необходимо дать ответы на следующие вопросы:

1. Я все понял (а), смогу объяснить этот материал другому

---

2. Я сегодня узнал, что

3. Я не понял (а)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе написания бакалаврской работы был разработан фрагмент онлайн-курса «Современные физико-химические методы исследования». Работа над онлайн-курсом включает в себя анализ литературы, определение ключевых понятий, выбор структуры и тематики разделов, подходящих методов исследования, создание видеоматериалов по основным этапам экспериментальных исследований, разработку практикоориентированных заданий.

По результатам выполнения бакалаврской работы можно сделать следующие **выводы:**

1. Установлено, что онлайн-курс представляет собой доступный и удобный инструмент для самообразования и получения компетенций для будущей профессиональной деятельности. Элементы дистанционного обучения могут быть применены при подготовке обучающихся направления 06.03.01 Биология, профиль Биохимия, дополнительные материалы могут быть загружены на платформу Moodle, используемую в ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет».

2. Выявлено наличие заинтересованности среди студентов младших курсов в онлайн-курсе «Современные физико-химические методы исследования», потребности в получении навыков работы на современном лабораторном оборудовании для решения профессиональных задач и выполнения фундаментальных, прикладных и поисковых научных исследований и разработок в области медицины и биологии.

3. Проведение исследований по выделению и очистке пептидов из продуктов пчеловодства, а также видеоматериалы, подготовленные на их основе, демонстрируют современные физико-химические методы, реализуемые на базе кафедры и тематику исследований, выполняемых сотрудниками кафедры, что способствует повышению мотивации студентов

младших курсов к участию в научно-исследовательской работе кафедры.

4. Использование результатов, полученных в ходе эксперимента по выделению и очистке пептидов из продуктов пчеловодства для разработки практико-ориентированных заданий способствует развитию критического мышления и способности к анализу, что подготовит студентов к практике и проведению более серьезных исследований в рамках выполнения курсовой работы и выпускной квалификационной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамовский А.Л. Дистанционное образование на современном этапе развития российского высшего образования: Дис. канд. соц. наук: 22.00.06 / Абрамовский Антон Львович; Тюменский государственный нефтегазовый университет. Тюмень, 2019. 196 с.
2. Алешкина О.В., Миналиева М.А., Рачителева Н.А. Дистанционные образовательные технологии – ключ к массовому образованию XXI века // Актуальные задачи педагогики: материалы VI междунар. науч. конф. (г. Чита, январь 2020 г.). Чита: Издательство Молодой ученый, 2020. 63-65с.
3. Ахметова Д.З. Дистанционное обучение: от идеи до реализации. – Казань: Издательство «Познание» Института экономики, управления и права, 2019. 176 с.
4. Бабина С.А., Желтышева А.Ю., Шуклин Г.О., Шуклина А.А.. Япаров А.Э.. Лекартсвенные средетва на основе пептидов: применение, техиологии получения./ С.А. Бабина, А.ЮЮ.Желтышева, Г.О. Шуклин, А.А. Шуклина, А.З. Япаров // Международный студенческий вестник. 2019. с. 21
5. Бершадский А.М., Белов А.А., Вергазов Р.И., Кревский И.Г. Актуальные проблемы контроля знаний // Вестник компьютерных и информационных технологий № 1, 2020. 40-48 с.
6. Бим Бад Б.М. Педагогический энциклопедический словарь. – М.: Большая Российская энциклопедия, 2021.123 с.
7. Бондарева С.Г., Завалко Н.А. Состояние, тенденции и этапы развития дистанционного образования в мировой и отечественной теории и практике [Электронный ресурс].
8. Джусубалиева Д.М. Электронное и дистанционное обучение его реализация в языковом вузе // «Достижения и перспективы экономической науки нового столетия: практико-ориентированный аспект»: материалы

Международной научно-практическая конференция преподавателей, аспирантов и студентов, посвященной 70-летию Великой Победы. 30 октября 2021. Астрахань: Издатель: Сорокин Роман Васильевич, 2021. 130-144 с.

9. Домников А.С., Белоус В.В. Региональное упорядочение модулей учебного курса / А.С. Домников, В.В. Белоус // Электронный научнотехнический журнал «Наука и образование». 2019. №5.192-205 с.
10. Елин А.М. Подготовка кадров по охране труда на основе дистанционного обучения: Дис. канд. экон. наук: 08.00.05 [Электронный ресурс].
11. Ибрагимов И.М. Информационные технологии и средства дистанционного обучения / И. М. Ибрагимов. М.: «Академия», 2012.336 с.
12. Кондратенко А.Б. Методология построения E-learning системы персонализации обучения / А.Б. Кондратенко // Открытое образование. 2021. №5.17-27 с.
13. Кривошеев А.О. Совместное использование функциональности различных LMS при проектировании учебной среды курса / А.О. Кривошеев, А.Е. Лифанов. // Труды XX Всероссийской научно-методической конференции «Телематика 2019». СПб.: «Университетские телекоммуникации», 2019. 96-97 с.
14. Лебедева М.Б. Дистанционные образовательные технологии: проектирование и реализация учебных курсов / Лебедева М.Б., Агапонов С.В., Горюнова М.А., Костиков А.Н., Костикова Н.А., Никитина Л. Н., Соколова И.И., Степаненко Е.Б., Фрадкин В.Е., Шилова О.Н. / Под общ. ред. М.Б. Лебедевой. СПб.: БХВ-Петербург, 2019. 336 с.
15. Лифанов А.Е. Проектирование процесса обучения на основе дистанционных технологий с использованием свободно-распространяемых LMS / А.Е. Лифанов. // Научный журнал «Дизайн и технологии», №31. М.: РИО МГУДТ, 2020. 119-125 с.
16. Лобачев С.Л. Планирование учебного процесса в системе дистанционного

