

Белорусский государственный университет

УТВЕРЖАЮ

Проректор по учебно-научной работе

Голетик

« 08 »

2016

Регистрационный № 1621/уч.



**ЛАБОРАТОРИЯ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ
«БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
НАНОСИСТЕМ»**

**Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности
1-31 04 07 Физика наноматериалов и нанотехнологий**

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 04 07-2013 и учебных планов УВО №G31-143/уч. и №G31и-179/уч.

СОСТАВИТЕЛИ:

Е.И. Коваленко – доцент кафедры биофизики Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент;

П.М. Булай – доцент кафедры биофизики Белорусского государственного университета, кандидат физико-математических наук

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой биофизики физического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 12 от 31.05. 2016 г.);

Советом физического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 11 от 27.06. 2016 г.).

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Программа лаборатории специализации «Биофизические методы исследования наносистем» разработана для специальности 1-31 04 07 Физика наноматериалов и нанотехнологий (специализация «Нанобиоматериалы и нанобиотехнологии») и рассчитана на студентов 4-го курса.

Целью лаборатории специализации является практическое освоение студентами современных физических методов анализа структуры и свойств наносистем, в частности, нанобиоматериалов. К нанобиоматериалам, изучаемым в практикуме, можно отнести биополимеры (белки, ДНК), бислойные модельные и природные мембраны, а также органические и неорганические объекты, находящиеся в клетках или биотканях. Важное место в изучении структуры и свойств наносистем занимают методы оптической «наномикроскопии» и молекулярной визуализации, связанные с использованием специализированных лазерных устройств и флуоресцентных зондов. Все большее применение получают методы конфокальной и рамановской микроскопии. Флуоресцентные метки и зонды, а также хемилюминесцентные индикаторы используются в изучении свойств природных биосистем, а также при создании оптических биосенсоров. В связи с этим в лабораторию специализации включены лабораторные работы «Метод флуоресцентных зондов в исследовании нанобиоматериалов», «Конфокальная флуоресцентная и рамановская микроскопия», «Хемилюминесцентный анализ биообъектов». Работа «Нефелометрический анализ биообъектов» направлена на практическое освоение методов, основанных на изучении светорассеяния, которые позволяют изучать геометрические характеристики дисперсных частиц. В работе «Бислойные липидные мембраны» рассматриваются методы создания и изучения модельных бислойных липидных мембран, позволяющие исследовать множество разнообразных свойств мембран, проводить изучение веществ, оказывающих модифицирующее влияние на липиды (мембраны), изучать трансмембранный транспорт веществ, исследовать фазовые переходы в мембранах, изучать электрофизические характеристики мембран. Математические методы играют одну из ключевых ролей в биофизических исследованиях. Применение методов вычислительной математики при обработке экспериментальных результатов позволяет получать информацию о строении и функциональной динамике биологических объектов.

Материал курса основан на знаниях и представлениях, заложенных при изучении ряда физических и биофизических дисциплин, включая спецкурсы «Спектральные методы исследования нанобиоматериалов», «Компьютерный эксперимент в биофизике», «Основы биохимии. Клеточная физиология», «Основы молекулярной биофизики», в которых изучаются базовые принципы структурированности и функционирования биомолекул и клеток, рассматриваются теоретические основы спектроскопии и спектрально-оптические методы изучения биообъектов, а также основы компьютерного эксперимента в биофизике.

В результате изучения дисциплины студент должен:

знать:

- основы качественного и количественного анализа нанобиообъектов и наноматериалов различными биофизическими методами,
- устройство основных приборов для проведения биофизических исследований нанобиообъектов,
- методы математического анализа и компьютерного эксперимента, применяемые для исследования нанобиообъектов и наноматериалов,

уметь:

- подготавливать образцы для проведения биофизических исследований,
- планировать эксперимент,
- проводить измерения с использованием различного оборудования,
- проводить математическую обработку полученных экспериментальных данных,
- строить математические модели и выполнять компьютерный эксперимент,
- формулировать краткие, четкие выводы в соответствии с поставленной в работе целью, анализировать причины расхождения результатов экспериментов с теорией.

владеть:

- препаративными методиками работы с биообъектами,
- основными биофизическими методиками исследования,
- базовыми математическими методами обработки экспериментальных данных и компьютерного эксперимента.

Освоение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций.

Академические компетенции:

1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения практических задач.
2. Владеть системным и сравнительным анализом.
3. Владеть исследовательскими навыками.
4. Уметь работать самостоятельно.
5. Быть способным порождать новые идеи (обладать креативностью).
6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.
7. Иметь навыки, связанные с использованием технических устройств, управлением информацией и работой с компьютером.
8. Обладать навыками устной и письменной коммуникации.
9. Уметь учиться, повышать свою квалификацию в течение всей жизни.

