

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
и образовательным инновациям
 О.Н. Здрок
«14» июня 2021 г.
Регистрационный № УД- 9746 /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

2021 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 04 07-2013 и учебных планов УВО №G31-218/уч. от 20.02.2018 г., №G31и-219/уч. от 20.02.2018 г.

СОСТАВИТЕЛИ:

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

Е.В. Шамова – доцент кафедры биофизики Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук

РЕЦЕНЗЕНТ:

Д.Г. Щербин – заведующий лабораторией нанобиотехнологий ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», доктор биологических наук, доцент.

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой биофизики физического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 11 от 26.04.2021 г.);

Научно-методическим Советом БГУ (протокол № 5 от 24.05.2021 г.)

Заведующий кафедрой биофизики
д.б.н., доцент



Г.Г. Мартинович

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Цели и задачи учебной дисциплины

Цель учебной дисциплины: практическое освоение современных физических методов анализа структуры и свойств наносистем, в частности, нанобиоматериалов.

Задачи учебной дисциплины:

1. Получение студентами навыков практической работы с различным оптическим оборудованием (нефелометры, хемилюминометры, ИК-спектрофотометры, микроскопы для рамановской и флуоресцентной микроскопии), а также установками для исследования электрических свойств биообъектов и модельных структур

2. Получение студентами навыков препаративной работы с биообъектами и проведения оптических исследований биообъектов и измерения их электрических характеристик.

3. Освоение студентами методов математической обработки, графического представления, статистической обработки экспериментальных данных с применением компьютерных средств.

4. Приобретение студентами опыта в применении базовых научно-теоретических знаний для решения практических задач, анализа данных.

5. Ознакомление студентов на практике с различными факторами, влияющими на характеристики исследуемых материалов.

Место учебной дисциплины в системе подготовки специалиста с высшим образованием.

Учебная дисциплина относится к **циклу** дисциплин специализации компонента учреждения высшего образования.

Учебная дисциплина базируется на знаниях и представлениях, заложенных при изучении ряда физических дисциплин, в которых рассматриваются основы физических методов исследования конденсированных материалов. Программа дисциплины тесно **связана** с дисциплинами «Основы биохимии. Клеточная физиология» (5 семестр) и «Основы молекулярной биофизики» (6 семестр), «Спектральные методы исследования нанобиоматериалов» (7 семестр), лаборатория специализации «Спектральные методы исследования в биофизике» (7 семестр).

Требования к компетенциям

Освоение учебной дисциплины Лаборатория специализации «Биофизические методы исследования наносистем» должно обеспечить формирование следующих академических, социально-личностных и профессиональных компетенций:

академические компетенции:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

- АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.
- АК-3. Владеть исследовательскими навыками.
- АК-4. Уметь работать самостоятельно.
- АК-5. Быть способным порождать новые идеи (обладать креативностью).
- АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.
- АК-7. Иметь навыки, связанные с использованием технических устройств, управлением информацией и работой с компьютером.
- АК-8. Иметь лингвистические навыки (устная и письменная коммуникация).
- АК-9. Уметь учиться, повышать свою квалификацию в течение всей жизни.

социально-личностные компетенции:

- СЛК-2. Быть способным к социальному взаимодействию.
- СЛК-3. Обладать способностью к межличностным коммуникациям.
- СЛК-5. Быть способным к критике и самокритике.
- СЛК-6. Уметь работать в команде.

профессиональные компетенции:

- ПК-1. Применять знания теоретических и экспериментальных основ физики наноматериалов и нанотехнологий, методов исследования физических объектов, методов измерения физических величин, методов автоматизации эксперимента, методов планирования, организации и ведения научно-производственной, научно-педагогической, производственно-технической, опытно-конструкторской работы.
- ПК-3. Пользоваться компьютерными методами сбора, хранения и обработки информации, системами автоматизированного программирования, научно-технической и патентной литературой.
- ПК-6. Использовать новейшие открытия в естествознании, методы научного анализа, информационные образовательные технологии, физические основы современных технологических процессов, включая нанотехнологии.
- ПК-9. Пользоваться глобальными информационными ресурсами.

