

ПРИЛОЖЕНИЕ 12

УТВЕРЖДЕНО
приказом ФИЦ КазНЦ РАН
от 01.03.2019 № 8-А

Разработано и рекомендовано к утверждению
Ученым советом
КИБ ФИЦ КазНЦ РАН
14 января 2019 г., протокол №1

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ФАКУЛЬТАТИВНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

«Методы оптической спектроскопии биосистем»

Уровень высшего образования
Подготовка кадров высшей квалификации
Направление подготовки

06.06.01 БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Направленность подготовки:

Микробиология (03.02.03)

Физиология (03.03.01)

Квалификация выпускника:

Исследователь. Преподаватель-исследователь

СОДЕРЖАНИЕ

1. Виды учебной деятельности, способ и формы ее проведения, трудоемкость дисциплины.
2. Перечень планируемых результатов обучения.
3. Место дисциплины в структуре образовательной программы.
4. Содержание дисциплины.
5. Формы текущего и итогового контроля, критерии оценки.
6. Перечень учебной литературы и ресурсов сети "Интернет", необходимых для освоения дисциплины.
7. Описание материально-технической базы, необходимой для освоения дисциплины.

1. ВИДЫ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ, СПОСОБ И ФОРМЫ ЕЕ ПРОВЕДЕНИЯ, ТРУДОЕМКОСТЬ ДИСЦИПЛИНЫ

Виды учебной деятельности: аудиторные занятия - 1 зачетная единица труда (36 часов), самостоятельная работа – 4 зачетных единиц труда (144 часа), всего – 5 зачетных единиц труда (180 часов).

Форма проведения аудиторных занятий – лекции и консультации.

В рамках часов самостоятельной работы по указанию преподавателя аспиранты прорабатывают темы и осваивают теоретические вопросы, излагаемые в лекционном курсе, а также самостоятельно изучают другие вопросы программы.

2. ПЕРЕЧЕНЬ ПЛАНИРУЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ОБУЧЕНИЯ

2.1 Универсальные компетенции:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);
- способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5).

2.2 Обще-профессиональные компетенции:

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1).

3. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

Дисциплина «Методы оптической спектроскопии биосистем» является факультативной дисциплиной основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, направленностей Микробиология (03.02.03) и Физиология (03.03.01). Обучение проводится на втором курсе. Дисциплина направлена на углубление и расширение научно-теоретических и прикладных знаний обучающихся.

Данная дисциплина базируется на знаниях и умениях, выработанных при прохождении общего профессионального курса «Молекулярная биология», «Физическая химия», «Биохимия», «Молекулярная физика», «Методы биофизики» в рамках магистерской программы образования или специалитета. Владением данными знаниями и умениями устанавливается в ходе вступительных испытаний в аспирантуру.

В результате освоения дисциплины аспирант должен получить дополнительные знания, умения и навыки. Аспирант должен:

Знать:

- особенности структуры и физико-химических свойств основных классов биополимеров,

- особенности работы с биологическими объектами,
- физико-химические принципы оптических методов исследования, используемых в биофизической химии: методы ИК-, КД-, УФ- и флуоресцентной спектроскопии;
- правила техники безопасности при проведении экспериментальных работ в лабораторных условиях.

Уметь:

- проводить поиск и систематизировать актуальные литературные данные по применению оптических методов исследования в биофизической химии,
- планировать и подбирать оптимальный метод для решения научных и практических задач в своей области,
- обрабатывать результаты анализа и подготовить отчет о проведенных исследованиях,
- сопоставлять данные различных физико-химических методов;
- критически анализировать полученные результаты в профессиональной и междисциплинарной аудитории.

Владеть:

- навыками использования оптических методов для решения задач научного и прикладного исследования в области биофизической химии,
- навыками пробоподготовки, исследования и анализа биологических объектов,
- навыками работы на основных типах оптических спектрометров,
- навыками обработки экспериментальных данных в соответствии с международными стандартами,
- навыками использования теоретических знаний для объяснения особенностей действия физических факторов на живые организмы,
- навыками планирования эксперимента в сфере научных исследований,
- навыками практической работы в биофизической лаборатории.

4. СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Аудиторные занятия (36 часов)

| № п/п | Содержание излагаемого материала |
|----------|--|
| 1 | Введение в ИК-спектроскопию. Краткие сведения по теории ИК спектров. Нормальные колебания. Контуры полос. Интенсивности полос. Обертоны и составные полосы. Характеристические частоты: их использование и ограничения. Факторы, влияющие на характеристические частоты. |
| 2 | Количественные приложения ИК спектроскопии. Закон поглощения Бугера-Ламберта-Бэра. Отклонения от законов поглощения. Интерпретация колебательных спектров. Анализ смесей. Идентификация неизвестных веществ. Использование корреляционных таблиц. |
| 3 | Специальные задачи и методы ИК спектроскопии. Анализ спектров газов, жидких и твердых веществ. Метод нарушенного полного внутреннего |

| | |
|----|---|
| | отражения (НПВО). |
| 4 | Приборы и материалы для спектроскопии ИК поглощения. Материалы, прозрачные в ИК-диапазоне спектра. Спектрометры с последовательным сканированием спектра. Спектрометры на основе интерферометра Майкельсона (Фурье-спектрометры). Выбор режимов работы спектрометров. |
| 5 | Методы подготовки образцов. Анализ растворов. Анализ жидкостей и суспензий. Кюветы для анализа жидкостей и уход за ними. Метод прессования таблеток. Подготовка образцов и их анализ методом НПВО. |
| 6 | Практическая регистрация ИК-спектров с использованием Фурье-ИК спектрометра «IR-Affinty1». Освоение основных методов подготовки проб и анализ водных растворов и твердых образцов (белки, липиды, нуклеиновые кислоты). |
| 7 | Освоение пакета прикладных программ для обработки ИК-Фурье спектров. |
| 8 | Введение в спектроскопию кругового дихроизма. Хиральность. Оптическая активность аминокислот, нуклеотидов, моносахаров. Оптическая активность белков, ДНК, полисахаридов. |
| 9 | Кюветы, пробоподготовка, волновой диапазон биологических объектов. Выбор параметров сканирования, контроль по спектрам CD, НТ, Abs. Регистрация спектров на спектрометре Jasco-1500. |
| 10 | Артефакты в спектрах КД: рассеяние <u>рэлеевское</u> (неупорядоченная агрегация) и <u>дифференциальное</u> (хиральная агрегация), линейный дихроизм, избыточное поглощение компонент растворителя. |
| 11 | Освоение пакета прикладных программ для обработки спектров КД. Он-лайн ресурсы: экспериментальные спектры КД, деконволюция спектров, теоретический расчет спектров КД. |
| 12 | Принципы флуоресцентной спектроскопии. Области поглощения и эмиссии хромофоров в белках. Спектры возбуждения и эмиссии. Статическая и динамическая флуоресценция. Тушение собственной флуоресценции и связывание лигандов. |
| 13 | Кюветы, пробоподготовка. Выбор параметров сканирования. Режимы сканирования – по возбуждению, по эмиссии, двумерное, динамического окна. Разделение вклада различных хромофоров в белках. |
| 14 | Артефакты в спектрах флуоресценции: поглощение света (inner filter effect), рассеяние. Способы их учета. |
| 15 | Применение флуоресцентных меток. |
| 16 | Спектроскопия электронного оптического поглощения (УФ-спектроскопия). Электронные переходы в белках и нуклеиновых кислотах, основные хромофоры. Порфириновое кольцо. Закон Бугера. |
| 17 | Факторы, влияющие на поглощение света макромолекулой. Связывание лигандов, конформационные переходы. Рэлеевское рассеяние и использование его для изучения конформационных переходов и связывания лигандов. |

| | |
|----|---|
| 18 | Практическая работа на УФ-спектрометре Lamda 25. Выбор параметров сканирования, толщины и материала кювет. Определение концентрации белка в растворе. Температурный переход спираль-клубок ДНК. |
|----|---|

