

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Таскаев Сергей Валерьевич
Должность: Ректор
Дата подписания: 10.08.2026 10:18:19
Уникальный программный ключ:
04c19ed8bf098f3b6cb77a486b9a8788b8322325



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные
методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01
Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология
направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 1 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

**Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации
по дисциплине (модулю)**

Современные методы исследования в лабораторной диагностике

Направление подготовки (специальность)
06.04.01 Биология

Направленность (профиль)
Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология

Присваиваемая квалификация
магистр

Форма обучения
очная

Год набора 2026

Челябинск, 2026 г.

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 2 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

06.04.01 Биология, направленность (профиль) Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология, фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», 2026 год набора, очная форма обучения:

Утвержден:

Проректор по учебной работе утверждено 03.03.2026 А.А. Саламатов

Согласован:

Ученым советом биологического факультета

Протокол заседания от «27» февраля 2026 г. № 8

Председатель Ученого совета

биологического факультета согласовано

Д.С. Сташкевич

Заседанием кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии

Протокол заседания от «27» февраля 2026 г. № 9

Заведующий кафедрой

согласовано

А.Л. Бурмистрова

Автор (составитель)

И.В. Шмунк

Структура фонда оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине соответствует приказу ректора ФГБОУ ВО «ЧелГУ» от 27.09.2022 г. № 573-1 «Об утверждении шаблонов документов».

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 3 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Содержание

1. Паспорт фонда оценочных средств
2. Перечень формируемых компетенций
 - 2.1. Компетенции, закреплённые за дисциплиной
3. Содержание оценочных средств по дисциплине
 - 3.1. Виды оценочных средств
 - 3.2. Содержание оценочных средств
4. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации
 - 4.1. Порядок проведения промежуточной аттестации
 - 4.2. Критерии оценивания промежуточной аттестации по видам оценочных средств
 - 4.3. Результаты промежуточной аттестации и уровни сформированности компетенций.

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 4 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

1. Паспорт фонда оценочных средств

Направление подготовки (специальности) 06.04.01 Биология
 Направленность (профиль) Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология
 Дисциплина Современные методы исследования в лабораторной диагностике
 Семестр(ы) изучения: 3
 Форма (ы) промежуточной аттестации: экзамен

2. Перечень формируемых компетенций

2.1. Компетенции, закреплённые за дисциплиной

Изучение дисциплины «Современные методы исследования в лабораторной диагностике» направлено на формирование следующих компетенций:

Код и наименование компетенции согласно ФГОС	Индикаторы достижения компетенций согласно ОПОП ВО	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине
1	2	3
ПК 1 Способен использовать знание нормативных документов, регламентирующих организацию проведения научно-исследовательских работ для руководства рабочим коллективом и обеспечения мер производственной безопасности	ПК-1.3 Планирует организацию и проведение научных исследований по актуальным биомедицинским проблемам	Знать Для достижения ПК-1.3 знать: иммунологические, физико-химические и молекулярно-биологические закономерности, лежащие в основе современных методов исследований Уметь Для достижения ПК-1.3 уметь: излагать и критически анализировать получаемую информацию и представлять результаты биологических исследований Владеть Для достижения ПК-1.3 владеть: основными подходами в реализации иммунохимических и молекулярно-генетических методов исследований в клинической лабораторной диагностике
ПК 2 Способен применять методы культивирования, идентификации, геномики и протеомики микроорганизмов и использовать их в решении проблем в соответствии с	ПК-2.1 Применяет методы бактериологического, молекулярно-генетического, биотехнологического исследования	Знать Для достижения ПК-2.1 знать: теоретические основы современных методов исследований, применяемых в исследовательской работе и в клинической лабораторной диагностике Уметь Для достижения ПК-2.1 уметь: применять знания для решения научных, учебных, практических,

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 5 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

направленностью (профилем) программы магистратуры	методических, информационно-поисковых и других задач Владеть Для достижения ПК-2.1 владеть: междисциплинарным подходом как методологической основой биологических исследований; методами биологических наук
---	---

3. Содержание оценочных средств по дисциплине

3.1 Виды оценочных средств

Код, наименование компетенции согласно ФГОС	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине	Контролируемые темы/разделы (номер и название раздела из РПД п.2.2)	Семестр	Номер задания	Наименование оценочного средства
ПК 1 Способен использовать знание нормативных документов, регламентирующих организацию проведения научно-исследовательских работ для руководства рабочим коллективом и обеспечения мер производственной безопасности	1.3 Знать: иммунологические, физико-химические и молекулярно-биологические закономерности, лежащие в основе современных методов исследований	Раздел 1 «Введение. Классификация методов исследований. Фенотипирование. Генотипирование.»	3	Задания 1-44	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 2 «Иммуноанализ. Антиген и антитело. Физико-химические закономерности взаимодействия антигена и антитела.»		Задания 1-44 Вопросы 1-2	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 3 «Иммуноанализ. Получение антител. Моноклональные и гибридомная технология»		Задания 1-44 Вопросы 1-3	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 4 «Иммуноанализ. Иммуноферментный анализ.»		Задания 1-44 Вопросы 4-10	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 6 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

					Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 5 «Иммуноанализ. Радиологический анализ»		Задания 1-44 Вопросы 12	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 6 «Иммуноанализ. Иммунофлюоресценция. Иммунофенотипирование»		Задания 1-44 Вопросы 11-12	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 7 «Молекулярно-генетические методы. Нуклеиновые кислоты. Выделение нуклеиновых кислот. Оценка качества и количества НК»		Задания 1-44 Вопросы 14-15	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 8 «Молекулярно-генетические методы. Гибридизация нуклеиновых кислот. Амплификация нуклеиновых кислот»		Задания 1-44 Вопросы 16-18	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Раздел 9 «Молекулярно-генетические методы. Полимеразная цепная реакция. Модификации ПЦР. Детекция продуктов амплификации.»		Задания 1-44 Вопросы 16-18	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	1.3 Уметь: излагать и критически анализировать получаемую информацию и представлять результаты биологических исследований				



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 7 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

1.3 Владеть: основными подходами в реализации иммунохимических и молекулярно-генетических методов исследований в клинической лабораторной диагностике	Раздел 10 «Молекулярно-генетические методы. ПЦР в «режиме реального времени»	Задания 1-44 Вопросы 18-20	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	Раздел 11 «Молекулярно-генетические методы. Методы первичной идентификации мутаций»	Задания 1-44 Вопросы 21	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	Раздел 12 «Молекулярно-генетические методы. Молекулярное сканирование известных мутаций»	Задания 1-44 Вопросы 20	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	Раздел 13 «Молекулярно-генетические методы. Технологии секвенирования»	Задания 1-44 Вопросы 22-24	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	Раздел 14 «Генодиагностика в современной медицине»	Задания 1-44 Вопросы 20-23	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	Раздел 15 «Хроматографический анализ»	Задания 1-44 Вопросы 13	Задание закрытого типа на выбор одного

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 8 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

					правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
ПК 2 Способен применять методы культивирования, идентификации, геномики и протеомики микроорганизмов и использовать их в решении проблем в соответствии с направленностью (профилем) программы магистратуры	2.1 Знать: теоретические основы современных методов исследований, применяемых в исследовательской работе и в клинической лабораторной диагностике	Лабораторная работа 1-4 Постановка ИФА. Обнаружение Антигена. Обнаружение антител. Количественное определение Антигена. Количественная оценка антител.	3	Задания 1-44 Вопросы 4-10	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Лабораторная работа 5-6 Выделение нуклеиновых кислот. Оценка качества и количества НК.		Задания 1-44 Вопросы 14-15	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
		Лабораторная работа 7-8 Полимеразная цепная реакция. Модификации ПЦР. Детекция продуктов амплификации.		Задания 1-44 Вопросы 16-17	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	2.1 Уметь: применять знания для решения научных, учебных, практических, методических, информационно-поисковых и других задач	Лабораторная работа 9-12 ПЦР в «режиме реального времени».		Задания 1-44 Вопросы 18-20	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание открытого типа с развернутым ответом
	2.1 Владеть: междисциплинарным подходом как методологической основой биологических исследований;	Лабораторная работа 13 Молекулярное сканирование известных мутаций.		Задания 1-44 Вопросы 16-20	Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа Задание

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 9 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____
	методами биологических наук		открытого типа с развернутым ответом

3.2 Содержание оценочных средств

Часть 1. База тестовых вопросов закрытого типа

Задание 1 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Группа крови / Какой тип теста должен провести специалист станции переливания крови, чтобы определить группу крови пациента?

- A. Определение генотипа.
- B. Определение фенотипа.
- C. Определение генотипа и фенотипа.
- D. ПЦР.

Задание 2 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Групповая система Даффи / У пациента-женщины имеются антигены групп крови Fy^a, Fy^b и X^{ga}. У пациента-мужчины ни один из этих антигенов не обнаруживается. Какой фактор, или факторы, могут считаться причиной отсутствия этих антигенов у пациента-мужчины?

- A. Пол.
- B. Раса.
- C. Пол и раса.
- D. Лечение или патология.

Задание 3 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Гетеро-и гомозиготность генотипа. / Какое из следующих утверждений верно?

- A. Человекс генотипом ВО гомозиготенпо В.
- B. Человек с генотипом ВВ гомозиготен по В.
- C. Человек с генотипом ОО гетерозиготен по О.
- D. Человек с генотипом АВ гомозиготен по А и В.

Задание 4 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Гетерозиготный генотип. / Какой генотип гетерозиготен по С?

- A. DCe/dce
- B. DCE/DCE
- C. Dce/dce
- D. dCE/dCe

Задание 5 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Компоненты иммунной системы / Какой из нижеперечисленных компонентов

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 10 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

адаптивной иммунной системы формируется в ответ на антигенную атаку?

- A. Лизоцим
- B. Комплемент
- C. Симбиотические организмы
- D. Иммуноглобулины.

Задание 6 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Антигенная стимуляция В-клеток. / Какой тип В-клеток формируется после антигенной стимуляции?

- A. Плазматические клетки и В-клетки памяти
- B. Зрелые В-клетки
- C. Антигензависимые В-клетки
- D. Активированные В-клетки.

Задание 7 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Перемещение фагоцитов. / Как называется процесс, в результате которого фагоциты притягиваются к чужеродному веществу (например, к бактериальному белку)?

- A. Диapedез
- B. Дегрануляция
- C. Хемотаксис
- D. Фаготаксис

Задание 8 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Функции комплемента. / Все нижеперечисленное является иммунологическими функциями комплемента, кроме:

- A. Индукция противовирусного состояния
- B. Опсонизация
- C. Хемотаксис
- D. Образование анафилатоксина.

Задание 9 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Компоненты комплемента. / Какой компонент комплемента присутствует и в классическом и в альтернативном путях активации?

- A. C1
- B. C4
- C. Фактор D
- D. C3

Задание 10 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Иммуноглобулины классического пути комплемента / Какие

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 11 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

иммуноглобулины участвуют в классическом пути активации комплемента?

- A. IgA и IgD
- B. Только IgM
- C. IgG и IgM
- D. Только IgG

Задание 11 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Инактивация гемолитической активности комплемента / Что разрушит гемолитическую активность комплемента *in vitro*?

- A. Нагревание сыворотки до 56 °C в течение 30 мин
- B. Хранение сыворотки при комнатной температуре 22 °C в течение 1 часа
- C. Нагревание сыворотки до 37 °C в течение 45 мин
- D. Замораживание сыворотки при 0 °C в течение 24 часов.

Задание 12 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Белки системы комплемента / Какова цель фрагментов C3a, C4a и C5a в каскаде активаций комплемента?

- A. Активация специфических мембранных рецепторов лимфоцитов и высвобождение цитотоксических веществ
- B. Повысить проницаемость сосудов, вызвать сокращение гладкой мускулатуры и высвобождение гистамина из базофилов
- C. Создание комплекса с мембранными рецепторами макрофагов, чтобы облегчить фагоцитоз и удаление посторонних веществ
- D. Регулирование и деградация мембранного кофакторного белка после активации C3-конвертазы.

Задание 13 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Строение молекулы иммуноглобулина / Какой участок молекулы иммуноглобулина может связывать антиген?

- A. Fab
- B. Fc
- C. CL
- D. CH.

Задание 14 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

J-цепь иммуноглобулина. / Какие классы иммуноглобулинов имеют J-цепь?

- A. IgM
- B. IgE и IgD
- C. IgM и sIgA
- D. IgG3 и IgA.

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 12 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Задание 15 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)
 Первичный иммунный ответ / Какой иммуноглобулин появляется первым в первичном иммунном ответе?

- A. IgG
- B. IgM
- C. IgA
- D. IgE

Задание 16 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)
 Вторичный иммунный ответ / Повышение титра какого иммуноглобулина происходит при вторичном иммунном ответе?

- A. IgG
- B. IgM
- C. IgA
- D. IgE.

Задание 17 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)
 Высвобождение гистамина тучными клетками / Связь с каким иммуноглобулином побуждает тучные клетки высвобождать гистамин?

- A. IgG
- B. IgM
- C. IgA
- D. IgE

Задание 18 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)
 Функции иммуноглобулинов / Все нижеследующие функции свойственны иммуноглобулинам, за исключением:

- A. Нейтрализация ядовитых веществ
- B. Содействие фагоцитозу через опсонизацию
- C. Взаимодействие с цитотоксическими Т-клетками для лизирования вирусов
- D. Совместное с комплементом разрушение клеточных антигенов

Задание 19 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)
 Антигены HLA класса III / Что из перечисленного является продуктом генов HLA класса III?

- A. Т-клеточные рецепторы
- B. Антигены HLA-D
- C. Белки комплемента C2, C4 и фактор В
- D. VL область иммуноглобулина

Задание 20 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 13 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Т-клеточный маркер / Какой кластер дифференцировки (CD) появляется на начальном этапе созревания Т-клетки и является идентифицирующим маркером всех Т-клеток?

- A. CD1
- B. CD2
- C. CD3
- D. CD4 или CD8.