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

знать:

основы качественного и количественного спектрального анализа; закономерности электронной и колебательной спектроскопии поглощения и испускания, а также светорассеяния на частицах; оптические схемы основных спектральных приборов; основы спектральных методов исследования первичной и пространственной структуры биополимеров (белков и нуклеиновых кислот); влияние переноса энергии и межмолекулярных взаимодействий на спектральные характеристики; основы спектральных и других оптических методов изучения биологических мембран и нанобиообъектов

уметь:

подготавливать образцы для проведения исследований (растворы веществ, суспензии биообъектов и др.); планировать эксперимент; проводить измерения с использованием различного оборудования для спектральных исследований; проводить математическую обработку полученных экспериментальных данных с использованием пакета Excel и построение итоговых графических зависимостей; применять теоретические знания о спектральных закономерностях для получения информации об изучаемом биообъекте с учетом результатов экспериментов; формулировать краткие, четкие выводы в соответствии с поставленной в работе целью, анализировать причины расхождения результатов экспериментов с теорией.

владеть:

препаративными методиками работы с биообъектам; спектральными методами исследования; базовыми математическими методами обработки экспериментальных данных с применением компьютерных средств.

Структура учебной дисциплины

Дисциплина изучается в 8 семестре дневной формы получения высшего образования. Всего на изучение учебной дисциплины Лаборатория специализации «Биофизические методы исследования наносистем» для очной формы получения высшего образования отведено:

– 136 часов, в том числе 78 аудиторных часов, из них: лабораторные занятия – 78 часов.

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 3,5 зачетные единицы.

Форма текущей аттестации – зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Тема 1. Колебательная спектроскопия нанобиообъектов.

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. Колебательные спектры ДНК. Колебательные спектры углеродных наночастиц.

Тема 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. Исследование влияния наночастиц на клеточные характеристики с применением флуоресцентных зондов и меток.

Тема 3. Спектроскопия видимого диапазона в изучении порфиринов, хлоринов и гемовых белков.

Спектры поглощения гемоглобина, определение типа гемоглобина по спектральным характеристикам. Спектрофотометрический анализ влияния различных веществ на гемоглобин. Абсорбционные и люминесцентные характеристики порфиринов, хлоринов.

Тема 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.

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

Тема 6. Модельные искусственные мембраны. Метод плоских бислойных липидных мембран.

Возможности метода в исследовании характеристик структурно-функциональных свойств мембран, «каналоформеров», трансмембранного переноса нанобио-материалов. Плоская липидная мембрана как неидеальный конденсатор. Определение электрической емкости, проводимости, сопротивления, напряжения пробоя, переносимого заряда по вольтамперным характеристикам искусственных мембран.

Тема 7. Конфокальная флуоресцентная микроскопия биообъектов.

Особенности и возможности флуоресцентной конфокальной микроскопии. Исследование структурной организации цитоскелета клеток с помощью конфокальной флуоресцентной микроскопии.

Тема 8. Конфокальная рамановская спектроскопия биообъектов.

Основы рамановской микроскопии, возможности данного метода в изучении биообъектов. Получение и анализ спектров комбинационного рассеяния белков.

Тема 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 внутripипеточного) для успешного получения гигаомного контакта. Регистрация и анализ электрофизиологических параметров мембран клеток методом пэтч-клэмп.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Дневная форма получения образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСП	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Колебательная спектроскопия нанобиообъектов.				9			отчет, устный опрос
2	Метод флуоресцентных зондов в исследовании нанобиообъектов и наноматериалов.				9			отчет, устный опрос
3	Спектроскопия видимого диапазона в изучении порфиринов, хлоринов и гемовых белков.				9			отчет, устный опрос
4	Хемилюминесцентный анализ биообъектов.				9			отчет, устный опрос
5	Нефелометрический анализ биообъектов.				9			отчет, устный опрос
6	Модельные искусственные мембраны. Метод плоских бислойных липидных мембран.				9			отчет, устный опрос
7	Конфокальная флуоресцентная микроскопия биообъектов.				6			отчет, устный опрос
8	Конфокальная рамановская спектроскопия биообъектов.				6			отчет, устный опрос
9	Методика регистрации электрофизиологических параметров клеток методом пэтч-кламп.				12			отчет, устный опрос
	Всего часов				78			зачет

