

Программа утверждена на заседании
Ученого Совета химического факультета
Протокол № 4 от 29 мая 2014 г.

Декан химического факультета,
Акад. РАН, профессор



/В.В. Лунин/

Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Наименование дисциплины (модуля): **Физико-химические методы изучения структуры и функций биологических систем**
Цель: ознакомить обучающихся с современными методами исследования в биотехнологии и биохимии, областью их применения и возможными ограничениями использования
Задача: обеспечить приобретение обучающимися навыков критически анализировать имеющийся теоретический и экспериментальный материал и навыка выбор оптимального метода исследования.
2. Уровень высшего образования аспирантура.
3. Направление подготовки: 04.06.01 Химические науки, направленность (профиль) 03.01.04 Биохимия, 03.01.06 Биотехнология, 02.00.15 Кинетика и катализ
4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП, блок «Дисциплины (модули)»
5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции (код компетенции)	Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)
УК-1 способность к критическому	УК-1.1 анализирует методологические	Знать: методы критического анализа и оценки совре-

анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях	проблемы, возникающих при решении исследовательских и практических задач, альтернативные варианты их решения, проводит оценку достоинств и недостатков реализации этих вариантов	менных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях.
СПК-4 Способен проводить исследование физико-химических свойств живых систем	СПК-4.2 предлагает различные методы для установления структурно-функциональных взаимоотношений ферментативных систем	Знать: современные методы биохимии и молекулярной биологии Уметь: анализировать литературный теоретический и экспериментальный материал, выбирать оптимальный метод для анализа заданной системы
	СПК-4.3 предлагает способы биологического и промышленного тестирования сконструированных биохимических конструкций	Владеть физико-химическими методами определения структуры, стабильности и функциональных характеристик ферментов, свойств биологических систем

6. Объем дисциплины (модуля) в зачетных единицах с указанием количества академических или астрономических часов, выделенных на контактную работу обучающихся с преподавателем (по видам учебных занятий) и на самостоятельную работу обучающихся:
Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетных единицы, всего 108 часов, из которых 52 часа составляет контактная работа студента с преподавателем (36 часов занятия лекционного типа, 12 часов групповых консультаций, 4 часа - мероприятия промежуточной аттестации), 56 часов составляет самостоятельная работа учащегося.

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия.
 Для того чтобы формирование данной компетенции было возможно, обучающийся должен освоить ранее дисциплины «Физическая химия», «Аналитическая химия», «Химические основы биологических процессов», «Математический анализ», «Линейная алгебра»

8. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам.

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины	Всего (часы)	В том числе	
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем)	Самостоятельная работа

лины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)		давателем), часы из них					та обучающегося, часы из них			
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости, промежуточной аттестации	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов, вит.п..	Всего
Раздел 1	4	2					2			2
Раздел 2	4	2					2			2
Раздел 3	4	2					2			2
Раздел 4	8	4					4			4
Раздел 5	4	2					2			2
Раздел 6	4	2					2			2
Раздел 7	8	4					4			4
Раздел 8	12	4		4			8			4
Раздел 9	8	4					4			4
Раздел 10	4	2					2			2

Раздел 11	4	2					2			2
Раздел 12	4	2					2			2
Раздел 13	4	2					2			2
Раздел 14	8	2		4			6			2
Промежуточная аттестация, зачет	28			4		4	8			20
Итого	108	36		12		4	52			56

Содержание разделов

1. Принципы структурной организации белков.

2. Природа света, электромагнитный спектр, электронные переходы в молекулах, законы поглощения света, форма спектров, оборудование для измерений. Анализ спектров, влияние природы растворителя на положение полос. Светорассеяние, турбидиметрия, динамическое и статическое светорассеяние.

3. Круговая поляризация света, вращение плоскости поляризованного света растворами. Роль показателя преломления и коэффициента экстинкции, поляризация и эллиптичность. Аддитивность суммарных спектров белков, влияние денатурации и конформационных переходов на спектры белков. КД спектры нуклеиновых кислот и оснований. Различие между ДНК и РНК, одно цепочечными и двух цепочечными структурами.

