

**ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации Кафедра
иммунологии и аллергологии**

**Факультет: медико-биологический Специальность 30.05.01 «Медицинская
биохимия» (уровень специалитета)**

**ДНЕВНИК
ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ
ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ УМЕНИЙ И ОПЫТА
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ (НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ПРАКТИКА)
студента (студентки) 5 курса**

Ивановой

Яны

Андреевны

Руководитель практики от ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России, доцент кафедры
иммунологии и аллергологии, к.м.н.



А.С.Кляусов

г. Волгоград – 2020 г.

**Правила оформления дневника производственной практики по
получению профессиональных умений и опыта профессиональной
деятельности
(научно-исследовательская практика)
студентами медико-биологического факультета ВолгГМУ,
обучающимся по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия»
(уровень специалитета)**

Обязательным отчетным документом о прохождении студентом производственной практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика) является дневник практики.

Дневник практики должен включать в себя протоколы различных видов работы (литературной/методической/экспериментальной/аналитической/иных видов работы), выполненной студентом в ходе практики.

Протоколы оформляются на каждый день работы на практике. Протокол должен содержать сведения о дате, теме (-ах) занятия (-й), выполненной работе и исследовательских процедурах (операциях), а также о полученных первичных данных и результатах их анализа в ходе выполнения индивидуального задания.

При протоколировании работы по выполнению индивидуальных заданий (ИЗ) необходимо придерживаться следующего алгоритма:

1. Описать суть задания (цели/ задачи/ дизайн исследования/ объект исследования/ методики и т.д.)

2. Зафиксировать фактические данные, полученные в ходе исследования – представлять целесообразно в табличном формате.

3. Провести анализ полученных данных в соответствии с целями и задачами ИЗ.

4. Сделать кратное заключение/выводы по итогам выполнения ИЗ.

5. В качестве протокола ИЗ последнего дня практики в дневнике представляется распечатка презентации или иной наглядный материал: *«Отчетной научно-исследовательской работы по итогам выполнения индивидуальных заданий производственной практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика) студентами медико-биологического факультета ВолгГМУ, обучающимися по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета)*

Дневник практики должен быть подписан:

а) после каждого протокола - руководителем практики данного студента.

б) на титульном листе - руководителем практики от организации (вуза).

Образец оформления ежедневных протоколов в «Дневнике производственной практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика) студентами медико-биологического факультета ВолгГМУ, обучающимися по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета)» - см. приложение 1.

**Вводная информация для студентов, обучающихся по специальности
30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета)**

Задачами практики являются:

- формирование теоретических представлений о принципах проведения научных биомедицинских исследований и представлений об их методологии.
- формирование практических навыков и умений для планирования и проведения научных экспериментов.
- формирование практических навыков и умений для анализа экспериментальных данных, полученных в ходе научного исследования.

Во время производственной практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика) студент должен **получить навыки (опыт деятельности):**

- поиска необходимой научной информацией;
- анализа современной актуальной информации в области медицины;
- проведения базовых научных исследований в области медицины;
- ведения лабораторных записей в соответствии с принципами надлежащей лабораторной и надлежащей клинической практики;
- статистической обработки экспериментальных данных;
- пользования современными компьютерными программами позволяющими сохранять, обрабатывать и визуализировать экспериментальные данные;
- аннотирования и реферирования текста и публичного представления полученных экспериментальных данных.

По окончании прохождения производственной практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика) студент должен **студент должен знать:**

- принципы поиска и анализа научной литературы для планирования и организации экспериментальных работ;
- теоретические основы различных методов исследований;
- основные методологические приемы, необходимые для успешного применения научных методов в современных биомедицинских исследованиях;
- правила техники безопасности и работы в научно-исследовательских лабораториях с реактивами и приборами;
- принципы работы с современным лабораторным и аналитическим оборудованием;
- принципы и алгоритмы выбора методов статистической обработки результатов, полученных в ходе научно-исследовательской работы;
- правила и требования к оформлению научных публикаций, докладов и презентаций.

студент должен уметь:

- обосновать актуальность научного исследования;
- сформулировать цели и задачи научного исследования;
- спланировать и организовать проведение научного исследования;
- выбирать наиболее оптимальные методы достижения поставленных целей и задач;
- применять приемы работы с биологическим материалом;
- оценивать, обрабатывать и анализировать полученные экспериментальные результаты;
- оформлять научные публикации, включая иллюстрации, таблицы и библиографические списки.

**Инструкция по технике безопасности (ТБ) студентов, пожарной безопасности и охране труда обучающихся по специальности 30.05.01
Медицинская биохимия**

при прохождении производственной практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика).

1. Общие требования

- 1.1. Настоящая Инструкция определяет требования охраны труда для студентов ВолгГМУ, направленных для прохождения учебной практики.
- 1.2. Учебная практика является составной частью учебного процесса, в связи с этим к ней применимы все постановления об организации учебного процесса.
- 1.3. Настоящая инструкция имеет целью обеспечить безопасность студентов в период прохождения практики.
- 1.4. Студенты, вышедшие на практику, допускаются к выполнению работы только после прохождения инструктажа по охране труда при прохождении практики.
- 1.5. Инструктаж по охране труда студентов проводится руководителями практики, что должно регистрироваться в журнале регистрации инструктажа или в контрольных листах с обязательными подписями получившего и проводившего инструктаж (см. приложение 2.).
- 1.6. Продолжительность рабочего дня на практике составляет не менее 6 часов. При необходимости время начала и окончания работы, перерывы для отдыха и питания устанавливаются, исходя из производственной необходимости и конкретных условий проведения практики.
- 1.7. На базу научно-исследовательской практики студенты прибывают самостоятельно.
- 1.8. На всех этапах практики студенты обязаны выполнять указания руководителей, строго соблюдать порядок проведения лабораторной работы, добросовестно выполнять работы по бытовому обеспечению практики (по уборке территории, лабораторий и других помещений и т.д.). Студенты несут ответственность за утрату, порчу и разукомплектование оборудования и материалов.
- 1.9. Во время прохождения практики при всех видах работы категорически запрещается:
 - самовольно покидать базу практики;
 - отлучаться с базы практики без разрешения преподавателя;
 - распивать спиртные напитки и находиться в нетрезвом состоянии;
 - курить;
 - оставлять без присмотра, переделывать или самостоятельно чинить электрооборудование и электропроводку.
- 1.10. За несоблюдение требований охраны труда студент может быть отстранён от дальнейшего прохождения практики.

Опасные и вредные производственные факторы

- 1.11. Работа студентов при прохождении практики может сопровождаться наличием следующих опасных и вредных производственных факторов:
 - работа в лаборатории – контакт с химическими веществами (кислоты, щелочи, формалин); порезы при работе с острыми инструментами – ножами, ножницами, а также осколками разбитой лабораторной посуды;
 - работа с электроприборами (приборы освещения, бытовая техника, принтер, сканер и прочие виды офисной техники) – поражение электрическим током; возникновение пожара.