Самостоятельная работа (144 часа)

| № п/п | Содержание материала |
|----------|---|
| 1 | Применение КД- и ИК-спектроскопии для изучения вторичной структуры белков: сопоставительная характеристика возможностей. |
| 2 | Применение ИК-спектроскопии для изучения конформационной подвижности белков в растворе и твердом состоянии: изотопный обмен. |
| 3 | Применение флуоресцентных меток для изучения связывания лигандов с белками и нуклеиновыми кислотами. |
| 4 | Измерение электрофоретической подвижности в растворе методом динамического светорассеяния для характеристики взаимодействия белков и пептидов с биологическими мембранами. |
| 5 | Компактизация ДНК: сочетание методов КД- и ИК-спектроскопии, динамического светорассеяния и флуоресценции для характеристики наноразмерных комплексов ДНК с лигандами. |
| 6 | Применение флуоресцентных красителей для исследования пермеабилизующей способности белков и низкомолекулярных лигандов по отношению к модельным липидным мембранам и клеткам. |
| 7 | Конструирование наноразмерных самоорганизующихся мультислойных систем: функциональные приложения и методы исследования. |
| 8 | Термоиндуцированные переходы в белках, нуклеиновых кислотах, липидных бислоях: выбор оптимальных методов исследования. |
| 9 | Белковые и полисахаридные гели: ИК-спектроскопия как метод выбора для изучения вторичной структуры. |
| 10 | 2D-корреляционная ИК-, КД- и флуоресцентная спектроскопия: принципы и применение. |

5. ФОРМЫ ТЕКУЩЕГО И ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ, КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ

5.1. Текущий контроль: Текущий контроль освоения дисциплины проводится регулярно, начиная со второй недели обучения, в форме контроля посещаемости, устного опроса по изучаемой теме. Формой итогового контроля по дисциплине является самостоятельная регистрация ИК- и УФ спектров.

5.2. Критерии оценки итогового контроля:

| | |
|-----------|--|
| «зачтено» | Правильно выбраны параметры сканирования, толщина и материал кювет, правильно проведена пробоподготовка, правильно зарегистрирован и расшифрован спектр. |
|-----------|--|

| | |
|---------------------|--|
| «не зачтено» | Неправильно выбраны параметры сканирования, толщина и материал кювет и/или неправильно проведена пробоподготовка и/или неправильно зарегистрирован и расшифрован спектр. |
|---------------------|--|

6. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

6.1. Основная литература

1. Смит А.Л. - Прикладная ИК-спектроскопия: Пер. с англ. – М.: Мир, 1982. - 328 с.
2. Наберухин Ю.И. – Лекции по молекулярной спектроскопии. – НГУ. – Новосибирск. – 1973. – 293 с.
3. Демченко А.П. - Ультрафиолетовая спектрофотометрия и структура белков. – Киев: Наукова думка. – 1981. – 208 с.

6.2. Дополнительная литература

1. Лебухов В.И. Физико-химические методы исследования / В. И. Лебухов, А. И. Окара, Л.П. Павлюченкова. Санкт-Петербург [и др.]: Лань, 2012. – 480 с.
2. Браун Д. Спектроскопия органических веществ/ Браун Д., Флойд А., Сейнзбери М.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – 300 с.

6.3. Электронные ресурсы

1. <http://dichroweb.cryst.bbk.ac.uk/html/home.shtml> - деконволюция спектров КД.
2. <http://pdb2cd.cryst.bbk.ac.uk/> - расчет спектров КД по рентгеновской структуре.
3. <http://www.biomol.net/en/tools/proteinextinction.htm> - расчет коэффициента экстинкции по первичной последовательности.

7. ОПИСАНИЕ МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ БАЗЫ, НЕОБХОДИМОЙ ДЛЯ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Лекционные занятия и консультации, самостоятельная работа по освоению дисциплины и подготовка к сдаче кандидатских экзаменов проводятся в специальных помещениях (читальный зал научной библиотеки и/или конференц-залы), оборудованных мебелью (столы, стулья), классной доской (меловой), компьютером, проектором для демонстрации презентаций.

Оборудование для практических работ:

1. УФ-спектрофотометр Lambda 25.
2. Спектрофлуориметр Panorama.
3. Спектрофотометр кругового дихроизма Jasco J-1500.
4. Спектрофотометр Фурье-ИК IR Affinity1