4. Функционирование и структура белков на поверхности раздела фаз.

5. Масс-спектрометрия. Блок-схема прибора. Способы ионизации. Магнитные способы разделения ионов, время-пролетные анализаторы, магнитные ловушки, квадруполь. Методы МС-МС. Принципы анализа полиионов. Анализ белков, сахаров и липидов. Протеомика, базы данных. Имиджинговая масс-спектрометрия.

6. Фото-физика процессов фотолюминесценции, ферстеровский перенос энергии, поляризация флуоресценции, нелинейная оптика, двухфотонное возбуждение.

Фотолюминесценция биологических объектов. Флуоресцирующие производные природных метаболитов, определение аминокислот.

7. Фотолюминесцентные метки.

Аппаратура для фотолюминесцентного анализа. Флуоресцентные спектрометры, источники света, детекторы. Микропланшетные варианты анализа, микрочипы, биосенсоры, оптоволоконные устройства для *in vivo* диагностики.

Принципы детекции одиночных молекул, флуоресцентная корреляционная спектроскопия.

Методы STED, PALM, STORM.

8. Электрофорез. Принцип метода. Разделение белков, оптимизация протокола, роль тепловыделения. Фракционирование нуклеиновых кислот, интеркалирующие флуоресцентные красители. Смешанные гели. Электрофорез в денатурирующих условиях, определения размеров белков и нуклеиновых кислот. Двумерный электрофорез, изоэлектрофокусирование. Детекция белков в гелях, способы окрашивания. Элюция белков из гелей, иммуноблоттинг. Протеомные исследования, базы данных.

9. Современные методы регистрации специфических взаимодействий. Биосенсоры, биоаналитические системы. Основные виды датчиков. Импедансная спектроскопия. Спектроскопия НРВО. Эллипсометрия

10. Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния. Определение ферментов и микроорганизмов

11. Литография. Нанолитография. Метаматериалы и их применение для анализа

12. Метод ELISA. Введение, основные понятия. Способы детекции. Синтез коъюгатов.

13. Методы поляризации флуоресценции в иммуноанализе. Оптимизация метода под конкретные задачи. Использование метода в системах обращенных мицелл

14. Иммунохроматографические тест-полоски. Производство, усовершенствование анализа. Последние достижения.

8. Образовательные технологии.

Занятия проводятся как с помощью традиционных образовательных технологий, так и с применением современных компьютерных программ.

9. Образовательные технологии.

Занятия проводятся как с помощью традиционных образовательных технологий, так и с применением современных компьютерных программ.

10. Оценочные материалы для проверки результатов обучения по дисциплине (модулю)

Шкала оценивания знаний, умений и навыков является единой для всех дисциплин (приведена в таблице ниже)

ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)				
Оценка \ Результат	2	3	4	5
Знания	Отсутствие знаний	Фрагментарные знания	Общие, но не структурированные знания	Сформированные систематические знания
Умения	Отсутствие	В целом успешное, но не	В целом успешное, но содержащее	Успешное и систематическое

	умений	систематическое умение	отдельные пробелы умение (допускает неточности непринципиального характера)	умение
Навыки (владения)	Отсутствие навыков	Наличие отдельных навыков	В целом, сформированные навыки, но не в активной форме	Сформированные навыки, применяемые при решении задач

Типовые задания или иные материалы, необходимые для оценки результатов обучения, методические материалы, определяющие процедуры оценивания приведены в разделе Фонды оценочных средств.

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	ФОРМА ОЦЕНИВАНИЯ
Знать: методы критического анализа и оценки современных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Знать: современные методы биохимии и молекулярной биологии	мероприятия текущего контроля успеваемости, устный опрос на зачете
Уметь: анализировать литературный теоретический и экспериментальный материал, выбирать оптимальный метод для анализа заданной системы	мероприятия текущего контроля успеваемости, устный опрос на зачете
Владеть: физико-химическими методами определения структуры, стабильности и функциональных характеристик ферментов, свойств биологических систем	мероприятия текущего контроля успеваемости

11. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы по дисциплине (модулю): презентации к лекционным занятиям. Аспирантам предоставляется программа курса, план занятий и задания для самостоятельной работы, презентации к лекционным занятиям.