Социально-личностные компетенции:

1. Быть способным к социальному взаимодействию.
2. Обладать способностью к межличностным коммуникациям.

3. Быть способным к критике и самокритике (критическое мышление).
4. Уметь работать в команде.

Профессиональные компетенции:

1. Применять знания теоретических и экспериментальных основ физики наноматериалов и нанотехнологий, методов исследования физических объектов, методов измерения физических величин, методов автоматизации эксперимента, методов планирования.
2. Осуществлять на основе методов математического моделирования оценку эксплуатационных параметров функциональных наноматериалов и технологических процессов их получения.
3. Пользоваться компьютерными методами сбора, хранения и обработки информации, системами автоматизированного программирования, научно-технической и патентной литературой.
5. Применять полученные знания фундаментальных положений физики, экспериментальных, теоретических и компьютерных методов исследования, планирования, организации и ведения научно-технической работы.
6. Использовать новейшие открытия в естествознании, методы научного анализа, информационные образовательные технологии, физические основы современных технологических процессов, включая нанотехнологии.
7. Пользоваться глобальными информационными ресурсами.
8. Осуществлять поиск, систематизацию и анализ информации по перспективным направлениям развития отрасли, инновационным технологиям, проектам и решениям.

Общее количество часов, отводимое на изучение учебной дисциплины — 136. Из них аудиторных – 78 часов (лабораторные работы).

Форма получения высшего образования – дневная.

Занятия проводятся на 4-м курсе в 8-м семестре.

Форма промежуточного контроля – отчеты по лабораторным работам (в письменной форме, в печатном или электронном виде), форма текущего контроля по учебной дисциплине — зачет (в устной форме).

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Лабораторная работа 1. Колебательная спектроскопия биообъектов. Спектры поглощения аминокислот и белков в ИК-диапазоне. Характеристические колебания (группы) и положение соответствующих полос. Влияние образования водородных связей на колебательные спектры молекул. Анализ вторичной структуры белка.

Лабораторная работа 2. Метод флуоресцентных зондов в исследовании нанобиообъектов и наноматериалов. Основные параметры, характеризующие флуоресценцию зондов, и их зависимость от полярности растворителя. Изменение параметров флуоресценции зондов при связывании с биообъектом. Определение константы связывания зонда с биообъектом.

Лабораторная работа 3. Спектрофотометрия хромопротеинов. Анализ ферментативных реакций, катализируемых гем-содержащими белками, по спектрам поглощения в видимом диапазоне. Определение типа гемоглобина по спектральным характеристикам.

Лабораторная работа 4. Хемилюминесцентный анализ биообъектов. Анализ реакций образования свободных радикалов. Использование химических и физических усилителей свечения. Хемилюминесцентный анализ ферментативных реакций в молекулярных и клеточных дисперсных системах.

Лабораторная работа 5. Нефелометрический анализ биообъектов Индикатриса малоуглового светорассеяния. Определение размеров дисперсных частиц. Изучение процессов агрегатообразования и деструкции частиц.

Лабораторная работа 6. Бислойные липидные модельные мембраны. Возможности метода БЛММ в исследовании характеристик структурно-функциональных свойств мембран, «каналоформеров», трансмембранного транспорта нанобиоматериалов. БЛММ как неидеальный конденсатор: определение электрической емкости, проводимости, сопротивления, напряжения пробоя, переносимого заряда по вольтамперным характеристикам БЛММ.

Лабораторная работа 7. Конфокальная флуоресцентная микроскопия биообъектов. Особенности и возможности флуоресцентной конфокальной микроскопии. Исследование структурной организации цитоскелета клеток с помощью конфокальной флуоресцентной микроскопии.

Лабораторная работа 8. Конфокальная рамановская спектроскопия биообъектов. Основы рамановской микроскопии, возможности данного метода в изучении биообъектов. Получение и анализ спектров комбинационного рассеяния белков.

