

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Факультет биоинженерии и биоинформатики

УТВЕРЖДАЮ

Декан

факультета биоинженерии

и биоинформатики,

академик

_____/В.П. Скулачев /

«__» _____ 20 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

Наименование дисциплины:

Методы исследования единичных макромолекул

Уровень высшего образования:

специалитет

Направление подготовки (специальность):

06.05.01 Биоинженерия и биоинформатика

Форма обучения:

очная

Рабочая программа рассмотрена и одобрена

Ученым советом факультета

(протокол № _____, _____)

Москва 20__

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с самостоятельно установленным МГУ образовательным стандартом (ОС МГУ) для реализуемых основных профессиональных образовательных программ высшего образования по специальности 06.05.01 «Биоинженерия и биоинформатика» (программы специалитета) в редакции приказа МГУ от 30 декабря 2016 г.

Год (годы) приема на обучение – 2016, 2017, 2018, 2019.

© Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М.В. Ломоносова

Программа не может быть использована другими подразделениями университета и другими вузами без разрешения факультета.

Цель и задачи дисциплины

Цель курса - ознакомить учащихся с основными современными методами изучения единичных биологических молекул *in vivo* и *in vitro*.

Задачи курса:

- дать представление о способах изучения структуры и функции белков и нуклеиновых кислот на уровне единичных молекул; о сильных и слабых сторонах основных методов и о пределах сферы применения каждого из методов.

1. Место дисциплины «Методы исследования единичных макромолекул» в структуре ОПОП ВО - вариативная часть, курс по выбору, курс V – семестр 9.

2. Входные требования для освоения дисциплины, предварительные условия (если есть):

Для освоения дисциплины необходимо, чтобы у обучающихся были знания по «Физике» (оптика, свойства электромагнитного излучения, электромагнетизм), «Физической химии», «Органической химии», «Биохимии», «Молекулярной биологии». Для чтения необходимой литературы, представляющей собой в основном зарубежные публикации, нужно знание английского языка.

3. Планируемые результаты обучения по дисциплине:

Знать:

-основные принципы современных физико-химических методов анализа макромолекул.

Уметь:

-оценивать применимость и сопоставлять эффективность методов физико-химического анализа макромолекул, необходимых для подбора инструментальной базы с целью выполнения соответствующих научно-исследовательских лабораторных биологических работ в области химии, наук о материалах, молекулярной и клеточной биологии, биохимии.

Владеть:

-теоретическими знаниями о современных и инновационных методах биохимических исследований; арсеналом современных методов исследований, инструментальной технической базой выполнения современных исследований и совокупностью физико-химических методов анализа макромолекул.

4. Формат обучения – лекционные занятия.

5. Объем дисциплины составляет 2 з.е., в том числе 32 академических часов, отведенных на контактную работу обучающихся с преподавателем, 40 академических часов на самостоятельную работу обучающихся.

6. Краткое содержание дисциплины (аннотация):

В экспериментальных методах классической химии, биохимии и биофизики наблюдения проводятся на системе, состоящей из огромного числа молекул. Получаемые данные характеризуют усредненные свойства молекул изучаемой системы. При этом из-за усреднения теряется значительная часть информации об изучаемой системе. (Простой пример: для таких разных наборов чисел, как "2, 5, 5" и "0, 4, 8" среднее значение одинаково и равно 4.) В живом организме важные реакции, регулирующие жизнедеятельность, протекают именно между отдельными молекулами – ДНК и ДНК-полимеразой, миозином и актином, антителом и антигеном, рецептором и лигандом. Для биологических макромолекул, которые в ходе выполнения своей роли переходят из одного функционального состояния в другое, зачастую невозможно выяснить классическими методами ни количество этих состояний, ни последовательность перехода из одного в другое, ни время жизни каждого состояния. Методы изучения единичных молекул позволяют решить эти задачи. В последние годы все больше и больше новых экспериментальных данных в биологии дает изучение свойств и межмолекулярного взаимодействия отдельных биологических молекул. Данный курс кратко освещает историю и общие принципы таких методов изучения единичных молекул, как флуоресцентная микроскопия (конфокальная и TIRF-микроскопия), зондовая (в том числе, атомная силовая) микроскопия, криоэлектронная микроскопия и др. Для каждого метода разбираются его сильные и слабые стороны, возможности и ограничения. Кроме того, приводятся примеры использования этих подходов для получения информации, недоступной при использовании классических методов исследования.