Требования к оснащению студентов во время прохождения практики

- 1.12. При работе в лаборатории необходимы халат (ниже колен, с длинными рукавами) или хирургический костюм; сменная обувь; одноразовые перчатки; маска; очки при необходимости.

2. Требования охраны труда и техники безопасности перед началом работы

- 2.1. Любой вид работы студентов на практике проводится под руководством преподавателей.
- 2.2. Перед проведением работы руководитель должен ознакомить студентов с планом работы, обратить внимание на возможные опасности.

- 2.3. Перед началом работы руководитель уточняет список студентов, явившихся в данный рабочий день на практику. Руководитель должен быть поставлен в известность о студентах, отсутствующих на практике в данный рабочий день, и о причинах их отсутствия.
- 2.4. Все студенты, приступающие к работе, должны быть соответствующим образом одеты и экипированы (см. п. 1.12.).
- 2.5. Преподаватель имеет право отстранить от работы студентов, нарушающих дисциплину или одетых с нарушениями правил техники безопасности.
- 2.6. Дополнительные указания перед началом работы в лаборатории или медицинской документацией:
 - 2.6.1. При наличии медицинских противопоказаний к работе с химическими реактивами, лабораторными животными необходимо заранее предоставить руководителю медицинскую справку об освобождении от данного вида работы.
 - 2.6.2. Необходимо ознакомиться с расположением в лаборатории средств пожаротушения и первой медицинской помощи.
 - 2.6.3. Перед началом работы необходимо проверить комплектность и исправность оборудования, необходимого для проведения запланированных лабораторных манипуляций. При выявлении проблем с оборудованием о них сообщается руководителю.

3. Требования охраны труда и техники безопасности во время работы.

- 3.1. Во время работы в лаборатории:
 - 3.1.1. Необходимо соблюдение личной гигиены и санитарии, поддерживать порядок и чистоту в лабораториях, не допускать попадания реактивов на кожу и одежду, не трогать руками лицо и глаза, тщательно мыть руки с мылом.
 - 3.1.2. В лаборатории запрещается принимать пищу и напитки, пробовать вещества на вкус. Нюхать вещества можно лишь осторожно, направляя к себе пары или газ движением руки.
 - 3.1.3. Категорически запрещается работать в лаборатории в одиночку.
 - 3.1.4. Нельзя проводить опыты в загрязненной посуде или имеющей трещины и надбитые края.
 - 3.1.5. Особую осторожность необходимо проявлять при пользовании острыми и режущими предметами и инструментами (скребки, скальпели, препаровальные иглы, покровные стёкла и др.). Использовать их не по назначению и без необходимости запрещается.
 - 3.1.6. Осколки разбитой стеклянной посуды следует убирать с помощью щетки и совка, но ни в коем случае не руками.
 - 3.1.7. Работу с большинством органических веществ, особенно с ядовитыми, летучими и огнеопасными веществами (эфир, хлороформ, формалин, спирт и др.) следует проводить только в вытяжных шкафах или при условии хорошего проветривания помещения.
 - 3.1.8. Остатки реактивов следует обезвреживать и сливать в специальные емкости для отходов.
 - 3.1.9. При попадании каких-либо веществ на кожу или в глаза необходимо быстро промыть пораженное место чистой водой и немедленно обратиться за медицинской помощью.
 - 3.1.10. При работе в лабораториях все студенты обязаны выполнять «Инструкцию о соблюдении мер пожарной безопасности в служебных помещениях, аудиториях (лабораториях) университета». В том числе Инструкция запрещает курение в учебных корпусах, пользование открытым огнем без специального разрешения. Запрещается также оставлять без присмотра включенное электрооборудование; использовать неисправное, незарегистрированное электрооборудование и обогреватели; приносить и хранить легковоспламеняющиеся жидкости, пожароопасные и взрывчатые вещества и материалы; использовать пожарный инвентарь не по назначению. Запрещается касаться оголенных проводов.
 - 3.1.11. При возникновении в ходе работы вопросов или обнаружении неисправности в оборудовании необходимо немедленно сообщить об этом преподавателю.

4. Требования охраны труда и техники безопасности в аварийной ситуации

О несчастном случае пострадавший или очевидцы обязаны незамедлительно сообщить руководителю. При возникновении несчастного случая необходимо принять экстренные меры по оказанию первой помощи пострадавшему. При необходимости пострадавшему надо обеспечить экстренную медицинскую помощь (телефон «Скорой помощи» со стационарного телефона – 03, с сотового телефона – 112) и при необходимости доставить его в ближайшее медицинское учреждение, зафиксировать факт обращения в журнале обращений медицинского учреждения. О

несчастном случае в течение суток необходимо поставить в известность руководство факультета и университета.

5. Требования охраны труда и техники безопасности по окончании работы

5.1. При работе в лаборатории:

5.1.1. После выполнения работы студенты должны сдать реактивы, посуду и оборудование лаборанту или преподавателю.

5.1.2. По окончании рабочего дня преподаватель должен проконтролировать состояние здоровья студентов.

6. Требования охраны труда и техники безопасности по окончании работы

Прохождение противопожарного инструктажа и обучение мерам пожарной безопасности проводится в соответствии с нормативными документами по пожарной безопасности, утвержденными для каждого структурного подразделения, на базе которого проводится производственная практика.

КАЛЕНДАРНО-ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ УМЕНИЙ И ОПЫТА ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ (НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ПРАКТИКА)

В соответствии с поставленной целью и производственная практика по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (научно-исследовательская практика) включает изучение модулей «планирование и организация научного исследования» и «проведение научных экспериментов и анализ полученных данных».

№	Дата	Тематические блоки¹	Часы (академ.)
1.		Вводное занятие. Знакомство с целью и задачами научно-исследовательской производственной практики.² Техника безопасности во время проведения практики. Введение в методологию научного эксперимента. Материально-техническая база современной науки. Этапы научной работы. Преаналитический, аналитический и постаналитический этапы эксперимента.	6
		Формирование индивидуальных заданий.³	3
2.		Поиск научной информации.² Работа с поисковыми системами.	6

		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
3.		Поиск научной информации. ² Работа с базами данных.	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
4.		Правила работы с биологическими объектами и материалами. ² Методы получения анализируемых образцов. Особенности получения и хранения биологических образцов. Этические аспекты проведения исследований с участием лабораторных животных и людей. Критерии включения и исключения в биомедицинских исследованиях. Виды клинических испытаний.	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
5.		Планирование индивидуального научного эксперимента. ² Дизайн исследования и его обоснование. Создание рабочего протокола научного эксперимента. Подготовка рабочего места, оборудования, реагентов и расходных материалов для выполнения индивидуального эксперимента	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
6.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
7.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
8.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий.	3
9.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
10.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
11.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
12.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
13.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6