12. Ресурсное обеспечение:

- Перечень основной и вспомогательной учебной литературы ко всему курсу

Основная литература

1. Шульц, Ширмер. Принципы структурной организации белков.
2. Фрайфелдер Д. Физическая биохимия. Мир, Москва, 1980
3. Видимая и ультрафиолетовая спектрофотометрия. В кн.: Экспериментальные методы химической кинетики.

- Под. Ред. Н.М. Эммануэля и Г.Б.Сергеева. Высшая школа, Москва, 1980
4. А.П.Демченко. Ультрафиолетовая спектрофотометрия и Структура белков. Наукова думка, Киев, 1981
 5. Е.Блаут, Дж. Карвер, Е.Шехтер. Дисперсия оптического вращения полипептидов и белков. В кн.: Дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм в органической химии. Под ред. Г.Снатцке, «Мир». Москва, 1970. стр.217-295
 6. S.Yu. Venyaminov, J.T.Yang. Determination of protein secondary structure. In Circular Dichroism and the conformational analysis of Biomolecules. G.D. Fasman Ed. Plenum Press. New York, 1996, pp.69-107
 7. W.Curtis Johnson. Determination of the conformation of nucleic Acids by electronic CD. In Circular Dichroism and the conformational analysis of Biomolecules. G.D. Fasman Ed. Plenum Press. New York, 1996, pp.433-468
 8. A.Rodger, M.A.Ismail. Introduction to circular dichroism. In Spectrophotometry&Spectrofluorimetry. M.G.Gore Ed. Oxford University Press. Oxford-New York, 2000. pp 99-140
 9. Дж.Лакович Основы флуоресцентной спектроскопии «Мир», Москва, 1979
 10. J.Lakowicz Principles of fluorescent spectroscopy Third Edition. Springer, 2006
 11. R.Hagland Handbook of fluorescent probes and research chemicals. Molecular Probes, Inc. <http://www.probes.com>
 12. Molecular Expressions Images from the Microscope. <http://micro.magnet.fsu.edu>
 13. Кудряшова Е.В. Функционирование и структура белков на поверхностях раздела фаз. Новые методы исследования. 2013. Изд-во «Palmarium Academic Publishing» AV Akademikerverlag GmbH & Co., KG. Germany.
 14. Lakowicz J.R. // Principles of Fluorescence Spectroscopy (2-nd Ed.). N.Y.: Plenum Press 1999.
 15. Дж.Лакович «Основы флуоресцентной спектроскопии» «Мир», Москва, 1979
 16. R.Hagland Handbook of fluorescent probes and research chemicals. Molecular Probes, Inc. <http://www.probes.com>
 17. Gordon D.B. Mass spectrometric techniques. In: Principles and Techniques of practical Biochemistry. K.Wilson & J.Walker Eds. Cambridge University Press, Cambridge, 2000
 18. Proteome Research: Mass Spectrometry. P. James Ed. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 2001
 19. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. Бином. Лаборатория знаний, Москва, 2003
 20. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.: Наука, 1981. 288 с.
 21. J.M.Walker. Electrophoretic techniques.In: Principles and Techniques of practical Biochemistry. K.Wilson & J.Walker Eds. Cambridge University Press, Cambridge, 2000
 22. R.Westermeier Electrophoresis in Practice. VSH, Wienheim-N.Y.-Basel-Cambridge. 1993
Proteome Research: Mass Spectrometry. P. James Ed. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 2001
 23. 2D GEL ELECTROPHORESIS FOR PROTEOMICS TUTORIAL
<http://www.weihenstephan.de/blm/deg/manual/manfrm.htm>

24. SWISS-2DPAGE

<http://www.expasy.ch/>

25. Surface-Enhanced Raman Scattering: Physics and Applications Авторы: Katrin Kneipp, Martin Moskovits, Harald Kneipp

26. Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects Авторы: Eric Le Ru, Pablo Etchegoin

27. ELISA and Other Solid Phase Immunoassays: Theoretical and Practical Aspects редактор(ы): D. M. Kemeny, S. J. Challacombe

28. The ELISA Guidebook редактор(ы): John R. Crowther

Дополнительная литература

1. Mendelsohn R., Flach C.R. Infrared reflection-absorption spectroscopy of lipids, peptides, and proteins in aqueous monolayers // Current Topics in Membranes, 2002, Vol. 52, 57-88

2. Кудряшова Е.В., Гладилин А.К., Левашов А.В. Белки (ферменты) в надмолекулярных ансамблях: исследование структурной организации методом разрешенно-временной анизотропии. // Усп. биол. химии. 2002. Т. 42. С. 257–294.

3. Manning MC. Use of infrared spectroscopy to monitor protein structure and stability. // Expert Rev Proteomics. 2005 2(5):731-43. Review

- Описание материально-технической базы.

Лекционные занятия проводятся в специально оборудованной аудитории (к.202 кафедры химической энзимологии). Вспомогательный материал в виде презентаций доступен студентам

13. Язык преподавания – русский

14. Преподаватели:

кафедра химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

д.х.н. проф. Савицкий А.П., e-mail: @.ru, телефоны (495)-939-

д.х.н. доц. Кудряшова Е.В., e-mail: @.ru, телефоны (495)-939-

к.х.н. Левашов П.А., e-mail: @.ru, телефоны (495)-939-

д.х.н. проф. Курочкин И.Н., e-mail: @.ru, телефоны (495)-939-

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Образцы оценочных средств для текущего контроля усвоения материала и промежуточной аттестации - зачета. На зачете проверяется достижение промежуточных индикаторов компетенций, перечисленных в п.5.

Материалы к промежуточной аттестации (вопросы к зачету)

1. Принципы структурной организации белков. Типы невалентных взаимодействий и их роль в поддержании пространственной структуры белков. Иерархия уровней структурной организации белков.
2. Структура и стабильность ферментов. Стабильность белков *in vivo* и ее связь со структурой. Время жизни и пути деградации белков в клетках. Термодинамическая стабильность и ее связь со структурой. Экспериментальные подходы к изучению связи структура-стабильность. Молекулярные причины инактивации ферментов.
3. Природа света, электромагнитный спектр, электронные переходы в молекулах, законы поглощения света, форма спектров, оборудование для измерений. Спектры поглощения белков и нуклеиновых кислот, природных хромофоров. Анализ спектров, влияние природы растворителя на положение полос, разностные и дифференциальные спектры, спектры первой и второй производной. Светорассеяние, турбидиметрия, динамическое и статическое светорассеяние.
4. Круговая поляризация света, вращение плоскости поляризованного света растворами. Роль показателя преломления и коэффициента экстинкции, поляризация и эллиптичность. Понятие хирального атома, наведенная хиральность. Основные типы вторичных структур, α -спираль и β -слои, аддитивность суммарных спектров белков, влияние денатурации и конформационных переходов на спектры белков. Теоретическое предсказание спектров кругового дихроизма на основе первичной структуры белков. КД спектры нуклеиновых кислот и оснований. Различие между ДНК и РНК, одноцепочечными и двухцепочечными структурами. Спектры различных упаковок двойной спирали, A, B и Z структуры. Взаимодействие с интеркалирующими лигандами.
5. Фото-физика процессов фотолюминесценции, диаграмма энергетических уровней (флуоресценция, фосфоресценция, замедленная флуоресценция), кинетика затухания фотолюминесценции, возбуждение и эмиссия, релаксация растворителя, процессы тушения фотолюминесценции, перенос протона в возбужденном состоянии, ферстеровский перенос энергии, поляризация флуоресценции, нелинейная оптика, двухфотонное возбуждение.
6. Фотолюминесценция биологических объектов: аминокислоты, НАДН, флавины, порфирины, хлорофиллы, люциферины, зеленый белок, фикобиллипротеины. Флуоресцирующие производные природных метаболитов, определение аминокислот, проблема фонового свечения в биологических объектах, способы минимизации фонового свечения биологических объектов, принципы спектрального разрешения, принципы временного разрешения
7. Субстраты ферментов: гидролаз, оксидаз и пероксидаз, полимераз. Фотолюминесцентные метки: ксантеновые красители, флуоресцины, родамины, BODIPY, умбеллифероны, тетрапиррольные пигменты и их производные, фикобиллипротеины, комплексы металлов (лантаниды), цианиновые красители, зеленый флуоресцирующий белок (GFP).
8. Аппаратура для фотолюминесцентного анализа. Флуоресцентные спектрометры, источники света, детекторы. Микропланшетные варианты анализа, микрочипы, биосенсоры, оптоволоконные устройства для *in vivo* диагностики.
9. Принципы детекции одиночных молекул, флуоресцентная корреляционная спектроскопия.