Лабораторная работа 9. Методика регистрации электрофизиологических параметров клеток методом пэтч-клэмп. Технология метода. Анализ электрических эквивалентных схем основных конфигураций пэтч-клэмп. Изготовление стеклянных микропипеток с помощью пуллера Sutter P-97. Выделение клеток для исследования их электрофизиологических характеристик. Разработка растворов (внеклеточного и внутрипипеточного) для успешного получения гигаомного контакта. Регистрация и анализ электрофизиологических параметров мембран клеток методом пэтч-клэмп.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела,	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Литература	Формы контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Колебательная спектроскопия биообъектов. Спектры поглощения аминокислот и белков в ИК-диапазоне. Характеристичные колебания (группы) и положение соответствующих полос. Влияние образования водородных связей на колебательные спектры молекул. Анализ вторичной структуры белка.				9			[1-3]	отчет
2	Метод флуоресцентных зондов в исследовании нанобиообъектов и наноматериалов. Основные параметры, характеризующие флуоресценцию зондов, и их зависимость от полярности растворителя. Изменение параметров флуоресценции зондов при связывании с биообъектом. Определение константы связывания зонда с биообъектом.				9			[4,5]	отчет
3	Спектрофотометрия хромопротеинов. Анализ ферментативных реакций, катализируемых гем-содержащими белками, по спектрам поглощения в видимом диапазоне. Определение типа гемоглобина по спектральным характеристикам.				9			[1,8,9]	отчет
4	Хемилюминесцентный анализ биообъектов. Анализ реакций образования свободных радикалов. Использование химических и физических усилителей свечения. Хемилюминесцентный анализ ферментативных реакций в молекулярных и клеточных дисперсных системах.				9			[10,11]	отчет
5	Нефелометрический анализ биообъектов Индикатриса малоуглового светорассеяния. Определение размеров дисперсных частиц. Изучение				9			[7,12]	отчет

	процессов агрегатообразования и деструкции частиц.								
6	Бислойные липидные модельные мембраны (БЛММ). Возможности метода БЛММ в исследовании характеристик структурно-функциональных свойств мембран, «каналоформеров», трансмембранного транспорта нанобиоматериалов. БЛММ как неидеальный конденсатор: определение электрической емкости, проводимости, сопротивления, напряжения пробоя, переносимого заряда по вольтамперным характеристикам БЛММ.				9			[13,14]	отчет
7	Конфокальная флуоресцентная микроскопия биологических объектов. Особенности и возможности флуоресцентной конфокальной микроскопии. Исследование структурной организации цитоскелета клеток с помощью конфокальной флуоресцентной микроскопии.				6			[6-7]	отчет
8	Конфокальная рамановская спектроскопия биологических объектов. Основы рамановской микроскопии, возможности данного метода в изучении биообъектов. Получение и анализ спектров комбинационного рассеяния белков.				6			[6-7]	отчет
9.1	Методика регистрации электрофизиологических параметров клеток методом пэтч-клэмп								отчет
9.2	Технология метода. Анализ электрических эквивалентных схем основных конфигураций пэтч-клэмп. Изготовление стеклянных микропипеток с помощью пуллера Sutter P-97.				6			[15-17]	отчет
	Выделение клеток для исследования их электрофизиологических характеристик. Разработка растворов (внеклеточного и внутрипипеточного) для успешного получения гигаомного контакта. Регистрация и анализ электрофизиологических параметров мембран клеток методом пэтч-клэмп.				6			[15-17]	отчет
	Всего часов				78				зачет

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Рекомендуемая литература

Основная

1. Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем — М.: Мир, 2005.
2. Купцов А.Х., Жижин Г.Н. Фурье-спектры комбинационного рассеяния и инфракрасного поглощения полимеров. Справочник. - М.: URSS, 2001.
3. Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия. В 3-х т. Т.2. – М.: Мир, 1984.
4. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. — М. Наука, 1989.
5. Люминесценция: пособие для студ. физич. фак. / И.М. Гулис, А.И. Комяк. - Минск : БГУ, 2009.
6. Штейн Г.И. Руководство по конфокальной микроскопии - СПб: ИНЦ РАН, 2007.
7. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2-х томах. - Физматлит, 2007.
8. Соловьев К.Н., Гладков Л.Л., Старухин А.С. Шкирман С.Ф. Спектроскопия порфиринов: колебательные состояния. — Минск, Наука и техника, 1985.
9. Научные основы нанотехнологий и новые приборы. Учебник-монография под редакцией Р.Келсалла, А.Хамли, М.Геогегана – Долгопрудный, Изд. «Интеллект», 2011.
10. Современные проблемы биохимии: учебное пособие. - Витебск: УО "ВГУ им. Машерова", 2010.
11. Современные проблемы биохимии. Методы исследований. – М.: «Высшая школа», 2013.
12. Лопатин В.Н., Приезжев А.В., Апонасенко А.Д. Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред — М.: Физматлит, 2004.
13. Биологические мембраны: учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений физ., биол., биохим., биотехнол. специальностей / С. Н. Черенкевич, Г. Г. Мартинович, А. И. Хмельницкий. - Минск : БГУ, 2009
14. Геннис Р. Биологические мембраны: молекулярная структура и функции. – М. Мир, 1997.
15. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches / O.P. Hamill [et al.] // Pflügers Archiv - European Journal of Physiology. – 1981. – Vol. 391, № 2. – P. 85-100.
16. Molleman, A. Patch clamping: an introductory guide to patch clamp electrophysiology / A. Molleman. – New York: J. Wiley, 2003.
17. Patch clamp techniques: from beginning to advanced protocols : Springer protocols handbooks / ed. Y. Okada. – Tokyo ; New York : Springer, 2012.