Задание 21 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Маркеры зрелых Т-хелперов / Какие маркеры экспрессируются на мембране зрелых Т-хелперов?

- A. CD1, CD2, CD4
- B. CD2, CD3, CD8
- C. CD1, CD3, CD4
- D. CD2, CD3, CD4.

Задание 22 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Маркер CD8 / Какие Т-лимфоциты экспрессируют на своей поверхности маркер CD8 и уничтожают опухолевые и зараженные вирусами клетки?

- A. Т-хелперы
- B. Т-супрессоры
- C. Т-цитотоксические
- D. Т-индукторы/супрессоры.

Задание 23 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Связывание комплемента / Какой участок молекулы иммуноглобулина определяет способность фиксировать комплемент?

- A. V_H
- B. C_H
- C. V_L
- D. C_L

Задание 24 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Проникновение иммуноглобулина через плаценту / Какой иммуноглобулин может проникать через плаценту?

- A. IgG
- B. IgM
- C. IgA
- D. IgE

Задание 25 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 14 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Антигены МНС класса II / Какие из следующих антигенов классифицируется как антигены МНС класса II?

- A. HLA-A
- B. HLA-B
- C. HLA-C
- D. HLA-DR

Задание 26 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Свойства TCR / Т-клеточный антигенраспознающий рецептор похож на иммуноглобулин, тем, что он:

- A. Остается связанным с мембранной и никогда не секретируется
- B. Содержит V- и C-области на каждой из своих цепей
- C. Связывает комплемент
- D. Может проникать через плаценту и обеспечивает защиту плода.

Задание 27 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Толл-подобные рецепторы / На каких клетках находятся толл-подобные рецепторы (TLR)?

- A. Т-клетки
- B. Макрофаги и дендритные клетки
- C. NK-клетки
- D. Большие гранулярные лимфоциты.

Задание 28 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Процессинг антигена в макрофаге / Какие из следующих белков вырабатываются в ходе процессинга антигена в макрофаге?

- A. IL-1 и IL-6
- B. γ -интерферон
- C. IL-4, IL-5 и IL-10
- D. Компоненты комплемента C1 и C3.

Задание 29 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Суперантиген и синдром токсического шока / Вызывающий синдром токсического шока суперантиген TSST-1 активирует Т-клетки связывая между собой:

- A. Часть молекулы иммуноглобулина и компонент комплемента C1
- B. Толл-подобные рецепторы и молекулы МНС класса I
- C. Часть молекулы иммуноглобулина и часть Т-клеточного рецептора
- D. Часть Т-клеточного рецептора и молекулы МНС класса II.

Задание 30 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Взаимодействие антиген – антитело / Взаимодействия между молекулами

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 15 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

антигена и антитела зависит от нескольких типов связей, таких как ионных, водородных и гидрофобных, а также Ван-дер-ваальсовых сил. Чем характеризуется прочность этого взаимодействия?

- A. Авидность
- B. Аффинность
- C. Реактивность
- D. Валентность.

Задание 31 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Характеристика показателей анализа / При диагностике ревматоидного артрита для обнаружения антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) используют данные иммуноферментного анализа (ИФА). Для контроля в этом анализе используют кровь здоровых людей и пациентов с другими заболеваниями соединительной ткани. Эти образцы нужны для оценки такой характеристики анализа, как:

- A. Чувствительность
- B. Точность
- C. Погрешность
- D. Специфичность.

Задание 32 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Реакция антиген-антитело / Преципитация в реакции антиген-антитело зависит от наличия необходимого количества пропорций антигена и антитела. Образец А содержит большое количество антител, но реакция антиген-антитело отрицательна. В чем причина?

- A. Ошибке проведения
- B. Низкая специфичность
- C. Смещение зоны эквивалентности
- D. Феномен прозоны.

Задание 33 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Метод радиальной иммунодиффузии / Куда добавляется иммунная сыворотка при выполнении реакции радиальной иммунодиффузии?

- A. В центральную лунку
- B. В периферические лунки
- C. В агаровый гель
- D. Во все лунки.

Задание 34 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Способы иммуноанализа / Почему для выявления определенных аналитов, находящихся в низких концентрациях (например гормонов), используют

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 16 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

иммуноферментный анализ (ИФА) или радиоиммуноанализ (РИА)?

- A. Из-за низкой перекрестной реактивности
- B. Из-за высокой специфичности
- C. Из-за высокой чувствительности
- D. Из-за возможности выполнения конкурентными и неконкурентными методами.

Задание 35 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Индикаторная система обнаружения антител в ИФА / Что включает в себя индикаторная система обнаружения антител в ИФА?

- A. Фермент-конъюгированные антитела + хромогенный субстрат
- B. Антиген-конъюгат + хромогенный субстрат
- C. Фермент + антиген
- D. Субстрат + антиген

Задание 36 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Реакция пассивной агглютинации / Какое утверждение верно для реакции пассивной агглютинации, используемой в серодиагностике?

- A. Реакция проходит быстро и в один этап
- B. Реакция требует добавления второго антитела
- C. Реакция требует двухфазной инкубации
- D. В качестве носителей антигена используют латексные частиц.

Задание 37 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Тесты для выявления ВИЧ-инфекции / Какие три основных типа тестов используются для выявления ВИЧ-инфекции?

- A. Культуральные исследования, тесты на антитела и антигены
- B. Тесты на антитела, антигены и нуклеиновые кислоты
- C. ДНК-тест, анализ ДНК-маркеров и Вестерн-блот
- D. ИФА, Вестерн-блот и Саузерн-блот.

Задание 38 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Скрининговые тесты на ВИЧ / Какие анализы на ВИЧ относятся к скрининговым?

- A. ИФА и экспресс-тесты на антитела
- B. Вестерн-блот, реакции иммунофлуоресценции и радиоиммунопреципитации
- C. Культуральный анализ, метод антигенной ловушки, ПЦР
- D. Анализ обратной транскриптазы и РНК (мРНК).

Задание 39 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Подтверждающие анализы на ВИЧ / Какие тесты считаются

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 17 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

подтверждающими анализами на ВИЧ?

- A. ИФА и экспресс-тесты на антитела
- B. Реакция иммунофлуоресценции (РИФ), Вестерн-блоттинг и ПЦР
- C. Культуральные, метод антигенной ловушки, ПЦР
- D. Анализ обратной транскриптазы и РНК (мРНК).

Задание 40 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Ложноположительный результат иммуноблоттинга на ВИЧ / У женщины, имевшей пять беременностей, получен ложноположительный результат иммуноблоттинга на ВИЧ. Какова наиболее вероятная причина такого результата?

- A. Перекрестная реакция с антителами HSV и EBV
- B. Применение лекарственных средств
- C. Перекрестная реакция с антителами к HLA-антигенам
- D. Техническая ошибка.

Задание 41 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Интерпретация результатов тестов на ВИЧ / Как интерпретировать следующие результаты тестов на ВИЧ-инфекцию: ИФА: положительный; повторный ИФА: отрицательный; Вестерн-блот: отрицательный?

- A. Результат положительный
- B. Результат отрицательный
- C. Результат неопределенный
- D. Необходимы дополнительные анализы.

Задание 42 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Интерпретация результатов тестов на ВИЧ (2) / Как интерпретировать следующие результаты тестов на ВИЧ-инфекцию: ИФА: результат положительный; Вестерн-блот: неопределенный; реакция радиоиммунопреципитация: отрицательный?

- A. Результат положительный; ВИЧ-1
- B. Результат положительный; ВИЧ-2
- C. Результат ложноположительный
- D. Результат неопределенный.

Задание 43 (*Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа*)

Интерпретация результатов тестов на ВИЧ (3) / Чем можно объяснить отрицательный результат теста на антитела ВИЧ, при положительном результате ПЦР, проведенном через неделю после анализа на антитела?

- A. Отсутствием ВИЧ-инфекции
- B. Нахождением пациента в «периоде окна»
- C. Ошибкой проведения анализа

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 18 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

D. Ошибкой истолкования клинических признаков

Задание 44 (Задание закрытого типа на выбор одного правильного ответа)

Антитела иммунитета к гепатиту В /Какие антитела дают иммунитет к повторному заражению вирусом гепатита В?

- A. Анти-НВс IgM
- B. Анти-НВс IgG
- C. Анти-НВе
- D. Анти HBs

*Часть 2. База тестовых вопросов **открытого типа***

Вопрос 1. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Антитела. Классы антител. Строение антител.

Вопрос 2. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Взаимодействие антигена и антитела. Аффинность. Авидность. Кинетика реакции взаимодействия.

Вопрос 3. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Получение антител. Поликлональные антитела. Аффинная хроматография. Получение моноклональных антител, их отличие от поликлональных.

Вопрос 4. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Принцип иммуноферментного анализа. Этапы проведения ИФА. Характеристика реагентов в ИФА.

Вопрос 5. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Схемы ИФА для обнаружения антигена. Конкурентный метод, «сэндвич»-метод, «двойной сэндвич»-метод. Клеточный ИФА.

Вопрос 6. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Схемы ИФА для обнаружения антител. Конкурентный метод, метод с использованием меченого антигена, «двойной сэндвич»-метод, непрямой метод.

Вопрос 7. (Задание открытого типа с развернутым ответом)

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 19 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Принцип иммуноферментного анализа. Особенности количественной оценки антигенов и антител.

Вопрос 8. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Контрольные материалы в ИФА. Характеристика качества иммуноферментной тест-системы (чувствительность, специфичность, точность).

Вопрос 9. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Диагностика ВИЧ инфекции.

Вопрос 10. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Маркеры вирусных инфекций: HBV, HDV, HCV

Вопрос 11. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Метод проточной цитометрии (принцип, регистрируемые параметры).

Вопрос 12. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Особенности меток, используемых в иммуноанализе (радиоактивная, ферментная, хемилюминесцентная, флюоресцентная).

Вопрос 13. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Хроматографический анализ: принцип, разновидности.

Вопрос 14. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Выделение и хранение нуклеиновых кислот. Качественный и количественный анализ нуклеиновых кислот.

Вопрос 15. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*
Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Нуклеиновые кислоты. Принцип спектрофотометрирования нуклеиновых кислот. Закон Ламберта-Бэра

Вопрос 16. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 20 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ
 Принцип ПЦР. Детекция продуктов ПЦР. ПЦР с рестрикцией.

Вопрос 17. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Основные компоненты реакционной смеси в ПЦР. Модификации ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией, гнездная ПЦР, лонг-ПЦР, мультиплексная ПЦР).

Вопрос 18. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

ПЦР в режиме реального времени. Принцип. Кинетическая кривая. Базовая и пороговая флуоресценция.

Вопрос 19. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Типы реал-тайм ПЦР. (Интеркалирующие красители; меченые олигонуклеотидные пробы – Taqman, Beacon; Light Cycler).

Вопрос 20. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Обработка результатов реал-тайм ПЦР. Эффективность реакции. Количественный анализ.

Вопрос 21. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Первичная идентификация мутаций. Секвенирование ДНК по Сэнгеру.

Вопрос 22. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Технологии секвенирования НК. Пиросеквенирование (принцип, особенности).

Вопрос 23. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Технологии секвенирования НК. Полупроводниковое секвенирование (принцип, особенности).

Вопрос 24. *(Задание открытого типа с развернутым ответом)*

Прочитайте задание и запишите развернутый обоснованный ответ

Технологии секвенирования НК. Нанопоровое секвенирование (принцип, особенности).

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 21 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

4. Порядок проведения и критерии оценивания промежуточной аттестации

4.1. Порядок проведения промежуточной аттестации

Экзамен состоит из 2- частей

1 часть – студент решает 15 тестовых вопросов закрытого типа, выбранных случайным образом. Продолжительность – 30 минут.

Максимальное количество баллов за выполнение задания – 15 баллов

2 часть – студент решает вопросы открытого типа со свободным ответом, которые не предполагают вариантов ответа, правильный ответ требуется написать самостоятельно. Всего 5 тестовых вопросов, выбранных случайным образом. Продолжительность – 60 минут.

Максимальное количество баллов за выполнение задания – 85 баллов

Всего заданий – 20.

Максимальный балл – 100 баллов:

0-49 баллов - неудовлетворительно (оценка 2);

50-69 баллов - удовлетворительно (оценка 3);

70-90 баллов - хорошо (оценка 4);

91-100 баллов - отлично (оценка 5).

Общее время выполнения работы – 1,5 часа.

Особенности проведения процедуры оценивания результатов обучения инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья обозначены в рабочей программе дисциплины (модуля).