обучения в вузе / С.Л. Лобачев // Труды XX Всероссийской научно-методической конференции «Телематика 2019». 2019. 76-78 с.

17. Позняк Ю.В., Гаркун А.С., Царева А.А. Возможности системы Moodle и актуальность ее применения в сфере образования // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Инновационные технологии в образовании, науке и производстве», Минск, 6-7 декабря 2021 г. Мн.: БНТУ. 156-157 с.
18. Позняк Ю.В., Гаркун А.С., Царева А.А. Возможности системы Moodle и актуальность ее применения в сфере образования. [Электронный ресурс].
19. Полат Е.С., Буханкина М.Ю., Моисеева М.В. Теория и практика дистанционного обучения: учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений / Е.С. Полат, М.Ю. Буханкина, М.В. Моисеева / под ред. Е.С. Полат.М.: Академия, 2021. 416 с.
20. Поль Ф. Болезни пчёл, диагностика и лечение. М.: Издательство Астрель, 2004. 199 с.
21. Роберт И.В. Современные информационные технологии в образовании: дидактические проблемы; перспективы использования. М.: ИИО РАО, 2018. 140 с.
22. Сергиенко, И.В. Моделирование дистанционного обучения как системы интегративных образовательных технологий / И.В. Сергиенко. Казань: Издательство Казанск. ун-та, 2019. 176 с.
23. Тарасенко, Ф.П. Документация по Moodle 2.5: Ч.2. Инсталляция Moodle для Windows / [пер. с англ. В.А. Тунда, под ред. Ф.П. Тарасенко]. Томск: НИ ТГУ, 2019. 14 с.
24. Тютюгина, С.Г. Организация дистанционного обучения в образовательном учреждении: методическое пособие / С.Г. Тютюгина. Ковров: КГТА, 2020. 140 с.
25. Федеральный закон от 29 декабря 2012 г. № 273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации» // Собрание законодательства РФ, 2012. № 53

(часть 1) ст. 7598.

26. Хуторской, А.В. Эвристическое обучение. М.: МПА, 2019. 266 с.

27. Bíliková, K. Apisimin, a new serine–valine–rich peptide from honeybee (Apis mellifera L.) royal jelly: purification and molecular characterization / K. Bíliková, J. Hanes, E. Nordhoff, W. Saenger, J. Klaudiny, J. Simúth // FEBS Lett. 2002. Vol. 528. No. 1-3. P. 125-129

28. Breukink, E. Use of the cell wall precursor lipid II by a pore–forming peptide antibiotic / E. Breukink, I. Wiedemann, C. van Kraaij, O. P. Kuipers, H. G. Sahl, B. de Kruijff // Science. 1999. Vol. 286. Issue 5448. P. 2361-2364

29. Bucekova, M. Microwave processing of honey negatively affects honey antibacterial activity by inactivation of bee–derived glucose oxidase and defensin-1 / M. Bucekova, V. Juricova, E. Monton, S. Martinotti, E. Ranzato, J. Majtan // Food Chem. 2018. No. 240. P. 1131-1136

30. Casteels, P. Apidaecins: antibacterial peptides from honeybees / P. Casteels, C. Ampe, F. Jacobs, M. Vaeck, P. Tempst // The EMBO Journal. 1989. Vol. 8. No. 8. P. 2387-2391

31. Casteels, P. Functional and Chemical Characterization of Hymenoptaecin, an Antibacterial Polypeptide That Is Infection–inducible in the Honeybee (Apis mellifera) / P. Casteels, C. Ampe, F. Jacobs, P. Tempst // The journal of biological chemist. 1993. Vol. 268. No. 10. P. 7044-7054

32. Shai Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilaver membranes by a-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides./ Y. Shai. // Biomembrane. 1999. Vol. 1452. No 1. pp.57-60

33. Siddiqui O.. Chen Y. W. Nomparenteral administration of peptide and protein drugs./ O. Siddiqui, Y.W Chien // Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 1987. Vol.3. N 3. pp. 196-197. pp. 196-197.

34. WCET: WICHE Cooperative for Educational Technologies [Электронный ресурс].