		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
14.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
15.		Выполнение индивидуального научного эксперимента. ²	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
16.		Систематизация полученных экспериментальных данных. ² Принципы хранения первичной документации.	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
17.		Систематизация полученных экспериментальных данных. ² Принципы выбора статистических подходов для решения поставленных задач.	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
18.		Систематизация полученных экспериментальных данных. ² Статистическая обработка данных эксперимента.	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
19.		Правила и требования к оформлению научных публикаций. Публичное представление результатов научного исследования. ² Изображение в наглядном виде результатов исследования.	6
		Выполнение индивидуальных заданий. ³	3
20.		Зачетное занятие. ²	6
		Подготовка отчетной документации по практике. ³	3
		Итого	180

¹ – тематические блоки включают в себя несколько занятий семинарского типа, продолжительность одного занятия 45 минут с перерывом между занятиями не менее 5 минут

² – тема

³ – сущностное содержание

Перечень сформированных компетенций и оценка их усвоения

№	Наименование компетенции	Уровень освоения	Подпись преподавателя
1	готовностью решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием информационных, библиографических ресурсов, медико-биологической терминологии, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности (ОПК-1)	2	
2	способностью к определению новых областей исследования и проблем в сфере разработки биохимических и физико-химических технологий в здравоохранении (ПК-12)	2	
3	способностью к организации и проведению научных исследований, включая выбор цели и формулировку задач, планирование, подбор адекватных методов, сбор, обработку, анализ данных и публичное их представление с учетом требований информационной безопасности (ПК-13)	2	

Для характеристики уровня освоения используются следующие обозначения:

- 1 – «*Ознакомительный*» (узнавание ранее изученных объектов, свойств).
- 2 – «*Репродуктивный*» (выполнение деятельности по образцу, инструкции или под руководством).
- 3 – «*Продуктивный*» (планирование и самостоятельное выполнение деятельности, решение проблемных задач).

**Хронологический дневник производственной практики
по получению профессиональных умений и опыта
профессиональной
деятельности (научно-исследовательская практика)**

ПРОТОКОЛ № 1

Дата 11.03.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Вводное занятие. Знакомство с целью и задачами научно-исследовательской производственной практики.

Содержание (ход работы): Ознакомились с целью и задачами производственной практики.

Цель практики: формирование целостной системы современных знаний и представлений о принципах и методах проведения научных исследований, а также практических навыков и умений, необходимых для применения этих методов в будущей профессиональной деятельности.

Задачами практики являются:

1. формирование теоретических представлений о принципах проведения научных биомедицинских исследований и представлений об их методологии;
2. формирование практических навыков и умений для планирования и проведения научных экспериментов;
3. формирование практических навыков и умений для анализа экспериментальных данных, полученных в ходе научного исследования.
4. получение и развитие навыков:
 - поиска необходимой научной информации;
 - анализа современной актуальной информации в области медицины;
 - проведения базовых научных исследований в области медицины;
 - ведения лабораторных записей в соответствии с принципами надлежащей лабораторной и надлежащей клинической практики;
 - статистической обработки экспериментальных данных;
 - пользования современными компьютерными программами позволяющими сохранять, обрабатывать и визуализировать экспериментальные данные;
 - аннотирования и реферирования текста и публичного представления полученных экспериментальных данных.

При работе в лаборатории необходимо строго соблюдать основные правила техники безопасности независимо от того, какой выполняют эксперимент.

1. Категорически запрещается работать одному в лаборатории, так как в экстренном случае будет некому оказать пострадавшему первую помощь и ликвидировать последствия неудавшегося эксперимента. Работать следует только в отведенное время под контролем преподавателя или других сотрудников.
2. Необходимо соблюдать тишину, чистоту и порядок. Поспешность и неряшливость в работе часто приводят к несчастным случаям. Нельзя отвлекать от работы и отвлекать своих товарищей. Запрещается держать на лабораторном столе посторонние предметы (сумки, учебники и т.д.).
3. Категорически запрещается принимать и хранить пищу, пить водку и курить.
4. Каждый должен знать, где находятся средства индивидуальной защиты, аптечка, средства для тушения пожара. Кроме очков, в лаборатории должны быть защитные маски, респираторы и противогазы. Во всех лабораториях в легко доступных местах находятся средства для пожаротушения (ящики с песком и совком, огнетушители,

противопожарные одеяла), а также аптечки, которые снабжены всеми медикаментами, необходимыми для оказания первой медицинской помощи (растворы борной кислоты, гидрокарбоната натрия, перманганата калия, танина, нашатырного спирта, а также вата, бинт, иодная настойка, активированный уголь, мазь от ожогов, склянка для промывания глаз).

5. В лаборатории необходимо находиться в застегнутом хлопчатобумажном халате. Это обеспечивает некоторую индивидуальную защиту и позволяет избежать загрязнения одежды.

6. Приступать к работе можно после усвоения всей техники ее выполнения. Если вы испытываете какие-либо сомнения в методике проведения эксперимента или в технике безопасности, прежде чем продолжить работу, проконсультируйтесь с преподавателем.

7. Нельзя проводить опыты в загрязненной посуде. Посуду следует мыть сразу после окончания эксперимента.

8. Категорически запрещается пробовать химические вещества на вкус. Нюхать вещества следует осторожно, не поднося сосуд близко к лицу, а лишь направляя к себе пары или газы легким движением руки, при этом не следует делать полный вдох. Жидкие органические вещества и их растворы запрещается набирать в пипетки ртом, для этого необходимо использовать резиновые груши и другие приспособления.

9. В процессе работы необходимо следить, чтобы вещества не попадали на кожу, так как многие из них вызывают раздражение и ожоги кожи и слизистых оболочек.

10. Все банки, в которых хранятся вещества, должны быть снабжены этикетками с соответствующими названиями.

11. Запрещается нагревать, смешивать и взбалтывать реактивы вблизи лица. При нагревании нельзя держать пробирку или колбу отверстием к себе или в направлении работающего товарища.

12. Необходимо пользоваться защитными очками в следующих случаях:

а) при работе с едкими веществами (с концентрированными растворами кислот и щелочей, при дроблении твердой щелочи и т.д.);

б) при перегонке жидкостей при пониженном давлении и работе с вакуум-приборами;

в) при работе со щелочными металлами;

г) при определении температуры плавления вещества в приборе с концентрированной серной кислотой;


д) при работе с ампулами и изготовлении стеклянных капилляров.

13. Запрещено выливать в раковину остатки кислот и щелочей, огнеопасных и взрывоопасных, а также сильно пахнущих веществ. Для слива этих веществ в вытяжном шкафу должны находиться специальные сосуды с плотно притертыми крышками и соответствующими этикетками («СЛИВ КИСЛОТ», «СЛИВ ЩЕЛОЧЕЙ», «СЛИВ ОРГАНИКИ»).

14. Не разрешается бросать в раковину стекла от разбитой посуды, бумагу и вату.

15. После завершения работы необходимо отключить газ, воду, вытяжные шкафы и электроэнергию.

Выполнение индивидуальных заданий: Поиск и чтение литературы по предоставленным вопросам, изучение техники безопасности во время практики, выбор направления научной работы - определение цитотоксичности веществ МТТ-тестом на культуре клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7.


_____ (подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 2


Дата 13.03.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Поиск научной информации.

Содержание (ход работы): Ознакомились со способами поисками научной информации. Изучили правила использования поисковых систем с целью повышения качества информации, необходимой для проведения научного исследования. Изучили поиска и хранения информации. Познакомились с правилами сбора первичной научной информации. Научились работать с научными информационными системами.

Выполнение индивидуальных заданий: Поиск первичной информации в интернет ресурсах (Pubmed, Elibrary, Google Академия) для проведения научного эксперимента на тему определения цитотоксичности веществ МТТ-тестом.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 3


Дата 18.03.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Поиск научной информации.

Содержание (ход работы): Ознакомились со способами поиска научной информации в базах данных. Ознакомились с классификацией баз данных, изучили правилами их использования. Работали в базах данных Google Академия, PubMed, E-library, ScienceDirect, Sci-hub и занимались поиском и систематизацией информации по выбранному научному направлению.

Выполнение индивидуальных заданий: Работа в различных базах данных (Google Академия, PubMed, E-library, ScienceDirect, Sci-hub) с целью поиска и сбора первичной информации для проведения научного эксперимента на тему определения цитотоксичности веществ МТТ-тестом.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 4

Дата 20.03.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Правила работы с биологическими объектами и материалами.

Содержание (ход работы): Ознакомились с правилами работы с биологическими объектами и материалами. Изучили методы получения анализируемых образцов с учетом особенностей их получения и хранения. Ознакомились с правилами обращения с лабораторными животными. Основные этические принципы экспериментирования на животных изложены в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1987). Этот

документ является правовой основой соответствующих законодательных актов и нормативных положений в Великобритании, США, Канаде, ряде государств Европы и Латинской Америки. В 1959 году Рассел и Берч предложили концепцию трех R: Refinement (усовершенствование), Reduction (сокращение), Replacement (замена), которая сегодня широко используется в качестве фундаментальной стратегии улучшения благосостояния животных.


Принцип усовершенствования предполагает более гуманное обращение с животными при подготовке и проведении эксперимента. Важно, чтобы страдания животного были минимальны, например, использование анестетиков при проведении любой болезненной процедуры, постановка катетера в центральную вену при частых заборах образцов крови. Иногда животному показана эвтаназия - гуманное умерщвление животного, которое проводится ответственным лицом или под его непосредственным наблюдением. Оптимальным и универсальным методом умерщвления животных является введение анестетика в летальной дозе.

Необходимо подчеркнуть, что эксперименты не могут проводиться с использованием животных, если существуют другие замещающие способы получения соответствующих результатов. Этически правильно стремиться к улучшению условий содержания экспериментальных животных в виварии.

Принцип сокращения направлен на уменьшение количества задействованных в эксперименте животных. Это возможно при тщательной предварительной проработке «дизайна» исследования, в том числе с учетом предварительных результатов опытов *in vitro* и компьютерного моделирования. Оптимальный минимум необходимых для конкретного исследования животных устанавливается статистическим анализом. Вариабельность индивидуумов внутри вида как базовая проблема биологического эксперимента может быть решена при использовании генетически идентичных (чистопородных) животных.

Принцип замены предполагает проведение эксперимента с помощью научных технологий без использования животных во всех возможных случаях. Например, тестирование инсулина можно провести не биологическим способом на животных, а путем лабораторного хроматографического анализа. Полная замена животных в эксперименте маловероятна, поэтому биоэтически привлекательна идея разработки альтернативных моделей.

Выполнение индивидуальных заданий: Ознакомление со способами хранения культур клеток, используемых в научных экспериментах.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 5

Дата 25.03.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Планирование индивидуального научного эксперимента.

Содержание (ход работы): Разработка дизайна исследования. Создание рабочего протокола научного эксперимента.

1) Трипсинизировать нужные клетки. Перенести их в стерильный фалькон и подсчитать их количество с помощью камеры Горяева.

2) Для проведения острого теста в лунку 96-ти луночного планшета нужно вносить 10000÷20000 клеток, для хронического теста 1000÷2000 клеток. Объем среды вносимый в лунку 200 мкл. На 1 планшет готовится суспензия клеток объемом 20 мл в стерильной ванночке концентрацией 5000 клеток/мл (если вносить в лунку нужно 1000 клеток), клетки необходимо тщательно просуспензировать и разлить в планшет с помощью многоканального дозатора и стерильных наконечников.

3) Через 24 часа (на следующий день) готовятся серийные разведения (обычно разведения в 2 раза) веществ, цитотоксичность которых необходимо проверить в чистом (старом) планшете. При разведениях учитывается тот факт, что к клеткам можно добавлять анализируемые реагенты в объеме 1/10 от объема культуральной среды, т.е. 20 мкл до 200 мкл среды, т.е. будет происходить десятикратное разбавление всех добавляемых к клеткам растворов.

4) Перед тем, как добавить анализируемые вещества желательно заменить старую культуральную среду на свежую. При добавлении растворов нужно пользоваться многоканальным дозатором и стерильными наконечниками. Необходимо оставить лунки (чем больше, тем лучше) для положительного контроля (100% живых клеток) в которые вместо реагента добавлен равный объем буфера. Также необходимо оставить пустые лунки без клеток для негативного контроля (0% живых клеток) или если таких лунок не оставили непосредственно перед детектированием добавить к клеткам Triton X-100 до конечной концентрации 2% и оставить на 5 мин до полной гибели клеток.

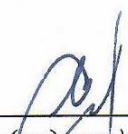
5) В случае острого теста, анализируемые вещества инкубируют с клетками в течение нескольких часов (часто 6 часов достаточно, для проявления эффектов). В случае хронического теста клетки должны пролифелировать в присутствии анализируемых веществ, поэтому инкубация продолжается 70 часов (3 суток).

6) По истечении времени инкубации, культуральная среда удаляется автоматическим отсасывателем (стараясь не задевать слой клеток). В чистой ванночке готовится реакционная смесь, в случае теста MTS: 9 мл культуральной среды + 900 мкл MTS + 150 мкл PMS. В случае теста МТТ: 9 мл среды + 1 мл реагента МТТ (5 мг/мл). Этот раствор в количестве 100 мкл вносится в каждую лунку.

7) Далее планшет ставится в CO₂ инкубатор на 1÷1.5 часа. После истечения времени инкубации проверяем наличие коричневой окраски в лунках. В случае MTS, если окраска появилась, планшет можно сразу анализировать на планшетном ридере. Регистрируют поглощение растворов при 490 нм, против референсного фильтра 640 нм. В случае теста МТТ, культуральная среда удаляется отсасывателем (аккуратно стараясь не задевать адгезированные на дне клетки), вместо нее в каждую лунку планшета вносится 100 мкл ДМСО. Для развития фиолетовой окраски планшет инкубировать 10-15 мин, желательно планшет покачать на качалке, для равномерной окраски. Далее анализируется поглощение растворов при 530 нм против 640 референсных.

8) Процент жизнеспособных клеток в каждой опытной лунке рассчитывается относительно положительного контроля (100% живых клеток). Далее строятся графики зависимостей жизнеспособности клеток в % относительно концентрации добавленных соединений. По этим графикам можно определить LD₅₀ веществ, т.е. концентрацию вызывающую гибель 50% клеток.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 6


Дата 27.03.2020 г

Характеристика занятий: лабораторное занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента

Содержание (ход работы): Работа в ламинарном шкафу.

- 1) Поднять стекло ламинара за держатели до достижения уровня, отмеченного на передней панели прибора черной точкой. После этого в ламинаре должен включиться свет.
 - 2) Далее на верхней передней панели прибора нужно нажать первую кнопку с изображением «вихря», после чего появится гул двигателя, запуститься вентиляция воздуха.
 - 3) В течение двух первых минут работы все кнопки ламинара неактивны, желательно выждать это время и не начинать работу сразу с целью достижения полной стерильности камеры.
 - 4) Перед работой необходимо простерилизовать рабочую поверхность ламинара с помощью салфетки, смоченной в 70% спирте. Следите за удобным расположением инструментов и реактивов на рабочем месте. Мысленно разделите рабочее место на условно грязную и чистую половины. Отсасыватель, банка для слива и др. не стерильные инструменты лучше располагать в грязной зоне.
 - 5) После работы из ламинара убираются все внесенные инструменты и реактивы. Поверхность еще раз дополнительно стерилизуется с помощью 70% спирта. Автоматический отсасыватель после работы необходимо промыть смесью проточной воды с «белизной».
 - 6) Для выключения ламинара необходимо просто опустить стекло за держатели вниз до упора, после этого должен стихнуть гул и погаснуть свет.
 - 7) При необходимости рабочее место можно простерилизовать после работы с помощью ультрафиолетового облучения. Для этого необходимо нажать крайнюю правую кнопку на передней панели прибора с изображением волны, после чего включиться ультрафиолетовое облучение на 30 мин и затем отключиться самостоятельно.
 - 8) Для пользования внутренними розетками ламинара необходимо включить вторую справа кнопку на верхней панели прибора с изображением 3-х квадратов.
- Выполнение индивидуальных заданий:** Подготовка рабочего места, оборудования, реагентов, рабочих растворов, посев клеточной культуры для выполнения индивидуального эксперимента.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 7

Дата 03.06.2020 г

Характеристика занятий: лабораторное занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента

Содержание (ход работы): Через несколько дней после посева клетки достигают монослоя и нуждаются в пересеве (пассаже). Процесс пролиферации клеток можно наблюдать в инвертированном микроскопе, а также косвенно по изменению цвета культуральной среды с красно-розового на желто-красный и впоследствии желтый. Для осуществления пересева необходимо:

1) Включить ламинар, обработать рабочую поверхность 70% этанол, проверить правильность расположения посуды и инструментов на столе ламинара. Рабочая поверхность ламинара подразделяется на условно грязную, где находятся отсасыватель, колба для сливов и др. не стерильные инструменты, и чистую зоны, где находятся стерильные пипетки, фласки и др. расходные материалы.

2) Заблаговременно достать из холодильника все необходимые реактивы (буферный раствор DPBS или р-р Хэнкса, р-р Трипсин-ЭДТА, культуральную среду DMEM или другую, если необходимо) и поставить в штатив. Прогревание. Помним, что располагать реактивы и инструменты на рабочей поверхности ламинара нужно таким образом, чтобы оставалось свободное пространство для манипуляций. Также перед тем, как вносить в ламинар фальконы с рабочими растворами их необходимо протереть салфеткой, опрысканной этанолом.

3) Достать из CO₂ инкубатора фласки с клетками, предварительно состояние степень пролиферации и адгезии клеток оценить на инвертированном микроскопе. Далее удалить культуральную среду с помощью автоматического отсасывателя и стерильных наконечников (с целью избегания контаминации одной клеточной линии другой для разных клеток нужно использовать разные наконечники).

4) Клетки дважды промыть буферным раствором Хэнкса или DPBS в количестве 1.5 мл для маленького флаaska (25 см²) и 3 мл для большого флаaska (75 см²). Буфер вносить автоматическим пипетором со стерильной серологической пипеткой, а удалять отсасывателем со сменным наконечником.

5) К клеткам добавить 1.5 мл в случае маленького флаaska и 3.5 мл в случае большого р-ра трипсина-ЭДТА. Клетки поставить в CO₂ инкубатор на 5 мин. По истечении времени инкубации необходимо визуально проверить степень трипсинизации клеток. Если клетки не отходят, флааск можно постучать, что бы механически помочь трипсинизации. Если и после этого клетки не сходят, нужно поменять р-р трипсина-ЭДТА.

6) Перед тем как суспензировать клетки в среде нужно убедиться, что они полностью отошли от подложки с помощью инвертированного микроскопа. Затем, к клеткам добавляется прогретая культуральная среда в объеме равном или превышающем объем добавленного р-ра трипсина-ЭДТА. Клетки тщательно суспензируются пипетированием автоматическим пипетором со сменной серологической пипеткой.

7) Далее клетки переносятся в стерильные фалькон (15 мл) или пробирку типа эппендорф (2 мл). Количество клеток подсчитывается на камере Горяева.

8) Для продолжения культивирования небольшой объем клеток (100-500 мкл в зависимости от плотности клеток) оставляют на дне фалькона. К этим клеткам добавляют свежую прогретую культуральную среду в объеме 5 мл для маленького флаaska или 10 мл для большого. На флааске подписывают дату пассажа и число пассажей (для первичных клеток). Перед тем, как закрыть флааск, необходимо проверить

наличие фильтра на его крышке, если он есть, фласк закрывается плотно, если нет, оставляется зазор для газообмена.

9) После работы необходимо все внесенные инструменты и реактивы убрать из ламинара, рабочую поверхность протереть салфеткой, смоченной в 70% спирте. Промыть отсасыватель водой с хлоркой. Закрывать ламинар и при необходимости включить ультрафиолетовую лампу.