4.2. Критерии оценивания промежуточной аттестации по видам оценочных средств

Ключи и критерии к оцениванию задания

№ задания	Верный ответ	Критерии
1	В	1 б - совпадение с верным ответом 0 б - остальные случаи
2	С	1 б - совпадение с верным ответом 0 б - остальные случаи
3	В	1 б - совпадение с



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 22 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

		верным ответом 0 б - остальные случаи
4	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
5	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
6	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
7	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
8	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
9	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
10	C	1 б -



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 23 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

		совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
11	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
12	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
13	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
14	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
15	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
16	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 24 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

		случаи
17	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
18	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
19	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
20	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
21	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
22	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
23	B	1 б - совпадени е с верным ответом



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 25 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

		0 б - остальные случаи
24	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
25	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
26	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
27	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
28	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
29	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
30	B	1 б - совпадени е с



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 26 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

		верным ответом 0 б - остальные случаи
31	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
32	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
33	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
34	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
35	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
36	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
37	B	1 б -



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 27 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

		совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
38	A	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
39	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
40	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
41	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
42	C	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
43	B	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 28 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

		случаи
44	D	1 б - совпадени е с верным ответом 0 б - остальные случаи
1 вопрос	Антитела (иммуноглобулины) — это белки плазмы крови, синтезируемые В-лимфоцитами в ответ на антигены. Строение: Мономер (Y-образная форма) состоит из 4 полипептидных цепей: двух тяжелых (H) и двух легких (L), соединенных дисульфидными мостиками. Выделяют переменный участок (Fab — связывает антиген) и константный участок (Fc — определяет эффекторные функции). Классы антител (5 основных): IgG — основной в сыворотке крови (иммунитет плода, нейтрализация токсинов). IgA — защита слизистых оболочек (секреторный компонент). IgM — первичный иммунный ответ (пентамер, агглютинация). IgE — аллергические реакции (связывание с тучными клетками). IgD — рецептор на В-лимфоцитах (активация клетки).	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи
2 вопрос	Взаимодействие антигена с антителом — это специфическое, нековалентное связывание активного центра антитела (паратопа) с эпитопом антигена. Процесс обратим и зависит от силы и скорости связывания. Аффинность (Affinity) — это индивидуальная энергия связывания одного активного центра антитела с одним эпитопом антигена (прочность одного «замка» и одного «ключа»). Характеризуется константой равновесия. Авидность (Avidity) — это общая прочность связывания всего антитела со всем антигеном. Для IgM (пентамер) авидность высокая даже при низкой аффинности, т.к. антитело связывается с антигеном сразу в нескольких точках. Кинетика реакции описывается уравнением: Прямая реакция: $At + Ag \rightleftharpoons AtAg$ (образование комплекса). Обратимость: комплекс может диссоциировать. Ключевые параметры кинетики: k^+ — константа скорости ассоциации (образование комплекса). k^- — константа скорости диссоциации (распад комплекса). Константа аффинности $K_a = k^+ / k^-$ (чем выше, тем прочнее связь). Реакция проходит три фазы: быстрая ассоциация, достижение равновесия, медленная диссоциация.	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи
3 вопрос	Поликлональные антитела (ПКАТ) — это смесь антител, продуцируемых разными клоонами В-клеток. Они распознают различные эпитопы одного антигена. Получение: иммунизация животного (кролик, коза) → отбор сыворотки. Минусы: низкая специфичность, ограниченное количество, различия между партиями. Аффинная хроматография — метод очистки антител, основанный на специфическом связывании антитела с иммобилизованным антигеном (или белок A/G). Смесь пропускают через колонку, антитела связываются, затем их элюируют (например, низким pH). Это позволяет выделить специфические антитела из сыворотки.	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 29 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

	Моноклональные антитела (МКАТ) — идентичные антитела, полученные из одного клона клеток. Получение (гибридомная технология): Иммунизация мыши антигеном. Слияние В-лимфоцитов (продуцентов антител) с миеломными клетками (бессмертными). Селекция гибридом (среда НАТ). Клонирование и отбор гибридом, продуцирующих нужные антитела. Культивирование (in vitro или асцитная жидкость мыши). Отличия моноклональных от поликлональных:		совпадени е с верным ответом 0 6 – остальные случаи
	Признак	Моноклональные	Поликло нальные
	Специфичность	Один эпитоп	Множ ество эпито пов
			Гетер огенн ые
	Однородность	Абсолютная (один изотип, аффинность)	Низка я
			Высокая (неограниченно)
	Воспроизводимость		(завис ит от живот ного)
			Часто
	Перекрестные реакции	Минимум (при правильном выборе)	прису тству ют
			Прост
	Получение	Сложное, дорогое (гибридомы)	ое, дешев

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 30 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	(сыво ротка) Рутин ная диагн Диагностика, терапия остик (раковые, а аутоиммунные (ELIS болезни) А, Весте рН- блот)				
4 вопрос	1. Принцип иммуноферментного анализа ИФА основан на двух реакциях: Специфическом связывании антитела с антигеном (принцип иммунохимии). Ферментативной реакции — фермент, конъюгированный с антителом (или антигеном), катализирует превращение бесцветного субстрата в окрашенный продукт. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации определяемого вещества. 2. Основные этапы проведения ИФА (на примере «сэндвич»-метода) Сенсibilизация — иммобилизация антител на твердой фазе (полистироловый планшет). Блокировка — обработка свободных мест белком (например, БСА) для предотвращения неспецифического связывания. Внесение образца — инкубация с анализируемым антигеном → образование комплекса антитело-антиген. Отмывка — удаление несвязавшихся компонентов. Внесение конъюгата — добавление антител, меченных ферментом (например, пероксидазой хрена). Отмывка — удаление избытка конъюгата. Внесение субстрата — добавление хромогенного субстрата (например, ТМБ). Остановка реакции — добавление стоп-реагента (H₂SO₄). Детекция — измерение оптической плотности на спектрофотометре (при длине волны, характерной для продукта реакции). 3. Характеристика реагентов в ИФА <table> <tr> <td>Реагент</td><td>Характеристика</td><td>Требования</td></tr> </table>	Реагент	Характеристика	Требования	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи
Реагент	Характеристика	Требования			



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 31 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

	Твердая фаза	Полистироловые планшеты (96 лунок), нитроцеллюлозные мембраны, магнитные частицы	Высокая связывающая способность, низкий неспецифический фон
	Антитела (иммобилизованные)	Моноклональные или афинно-очищенные поликлональные	Высокая специфичность, авидность, стабильность
	Конъюгат	Антитело + фермент (пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза)	Сохранение активности фермента и связывающей способности антител
	Субстрат	Хромогенный (ТМБ, OPD, ABTS) или хемилюминесцентный (люминол)	Высокий коэффициент экстинкции, безопасность, растворимость
	Блокирующий раствор	БСА, желатин, сухое молоко	Полная блокада свободных мест, отсутствие перекрестных реакций
	Промывочный буфер	PBS с детергентом (Tween-20)	Эффективное удаление несвязанных белков без разрушения комплексов
	Стоп-реагент	H ₂ SO ₄ , HCl	Быстрое прекращение ферментативной реакции, стабильность окраски

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 32 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	Ключевые параметры качества реагентов: • Чувствительность (низкий предел обнаружения) • Специфичность (отсутствие перекрестных реакций) • Воспроизводимость (малая вариабельность между партиями) • Стабильность при хранении (обычно 4°C или -20°C)	
5 вопрос	1. «Сэндвич»-метод (прямой или непрямой) Принцип: Антиген «зажимается» между двумя антителами. Схема: На твердую фазу (планшет) сорбируют специфические антитела. Вносят образец, содержащий антиген → антиген связывается. Вносят меченые ферментом антитела к тому же антигену (конъюгат). Добавляют субстрат → фермент дает окрашивание (интенсивность пропорциональна концентрации антигена). Применение: Определение белков, вирусов (ВИЧ, HBsAg), гормонов. 2. «Двойной сэндвич»-метод Принцип: Усиление специфичности и сигнала за счет двух разных антител для детекции. Схема: Аналогична сэндвичу, но: Вместо прямого меченого антитела используют биотинилированное антитело → затем добавляют меченый ферментом стрептавидин (или используется непрямая система с двумя детектирующими антителами). Применение: Для повышения чувствительности при низких концентрациях антигена. 3. Конкурентный метод (для антигена) Принцип: Антиген из образца конкурирует с меченым антигеном за ограниченное количество антител. Схема: На твердой фазе иммобилизованы специфические антитела. Вносят смесь: образец (немеченый антиген) + фиксированное количество меченого антигена. Чем больше антигена в образце, тем меньше меченого антигена свяжется → слабее сигнал. Применение: Малые антигены (гаптены, гормоны, лекарства). 4. Клеточный ИФА (Cell ELISA) Принцип: Детекция антигенов на поверхности интактных клеток без их лизиса. Схема: Клетки культивируют в лунках планшета (фиксация мягким фиксатором или без фиксации). Блокировка неспецифического связывания. Инкубация с первичными антителами к поверхностному антигену. Инкубация с мечеными вторичными антителами. Добавление субстрата → окрашивание (измерение фотометрически или микроскопически). Применение: Оценка экспрессии рецепторов, фенотипирование клеток, скрининг гибридом.	17 б – полное совпадение с верным ответом 8 б – частичное совпадение с верным ответом 0 б – остальные случаи
6 вопрос	1. Непрямой метод (самый распространенный) Принцип: Выявляемые антитела связываются с иммобилизованным антигеном, а детектируются мечеными антивидовыми антителами. Схема: На твердую фазу сорбируют антиген. Вносят образец сыворотки (содержит антитела) → образование комплекса. Вносят конъюгат (антитела против Ig человека, меченные ферментом). Добавляют субстрат → окрашивание (интенсивность прямо пропорциональна количеству антител в образце). Применение: Диагностика инфекций (ВИЧ, гепатиты, токсоплазмоз), скрининг	17 б – полное совпадение с верным ответом 8 б – частичное совпадение с

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 33 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	иммунного ответа. 2. Конкурентный метод (для антител) Принцип: Антитела из образца конкурируют с мечеными антителами за ограниченное количество антигена на твердой фазе. Схема: На твердой фазе иммобилизован антиген. Вносят смесь: образец (немеченые антитела) + фиксированное количество меченых ферментом антител к этому антигену. Чем больше антител в образце, тем меньше меченых антител свяжется → слабее сигнал (обратная зависимость). Применение: Определение антител к гаптенам, гормонам, лекарствам (при невозможности прямого или непрямого метода). 3. Метод с использованием меченого антигена Принцип: Разновидность конкурентного ИФА, где метят не антитела, а антиген. Схема: На твердой фазе иммобилизованы специфические антитела. Вносят смесь: образец (немеченые антитела) + меченый ферментом антиген. Немеченые антитела из образца связываются с иммобилизованными антителами? (Здесь уточнение: обычно на твердой фазе антиген, а меченый антиген конкурирует с антителами из образца за связывание с иммобилизованным антигеном — фактически вариант конкурентного метода). Более корректно: на твердой фазе антиген, добавляют образец (антитела) + меченый антиген → меченый антиген не связывается, если антитела в образце заняли места. Применение: редко, в основном для низкомолекулярных антигенов. 4. «Двойной сэндвич»-метод (для антител) — редко используется Принцип: Антитела из образца «зажимаются» между двумя антигенами (аналог сэндвича для антигенов, но наоборот). Схема: На твердой фазе иммобилизован антиген. Вносят образец (антитела) → связывание. Вносят тот же антиген, меченый ферментом (или биотинилированный + стрептавидин-фермент). Чем больше антител, тем больше свяжется меченого антигена → прямой сигнал. Применение: Очень редко, уступает непрямому методу из-за сложности. Чаще под «двойным сэндвичем» подразумевают детекцию антигенов, а для антител используют не прямой метод.	верным ответом 0 б – остальные случаи
7 вопрос	1. Принцип иммуноферментного анализа (ИФА) ИФА сочетает высокую специфичность иммунологической реакции с чувствительностью ферментативного детектирования. Основные компоненты: Антитела или антигены, иммобилизованные на твердой фазе (планшет) Конъюгат — антитело (или антиген), меченное ферментом (пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза) Хромогенный субстрат (при действии фермента дает окрашенный продукт) Принцип работы: Образование специфического иммунного комплекса (антиген-антитело) Фермент, связанный с комплексом, катализирует реакцию субстрата Интенсивность окраски пропорциональна концентрации определяемого вещества Ключевые особенности ИФА: Высокая чувствительность (пг/мл — нг/мл) Безопасность (нет радиоактивности) Стабильность реагентов Возможность автоматизации 2. Особенности количественной оценки антигенов	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 34 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

	Параметр	Характеристика
	Методы	«Сэндвич»-метод (для крупных антигенов), конкурентный (для малых)
	Калибровка	Строят калибровочную кривую по стандартным растворам антигена с известной концентрацией
	Зависимость	Прямая (чем выше концентрация антигена, тем выше оптическая плотность) — для сэндвич-метода
	Диапазон	Ограничен «эффектом пролета» (ложное занижение при очень высоких концентрациях)
	Единицы	нг/мл, пг/мл, МЕ/мл
	Контроли	Положительный и отрицательный контроли, калибраторы
	Особенности: Для сэндвич-метода — концентрация пропорциональна сигналу Для конкурентного — обратная зависимость (больше антиген → меньше сигнал) Необходимость разведения образцов с высокой концентрацией 3. Особенности количественной оценки антител	
	Параметр	Характеристика
	Основной метод	Непрямой ИФА (антиген на твердой фазе + конъюгат антивидовых антител)
	Калибровка	Используют стандартную сыворотку с известным титром или международный стандарт
	Единицы	Титр (разведение, дающее положительный результат), МЕ/мл, индекс позитивности (ИП)

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 35 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	Кривая	Сигмоидная зависимость оптической плотности от разведения сыворотки
	Cut-off (пороговое значение)	Рассчитывают как среднее ОП отрицательных контролей + 2-3 SD
	Особенности количественного определения антител: Относительное количество — результат выражают в единицах относительно калибратора Авидность — оценивают дополнительно (обработка мочевиной) Изотипирование — используют конъюгаты против разных классов Ig (IgG, IgM, IgA) Сероконверсия — нарастание титра антител в парных сыворотках (диагностически значимо 4-кратное увеличение) 4. Общие особенности количественного ИФА	
	Аспект	Особенность
	Твердая фаза	Полистироловые 96-луночные планшеты с высокой связывающей способностью
	Промывка	Критически важна для удаления несвязавшихся компонентов
	Калибровочная кривая	Строится в каждой планшете, 4-параметрическая логистическая регрессия
	Воспроизводимость	CV (коэффициент вариации) не более 10-15%
	Чувствительность	Для антигенов — 10-100 пг/мл, для антител — нанограммы на мл
	Ограничения	Нельзя различить связанные и свободные антигены (в отличие от РИА)
Важное замечание: ИФА дает концентрацию в жидкой фазе, а не количество молекул на клетку (для этого нужен клеточный ИФА или проточная цитометрия).		
8 вопрос	1. Контрольные материалы в ИФА Контрольные материалы используются для проверки валидности постановки анализа и исключения ложных результатов.	17 б – полное совпадение с верным ответом



МИНОБРНАУКИ России
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Биологический факультет

Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Версия документа - 1

стр. 36 из 56

Первый экземпляр _____

КОПИЯ № _____

Тип контроля	Назначение	Что содержит	8 б – частичное совпадение с верным ответом 0 б – остальные случаи
Отрицательный контроль	Проверка отсутствия неспецифического связывания	Образец без определяемого антигена/антитела (например, сыворотка здорового донора)	
Положительный контроль	Проверка работоспособности всех компонентов системы	Образец с известным положительным результатом (заведомо содержит антиген/антитело)	
Калибратор (стандарт)	Построение калибровочной кривой для количественного анализа	Раствор антигена или антител с известной концентрацией (серия разведений)	
Контроль «фона»	Проверка ферментативной активности конъюгата и субстрата	Буфер без образца	
Контроль конъюгата	Исключение неспецифического связывания конъюгата	Пустая лунка + конъюгат + субстрат	
Контроль субстрата	Проверка чистоты субстрата (отсутствие спонтанного окрашивания)	Субстрат без добавления фермента	
Критерии валидности постановки:			

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 37 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

Отрицательный контроль — ниже cut-off Положительный контроль — выше cut-off Фоновый контроль — оптическая плотность не более 0,1–0,2 2. Характеристика качества тест-системы Чувствительность (Sensitivity) Определение: Способность тест-системы выявлять минимальное количество определяемого вещества.		
Тип	Характеристика	
Аналитическая чувствительность	Минимальная концентрация аналита, которую можно отличить от нуля (предел обнаружения). Для ИФА: пг/мл — нг/мл	
Диагностическая чувствительность	Доля истинно положительных результатов среди всех больных: $\text{Чувствительность} = \frac{\text{ИПИП} + \text{ЛО}}{\text{ИПИП} + \text{ЛОИП}} \times 100\%$ (ИП — истинно положительные, ЛО — ложноотрицательные)	
Факторы повышения чувствительности: усиление сигнала (авидность-биотин), хемилюминесценция, высокоавидные антитела. Специфичность (Specificity) Определение: Способность тест-системы не давать положительной реакции с веществами, не являющимися определяемым аналитом.		
Тип	Характеристика	
Аналитическая специфичность	Отсутствие перекрестных реакций с родственными антигенами/антителами	
Диагностическая специфичность	Доля истинно отрицательных результатов среди здоровых: $\text{Специфичность} = \frac{\text{ИОИО} + \text{ЛП}}{\text{ИОИО} + \text{ЛПИО}} \times 100\%$ (ИО — истинно отрицательные, ЛП — ложноположительные)	
Целевые значения: для качественных тест-систем специфичность и		

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 38 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	чувствительность должны быть $\geq 95-99\%$. Виды прецизионности: Внутрисерийная — повторные измерения в одной постановке ($CV \leq 5-10\%$) Межсерийная — между разными постановками ($CV \leq 10-15\%$) Между партиями — между разными наборами реагентов ($CV \leq 15-20\%$)	
9 вопрос	Диагностика ВИЧ-инфекции основана на выявлении специфических маркеров — антител к вирусу, вирусных антигенов (p24) или генетического материала вируса. Основной принцип — этапность testing для исключения ошибок. Первый этап — скрининг. Проводится с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) третьего или четвертого поколения. Современные тест-системы четвертого поколения одновременно выявляют антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также антиген p24, что позволяет сократить «период окна» до двух-трёх недель после инфицирования. При положительном результате ИФА анализ обязательно повторяют с тем же образцом. Второй этап — подтверждающий (верификационный). Положительный результат скрининга требует подтверждения более специфичными методами. Золотой стандарт — иммунный блоттинг (вестерн-блот), который выявляет антитела к отдельным белкам вируса. Диагноз ВИЧ-инфекции считается установленным при обнаружении антител к двум или более вирусным белкам (например, gp120, gp41, p24). Дополнительные методы: ПЦР (полимеразная цепная реакция) используется для обнаружения РНК ВИЧ, что особенно важно в период «окна», при диагностике у новорождённых (материнские антитела могут циркулировать до 18 месяцев) и для контроля вирусной нагрузки при лечении. Интерпретация результатов: Отрицательный результат через три месяца после возможного заражения исключает инфекцию. Положительный результат после подтверждения иммунным блоттингом означает ВИЧ-инфекцию. Неопределённый результат иммунного блоттинга (например, только один белок) требует повторного исследования через несколько недель. Важные особенности: В период сероконверсии антитела могут отсутствовать (первые 2–4 недели). У новорождённых от ВИЧ-положительных матерей положительный ИФА не означает инфекцию из-за пассажа материнских антител — необходимо ПЦР-исследование.	17 б – полное совпадение с верным ответом 8 б – частичное совпадение с верным ответом 0 б – остальные случаи
10 вопрос	Диагностика вирусных гепатитов основана на выявлении специфических антигенов вируса, антител к ним и вирусных нуклеиновых кислот. Гепатит В (HBV) имеет сложную антигенную структуру. Основной маркер — поверхностный антиген HBsAg, его обнаружение указывает на текущую инфекцию, причем он может выявляться как при остром, так и при хроническом гепатите. При остром гепатите в острый период также определяют антиген HBcAg, но в крови обычно выявляют антитела к нему — anti-HBc IgM, которые служат маркером острой или недавней инфекции. Появление anti-HBc IgG говорит о перенесенной инфекции. Еще один важный маркер — HBeAg, который свидетельствует об активной репликации вируса и высокой контагиозности, а его исчезновение и появление anti-HBe — о начале выздоровления. Гепатит D (HDV) является дефектным вирусом, который реплицируется только в присутствии HBV. Поэтому диагностика HDV всегда проводится у HBsAg-положительных пациентов. Основные маркеры — антитела anti-HDV (суммарные) и anti-HDV IgM, которые указывают на активную инфекцию. Обнаружение РНК HDV методом ПЦР подтверждает репликацию вируса. Коинфекция HBV и HDV обычно протекает тяжелее, чем моноинфекция HBV. Гепатит С (HCV) характеризуется длительным «иммунологическим окном» —	17 б – полное совпадение с верным ответом 8 б – частичное совпадение с верным ответом 0 б – остальные случаи

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 39 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	антитела появляются через 1–3 месяца после инфицирования. Основной скрининговый маркер — anti-HCV (суммарные антитела к белкам core и NS3, NS4, NS5). Однако антитела не различают острую, хроническую или перенесенную инфекцию. Для подтверждения активной репликации вируса необходимо выявление РНК HCV методом ПЦР. Диагностически значимо также определение антигенов HCV (например, core-антигена) в современных тест-системах четвертого поколения. Сравнительная характеристика заключается в том, что для HBV ключевое значение имеет выявление антигенов (HBsAg, HBeAg), тогда как для HCV антигены в крови практически не циркулируют, поэтому диагноз основан на сочетании anti-HCV и РНК. Для HDV диагностика проводится только в присутствии маркеров HBV. Обнаружение IgM свидетельствует об остром или обострении хронического процесса для всех трех вирусов. ПЦР-диагностика необходима для подтверждения активной репликации, особенно при HCV, где anti-HCV могут сохраняться после выздоровления.	
11 вопрос	Принцип метода Проточная цитометрия — это метод быстрого анализа и сортировки отдельных клеток или частиц в потоке жидкости, позволяющий одновременно оценивать несколько параметров каждой клетки. Суть метода заключается в следующем: клетки в суспензии проходят строго по одной через лазерный луч. При пересечении луча каждая клетка рассеивает свет и, если она мечена флуоресцентными красителями или антителами, испускает флуоресценцию на определенных длинах волн. Сигналы регистрируются фотоэлектронными умножителями, преобразуются в цифровые данные и анализируются компьютером. Регистрируемые параметры Метод позволяет одновременно измерять два типа параметров — физические и флуоресцентные. Прямое светорассеяние вперед (FSC — Forward Scatter) — регистрируется под небольшим углом к лазерному лучу. Этот параметр пропорционален размеру клетки: чем крупнее клетка, тем больше рассеяние вперед. Боковое светорассеяние (SSC — Side Scatter) — регистрируется под углом 90 градусов к лазерному лучу. Этот параметр отражает сложность внутренней структуры клетки, количество гранул и состояние ядра. Например, гранулоциты имеют высокое боковое рассеяние по сравнению с лимфоцитами. Флуоресцентные параметры (FL1, FL2 и т.д.) — регистрируются на разных длинах волн (каналах). Каждый канал соответствует определенному флуорохрому (FITC, PE, PerCP, APC и др.). Клетки предварительно метят флуоресцентно-меченными моноклональными антителами к поверхностным или внутриклеточным маркерам (кластерам дифференцировки — CD). Это позволяет определять фенотип клеток, степень активации, внутриклеточную продукцию цитокинов, содержание ДНК (клеточный цикл, апоптоз) и многое другое. Дополнительные возможности: современные цитометры могут одновременно регистрировать до 15–20 и более флуоресцентных параметров на одной клетке, что позволяет проводить глубокий иммунофенотипирование. Некоторые приборы оснащены функцией сортировки клеток (FACS — fluorescence-activated cell sorting), которая позволяет физически разделять клетки с нужными характеристиками в стерильные пробирки для дальнейшего культивирования или анализа. Основные применения: иммунология (субпопуляции лимфоцитов), гематология (диагностика лейкозов и лимфом), клеточная биология (апоптоз, клеточный цикл), определение внутриклеточных цитокинов, анализ стволовых клеток, оценка минимальной остаточной болезни.	17 б — полное совпадение с верным ответом 8 б — частичное совпадение с верным ответом 0 б — остальные случаи
12 вопрос	Радиоактивные метки (РИА — радиоиммунный анализ) — исторически первый тип меток. Используются изотопы, чаще всего йод-125, а также тритий или кобальт-57. Главное преимущество — чрезвычайно высокая чувствительность, позволяющая	17 б — полное совпадение

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 40 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	обнаруживать вещества в концентрациях до пикограммов на миллилитр. Метод отличается высокой воспроизводимостью и простотой детекции (счет гамма-излучения). Однако радиоактивные метки имеют серьезные недостатки: короткий срок годности реагентов (период полураспада изотопов), опасность для персонала, необходимость специального оборудования и лицензий, а также проблемы с утилизацией отходов. В современной клинической лабораторной диагностике РИА практически полностью вытеснен более безопасными методами. Ферментные метки (ИФА — иммуноферментный анализ) — наиболее распространенный тип меток в клинической практике используются ферменты пероксидазы хрена, щелочная фосфатаза или бета-галактозидаза. Принцип основан на том, что фермент, конъюгированный с антителом или антигеном, катализирует реакцию бесцветного субстрата с образованием окрашенного, флуоресцентного или хемилюминесцентного продукта. Преимущества: высокая чувствительность (нанограммы на миллилитр в стандартном ИФА и до пикограммов при усиленных системах), безопасность, стабильность реагентов, возможность визуальной оценки, дешевизна. Недостатки: более узкий динамический диапазон по сравнению с радиоактивными метками, необходимость строгого контроля температуры и времени инкубации, возможное влияние эндогенных ферментов образца. Хемилюминесцентные метки (ХМ ИФА, ИХЛА) — активно вытесняют ферментные метки в автоматизированных анализах. В основе лежит способность некоторых веществ (производные акридиния, люминол, диоксетаны) излучать свет при химической реакции, обычно катализируемой ферментом (пероксидазой хрена) или перекисью водорода. Ключевые преимущества — сверхвысокая чувствительность (фемтограммы на миллилитр), широкий линейный диапазон (до 5-6 порядков), отсутствие фонового сигнала в темноте, быстрота детекции и пригодность для полной автоматизации. Недостатки: требуется специальное дорогостоящее оборудование (люминометры), некоторые хемилюминесцентные субстраты нестабильны, реакция может быть очень быстрой, что требует точной синхронизации измерения. Флуоресцентные метки (ФИА — флуороиммунный анализ) — используют флуорохромы (флуоресцеин изотиоцианат FITC, фикоэритрин PE, Cy5, Alexa Fluor и др.), которые поглощают свет одной длины волны и испускают свет большей длины волны. Преимущества: высокая чувствительность, возможность мультиплексного анализа (одновременное использование нескольких флуорохромов с неперекрывающимися спектрами), пригодность для проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии. Недостатки: фоновый сигнал от аутофлуоресценции биологических образцов, тушение флуоресценции, требования к оптике детекции. Современные улучшения включают использование флуорохромов с узкими спектрами (квантовые точки, редкоземельные хелаты с временным разрешением) для повышения чувствительности и мультиплексности. Сравнительная характеристика по ключевым параметрам: по чувствительности лидируют радиоактивные и хемилюминесцентные метки (пг-фг/мл), ферментные и флуоресцентные обычно работают в диапазоне нг/мл. По безопасности абсолютно безопасны только хемилюминесцентные и ферментные (при соблюдении стандартных мер предосторожности), тогда как радиоактивные опасны, а флуоресцентные требуют осторожности с лазерами. По возможности мультиплексирования флуоресцентные метки не имеют конкурентов (до 10-20 параметров одновременно). Для автоматизации в клинической диагностике сегодня наиболее востребованы хемилюминесцентные метки (высокая производительность и чувствительность), тогда как ферментные остаются золотым стандартом для рутинного ИФА в небольших лабораториях.	е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи
13 вопрос	Принцип хроматографии Хроматография — это метод разделения смеси веществ, основанный на различии в их распределении между двумя фазами: неподвижной (стационарной) и подвижной.	17 б – полное совпадени