Перечень используемых средств диагностики результатов учебной деятельности

1. Отчеты по лабораторным работам.
2. Устный опрос.

Рекомендации по контролю качества усвоения знаний и проведению аттестации

Промежуточный контроль (П, максимум 10 баллов) рассчитывается как среднее арифметическое оценок за выполнение лабораторных работ (L_i , $i=1,2,...,9$). Оценка за выполнение лабораторной работы выставляется на основе того, как студент проводил подготовку к эксперименту, выполнял экспериментальные исследования (качественность, методичность, аккуратность, самостоятельность), проводил математический анализ полученных данных, в том числе с использованием компьютерных программ; учитывается оформление отчета с представлением таблиц, графиков, расчетов (выполненных с использованием компьютерных программ) и качественность анализа данных с учетом теоретических сведений и формулировкой выводов.

Оценка промежуточного контроля:
$$П = \frac{\sum_{i=1}^9 L_i}{9}$$

Лабораторные работы должны быть выполнены не ниже чем на 4 балла, в противном случае – пересданы, а в случае пропуска занятия (по уважительной причине) – выполнены в другой день. Оценки ниже 4 рассматриваются как невыполненное контрольное мероприятие и являются основанием недопуска к зачету. Для студентов, получивших неудовлетворительные оценки за контрольные мероприятия, либо не явившихся по неуважительной причине, по согласованию с преподавателем и с разрешения заведующего кафедрой мероприятие может быть проведено повторно.

Текущий контроль по дисциплине – зачет в устной форме, на котором студент должен проанализировать полученные экспериментальные данные и ответить на вопросы по теме.

ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ, 2018/2019 г.

Зачет проводится в устном виде и включает одно задание исследовательского характера из первой части списка вопросов к зачету и 2 вопроса из второй части списка

Часть 1.

1. Поставлена задача: изучить взаимодействие новых наночастиц с живыми клетками. Предполагается, что данные наночастицы могут приводить к изменению размеров и формы клеток, влиять на процессы лизиса и агрегации клеток. Предложите оптические методики для определения структурных параметров клеток и кинетических исследований агрегации и деструкции клеток.

2. Изучается новое вещество, которое предположительно может ингибировать активность фермента, содержащего в активном центре гемовую группу. Предложите спектральные методики для исследования взаимодействия изучаемого вещества с данным ферментом, а также способ определения механизма ингибирования (конкурентный, бесконкурентный, неконкурентный, смешанный тип ингибирования).

3. Исследуется влияние углеродных нанотрубок (УНТ) на эритроциты крови человека. Измерены индикатрисы малоуглового светорассеяния отмытых образцов эритроцитов, предварительно проинкубированных в отсутствие (контрольные образцы) или присутствии УНТ (образцы ЭР-УНТ). Выявлено, что в контрольных образцах индикатрисы светорассеяния включают по два пика, максимумы которых соответствуют углам рассеяния $3,5^\circ$ и 9° , а в образцах ЭР-УНТ – только один пик, максимум которого соответствует углу рассеяния $5,5^\circ$. Проанализируйте влияние УНТ на эритроциты, определите насколько изменилась площадь поверхности и объем клеток.

4. Предложите способы анализа количественных и структурных характеристик ядерной ДНК в препаратах, подвергнутых воздействию некоего исследуемого вещества, с применением методов спектроскопии. Предложите способ выявления групп, по которым происходит связывание изучаемого вещества с молекулой ДНК.

5. Предложите различные способы выявления структурных перестроек в молекуле белка, вызванных неким изучаемым воздействием, с применением спектральных методов исследований.

6. В рамках выполнения НИР необходимо исследовать способность определенного вещества взаимодействовать с липидами, приводить к изменению свойств липидных мембран, влиять на ионную проводимость и другие свойства мембран. Предложите методики для соответствующих исследований с применением электрофизических и оптических методов.