NB: В процессе работы экономить серологические пипетки и сменные наконечники. На пересев одного флакса с клетками обычно уходит 2 серологические пипетки и два наконечника. Отбирать буферные растворы, раствор Хэнкса и среду DMEM можно одной и той же пипеткой, при условии, что она не находилась в контакте с клетками и при условии, что все эти растворы находятся в фальконах (не в стоковых банках). Если есть подозрение, что пипетка в процессе работы коснулась каких-либо не стерильных поверхностей, инструментов, клеток, ее необходимо тут же сменить.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 8


Дата 04.06.2020 г

Характеристика занятий: лабораторное занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента

Содержание (ход работы): Подготовка клеточной линии к инкубированию. Достать криопробирку с клеточной культурой из криохранилища. Пока она оттаивает, приготовить культуральный флакон с 5 мл полной питательной среды. В центрифужную пробирку перенести содержимое оттаявшей криопробирки и добавить еще 1-2 мл полной питательной среды для разбавления криопротектора. Отцентрифугировать (в Centrifuge 5702 RN) 5 мин при 1500 об/мин. Слить надосадочную жидкость. Ресуспендировать осадок клеток в 1 мл полной питательной среды и перенести в культуральный флакон. На флаконе подписать название культуры и дату посева. Поместить флакон в CO₂-инкубатор (5% CO₂, влажная атмосфера).

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 9

Дата 05.06.2020 г

Характеристика занятий: лабораторное занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента

Содержание (ход работы): Посев клеток в 96-луночный планшет. Достать флакон из CO₂-инкубатора и удалить питательную среду. Промыть клетки теплым дезинтегратором трипсин-ЭДТА 0,25% объемом 2 мл. С остаточным объемом дезинтегратора флакон поместить в CO₂-инкубатор на 5-7 мин. Убедившись, что клетки открепилась, перевести их из монослоя в суспензию, перенести в центрифужную пробирку, центрифугировать (в Centrifuge 5702 RH) 5 мин при 1500 об/мин, удалить надосадочную жидкость. Осадок ресуспендировать в 1 мл полной питательной среды и посчитать количество клеток с помощью камеры Нейбауэра. Приготовить суспензию клеток 2,5 млн клеток в 10 мл полной питательной среды. Посеять клетки в 96-луночный планшет методом раститровки клеточной суспензии в количестве 100 мкл на лунку. Концентрация клеток в первом ряду 96-луночного планшета должна составлять $2,5 \times 10^4$ тысяч клеток/лунка, затем аккуратно пипетируем раствор в лунках (5 раз) и 100 мкл клеточной суспензии переносим во 2-й ряд планшета. Повторяем процедуру посева клеток. По окончании процедуры помещаем планшет в CO₂-инкубатор на 24 часа.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 10

Дата 08.06.2020 г

Характеристика занятий: лабораторное занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента

Содержание (ход работы): Для работы с культурами клеток часто необходимо подсчитать количество клеток, содержащееся в 1 мл суспензии. Для этих целей существует простой метод подсчета клеток в гемоцитометре (камере Горяева).

1) Сначала нужно подготовить камеру. Шлифованное покровное стекло притирают к предметному стеклу гемоцитометра до появления колец Ньютона, так, чтобы покрыть заштрихованные области.

2) Для определения жизнеспособности клеток, клеточную суспензию можно окрасить. Для этого к клеткам добавляют равный объем 0,1%-ного трипанового синего. Этот краситель окрашивает только мертвые клетки.

3) Отбирают часть окрашенной или неокрашенной суспензии с помощью автоматического дозатора (достаточно 10 мкл) и заполняют счетную камеру гемоцитометра, используя капиллярное всасывание, не переполняя каналы камер.

4) Далее подсчитывают общее количество жизнеспособных клеток в 15 квадратах по диагонали камеры, включая клетки, касающиеся всех ограничивающих граней (если подсчитывать не по диагонали, считают клетки, касающиеся правой и верхней ограничивающих линий, но не клетки, касающиеся левой и нижней ограничивающих линий).

5) Формула для подсчета количества клеток в камере Горяева:

$$X = (A / B) \times 250000$$

где X — искомое количество клеток в 1 мл суспензии; A — сумма клеток, сосчитанных в определенном количестве квадратов; B — количество сосчитанных малых квадратов.

б) После окончания работы гемоцитометр следует промыть проточной водой, протереть салфеткой, смоченной в 70% спирте, затем сухой салфеткой и уложить в коробку.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 11

Дата 09.06.2020 г


Характеристика занятий: лабораторное занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента.

Содержание (ход работы): Работа на инвертированном микроскопе Carl Zeiss.

- 1) Включить пилот, расчехлить микроскоп.
- 2) Кнопку ON/OFF на боковой левой панели микроскопа перевести в положение ON.
- 3) Подождать 1-2 мин, на передней панели черное колесико, регулирующее интенсивность света, выкрутить максимально влево в выключенное положение.
- 4) На боковой правой панели нажать на черную верхнюю кнопку.
- 5) Колесико, регулирующее интенсивность света, выводим в комфортное положение.
- 6) При микроскопии не касаться объективами фласков и чашек.
- 8) Фокус настраивается с помощью колесика на правой и левой боковых панелях микроскопа. Для тонкой настройки фокусного расстояния на левой панели существует дополнительное колесико.
- 9) После окончания работы микроскоп выключить (сначала выкрутить черное колесико интенсивности света на 0, потом выключить черную кнопку справа, потом перевести кнопку ON/OFF слева в положение OFF) и зачехлить, также выключить пилот.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 12

Дата 10.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента.


Содержание (ход работы): Приготовление культуральной среды:

1) Для приготовления среды необходимо найти запечатанную банку той среды, которую необходимо приготовить (лежат в новом холодильнике при 4°C), L-глутамин и антибиотики (пенициллин/стрептомицин) по одной запечатанной пенициллинке (лежат в новом холодильнике при 4°C), а также замороженную в фальконах по 50 мл эмбриональную сыворотку телят (лежит в низкотемпературном морозильнике при -74°C).

2) Первым в банку среды переносится антибиотик (т.к. это порошок, берется 5 мл среды из банки, что бы его растворить, и затем вновь переносится в банку). Затем переносится L-глутамин и в последнюю очередь добавляется сыворотка. Если банка исходной среды стеклянная, всю среду нужно перенести в пластиковую банку на 500 мкл и только потом добавлять сыворотку (иначе не хватит объема).

3) На банке со средой пишут дату и перечисляют все внесенные компоненты. Среда храниться в холодильнике при 4°C. Для работы среда отбирается в 50 мл фальконы и перед добавлением к клеткам прогревается в CO₂ инкубаторе.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 13

Дата 11.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента.

Содержание (ход работы): Подготовка клеточной линии MCF-7 к инкубированию и посев клеток.


Достать криопробирку с клеточной культурой из криохранилища. Пока она оттаивает приготовить культуральный флакон с 5 мл полной питательной среды. В центрифужную пробирку перенести содержимое оттаявшей криопробирки и добавить еще 1-2 мл полной питательной среды для разбавления криопротектора. Отцентрифугировать (в Centrifuge 5702 RH) 5 мин при 1500 об/мин. Слить надосадочную жидкость. Ресуспендировать осадок клеток в 1 мл полной питательной среды и перенести в культуральный флакон.