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 41 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	Неподвижная фаза — это твердый носитель или жидкость, нанесенная на твердый носитель. Подвижная фаза — жидкость или газ, который движется через неподвижную фазу, увлекая за собой компоненты смеси. Ключевой механизм — разные вещества по-разному взаимодействуют с неподвижной фазой (адсорбируются, растворяются, ионно обмениваются). Те вещества, которые слабее взаимодействуют с неподвижной фазой, движутся быстрее и выходят из системы первыми. Те, что взаимодействуют сильнее — задерживаются дольше. Это приводит к пространственному или временному разделению компонентов. Разновидности хроматографии по агрегатному состоянию фаз Газовая хроматография (ГХ) использует подвижную фазу — инертный газ (азот, гелий, водород), а неподвижную фазу — жидкость или твердый сорбент в колонке. Применяется для летучих, термостабильных соединений. Отличается высокой эффективностью и скоростью, но непригодна для нелетучих и термолабильных веществ (например, крупных белков). Жидкостная хроматография (ЖХ) использует подвижную фазу — жидкость (растворитель или смесь растворителей). Применяется для самых разных веществ, включая биополимеры. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) работает под высоким давлением, обеспечивая очень высокую разрешающую способность. Разновидности по механизму разделения Адсорбционная хроматография основана на различной способности веществ адсорбироваться на поверхности твердого сорбента (силикагель, оксид алюминия). Применяется для разделения неполярных и слабополярных соединений. Распределительная хроматография использует разницу в растворимости веществ между двумя несмешивающимися жидкостями — подвижной и неподвижной (последняя нанесена на твердый носитель). Классический пример — бумажная и тонкослойная хроматография. Ионообменная хроматография основана на обратимом связывании заряженных молекул с противоположно заряженными группами неподвижной фазы. Применяется для разделения аминокислот, пептидов, нуклеиновых кислот, белков. Изменяя солевой состав или pH подвижной фазы, можно элюировать связанные вещества в порядке увеличения их заряда. Гель-фильтрация (размеро-исключающая хроматография) разделяет молекулы по их размеру и форме. Неподвижная фаза — пористые гранулы геля (сефадекс, сефароза). Крупные молекулы, не проникающие в поры, выходят первыми. Мелкие молекулы задерживаются в порах и выходят позже. Применяется для очистки белков, определения молекулярных масс, обессоливания. Аффинная (биоспецифическая) хроматография — самый селективный метод, использующий специфическое биологическое связывание. На неподвижную фазу иммобилизуют лиганд (антитело, лектин, субстрат фермента, рецептор). Из смеси связывается только то вещество, которое специфически взаимодействует с этим лигандом. Все примеси вымываются, а целевой белок элюируют изменением pH, ионной силы или добавлением свободного лиганда. Позволяет за один шаг очистить белок в сотни-тысячи раз. Разновидности по способу проведения Колоночная хроматография — неподвижная фаза находится в стеклянной или металлической колонке, смесь пропускают сверху, компоненты выходят в разное время (по времени удерживания). Плоскостная хроматография — неподвижная фаза нанесена на плоскую пластинку (тонкослойная хроматография) или лист бумаги (бумажная хроматография). Каплю смеси наносят на старт, пластинку помещают в камеру с подвижной фазой, которая поднимается капиллярно и разделяет вещества. Простой, дешевый, но менее эффективный метод.	е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи
--	--	---

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».	
Версия документа - 1	стр. 42 из 56 Первый экземпляр _____ КОПИЯ № _____

	Основные области применения в биологии и медицине: анализ аминокислот и белков (ионообменная, ВЭЖХ), очистка антител (аффинная), определение лекарств и метаболитов в биожидкостях (ВЭЖХ, ГХ-МС), анализ нуклеиновых кислот, контроль качества вакцин и биопрепаратов.	
14 вопрос	Выделение нуклеиновых кислот Цель выделения — получить чистую ДНК или РНК, свободную от белков, липидов, полисахаридов и ингибиторов ферментов. Основные этапы включают лизис клеток (разрушение мембран детергентами и протеиназой К), удаление белков (фенол-хлороформной экстракцией или солевыми методами), осаждение нуклеиновых кислот (спиртами — этанолом или изопропанолом), а также отмывку и растворение. Классический метод — фенол-хлороформная экстракция, которая эффективно удаляет белки, но токсична и трудоемка. Современные коммерческие наборы основаны на использовании колонок с силикатной мембраной, связывающей ДНК/РНК в присутствии хаотропных солей (гуанидинтиоционат). Этот метод быстр, безопасен и дает высокочистую препаративную. Для РНК критически важно инактивировать рибонуклеазы (использование ингибиторов, работа на льду, DEPC-обработанная вода), так как РНК крайне нестабильна. Хранение нуклеиновых кислот Высокомолекулярная ДНК в буфере TE (Tris-EDTA) при +4°C хранится несколько месяцев, при -20°C — годы, а при -80°C — десятилетия. EDTA необходим для ингибирования металлозависимых нуклеаз. Нельзя хранить ДНК в воде из-за кислотного гидролиза. РНК значительно менее стабильна: ее хранят при -80°C небольшими аликвотами, избегая повторных замораживаний-оттаиваний, либо в виде преципитата в этаноле при -20°C. Лиофилизация (высушивание) позволяет хранить нуклеиновые кислоты при комнатной температуре, но затрудняет растворение. Качественный анализ нуклеиновых кислот Качественная оценка включает проверку целостности, чистоты и отсутствия фрагментации. Основной метод — электрофорез в агарозном геле с окрашиванием бромистым этидием или более безопасными красителями (GelRed, SYBR Safe). Интактная геномная ДНК выглядит как высокая единая полоса в верхней части геля (слабо входит в гель), деградированная ДНК — как «смазанный» шлейф ниже. РНК при электрофорезе дает характерные полосы рибосомальных РНК (две крупные полосы у прокариот, три полосы с характерным соотношением 28S:18S около 2:1 у эукариот). Деградация ДНК и РНК проявляется размытостью и смещением фрагментов вниз по гелю. Количественный анализ нуклеиновых кислот Самый простой метод — спектрофотометрия. Измеряют поглощение при 260 нм (максимум для нуклеиновых кислот). Оптическая плотность 1,0 соответствует приблизительно 50 мкг/мл для двухцепочечной ДНК, 40 мкг/мл для РНК и 33 мкг/мл для олигонуклеотидов. Однако метод не различает ДНК, РНК и свободные нуклеотиды, чувствителен к загрязнениям. Чистоту оценивают по соотношению A260/A280: для чистой ДНК этот показатель составляет около 1,8, для РНК — около 2,0. Значения ниже указывают на загрязнение белками или фенолом. Дополнительно оценивают A260/A230 (должно быть выше 2,0) для контроля солей и гуанидина. Более точный и специфичный метод — флуориметрия с использованием красителей, которые флуоресцируют только при связывании с нуклеиновыми кислотами (PicoGreen для двухцепочечной ДНК, RiboGreen для РНК, Hoechst 33258 для АТ-богатой ДНК). Этот метод чувствительнее спектрофотометрии в десятки-сотни раз и не зависит от присутствия свободных нуклеотидов. Для точной количественной оценки фрагментов определенного размера (например, после ПЦР) используют электрофорез с известным количеством маркера (ДНК-лестницы) и денситометрию — по интенсивности окрашивания полосы судят о количестве ДНК.	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».	
Версия документа - 1	стр. 43 из 56 Первый экземпляр _____ КОПИЯ № _____

	Сравнение методов: спектрофотометрия хороша для быстрой оценки общей концентрации и чистоты, но неспецифична и требует микрограммовых количеств. Флуориметрия более специфична и чувствительна (нанограммы), но не дает информации о качестве и чистоте. Электрофорез дает информацию о целостности и размере, но относительно трудоемок и полуколичественен. Оптимальный подход — комбинация спектрофотометрии для проверки чистоты и флуориметрии для точной количественной оценки перед чувствительными экспериментами (секвенирование, ПЦР в реальном времени).	
15 вопрос	Спектрофотометрирование нуклеиновых кислот основано на уникальном свойстве азотистых оснований (аденина, гуанина, цитозина, тимина и урацила) сильно поглощать ультрафиолетовый свет с максимумом поглощения при длине волны 260 нм. При этом остатки сахара и фосфатной группы практически не вносят вклада в поглощение в УФ-диапазоне. Двухцепочечная ДНК поглощает несколько меньше, чем одноцепочечная ДНК или РНК (гипохромный эффект), из-за стеккинг — упорядоченного укладывания оснований друг на друга в двойной спирали, которое уменьшает взаимодействие оснований с УФ-светом. Закон Ламберта-Бэра является фундаментальной основой спектрофотометрического количественного анализа. Он устанавливает прямую пропорциональную зависимость между количеством поглощенного света и концентрацией поглощающего вещества в растворе, а также толщиной слоя раствора, через который проходит свет. Математически закон выражается формулой: $A = \varepsilon \times C \times l$, где A — оптическая плотность (абсорбция, величина безразмерная), ε — молярный коэффициент экстинкции (характеризует способность данного вещества поглощать свет при конкретной длине волны, имеет размерность $M^{-1} \cdot cm^{-1}$), C — концентрация вещества (в молях на литр, M), l — длина оптического пути (толщина кюветы) в сантиметрах. Физический смысл закона заключается в том, что оптическая плотность линейно возрастает с увеличением концентрации и длины пути. Прибор работает следующим образом: монохроматический луч света (260 нм) проходит через кювету с исследуемым раствором и через пустую кювету или кювету с растворителем (контроль). Ослабление света при прохождении раствора преобразуется в значение оптической плотности. Расчет концентрации для нуклеиновых кислот использует практический аналог закона Ламберта-Бэра: $A_{260} = \varepsilon_{260} \times C \times l$. Поскольку молярные коэффициенты экстинкции разных нуклеиновых кислот различаются из-за разного нуклеотидного состава, в практике биологии используют эмпирически полученные удельные коэффициенты экстинкции: для двухцепочечной ДНК значение оптической плотности 1,0 при длине пути 1 см соответствует концентрации 50 мкг/мл, для одноцепочечной ДНК — 33–37 мкг/мл, для РНК — 40 мкг/мл, для олигонуклеотидов — приблизительно 33 мкг/мл. Следовательно, концентрация (мкг/мл) $= A_{260} \times \text{коэффициент}$ (50 для дцДНК, 40 для РНК и т.д.). Важные ограничения применения закона. Линейность сохраняется только в определенном диапазоне оптической плотности (обычно от 0,1 до 1,0–1,5). При оптической плотности выше 1,5 начинаются отклонения от линейности из-за инструментальных эффектов, поэтому образцы с высокой концентрацией необходимо разводить перед измерением. Закон справедлив только для разбавленных растворов, где молекулы не взаимодействуют друг с другом, и отсутствуют химические реакции или температурные эффекты. Контроль чистоты препарата основан на том, что белки имеют максимум поглощения при 280 нм, а фенол — при 270 нм. Рассчитывают отношение A_{260}/A_{280}: у чистых препаратов ДНК оно составляет около 1,8, у РНК — около 2,0. Значения ниже указывают на загрязнение белками или фенолом. Дополнительно оценивают отношение A_{260}/A_{230}, которое должно быть выше 2,0; низкое значение свидетельствует о загрязнении гуанидином или другими солями.	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».	
Версия документа - 1	стр. 44 из 56 Первый экземпляр _____ КОПИЯ № _____