10. Флуоресцентная микроскопия, проточная, конфокальная. Функция распределения света точечного источника, дифракционный предел, субдифракционная микроскопия. Методы STED, PALM, STORM.
11. Понятие масс-спектрометрии, основные этапы развития. Блок-схема прибора. Способы ионизации: электронный пучок, бомбардировка нейтральными атомами, электроспрей, лазерная десорбция. Родительские ионы, вторичные ионы. Магнитные способы разделения ионов, время-пролетные анализаторы, магнитные ловушки, квадруполь. Методы МС-МС. Принципы анализа полиионов. Анализ белков, сахаров и липидов. Идентификация белков, сиквенирование белков. Протеомика, базы данных. Имиджинговая масс-спектрометрия. Принцип метода. Типы гелей, полимеризация, выбор оптимального состава геля, полиакриламидный гель. Электрофоретическая подвижность. Разделение белков, оптимизация протокола, роль тепловыделения. Агарозный гель, способы получения, основные свойства. Фракционирование нуклеиновых кислот, интеркалирующие флуоресцентные красители. Смешанные гели. Основные особенности конструкции приборов, вертикальное и горизонтальное расположение гелей, градиентные гели, градиенты пористости, гели для нанесения и разделения, ступенчатый электрофорез. Электрофорез в денатурирующих условиях, определения размеров белков и нуклеиновых кислот. Двумерный электрофорез, изоэлектрофокусирование. Детекция белков в гелях, способы окрашивания. Элюция белков из гелей, иммуноблоттинг. Протеомные исследования, базы данных.
12. Функционирование и структура белков на поверхности раздела фаз. Структурно-функциональное состояние белков на границах раздела фаз. Методы, позволяющие на молекулярном уровне изучать структурные и динамические свойства белков адсорбированных на поверхности раздела фаз.
13. Современные методы регистрации специфических взаимодействий. Биосенсоры, биоаналитические системы. Основные виды датчиков. Импедансная спектроскопия. Спектроскопия НРВО. Эллипсометрия. Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния. Определение ферментов и микроорганизмов
14. Литография. Нанолитография. Метаматериалы и их применение для анализа
Метод ELISA. Введение, основные понятия. Способы детекции. Синтез коъюгатов.
Методы поляризации флуоресценции в иммуноанализе. Оптимизация метода под конкретные задачи. Использование метода в системах обращенных мицелл
Иммунохроматографические тест-полоски. Производство, совершенствование анализа. Последние достижения.

Методические материалы для проведения процедур оценивания результатов обучения

Зачет проводится по билетам. В ходе сдачи зачета проверяется, в первую очередь, формирование «знаниевой» компоненты компетенций, перечисленных в п.5, а также сформированность перечисленных в п.5 умений. Уровень знаний аспиранта по каждому вопросу оценивается на «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно». В случае, если на все вопросы был дан ответ, оцененный не ниже чем «удовлетворительно», аспирант получает общую оценку «зачтено». Ведомость приема зачета подписывается членами комиссии.