На флаконе подписать название культуры и дату посева. Поместить флакон в CO₂-инкубатор (5% CO₂, влажная атмосфера).

Достать флакон из CO₂-инкубатора и удалить питательную среду. Промыть клетки теплым дезинтегратором трипсин-ЭДТА 0,25% объемом 2 мл. С остаточным объемом дезинтегратора флакон поместить в CO₂-инкубатор на 5-7 мин. Убедившись, что клетки открепилась, перевести их из монослоя в суспензию, перенести в центрифужную пробирку, центрифугировать (в Centrifuge 5702 RH) 5 мин при 1500 об/мин, удалить надосадочную жидкость. Осадок ресуспендировать в 1 мл полной питательной среды и посчитать количество клеток с помощью камеры Нейбауэра.

Приготовить суспензию клеток 2,5 млн клеток в 10 мл полной питательной среды. Посеять клетки в 96-луночный планшет методом раститровки клеточной суспензии в количестве 100 мкл на лунку. Концентрация клеток в первом ряду 96-луночного планшета должна составлять $2,5 \times 10^4$ тысяч клеток/лунка, затем аккуратно пипетируем раствор в лунках (5 раз) и 100 мкл клеточной суспензии переносим во 2-й ряд планшета. Повторяем процедуру посева клеток как показано на рисунке 1. По окончании процедуры помещаем планшет в CO₂-инкубатор на 24 часа. После 24 часов инкубации к культуре клеток MCF-7 аспирируем питательную среду из лунок и вносим по 90 мкл питательной среды и 10 мкл тестируемых соединений в различной концентрации (в данном тесте доксорубицин в 10-4, 10-4,5, 10-5, 10-5,5, 10-6, 10-6,5 и 10-7). Каждую концентрацию выполнить в трех повторностях. В контрольные лунки добавить 100 мкл питательной среды. Конечный объем среды в лунке должен составлять 100 мкл. Планшет с внесенными соединениями поместить в CO₂-инкубатор на 48 часов.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 14

Дата 15.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

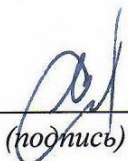
Тематический блок: Выполнение индивидуального научного эксперимента.

Содержание (ход работы): Выполнение МТТ-теста.

По истечении 48 часов инкубации культуральную среду с исследуемыми веществами удаляем из планшета с помощью вакуумного аспиратора и вносим 90 мкл новой среды в каждую лунку и по 10 мкл рабочего раствора МТТ. Инкубировать еще 2 часа в условиях CO₂-инкубатора.

Через 2 часа достать планшет из CO₂-инкубатора, заменить в каждой лунке среду (с помощью аспиратора) на 100 мкл раствора ДМСО. Встряхнуть планшет в шейкере (Thermo-Shaker PST-60HL) до растворения кристаллов формазана. С помощью планшетного ридера (CLARIOstar) определить оптическую плотность каждой лунки при 455 и 555 нм, вычесть измеренное фоновое поглощение при 650 нм. Значение концентрации, вызывающее 50% ингибирование роста популяции клеток (IC₅₀), определить на основе дозозависимых кривых.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 15

Дата 16.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Изучение индивидуального научного эксперимента.

Содержание (ход работы): Обработка и оформление результатов измерений
Обработка результатов измерений осуществляется с помощью программного обеспечения MARS (CLARIOstar Data Analysis), установленной на рабочей станции планшетного ридера CLARIOstar. Выживаемость клеток MCF-7 в присутствии исследуемого вещества рассчитывается по формуле: $(\text{ОП опытных лунок (555nm)} - \text{ОП опытных лунок (650 nm)}) / (\text{ОП контр. лунок (555 nm)} - \text{ОП контр. Лунок (650 nm)}) \times 100\%$, где ОП — оптическая плотность.

При этом ОП не должна превышать 0,05 ед. (по шкале 0,0–1,0).

Стандартное отклонение рассчитывается по формуле: $\sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(n-1)}}$, где где x — выборочное среднее значение (число1, число2, ...), n — размер выборки. Концентрация вещества, которая вызывает 50% гибель клеток (IC50), рассчитывается графически по дозозависимой кривой с помощью программного обеспечения Origin (OriginLab

Corporation). Значение функции рассчитывается по формуле: $y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{(\text{LOG}x_0 - x)^p}}$,

а значение IC50 по формуле: $EC50 = 10^{\text{LOG}x_0}$.

Результаты измерений оформляются в виде таблиц, с использованием табличного редактора MS Excel.

Выполнение индивидуальных заданий: Изучение стандартной операционной процедуры.


(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 16

Дата 17.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Систематизация полученных экспериментальных данных.

Содержание (ход работы): Всю собранную первичную научную информацию следует регистрировать. Формы регистрации могут быть разными:

- оформление новой информации на специальных бланках, анкетах, статистических карточках, образующих в результате тематическую картотеку;
- записи различного характера, в том числе наблюдения, записанные в лабораторных журналах, выписки из протоколов заседаний кафедры и т.п.;
- графики, рисунки, схемы и другие графические материалы;
- фиксация научной информации методами фотографии;
- научные отчеты;
- расчеты, выполненные с помощью компьютерных программ;
- выписки из анализируемых литературных источников, документов (авторефераты, диссертации, статьи, книги и др.).

Рекомендуется делать записи ценных мыслей, пришедших неожиданно, не откладывая. На начальной стадии организации научного исследования представляется необходимым выбрать наиболее приемлемую систему хранения первичной документации. Это поможет облегчить пользование собранными материалами и сберечь в дальнейшем много времени.

Одновременно с регистрацией собранного материала следует вести его группировку, сопоставлять, сравнивать полученные цифровые данные и т.п. При этом особую роль играет классификация, без которой невозможно научное построение или вывод. Классификация дает возможность наиболее коротким и правильным путем войти в круг рассматриваемых вопросов. Она облегчает поиск и помогает установить ранее не замеченные связи и зависимости. Проводить классификацию нужно в течение всего процесса изучения материала. Она является одной из центральных и существенных частей общей методологии любого научного исследования.

Процесс сбора, фиксации, хранения и классификации первичной научной информации желательно завершить написанием целостного обзорного текста, обобщающего и систематизирующего информацию.

Выполнение индивидуальных заданий: Систематизация первичных данных в программе GraphPad Prism, сопоставление с более ранними исследованиями, с данными иностранных источников.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 17

Дата 18.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Систематизация полученных экспериментальных данных.

Содержание (ход работы): Статистическим критерием называют определённое правило, задающее условия, при которых проверяемую нулевую гипотезу следует либо отклонить, либо принять.