	Преимущества метода — простота, быстрота, отсутствие расхода реагентов и возможность измерения в обычных пластиковых кюветах. Недостатки — отсутствие специфичности (метод не различает ДНК и РНК, свободные нуклеотиды, не чувствует двунитевые разрывы), низкая чувствительность (требует микрограммовых количеств), зависимость от pH и ионной силы раствора (из-за влияния на вторичную структуру нуклеиновых кислот).	
16 вопрос	Принцип полимеразной цепной реакции (ПЦР) Полимеразная цепная реакция — это метод амплификации (многократного копирования) специфического участка ДНК <i>in vitro</i>. Принцип основан на повторяющихся циклах температурной денатурации, отжига праймеров и элонгации цепи. Каждый цикл включает три этапа. Первый — денатурация при 94–96°C: двухцепочечная ДНК расплавляется на две отдельные цепи. Второй — отжиг праймеров при 50–65°C: короткие синтетические олигонуклеотиды (праймеры, обычно длиной 18–25 нуклеотидов) комплементарно связываются с фланкирующими участками целевой ДНК. Третий — элонгация при 68–72°C: термостабильная ДНК-полимераза (обычно Taq-полимераза из <i>Thermus aquaticus</i>) достраивает вторую цепь, начиная от праймеров, синтезируя копию матрицы. После каждого цикла количество копий целевого участка удваивается, поэтому после 25–35 циклов достигается амплификация в миллионы раз. Наличие термостабильной полимеразы позволяет не добавлять новый фермент после каждой денатурации, что делает ПЦР полностью автоматизируемой. Детекция продуктов ПЦР После амплификации необходимо выявить и идентифицировать полученные фрагменты ДНК. Основных методов детекции несколько. Электрофорез в агарозном геле с окрашиванием интеркалирующими красителями (бромистый этидий, SYBR Safe, GelRed) является классическим методом конечной детекции. Амплифицированную ДНК разделяют по длине в электрическом поле: более длинные фрагменты движутся медленнее, короткие — быстрее. Сравнивая положение полос с ДНК-маркером (лестницей), определяют наличие и размер продукта. Интенсивность полосы позволяет полуколичественно оценить количество ампликона. Метод прост и дешев, но трудоемок и не позволяет детектировать продукт в реальном времени. ПЦР в реальном времени (Real-time PCR) позволяет детектировать накопление продукта непосредственно в процессе реакции без открытия пробирок. Используются либо флуоресцентные красители (SYBR Green I), которые связываются с двухцепочечной ДНК и флуоресцируют только в связанном состоянии, либо флуоресцентно-меченые зонды (TaqMan, молекулярные маячки), которые гибридизуются с целевой последовательностью и при разрушении полимеразой генерируют флуоресцентный сигнал. Измеряя прирост флуоресценции после каждого цикла, можно точно определить начальное количество целевой ДНК. Преимущества — высокая чувствительность, широкий динамический диапазон и отсутствие пост-ПЦР обработки. ПЦР с рестрикцией ПЦР с рестрикцией (рестрикционный анализ амплифицированной ДНК) используется для обнаружения точковых мутаций, полиморфизмов длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) или дифференциации генетических вариантов. Принцип заключается в амплификации участка ДНК, содержащего предполагаемый полиморфный сайт, с последующей обработкой продукта рестриктазами — бактериальными ферментами, узнающими и разрезающими ДНК по специфическим коротким последовательностям (сайтам рестрикции). Если мутация создает новый сайт рестрикции или разрушает существующий, то после расщепления рестриктазой образуется набор фрагментов разной длины, который анализируют электрофорезом. Например, если мутация удаляет сайт	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 45 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	рестрикции, то ампликон не разрезается и остается полным, в отличие от нормального аллеля, который дает два более коротких фрагмента. При гетерозиготном носительстве наблюдаются три полосы — исходный неразрезанный ампликон плюс оба продукта расщепления. Вариант метода — ПЦР с использованием праймеров, искусственно вносящих сайт рестрикции. Если сайт рестрикции в праймере создается только при наличии определенного нуклеотида в матрице, то после рестрикции расщепление произойдет только у одного варианта последовательности. Это позволяет различать аллели даже при отсутствии природных сайтов рестрикции. ПЦР с рестрикцией широко применяется для диагностики наследственных заболеваний (например, обнаружение мутации F508del при муковисцидозе), типирования микроорганизмов, идентификации SNP (однонуклеотидных полиморфизмов). Относительная простота, отсутствие дорогого оборудования и наглядность результатов делают этот метод популярным в лабораториях. Ограничения — необходимость подбора рестриктаз и невозможность анализа всех мутаций (только тех, которые затрагивают сайты рестрикции).	
17 вопрос	Основные компоненты реакционной смеси в ПЦР Для успешной амплификации ДНК реакционная смесь должна содержать строго определенные компоненты. Матричная ДНК — это образец, содержащий целевой участок, который необходимо амплифицировать. Количество матрицы может варьировать от нескольких нанограмм до микрограмма, но избыток ДНК приводит к неспецифическим продуктам. Праймеры — это два коротких синтетических олигонуклеотида (обычно 18–25 нуклеотидов), комплементарных фланкирующим областям целевой ДНК на противоположных цепях. Они определяют специфичность реакции. Важны правильный выбор температуры плавления, отсутствие вторичных структур и гомологии между праймерами (образование праймер-димеров). Термостабильная ДНК-полимераза — ключевой фермент, синтезирующий новую цепь ДНК. Классическая Taq-полимераза из бактерии <i>Thermus aquaticus</i> активна при 72°C, выдерживает нагрев до 95°C, но не имеет корректирующей активности (3'→5' экзонуклеазы), поэтому может вносить ошибки. Для высокоточной амплификации используют полимеразы с коррекцией (Pfu, Deep Vent). Дезоксинуклеотидтрифосфаты (dNTP) — это строительные блоки ДНК: dATP, dCTP, dGTP, dTTP в равных концентрациях (обычно по 200 мкМ каждого). Избыток dNTP ингибирует реакцию, недостаток ограничивает синтез. Буферный раствор создает оптимальные условия для работы полимеразы — обеспечивает подходящий pH (обычно 8,3–8,8), концентрацию ионов магния (Mg^{2+}), которая критически важна, так как магний необходим как кофактор полимеразы и влияет на температуру плавления праймеров. Типичная концентрация Mg^{2+} — 1,5–2,5 мМ. Ионы магния заслуживают особого внимания: они влияют на специфичность и эффективность ПЦР. Слишком низкая концентрация снижает активность полимеразы, слишком высокая — вызывает неспецифическое связывание праймеров и синтез нецелевых продуктов. Модификации ПЦР ПЦР с обратной транскрипцией используется для амплификации РНК, например, для изучения экспрессии генов или обнаружения РНК-содержащих вирусов (ВИЧ, гепатит С). Сначала фермент обратная транскриптаза синтезирует комплементарную ДНК (кДНК) на матрице РНК, затем эта кДНК амплифицируется стандартной ПЦР. Одностадийный вариант совмещает обе реакции в одной пробирке, двухстадийный проводится последовательно. Позволяет детектировать даже единичные копии РНК. Гнездная ПЦР разработана для повышения специфичности, особенно при амплификации из образцов с низким содержанием целевой ДНК или при наличии примесей. Проводится в два раунда: в первом используются внешние праймеры,	17 б – полное совпадение с верным ответом 8 б – частичное совпадение с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 46 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	фланкирующие большой участок, во втором — внутренние праймеры, расположенные внутри первого ампликона. Матрицей для второго раунда служит продукт первого раунда. Такая двухступенчатая схема резко снижает вероятность неспецифической амплификации, так как для получения конечного продукта необходимо правильное связывание всех четырех праймеров. Недостаток — высокий риск контаминации из-за вскрытия пробирок между раундами. Лонг-ПЦР предназначена для амплификации длинных фрагментов ДНК (до 10–50 тысяч пар оснований и более). Обычная Taq-полимераза неэффективна на длинных матрицах. Используют смеси полимераз: Taq (для высокой скорости синтеза) с полимеразой, имеющей корректирующую активность (например, Pfu), что позволяет преодолевать вторичные структуры и уменьшает число ошибок. Также требуются оптимизированные буферы и специальные добавки (бетаин, трегалоза), стабилизирующие полимеразу и помогающие расплести сложные участки ДНК. Применяется для амплификации целых генов и геномных локусов. Мультиплексная ПЦР позволяет одновременно амплифицировать несколько различных целевых участков в одной пробирке. Для этого в реакцию добавляют несколько пар праймеров, каждая из которых специфична к своему локусу. Ключевые требования — все пары праймеров должны иметь близкие температуры отжига и не образовывать перекрестных гомологий. Продукты амплификации различаются по длине, что позволяет разделить их электрофорезом. Широко применяется для детекции патогенов (одновременное выявление нескольких вирусов или бактерий), генотипирования (например, STR-локусов в судебной медицине), диагностики хромосомных aberrаций. Преимущества — экономия реагентов и времени, меньшее количество образца. Недостаток — сложность оптимизации из-за конкуренции праймеров и приоритетной амплификации более коротких продуктов.	
18 вопрос	Принцип ПЦР в реальном времени ПЦР в реальном времени (Real-time PCR, количественная ПЦР, qPCR) — это метод, который позволяет не только амплифицировать ДНК, но и одновременно отслеживать накопление продукта в процессе реакции. В отличие от классической ПЦР, где детекция происходит после окончания всех циклов, здесь измерение флуоресценции проводится после каждого цикла амплификации. Это достигается использованием флуоресцентных красителей или зондов, которые генерируют сигнал пропорционально количеству образовавшейся двухцепочечной ДНК. Самый распространенный подход — использование флуоресцентного красителя SYBR Green I, который специфически связывается с двухцепочечной ДНК. В свободном состоянии он практически не флуоресцирует, но при интеркаляции (встраивании) между парами оснований его флуоресценция усиливается в тысячи раз. По мере синтеза новых молекул ДНК в каждом цикле связывается все больше красителя, и интенсивность флуоресценции закономерно возрастает. Более специфичный метод — использование флуоресцентно-меченых зондов, например, TaqMan. Зонд (олигонуклеотид, комплементарный внутреннему участку ампликона) несет на одном конце флуорофор (репортер), а на другом — гаситель (квенчер). В интактном зонде флуорофор и гаситель находятся рядом, и флуоресценция погашена. В процессе элонгации ДНК-полимеразы, обладающей 5'→3' экзонуклеазной активностью, расщепляет зонд, флуорофор отделяется от гасителя, и возникает устойчивый флуоресцентный сигнал. Этот метод специфичнее SYBR Green, так как требует гибридизации зонда с целевой последовательностью. Кинетическая кривая Кинетическая кривая ПЦР в реальном времени отображает зависимость уровня флуоресценции от номера цикла. Она имеет характерную сигмоидную форму и условно делится на три фазы. Первая фаза — начальная (линейная или фаза плато низкой флуоресценции). В первых циклах флуоресценция незначительно превышает фоновый уровень, так как количество продукта еще очень мало, и сигнал неотличим от шума. В этот момент	17 б — полное совпадени е с верным ответом 8 б — частичное совпадени е с верным ответом 0 б — остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».	
Версия документа - 1	стр. 47 из 56 Первый экземпляр _____ КОПИЯ № _____

	амплификация идет экспоненциально, но детектор этого не чувствует из-за ограничений чувствительности. Вторая фаза — экспоненциальная. Флуоресценция начинается заметно превышать фоновый уровень и начинает быстро расти. Именно на этом участке происходит самый точный количественный анализ, так как здесь количество продукта удваивается в каждом цикле, и реакция идет с максимальной эффективностью. Положение этой фазы на оси циклов определяется начальным количеством целевой ДНК: чем больше стартовой ДНК, тем раньше наступает экспоненциальный рост. Третья фаза — плато. Реакция замедляется и останавливается из-за истощения субстратов (dNTP, праймеры), накопления продуктов (пирофосфата), снижения активности фермента и конкуренции за отжиг праймеров. На плато флуоресценция перестает расти независимо от исходного количества матрицы, поэтому конечный уровень флуоресценции неинформативен для количественного анализа. Базовая и пороговая флуоресценция Базовая флуоресценция (фоновый сигнал) — это уровень флуоресценции, регистрируемый в начальных циклах (обычно циклы 3–15), когда специфический продукт еще не детектируется. Она обусловлена остаточной флуоресценцией свободного красителя, флуоресценцией оптики прибора и электронными шумами. Базовая флуоресценция рассчитывается как среднее значение стандартных отклонений сигнала на начальных циклах и автоматически вычитается из всех последующих измерений. На уровне базовой флуоресценции кинетическая кривая отражает только шумы, а не реальное накопление ДНК. Когда сигнал начинает уверенно превышать базовый уровень, это указывает на начало экспоненциальной фазы амплификации. Пороговая флуоресценция (порог, threshold) — это произвольно устанавливаемый уровень флуоресценции, который заведомо превышает базовую флуоресценцию и пересекает экспоненциальную часть всех кинетических кривых в пределах данного эксперимента. Порог должен находиться выше фонового шума, но обязательно в пределах экспоненциальной фазы, где реакция еще идет с максимальной эффективностью. Типично порог устанавливают на уровне в 10–30 раз выше стандартного отклонения базовой флуоресценции. Цикл, в котором кривая флуоресценции пересекает пороговый уровень, называется пороговым циклом или Ct (от английского threshold cycle — пороговый цикл), иногда также обозначается как Cp (crossing point) или Cq (quantification cycle). Величина Ct обратно пропорциональна логарифму начального количества целевой ДНК: чем меньше исходной матрицы, тем больше циклов требуется для достижения порога, и тем выше значение Ct. Эта зависимость линейна, что позволяет строить калибровочный график с образцами известной концентрации и точно определять количество ДНК в неизвестных образцах, вплоть до единичных копий на реакцию.	
19 вопрос	Интеркалирующие красители Наиболее простой и дешевый метод детекции основан на использовании красителей, которые специфически связываются с двухцепочечной ДНК и начинают интенсивно флуоресцировать. Классический представитель — SYBR Green I. В свободном состоянии краситель почти не флуоресцирует, но при интеркаляции (встраивании) между парами оснований двойной спирали его флуоресценция усиливается в тысячи раз. По мере накопления ампликона в каждом цикле связывается все больше красителя, и сигнал растет. Главное преимущество SYBR Green — универсальность: не требуется синтезировать специфические зонды, подходит для любых пар праймеров, а значит, метод дешев и прост в разработке. Однако есть и принципиальный недостаток — краситель связывается с любой двухцепочечной ДНК, включая неспецифические продукты (праймер-димеры) и вторичные структуры. Это может привести к переоценке количества целевой ДНК. Для повышения специфичности обязателен анализ кривых плавления продукта после окончания ПЦР.	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».	
Версия документа - 1	стр. 48 из 56 Первый экземпляр _____ КОПИЯ № _____

	Меченые олигонуклеотидные пробы. TaqMan TaqMan — самый распространенный тип зондовой детекции. Это олигонуклеотид, комплементарный внутреннему участку ампликона, на одном конце которого находится флуорофор (репортер), а на другом — молекула-гаситель (квенчер). В интактном зонде флуорофор и гаситель расположены очень близко, и флуоресценция полностью погашена за счет безызлучательного переноса энергии. Принцип действия основан на 5'→3' экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы. Когда полимеразы в процессе элонгации доходит до места связывания зонда, она расщепляет его, отделяя флуорофор от гасителя. Флуорофор начинает свободно флуоресцировать, и на каждом цикле накопление ампликона сопровождается приростом флуоресценции. Поскольку расщепление зонда происходит только при гибридизации с целевой последовательностью, метод обладает очень высокой специфичностью — неспецифические продукты не дают сигнала. Молекулярные маячки (Beacon) Это особый тип зондов, которые имеют шпильчатую (стебель-петля) структуру в свободном состоянии. На концах стебля расположены флуорофор и гаситель. В такой закрытой конформации флуорофор погашен. Когда маячок гибридизуется с комплементарной последовательностью ДНК, стебель раскрывается, флуорофор и гаситель расходятся, и возникает флуоресцентный сигнал. Ключевое отличие от TaqMan — маячок не разрушается полимеразой, а многократно гибридизуется и диссоциирует с матрицей. Это позволяет проводить детекцию без ферментативного расщепления пробы. Преимущества — высокая специфичность (зонд распознает целевой участок с минимальной возможностью ошибочного связывания) и возможность различать однонуклеотидные замены. Недостатки — более сложный дизайн и синтез зондов, требование к строгой термостабильности шпильчатой структуры. Light Cyler (гибридизационные зонды) Это технология, реализованная в приборах Light Cyler (Roche). Используются два соседних зонда, оба комплементарных целевой ДНК, но расположенных вплотную друг к другу. Первый зонд несет донорный флуорофор (обычно флуоресцеин, краситель, возбуждаемый светом прибора), второй зонд — акцепторный флуорофор (Light Cyler Red 640 или 705). Они расположены на расстоянии 1–5 нуклеотидов. Принцип основан на явлении FRET (флуоресцентный резонансный перенос энергии). При облучении донорного флуорофора его энергия возбуждения безызлучательно передается акцептору, который начинает светиться на своей длине волны. Сигнал возникает только если оба зонда одновременно гибридизовались на своей матрице — то есть строго специфично. Как и в случае с маячками, зонды не разрушаются, что позволяет анализировать кривые плавления после ПЦР. Преимущества — высокая специфичность и возможность мультиплексной детекции (использование разных акцепторных красителей для разных мишеней). Сравнительная характеристика методов SYBR Green наиболее прост, дешев и универсален, но требует осторожности из-за неспецифических сигналов. TaqMan обладает высокой специфичностью, широко применяется в клинической диагностике, но требует синтеза отдельного зонда для каждой мишени. Молекулярные маячки обеспечивают максимальную дискриминацию однонуклеотидных полиморфизмов, но сложны в дизайне. Гибридизационные зонды Light Cyler позволяют проводить генотипирование прямо в процессе реакции по кривым плавления, но требуют специального дорогого оборудования. На практике выбор метода определяется задачами: для рутинной количественной оценки подходит SYBR Green, для точного детектирования патогенов с высоким риском контаминации — TaqMan, для различения точечных мутаций и генотипирования — маячки или гибридизационные зонды.	
20	Обработка результатов реал-тайм ПЦР	17 6 –