7. В работе исследуются новые наноматериалы, которые могут влиять на метаболические процессы в организме, приводить к изменению состава крови, и, в частности, накапливаться в эритроцитах. Предполагается, что при этом в эритроцитах может происходить изменение количества различных форм

гемоглобина. Предложите с помощью каких экспериментальных методик можно проверить высказанные в работе гипотезы. Предложите методику расчета концентрации следующих форм гемоглобина в смеси: дезоксигемоглобина, оксигемоглобина, карбоксигемоглобина и нитрозилированного гемоглобина.

8. Предложите способы исследования процессов генерации АФКХА живыми клетками и влияния на данные процессы изучаемых наночастиц (с применением оптических аналитических методов).

Часть 2.

1. Методы клеточной инженерии
2. Современные методы редактирования геномов
3. CRISPR/cas9 системы
4. Инженерия животных (модели на мышах) как инструмент получения моделей заболеваний человека
5. Стимуляция клеточных функций физическими факторами
6. Трансмембранный клеточный потенциал
7. Потенциал-зависимые клеточные каналы
8. Метод «пэтч-кламп»
9. Регистрация равновесного мембранного потенциала
10. Регистрация трансмембранных токов
11. Составы внеклеточных и внутриэлектродных растворов, используемые в методе «пэтч-кламп»
12. Осмолярность и осмотическое давление
13. Гипертонические, гипотонические и изотонические растворы
14. Роль усилителя с отрицательной обратной связью в реализации метода «пэтч-кламп»
15. Гигаомный контакт и возможные конфигурации стеклянной микропипетки и мембраны клетки
16. Реакции непрямой агглютинации
17. Гипотезы Маррека и Полинга соединения антигенов и антител
18. Система групп крови АВ0: антигены на эритроцитах и антитела в плазме крови
19. Опишите вариации агглютинации эритроцитов различных групп крови с сыворотками, содержащими различные антитела
20. Какие ошибки могут возникнуть при определении групповой принадлежности крови?

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

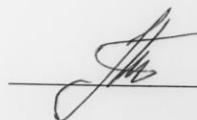
Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Спектральные методы исследования нанобиоматериалов	Кафедра биофизики	Замечаний нет	Изменение не требуется протокол № 12 от 31.05.2016
Основы молекулярной биофизики	Кафедра биофизики	Замечаний нет	Изменение не требуется протокол № 12 от 31.05.2016
Основы биохимии. Клеточная физиология	Кафедра биофизики	Замечаний нет	Изменение не требуется протокол № 12 от 31.05.2016
Компьютерный эксперимент в биофизике	Кафедра биофизики	Замечаний нет	Изменение не требуется протокол № 12 от 31.05.2016

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО
на 2018/2019 учебный год

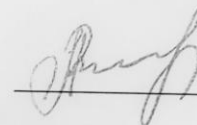
№№ пп	Дополнения и изменения	Основание
	<i>Внести в список литературы:</i> <i>1. Салытов В.О. Медицинская биофизика - СПб. "Лань" - 2013г.</i> <i>2. Черномы А.М. "Физика и биофизика." - М. ГЭОТАР Медиа - 2013г.</i> <i>3. Ремизов А.Н. "Медицинская и биологическая физика: учебник" - М. ГЭОТАР Медиа - 2013г.</i>	

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
(протокол № 13 от 23.05.2018 г.)

Заведующий кафедрой
биофизики
д.б.н., доцент

 Г.Г.Мартинович

УТВЕРЖДАЮ
Декан физического факультета
д.ф.-м.н., профессор

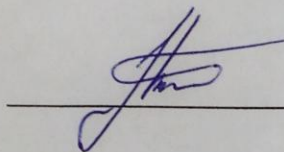
 В.М. Анищик

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО
на 2019/2020 учебный год

№№ пп	Дополнения и изменения	Основание
1.	Внесено изменение в список вопро- сов к зачёту.	
2.	Изменена форма проведения зачёта: часть вопросов к зачёту - Эвристического (исследователь- ского плана), по темам соответ- ствуют выполненным лабор. работам.	
3.	Сделано внедрение в учебный процесс: "Спектрально-оптич. анализ взаим. УНТ с электро- магнитом" (выпол. работ из ИИУС)	
4.	Внесено изменение в содержание учебного материала	

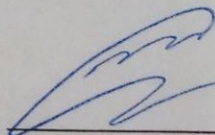
Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
(протокол № 10 от 27.05.2019 г.)

Заведующий кафедрой
биофизики
д.б.н., доцент



Г.Г.Мартинovich

УТВЕРЖДАЮ
Декан физического факультета
к.ф.-м.н., доцент



М.С.Тиванов