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Перечень основной литературы

1. Модельные искусственные мембраны. Метод плоских бислойных липидных мембран: метод. рекомендации к лаб. спецпрактикуму / сост. Е. И. Коваленко, В. А. Лобан. - Минск: БГУ, 2021.
2. Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем. - М.: Мир, 2005.
3. Лопатин В. Н., Приезжев А. В., Апонасенко А. Д. Методы светорассеяния в анализе дисперсных биологических сред. М.: Физматлит, 2004.
4. Соловьев К. Н., Гладков Л. Л., Старухин А. С. Спектроскопия порфиринов: колебательные состояния. - Минск, Наука и техника, 1985.
5. Купцов А.Х., Жижин Г.Н. Фурье-спектры комбинационного рассеяния и инфракрасного поглощения полимеров. Справочник. - М.: URSS, 2001.
6. Современные проблемы биохимии. Методы исследований. М.: «Высшая школа», 2013.
7. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М. Наука, 1989.
8. Штейн Г.И. Руководство по конфокальной микроскопии. СПб: ИНЦ РАН, 2007.
9. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2-х т. Физматлит, 2007.
10. Научные основы нанотехнологий и новые приборы. Учебник-монография под ред. Р. Келсалла, и др. – Долгопрудный: Интеллект, 2011.
11. Экспериментальные и теоретические методы изучения ионных каналов / Д. А. Турченков, В. С. Быстров // Математическая биология и биоинформатика. 2014. Т. 9. № 1. С. 112–148.

Перечень дополнительной литературы

1. Спектрофотометрия гемопротенинов: метод. рекомендации к лаб. спецпрактикуму / сост. Е. И. Коваленко, Т. В. Музыка. Минск : БГУ, 2021.
2. Огурцов А. Н. Физика и биофизика: учеб. пособие: в 2 ч. Ч. 1: Основы общей физики. Харьков : НТУ «ХПИ», 2016.
3. Сон К. Н. Биофизика: учеб. пособие. СПб. : Лань П, 2016.
4. Люминесценция: пособие для студ. физич. фак. / И. М. Гулис, А. И. Комяк. Минск: БГУ, 2009.
5. Современные проблемы биохимии: учебное пособие. Витебск: УО "ВГУ им. Машерова", 2010.
6. Биологические мембраны: учеб. пособие / С. Н. Черенкевич, Г. Г. Мартинович, А. И. Хмельницкий. Минск: БГУ, 2009.
7. Геннис Р. Биологические мембраны: молекулярная структура и функции. М. Мир, 1997.
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., Практика, 1999.

9. Молекулярная спектроскопия: учеб. пособие для студ. физ. фак. БГУ / А. И. Комяк. Минск: БГУ, 2005.
10. Бенуэлл К. Основы молекулярной спектроскопии. М., Мир, 1985.
11. Introduction to Experimental Biophysics / Jay L. Nadeau. CRC Press, 2017.
12. Methods in Molecular Biophysics / N.R. Zaccai, Cambridge University Press, 2017.
13. Biophysics / G. Ehrenstein, H. Lecar. Academic Press, 1982.
14. Methods in Modern Biophysics / B. Nölting, Springer Science & Business Media, 2013.
15. Patch-Clamp Methods and Protocols / Marzia Martina, Stefano Taverna, Springer New York, Aug 23, 2016

Перечень рекомендуемых средств диагностики и методика формирования итоговой оценки

При формировании итоговой оценки используется рейтинговая оценка знаний студента, дающая возможность проследить и оценить динамику процесса достижения целей обучения. Для текущего контроля качества усвоения знаний по дисциплине рекомендуется использовать отчеты по лабораторным работам (в письменном виде, выполненные с использованием программ Excel и Word либо аналогичных программ) и устные опросы (студенты должны провести сопоставление теории с полученными ими экспериментальными данными). С участием студентов группы проводится дискуссия с целью сравнения экспериментальных данных, полученных разными студентами и анализа факторов, влияющих на характеристики исследуемых биообъектов.