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 49 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

вопрос	Результатом реал-тайм ПЦР является пороговый цикл — Ct (threshold cycle) или Cq (quantification cycle). Это номер цикла, в котором флуоресцентный сигнал от накопившегося ампликона пересекает установленный пороговый уровень (threshold). Пороговый уровень должен находиться выше базовой флуоресценции, но строго в пределах экспоненциальной фазы amplification, где реакция идет с максимальной эффективностью. Основное уравнение, связывающее начальное количество ДНК и Ct: $Ct = -k \times \log(\text{начальная концентрация}) + \text{const}$. Иными словами, Ct обратно пропорционален логарифму начального количества целевой ДНК. Чем меньше исходной матрицы, тем больше циклов требуется для достижения порога и тем выше значение Ct. Каждое удвоение начального количества ДНК приводит к уменьшению Ct ровно на один цикл (при 100% эффективности). Для расчета конечных концентраций необходимо построить калибровочную кривую по образцам с известным количеством ДНК (стандартам). Стандарты обычно представляют собой серию десятикратных разведений плазмиды или очищенного ампликона. Для каждого стандарта определяют Ct, затем строят график зависимости Ct от логарифма концентрации. Полученная прямая описывается уравнением $Ct = a \times \log(\text{концентрация}) + b$, по которому рассчитывают концентрации в неизвестных образцах. Эффективность реакции Эффективность ПЦР (Efficiency, E) — это показатель, отражающий, насколько эффективно происходит удвоение целевой ДНК в каждом цикле. Теоретически идеальная ПЦР имеет эффективность 100%, то есть количество ДНК удваивается точно каждый цикл. На практике эффективность почти всегда ниже из-за неполной денатурации, недостаточной активности полимеразы, вторичных структур матрицы или истощения компонентов. Эффективность рассчитывается из калибровочной кривой по формуле: $E = 10^{(-1/\text{наклон})} - 1$, а чаще выражают в процентах: $E\% = (10^{(-1/\text{наклон})} - 1) \times 100\%$. При идеальной эффективности (удвоение в каждом цикле) наклон калибровочной кривой должен быть равен $-3,32$ (так как $\log_2(10) \approx 3,32$). Если наклон составляет, например, $-3,5$, то эффективность снижается до примерно 93%. При наклоне меньше $-3,3$ (сильнее отрицательном) эффективность превышает 100% — что часто свидетельствует о неспецифическом связывании красителя или наличии ингибиторов, искажающих результат. Допустимым диапазоном эффективности для количественного анализа считается 90–110% (наклон от $-3,1$ до $-3,6$). При выходе за эти пределы результаты становятся недостоверными. Эффективность также проверяется линейностью калибровочной кривой: коэффициент корреляции R^2 должен быть не менее 0,98–0,99. Количественный анализ Существует два типа количественного анализа с использованием реал-тайм ПЦР. Абсолютное количественное определение используется для измерения точного количества копий ДНК в образце, например, вирусной нагрузки. Для этого строится калибровочная кривая по стандартам с известной абсолютной концентрацией (измеренной в копиях/мкл или международных единицах). В каждом эксперименте параллельно с неизвестными образцами амплифицируют не менее 4–5 стандартных разведений и определяют их Ct. Затем рассчитывают концентрацию в образцах по калибровочной кривой. Важно, чтобы значения Ct образцов попадали в диапазон калибровочной кривой, а не выходили за его пределы. Относительное количественное определение используется для сравнения экспрессии гена в разных образцах (например, в норме и патологии) без вычисления абсолютного числа копий. Здесь необходимо нормирование на один или несколько референсных (housekeeping) генов, экспрессия которых не меняется в условиях эксперимента (GAPDH, β-актин, $\beta 2$-микроглобулин). Результат выражается в виде относительного изменения количества целевой РНК в экспериментальном образце	полное совпадение с верным ответом 8 б – частичное совпадение с верным ответом 0 б – остальные случаи
--------	---	--

 МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет			
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 50 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	по сравнению с контрольным. Расчет проводится по методу $\Delta\Delta Ct$ (дельта-дельта Ct). Сначала для каждого образца вычисляют $\Delta Ct = Ct(\text{целевой ген}) - Ct(\text{референсный ген})$. Затем вычисляют $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{экспериментальный образец}) - \Delta Ct(\text{контрольный образец})$. Наконец, кратность изменения экспрессии $= 2^{(-\Delta\Delta Ct)}$. Если $\Delta\Delta Ct = 0$, то кратность $= 1$ — экспрессия не изменилась. Если $\Delta\Delta Ct = -1$, то кратность $= 2$ — экспрессия увеличилась вдвое. Если $\Delta\Delta Ct = +1$, то кратность $= 0,5$ — экспрессия снизилась вдвое. Важное замечание: метод $\Delta\Delta Ct$ корректен только при близкой эффективности амплификации целевого и референсного генов (различие не более 0,3 цикла по Ct при разведениях). В противном случае необходимо использовать более сложные модели или скорректированные формулы, учитывающие эффективность каждого гена. Также требуется не менее трех независимых повторов для каждого условия и обязательная проверка достоверности различий статистическими методами (t-критерий, ANOVA).	
21 вопрос	Первичная идентификация мутаций Первичная идентификация мутаций — это процесс обнаружения и точного определения изменений в нуклеотидной последовательности ДНК по сравнению с референсным (нормальным) геномом. Мутации могут быть точечными (замена одного нуклеотида), инделями (вставки или делеции одного или нескольких нуклеотидов), дупликациями, инверсиями и другими структурными перестройками. Золотым стандартом для первичной идентификации неизвестных мутаций служит секвенирование по Сэнгеру, которое позволяет «прочитать» последовательность ДНК нуклеотид за нуклеотидом. Секвенирование ДНК по Сэнгеру Метод дидезоксинуклеотидного секвенирования, разработанный Фредериком Сэнгером в 1977 году, стал революционным прорывом в молекулярной биологии. Принцип метода основан на ферментативном синтезе комплементарной цепи ДНК случайно обрывающейся в определенных местах с включением модифицированных нуклеотидов. Реакционная смесь содержит все компоненты классической ПЦР: матричную ДНК, праймер, ДНК-полимеразу, нормальные дезоксинуклеотидтрифосфаты (dNTP — dATP, dCTP, dGTP, dTTP). Однако добавляются также небольшие количества модифицированных дидезоксинуклеотидтрифосфатов (ddNTP) — ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP. Ключевое отличие ddNTP от обычных dNTP состоит в отсутствии 3'-гидроксильной группы (в ddNTP вместо -ОН находится только -Н). Это означает, что когда ДНК-полимераза случайно встраивает ddNTP вместо dNTP, дальнейшее удлинение цепи становится невозможным, так как не образуется фосфодиэфирная связь для следующего нуклеотида. В результате синтез обрывается в точности в том месте, куда включился ddNTP. В классической версии метода реакцию ставят в четыре отдельных пробирки, каждая из которых содержит только один тип ddNTP (ddATP, ddCTP, ddGTP или ddTTP) в определенном соотношении с соответствующим dNTP. В пробирке с ddATP будут образовываться фрагменты, оканчивающиеся на А (аденин). В пробирке с ddCTP — фрагменты, оканчивающиеся на С, и так далее. В результате полимеразы синтезирует набор вложенных фрагментов разной длины, каждый из которых завершается специфическим дидезоксинуклеотидом. Полученные фрагменты разделяют по длине методом электрофореза в полиакриламидном геле с высоким разрешением, способным различать фрагменты, отличающиеся всего на один нуклеотид. После электрофореза определяют положение каждого фрагмента и, зная, в какой пробирке он образовался, восстанавливают исходную последовательность ДНК от праймера в направлении 5'→3'. Более короткие фрагменты соответствуют нуклеотидам, близким к праймеру, более длинные — удаленным. Современная модификация метода	17 б — полное совпадение с верным ответом 8 б — частичное совпадение с верным ответом 0 б — остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 51 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	Сегодня классический радиоактивный метод с четырьмя пробирками и автордиографией практически не используется. Современное секвенирование по Сэнгеру автоматизировано. Четыре разных ddNTP метят различными флуоресцентными красителями — каждый тип дает свой цвет (например, ddATP — зеленый, ddCTP — синий, ddGTP — желтый, ddTTP — красный). Теперь реакцию можно проводить в одной пробирке, так как тип терминации определяется по цвету флуоресценции. Разделение фрагментов проводится в капиллярном электрофорезе, где фрагменты движутся через тонкий капилляр, а лазерный детектор считывает цвет флуоресценции по мере выхода фрагментов из капилляра. Компьютер автоматически строит электроферограмму — серию цветных пиков, каждый из которых соответствует определенному нуклеотиду. Применения и ограничения Метод Сэнгера позволяет прочитывать последовательность длиной до 800–1000 нуклеотидов за одну реакцию (теоретически до 1200). Он остается золотым стандартом для секвенирования отдельных генов или небольших участков генома, верификации мутаций, найденных скрининговыми методами, анализа клонов после ПЦР и идентификации точечных мутаций. Основные ограничения — ограниченная длина прочтения, низкая пропускная способность (нельзя секвенировать целый геном за раз) и невозможность выявлять крупные делеции или дупликации, выходящие за пределы одного ампликона. Для полногеномного секвенирования сегодня используются методы высокопроизводительного секвенирования следующего поколения, однако Сэнгер остается незаменимым для подтверждающего анализа и малых проектов.	
22 вопрос	Пиросеквенирование — это метод «секвенирования путем синтеза», который детектирует включение нуклеотида не по флуоресцентной метке, а по регистрации света, выделяемого при работе фермента пирофосфатазы. Метод был разработан в середине 1990-х годов и стал первой реальной альтернативой секвенированию по Сэнгеру, не требующей электрофореза. Принцип метода Пиросеквенирование основано на регистрации высвобождения пирофосфата (PPi) при включении ДНК-полимеразой очередного нуклеотида в синтезируемую цепь. Когда полимераза присоединяет дезоксинуклеотидтрифосфат (dNTP) к 3'-концу растущей цепи, отщепляется пирофосфат (два остатка фосфорной кислоты). Далее пирофосфат улавливается каскадом ферментативных реакций, конечным продуктом которого является видимый свет. Каскад включает три основных фермента. АТФ-сульфурилаза превращает пирофосфат и аденозин-5'-фосфосульфат (APS) в АТФ. Затем люцифераза, используя АТФ и люциферин, катализирует окисление люциферина, что сопровождается выделением света. Интенсивность светового сигнала пропорциональна количеству включенных нуклеотидов. Для удаления избытка dNTP и АТФ между циклами подачи нуклеотидов используется апираза — фермент, разрушающий любые невключившиеся нуклеотиды и АТФ. Процесс секвенирования Матричная ДНК иммобилизуется на твердой фазе (обычно на гранулах). К ней гибридизуют праймер и помещают в проточную камеру, содержащую полимеразу, АТФ-сульфурилазу, люциферазу, апиразу, а также субстраты APS и люциферин. Затем автоматически поочередно подают один из четырех dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) в строгой последовательности. Если поданный нуклеотид комплементарен следующему основанию матрицы, он включается полимеразой, высвобождается пирофосфат, и через ферментативный каскад генерируется вспышка света, регистрируемая ПЗС-камерой. Интенсивность вспышки пропорциональна количеству включившихся нуклеотидов: один нуклеотид дает одну единицу света, два гомополимерных нуклеотида подряд (например, AA) — две единицы, три — три единицы. Если же поданный нуклеотид не комплементарен,	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 52 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	включения не происходит, свет не генерируется, и апираза разрушает непрореагировавшие dNTP, после чего подается следующий нуклеотид. Цикл повторяется десятки раз по кругу, и последовательность подаваемых нуклеотидов известна прибору, поэтому по зарегистрированным всплескам света (или их отсутствию) компьютер восстанавливает нуклеотидную последовательность матрицы. Особенности пиросеквенирования Ключевая особенность — определение гомополимерных повторов (несколько одинаковых нуклеотидов подряд). Поскольку интенсивность сигнала пропорциональна числу включенных нуклеотидов, система может определять до 6–8 одинаковых оснований подряд, однако точное определение длины гомополимера (особенно свыше 4–5) остается проблемой — при длинных повторах интенсивность сигнала становится нелинейной из-за неполного включения всех нуклеотидов. Второе важное отличие — метод не требует флуоресцентных меток или меченых терминаторов, что снижает стоимость расходных материалов. Ферментативный каскад генерирует свет только при правильном включении нуклеотида, поэтому отпадает необходимость в отдельном этапе сканирования флуоресценции. Однако метод требует очень тщательной очистки dNTP от примесей — даже следы контаминации пуриновыми нуклеотидами могут давать ложные сигналы. Третья особенность — длина прочтения. Пиросеквенирование позволяет прочитывать до 400–600 нуклеотидов за один запуск, что сопоставимо с методом Сэнгера, но требует больше времени из-за циклической подачи нуклеотидов. Процесс обычно занимает 2–4 часа на 96-луночный планшет. Применения и недостатки Пиросеквенирование широко использовалось в проекте «1000 геномов» и для секвенирования небольших геномов бактерий и вирусов. Основные современные применения — анализ метилирования ДНК (бисульфитное секвенирование), идентификация мутаций в клинических образцах (например, мутаций генов онкосупрессоров), генотипирование микробных штаммов и анализ смесей ДНК (например, в микробиоте). Однако метод имеет существенный недостаток — сложность определения точного количества нуклеотидов в длинных гомополимерных повторах (более 7–8 одинаковых оснований). Кроме того, сравнительно низкая пропускная способность (не более 100–200 тысяч прочтений за один запуск) привела к вытеснению пиросеквенирования более высокопроизводительными платформами (Illumina, Ion Torrent). Тем не менее, пиросеквенирование остается востребованным в небольших исследовательских лабораториях из-за относительно низкой стоимости среднего оборудования и простоты анализа коротких участков, особенно при необходимости количественной оценки доли мутантного аллеля в гетерозиготном образце.	
23 вопрос	Принцип метода Полупроводниковое секвенирование (также известное как Ion Torrent) — это технология «секвенирования путем синтеза», которая регистрирует не свет или флуоресценцию, а изменение pH раствора, вызванное высвобождением ионов водорода (H⁺) при включении нуклеотида. Когда ДНК-полимераза присоединяет дезоксинуклеотидтрифосфат (dNTP) к растущей цепи ДНК, происходит гидролиз пирофосфата с высвобождением одного иона водорода на каждый включенный нуклеотид. Это приводит к локальному подкислению раствора — снижению pH. Специализированный ион-чувствительный полевой транзистор (ISFET), расположенный на дне каждой микролуны, регистрирует это изменение pH как изменение электрического потенциала. Величина сигнала (амплитуда изменения напряжения) пропорциональна количеству включенных нуклеотидов: один нуклеотид вызывает единичный сдвиг pH, два включенных одинаковых нуклеотида подряд — вдвое больший сдвиг, и так далее. Устройство чипа	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 53 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	Чип для полупроводникового секвенирования изготовлен по КМОП-технологии (комплементарная структура металл-оксид-полупроводник) и содержит миллионы микролунок. На дне каждой лунки находится ион-чувствительный транзистор. Поверхность чипа покрыта слоем оксида, который изолирует транзистор от раствора, но изменения pH в растворе модулируют поверхностный заряд, что влияет на ток в канале транзистора. Это аналоговое изменение немедленно преобразуется в цифровой сигнал (напряжение), считываемый при сканировании. Процесс секвенирования Перед запуском проводят эмульсионную ПЦР. Каждая молекула матричной ДНК амплифицируется в отдельной капле эмульсии на микрочастице (грануле), так что на каждой грануле оказывается множество копий одной исходной молекулы — это необходимо для усиления сигнала (одна молекула ДНК не может дать достаточно ионов для регистрации). Гранулы распределяются по лункам чипа так, что большинство лунок содержит ровно одну гранулу. В лунки последовательно поочередно подают один из четырех dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP). Если поданный нуклеотид комплементарен первому неспаренному основанию матрицы на грануле, полимеразы включают его, высвобождаются ионы H⁺, pH в лунке падает, транзистор регистрирует сдвиг, и компьютер записывает этот факт. После измерения не включившиеся dNTP вымываются потоком промывочного буфера, и затем подается следующий нуклеотид. Цикл повторяется сотни раз по кругу. Компьютер, зная, какой нуклеотид был подан в каждый момент, по наличию или отсутствию сигнала и его амплитуде восстанавливает последовательность матрицы. Особенности полупроводникового секвенирования Ключевая особенность — отсутствие оптической системы. В методе не используется ни лазеров, ни камер, ни флуоресцентных красителей. Детекция основана на прямом измерении изменений pH, что делает прибор значительно дешевле, компактнее и проще в обслуживании по сравнению с оптическими платформами. Второе важное отличие — скорость. Регистрация ионного сигнала происходит практически мгновенно, а весь цикл подачи нуклеотида, реакции и промывки занимает всего несколько секунд. Современные чипы позволяют секвенировать миллионы лунок одновременно, давая до 100–200 миллионов прочтений за один запуск длительностью 2–4 часа. Третья особенность — проблема гомополимеров. Как и в пиросеквенировании, метод полагается на амплитуду сигнала для определения количества одинаковых нуклеотидов подряд. При коротких гомополимерах (2–4 основания) точность высока, но чем длиннее повтор, тем больше ошибок — при 5–6 основаниях подряд сложно различить, было включено 5 или 6 нуклеотидов, так как сдвиг pH становится нелинейным. Недостатки и ограничения Первый недостаток — фоновый шум. Даже в отсутствие включения нуклеотида происходит некоторое изменение pH за счет гидролиза dNTP или фоновой активности полимеразы. Это требует тщательной промывки и очень стабильного буфера. Второй недостаток — высокая зависимость от качества ПЦР-амплификации. Неравномерная амплификация на гранулах приводит к тому, что одни лунки несут слишком мало копий ДНК (слабый сигнал), другие — слишком много (насыщение транзисторов). Оптимальное покрытие достигается при 10–30% гранул, несущих ампликон, остальные либо пусты, либо дают шум. Третий недостаток — невозможность длинного прочтения. Практический максимум составляет 400–600 нуклеотидов на прочтение, после чего точность резко падает из-за накопления ошибочно включенных нуклеотидов и дрейфа pH в лунках. Применения Полупроводниковое секвенирование наиболее эффективно для секвенирования	
--	---	--