Критерии подразделяются на три типа:

1. Критерии значимости, которые служат для проверки гипотез о параметрах распределений генеральной совокупности (чаще всего нормального распределения). Эти критерии называются параметрическими (критерии Стьюдента, Фишера и др.).
2. Критерии, которые для проверки гипотез не используют предположений о распределении генеральной совокупности. Эти критерии не требуют знания параметров распределений, поэтому называются непараметрическими (критерии Уилкоксона, Манна-Уитни).
3. Критерии, служащие для проверки гипотез о согласии распределении генеральной совокупности, из которой получена выборка, с ранее принятой теоретической моделью (чаще всего нормальным распределением), называются критериями согласия (критерий Шапиро-Уилка, хи-квадрат).

С помощью критериев (K) выбирают одну из гипотез: нулевую или конкурирующую. Значение критерия, вычисленное по данным выборки, называют наблюдаемым значением критерия ($K_{\text{набл}}$). Совокупность значений критерия, при которых отвергают нулевую гипотезу, называют критической областью. Совокупность значений критерия, при которых нулевую гипотезу принимают,

называют областью принятия гипотезы (областью допустимых значений). Указанные области разграничены критическим (граничным) значением критерия, который находится по соответствующей таблице.

Основной принцип проверки статистических гипотез заключается в том, что если наблюдаемое значение критерия принадлежит критической области, то нулевую гипотезу отвергают и принимают конкурирующую. Если же оно принадлежит области принятия гипотезы – нулевую гипотезу принимают и отвергают конкурирующую.

Выполнение индивидуальных заданий: Разобрали параметрические и непараметрические критерии и их отличия.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 18

Дата 19.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие.

Тематический блок: Систематизация полученных экспериментальных данных.

Содержание (ход работы): Нелинейная регрессия – регрессионная модель зависимости результативной переменной от одной или нескольких объясняющих переменных, выражаемая в виде нелинейной функции. Все нелинейные модели регрессии могут быть разделены на парные и множественные.

Выбор формы связи нелинейной зависимости осуществляется по следующим критериям:

- исходя из содержательного анализа исследуемого явления;
- на основе результатов анализа взаимосвязи между переменными, например, с помощью графического метода.

Для оценки параметров нелинейных регрессий могут использоваться два подхода:

- линеаризация уравнения с помощью подходящих преобразований и оценка его параметров с помощью метода наименьших квадратов;
- оценка параметров на основе метода максимального правдоподобия и применение итеративных процедур методов оптимизации.

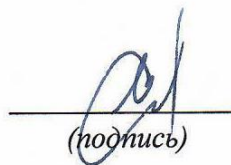
Различают два класса нелинейных регрессий:

- нелинейные регрессии по включаемым в них предикторам, но линейные по параметрам;
- нелинейные регрессии по включаемым в них предикторам и по оцениваемым параметрам.

Функции, нелинейные по объясняющим переменным, можно свести к линейным с помощью замены переменных. Функции, нелинейные по оцениваемым параметрам и переменным-факторам, сводят к линейным моделям с помощью логарифмирования и замены переменных. В случае невозможности подбора линеаризующего преобразования для оценки параметров используют методы нелинейной оптимизации на основе исходных данных.

На практике наилучшую нелинейную модель выбирают обычно на основе наименьшей остаточной стандартной ошибки, рассчитанной для различных моделей. При сопоставимой точности нескольких нелинейных моделей выбирать всегда следует более простую модель.

Выполнение индивидуальных заданий: Выполнили статистическую обработку данных МТТ-теста в программе GraphPad Prism в режиме колоночной статистики методом нелинейного 3-х параметрового регрессионного анализа.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 19

Дата 20.06.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие

Тематический блок: Правила и требования к оформлению научных публикаций.

Публичное представление результатов научного исследования.

Содержание (ход работы): Время доклада 5-7 минут. После доклада - вопросы слушателей и ответы.

Сначала должно прозвучать название работы и фамилии авторов.

Перед началом вашего доклада необходимо поприветствовать всех присутствующих в аудитории.

1. Введение

В этой части необходимо обосновать необходимость проведения исследования и его актуальность.

2 Теоретическая часть

Необходимо показать сегодняшний уровень понимания проблемы и на основании теории попытаться сформулировать постановку задачи.

3.Наглядно-иллюстративная часть

Методика или способ исследования должна быть обоснована. Поясните, покажите её преимущества и возможности при проведении исследования.

4. Результаты работы.

Перечислите результаты работы, представленные в виде графически оформленных статистических данных.

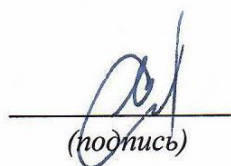
Правила оформления презентации

- Титульный лист с заголовком темы и автором исполнения презентации;
- Основная часть (не более 10 слайдов);
- Заключение (выводы);
- Спасибо за внимание (подпись).

Общие требования к стилевому оформлению:

- Дизайн должен быть простым и лаконичным;
- Основная цель - читаемость, а не субъективная красота;
- Цветовая гамма должна состоять не более чем из двух – трёх цветов;
- Использовать встроенные эффекты анимации можно для привлечения внимания слушателей (последовательное появление элементов диаграммы).

Выполнение индивидуальных заданий: Представили результаты работы в виде презентации Microsoft PowerPoint.



(подпись)

Д.С. Яковлев

ПРОТОКОЛ № 20


Дата 26.08.2020 г

Характеристика занятий: практическое занятие

Тематический блок: Зачетное занятие.

Содержание (ход работы): Размещение отчетной документации по практике в электронной информационно-образовательной среде ВолгГМУ.

Выполнение индивидуальных заданий: Получение зачета и последующее размещение отчетной документации по практике в электронной информационно-образовательной среде ВолгГМУ.



(подпись)

Д.С. Яковлев

**«КОНТРОЛЬНЫЙ ЛИСТ ИНСТРУКТАЖА СТУДЕНТА ПО ТЕХНИКЕ
БЕЗОПАСНОСТИ, ПОЖАРНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ И ОХРАНЕ
ТРУДА»**

Контроль ознакомления студента (студентки) с правилами поведения (техникой безопасности, пожарной безопасности и охраны труда) в лаборатории, экспериментальной и др. помещениях при прохождении производственной (преддипломной) практики – научно-исследовательской работы

Я, студентка 3 группы 5 курса медико-биологического факультета специальности 30.05.01 Медицинская биохимия

Иванова

Яна

Андреевна

Ознакомлена с правилами поведения (техникой безопасности, пожарной безопасности и охраны труда) в лаборатории, экспериментальной и др. помещениях при прохождении производственной (преддипломной) практики – научно-исследовательской работы, обязуюсь соблюдать их и выполнять законные распоряжения руководителя практики.

Подпись студента  / Иванова Я.А./

Руководитель практики, проводивший инструктаж
профессор кафедры фармакологии и биоинформатики, д.м.н.


(подпись)

/ Косолапов В.А./

Дата 11.03.2020 г.