По отчетам и устным опросам за каждую работу выставляется оценка К. Оценка по каждой из работ должна быть не ниже 4 баллов, оценка ниже 4 баллов считается неудовлетворительной. При всех оценках не ниже 4 студент допускается к сдаче зачета. Оценка текущего контроля:

$$T = (K_1 + K_2 + K_3 + K_4 + K_5 + K_6 + K_7 + K_8 + K_9) / 9$$

Формой текущей аттестации по дисциплине Лаборатория специализации «Биофизические методы исследования наносистем» учебным планом предусмотрен зачет.

Допуск к зачету – только после выполнения студентом всех текущих контрольных мероприятий при $T \geq 4$.

Зачет проводится в устной форме и включает одно задание исследовательского характера из первой части списка вопросов к зачету и 1 вопрос из второй части списка.

Описание инновационных подходов и методов к преподаванию учебной дисциплины

Методы преподавания: **проблемный, поисковый, исследовательский, дискуссия.**

При организации образовательного процесса используется **практико-ориентированный подход**, который предполагает:

- освоение содержание образования через решения практических задач;
- приобретение навыков эффективного выполнения разных видов профессиональной деятельности;
- ориентацию на генерирование идей, реализацию групповых студенческих проектов, развитие предпринимательской культуры;
- использованию процедур, способов оценивания, фиксирующих сформированность профессиональных компетенций.

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся

При изучении учебной дисциплины рекомендуется использовать следующие формы самостоятельной работы. По каждой из тем лабораторных работ студент должен:

- самостоятельно изучить теорию;
- подготовить ответы на вопросы, приведенные в методичках;
- провести обработку результатов экспериментов и провести их обсуждение;
- подготовиться к дискуссии по сопоставлению собственных экспериментальных данных со сведениями из теоретических дисциплин.

Примерный перечень вопросов и задач к зачету

Часть 1 (задачи исследовательского типа)

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 активных форм кислорода живыми клетками и влияния на данные процессы изучаемых наночастиц (с применением оптических аналитических методов).

Часть 2 (задания на понимание аспектов методик)

1. Объясните как осмолярность внутриклеточного и внеклеточного растворов влияют на образование плотного гигаомного контакта в методике «patch-clamp».

2. Объясните как можно оценить размеры клетки на основе ее электрофизиологических характеристик.

3. Объясните чем обусловлена нелинейность вольт-амперных характеристики клеток в конфигурации «whole-cell» при использовании стандартных внутриэлектродного и внеклеточных растворов.

4. Изобразите вольтамперную характеристику при использовании внутриэлектродного и внеклеточного растворов с превалирующим содержанием KCl (показать вклад потенциал-зависимых калиевых каналов Kv) для конфигурации «whole-cell».

5. Объясните в чем заключаются особенности методов ИК и КР спектроскопии. Назовите преимущества и недостатки КР спектроскопии.

6. Объясните для чего в конфокальном флуоресцентном микроскопе используется конфокальная диафрагма. Рассчитайте максимальное допустимое латеральное разрешение при анализе распределения флуорофоров в клетке при использовании лазера с $\lambda=473$ нм, объектива x50, NA=1 и диаметром диафрагмы 20 мкм.

7. Проанализируйте спектры КР и ГКР альбумина. Определите в чем заключается особенность спектральных характеристик, полученных с помощью ГКР.

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	Оставить содержание учебной дисциплины без изменения	Изменение не требуется (протокол №11 от 26.04.2021)
Лаборатория специализации «Спектральные методы исследования в биофизике»	Кафедра биофизики	Оставить содержание учебной дисциплины без изменения	Изменение не требуется (протокол №11 от 26.04.2021)

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ ПО
ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

на ____ / ____ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
_____ (протокол № ____ от _____ 202_ г.)

Заведующий кафедрой

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета