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».	
Версия документа - 1	стр. 54 из 56 Первый экземпляр _____ КОПИЯ № _____

	небольших геномов (вирусы, бактерии, дрожжи), целевого пересеквенирования (ампликоны, ПЦР-панели), анализа экспрессии (РНК-seq), метагеномики и быстрой идентификации патогенов в клинических образцах. Главные преимущества — низкая стоимость прибора (сравнимая с хорошим ПЦР-детектором), короткое время запуска и отсутствие дорогих оптических расходных материалов. Однако по производительности и стоимости секвенирования на миллион пар оснований метод уступает лидерам рынка (Illumina), но остается востребованным для малых и средних лабораторий.	
24 вопрос	Принцип метода Нанопоровое секвенирование — это принципиально иной подход, который не требует ни ПЦР-амплификации, ни синтеза комплементарной цепи, ни меченых нуклеотидов. Метод основан на прямом прохождении (транслокации) нативной одиночной молекулы ДНК или РНК через нанопору — белковую или твердотельную пору диаметром около 1–2 нанометров, встроенную в непроводящую электричество мембрану. Принцип работы заключается в регистрации изменений ионного тока при прохождении нуклеиновой кислоты через пору. На мембрану подается постоянное электрическое напряжение, заставляющее ионы (калий, хлорид) перемещаться через пору и создавать стабильный ионный ток (обычно 50–150 пикоампер). Когда молекула ДНК или РНК, имеющая отрицательный заряд фосфатного остова, втягивается в пору под действием того же электрического поля, она частично блокирует пору, и величина протекающего тока снижается. Разные нуклеотиды (А, Т, G, C для ДНК или А, U, G, C для РНК) обладают разными размерами, электроотрицательностью и способностью взаимодействовать с белком поры, поэтому вызывают характерные, уникальные для каждого основания модуляции тока. Анализируя амплитуду, длительность и форму блокады тока, компьютер в реальном времени определяет последовательность нуклеотидов. Типы нанопор Существует два основных типа нанопор. Белковые нанопоры — наиболее распространены, особенно поры из бактерии <i>Mycobacterium smegmatis</i> (MspA) и мутанты α-гемолизина <i>Staphylococcus aureus</i>. Они стабильны, легко встраиваются в синтетические липидные мембраны и обеспечивают высокое пространственное разрешение. Твердотельные нанопоры (кремний, нитрид кремния, графен) находятся в стадии активной разработки, они потенциально могут обеспечить более высокую скорость и стабильность, но пока уступают по разрешающей способности и воспроизводимости. Процесс секвенирования Перед секвенированием к концам двуцепочечной ДНК лигируют специальные адаптеры. Один адаптер имеет ковалентно присоединенную хеликазу — фермент, который разделяет цепи ДНК и контролирует скорость транслокации, чтобы молекула не пролетала через пору слишком быстро. Второй адаптер несет гидрофобную «бусину», которая притягивает молекулу к мембране. Под действием электрического поля одна из цепей ДНК «прошивается» через нанопору, причем хеликаза работает как рашпиль-контроллер, позволяя проходить строго по одному основанию за раз (обычно скорость 300–500 оснований в секунду). По мере прохождения каждого основания ионный ток изменяется предсказуемым образом. Программное обеспечение использует обученную нейросетевую модель для преобразования этих аналоговых сигналов в последовательность нуклеотидов в реальном времени. Особенности нанопорового секвенирования Главная особенность — невероятная длина прочтений (read length). Поскольку не требуется фрагментировать ДНК, амплифицировать или синтезировать, через пору может проходить исходная длинная молекула ДНК длиной в сотни тысяч пар оснований. Современные системы уверенно прочитывают фрагменты >100 тысяч	17 б – полное совпадени е с верным ответом 8 б – частичное совпадени е с верным ответом 0 б – остальные случаи

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».			
Версия документа - 1	стр. 55 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

	пар оснований, а рекордные прочтения доходят до 2–4 миллионов пар оснований. Это позволяет уникальным образом собирать сложные геномы, определять крупные структурные перестройки и фазировать гаплотипы. Второе важное отличие — прямое секвенирование РНК без обратной транскрипции. Поскольку поры пропускают и РНК, можно напрямую секвенировать транскриптом, сохраняя информацию о модификациях оснований (например, метилирование или псевдоуридилирование), которые другие методы разрушают. Третья особенность — отсутствие ПЦР-амплификации. Это не только экономит время и реагенты, но и исключает ПЦР-ошибки и GC-смещение, облегчая количественное определение (чем больше сигнала, тем больше исходных молекул). Достаточно всего 10–100 пикограмм ДНК для одного эксперимента, что позволяет секвенировать единичные клетки. Четвертая особенность — портативность. Нанопоровые секвенаторы, такие как MinION от Oxford Nanopore Technologies, имеют размер USB-флэшки и подключаются к обычному ноутбуку. Это делает возможным секвенирование в полевых условиях — для мониторинга возбудителей в клиниках, эпиднадзора в странах с плохой инфраструктурой, космических экспедиций (NASA использует нанопоровое секвенирование на МКС), исследований в условиях дикой природы. Недостатки и ограничения Основной недостаток — относительно высокая частота ошибок (обычно 5–15% на одно прочтение), особенно при определении гомополимерных повторов (длинные серии одинаковых оснований). Однако, поскольку одно и то же основание может быть прочитано многократно (благодаря использованию двухцепочечных библиотек или циркулярных молекул), точность консенсусной последовательности может достигать 99,9% при достаточном покрытии. Второй недостаток — зависимость от химических модификаций. Метилированные цитозины (5-метилцитозин) часто снижают ток иначе, чем неметилированные, что можно использовать для детекции метилирования, но иногда затрудняет однозначную идентификацию. Третий недостаток — стоимость прочтения при малых объемах. Для небольших проектов расходы на проточную ячейку и реагенты могут быть выше, чем на платформах Illumina с высоким мультиплексированием. Применения Нанопоровое секвенирование наиболее эффективно для сборки сложных геномов с большим количеством повторов (растения, грибы), детекции крупных структурных вариантов (транслокации, инверсии, дупликации), полногеномного секвенирования микробов в реальном времени (быстрая идентификация возбудителя в клиническом образце), прямого секвенирования РНК и эпигенетического анализа (5-метилцитозин, 6-метиладенин). Метод быстро развивается, и с каждым годом точность растет, стоимость снижается, а портативность и длина прочтений остаются уникальными конкурентными преимуществами.	
--	---	--

4.3. Результаты промежуточной аттестации и уровни сформированности компетенций

Уровни сформированности компетенций определяется следующим образом:

1. Высокий уровень сформированности компетенций соответствует оценке отлично и предполагает формирование компетенций на высоком уровне, готовность к самостоятельной профессиональной деятельности: обучающийся современными информационными и коммуникационными технологиями, необходимыми для профессиональной деятельности; использует полученные знания в профессиональной деятельности при получении, анализе, оценке

	МИНОБРНАУКИ России Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ») Биологический факультет		
	Фонд оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине «Современные методы исследования в лабораторной диагностике», по направлению подготовки 06.04.01 Медико-биологические науки, Микробиология и вирусология, Биотехнология направленности (профилю) Биология ФГБОУ ВО «ЧелГУ».		
Версия документа - 1	стр. 56 из 56	Первый экземпляр _____	КОПИЯ № _____

результатов. Отвечает на вопросы продвинутого уровня, активно участвует в дискуссиях, предлагает собственные подходы к решению поставленных задач.

2. Средний уровень соответствует оценке хорошо и предполагает формирование компетенций на среднем уровне: ответ обучающегося соответствует указанным выше критериям, но содержание ответа имеет отдельные неточности (несущественные ошибки) в изложении теоретического и практического материала, отличается меньшей обстоятельностью, глубиной, обоснованностью и полнотой; допущенные ошибки исправляются студентом после дополнительных вопросов преподавателя.

3. Базовый уровень соответствует оценке удовлетворительно и предполагает формирование компетенций на начальном уровне: обучающийся обнаруживает знание и понимание основных положений учебного материала, но излагает его неполно, непоследовательно, допускает неточности и существенные ошибки в определении понятий, формулировке положений, не привлекает для аргументации ответа основные положения исследовательских, концептуальных и нормативных документов, не умеет обосновать свои суждения; наблюдается нарушение логики изложения. Ответ отличается низким уровнем самостоятельности, не содержит собственной профессионально-личностной позиции.

4. Низкий уровень соответствует оценке неудовлетворительно обучающийся имеет разрозненные, бессистемные знания: не умеет выделять главное и второстепенное; допускает ошибки в определении понятий, формулировке теоретических положений, искажающие их смысл; не ориентируется в нормативно-концептуальных, программно-методических, исследовательских материалах, беспорядочно и неуверенно излагает материал; не умеет соединять теоретические положения с педагогической практикой; не умеет применять знания для обоснования и объяснения фактов, не устанавливает межпредметные связи. Не владеет фактическим материалом.