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины, Форма промежуточной аттестации по дисциплине	Всего (часы)	В том числе			
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем) Виды контактной работы, часы			Самостоятельная работа обучающегося, часы (виды самостоятельной работы – эссе, реферат, контрольная работа и пр. – указываются при необходимости)
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Всего	
Флуоресцентные методы исследования единичных биологических молекул					
Флуорофоры, применяемые для изучения единичных молекул.	4	2			2
Способы минимизации наблюдаемого объема: конфокальная микроскопия, TIRF-микроскопия	6	3			3
Применение Фёстеровского резонансного переноса энергии для изучения единичных молекул	4	2			2
Флуоресцентные белки	6	3			3
Изучение единичных молекул в живой клетке.	4	2			2
Зондовая микроскопия					
Принципы зондовой микроскопии	6	3			3
Сканирующая туннельная микроскопия, ближнепольная оптическая микроскопия	6	3			3
Атомная силовая микроскопия.	6	3			2
Применение атомной силовой микроскопии для изучения биологических молекул.	6	3			3
Методы манипуляции единичными молекулами					
Оптический (лазерный) пинцет. Принципы действия, применение для манипуляций единичными биологическими молекулами.	4	2			2
Магнитный пинцет. Принципы действия, применение для манипуляций единичными	5	2			3

биологическими молекулами.					
Криоэлектронная микроскопия					
Криоэлектронная микроскопия, сильные и слабые стороны метода. Применение для изучения структуры крупных биомолекул.	7	3			3
Форма промежуточной аттестации - зачет					2 (количество часов, отведенных на промежуточную аттестацию)
Итого	72			32	40

7. Фонд оценочных средств (ФОС) для оценивания результатов обучения по дисциплине

Примеры контрольных вопросов:

- 1) Какими преимуществами обладают флуоресцентные метки как инструмент исследования единичных биомолекул?
- 2) Какими недостатками обладают флуоресцентные метки как инструмент исследования единичных биомолекул?
- 3) Для чего на образец под микроскопом наносится иммерсионное масло?
- 4) Можно ли использовать флуоресцентные зонды для регистрации сверхбыстрых событий, происходящих с биомолекулами (на временах менее 100 микросекунд)? Почему?
- 5) Какие преимущества и недостатки есть у квантовых точек как зондов для изучения единичных биомолекул?
- 6) Что такое созревание флуоресцентных белков? Как быстро она происходит? Что для нее требуется?
- 7) Как можно применить флуоресцентные белки для изучения изменений концентрации ионов (Ca^{2+}) или метаболитов (АТФ)?
- 8) От чего зависит яркость флуорофора?
- 9) Что такое FRET?
- 10) Какие условия необходимы для эффективного резонансного переноса энергии между двумя молекулами флуорофоров?
- 11) Как зависит эффективность FRET от расстояния между флуорофорами?
- 12) Как зависит величина фотонного (дробового) шума от общего количества измеряемых фотонов?
- 13) Можно ли сделать точный теоретический расчет зависимости эффективности FRET от расстояния между флуорофорами? Почему?
- 14) Для каких задач по изучению единичных биомолекул хорошо подходит FRET? Приведите примеры.
- 15) Какие преимущества при изучении биомолекул *in vivo* дают флуорофоры, испускающие в дальнем красном и инфракрасном диапазоне?
- 16) Какие методы по манипуляции единичными молекулами Вы знаете? В чем преимущество каждого из методов?

7.1. Типовые контрольные задания или иные материалы для проведения текущего контроля успеваемости.

- 1) Какими преимуществами обладают флуоресцентные метки как инструмент исследования единичных биомолекул?
- 2) Какими недостатками обладают флуоресцентные метки как инструмент исследования единичных биомолекул?
- 3) Для чего на образец под микроскопом наносится иммерсионное масло?
- 4) Можно ли использовать флуоресцентные зонды для регистрации сверхбыстрых событий, происходящих с биомолекулами (на временах менее 100 микросекунд)? Почему?

- 5) Какие преимущества и недостатки есть у квантовых точек как зондов для изучения единичных биомолекул?
- 6) Что такое созревание флуоресцентных белков? Как быстро она происходит? Что для нее требуется?
- 7) Как можно применить флуоресцентные белки для изучения изменений концентрации ионов (Ca^{2+}) или метаболитов (АТФ)?
- 8) От чего зависит яркость флуорофора?
- 9) Что такое FRET?
- 10) Какие условия необходимы для эффективного резонансного переноса энергии между двумя молекулами флуорофоров?
- 11) Как зависит эффективность FRET от расстояния между флуорофорами?
- 12) Как зависит величина фотонного (дробового) шума от общего количества измеряемых фотонов?
- 13) Можно ли сделать точный теоретический расчет зависимости эффективности FRET от расстояния между флуорофорами? Почему?
- 14) Для каких задач по изучению единичных биомолекул хорошо подходит FRET? Приведите примеры.
- 15) Какие преимущества при изучении биомолекул *in vivo* дают флуорофоры, испускающие в дальнем красном и инфракрасном диапазоне?
- 16) Какие методы по манипуляции единичными молекулами Вы знаете? В чем преимущество каждого из методов?

7.2. Типовые контрольные задания или иные материалы для проведения промежуточной аттестации.

А. Учебно-методические рекомендации для обеспечения самостоятельной работы студентов:

Студентам рекомендуется устанавливать режим самостоятельной работы в соответствии с их личностными особенностями. Предполагается, что самостоятельная работа позволит студенту обрести навыки самоорганизации, самоконтроля, самоуправления, саморефлексии. В результате студент сможет стать активным самостоятельным субъектом учебной деятельности.

В процессе самостоятельной работы студента предполагается:

- освоение содержания дисциплины, вынесенное на самостоятельную работу студентов преподавателем;
- составление графика самостоятельной работы, который при необходимости можно обсудить и согласовать с преподавателем;
- самостоятельную работу в организационных формах, предусмотренных учебным планом и рабочей программой дисциплины
- отчетность результатам самостоятельной работы в соответствии с составленным преподавателем графиком отчетности по самостоятельной работе студентов;
- использование для самостоятельной работы методических пособий, учебных пособий, научных публикаций, информации из сети Интернет, в том числе и сверх предложенного преподавателем перечня.

Б. Примерный список заданий для проведения текущей и промежуточной аттестации (темы для докладов, рефератов, презентаций и др. – по видам заданий):

Перечислите основные существующие методы изучения единичных биомолекул, дайте им краткую характеристику.

Опишите основные технические трудности при изучении единичных молекул. Фон, шум, виды шума (темновой, тепловой, фотонный); способы снижения уровня шума.

Перечислите сильные и слабые стороны флуорофоров, используемых для детекции на уровне единичных молекул (органические флуорофоры, флуоресцентные белки, квантовые точки).

Опишите методы изучения единичных молекул в живой клетке.

Перечислите методы манипуляции единичными молекулами.

Атомная силовая микроскопия: опишите общий принцип, сильные и слабые стороны.

Обоснуйте возможность приложения к биологическим объектам.

Криоэлектронная микроскопия: опишите сильные и слабые стороны.

В. Примерный список вопросов для проведения текущей и промежуточной аттестации:

Какие преимущества дает изучение биологических молекул на уровне единичных молекул по сравнению с обычными методами исследований?

Что такое предел разрешающей способности оптической микроскопии, и какие есть способы его преодоления?

Как можно применять Фёстеровский резонансный перенос энергии (FRET) как инструмент для изучения свойств единичных молекул?

Какие существуют способы снижения шума при получении сигнала от единичных биомолекул?

В чем заключаются основные преимущества и недостатки флуоресцентных белков как зондов для изучения единичных биологических молекул?

Шкала и критерии оценивания результатов обучения по дисциплине.

Результаты обучения	«Неудовлетворительно»	«Удовлетворительно»	«Хорошо»	«Отлично»
Знания: -основных принципов современных физико-химических методов анализа макромолекул	Знания отсутствуют	Фрагментарные знания	Общие, но не структурированные знания	Сформированные систематические знания
Умения: -оценивать применимость и сопоставлять эффективность методов физико-химического анализа макромолекул, необходимых для подбора инструментальной базы с целью выполнения соответствующих научно-исследовательских лабораторных биологических работ в области химии, наук о материалах, молекулярной и клеточной	Умения отсутствуют	В целом успешное, но не систематическое умение	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение (допускает неточности неприципиального характера)	Успешное и систематическое умение

биологии, биохимии				
Владения: -теоретическими знаниями о современных и инновационных методах биохимических исследований; арсеналом современных методов исследований, инструментальной технической базой выполнения современных исследований и совокупностью физико-химических методов анализа макромолекул	Навыки владения отсутствуют	Наличие отдельных навыков (наличие фрагментарного опыта)	В целом, сформированные навыки (владения), но используемые не в активной форме	Сформированн ые навыки (владения), применяемые при решении задач

8. Ресурсное обеспечение:

- Перечень основной и дополнительной литературы.
 - А. Основная литература:
 1. Peter Hinterdorfer, Antoine van Oijen (ред). Handbook of Single Molecule Biophysics. - Springer, 2009
 2. Миронов В.Л.. Основы сканирующей зондовой микроскопии. - Нижний Новгород: РАН, Институт Физики Микроструктур, 2004
- Перечень лицензионного программного обеспечения (при необходимости)
- Перечень профессиональных баз данных и информационных справочных систем
- Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» (при необходимости)
- Описание материально-технического обеспечения.
 - А. Помещения: Персональный компьютер, проектор, указка, экран.
 - Б. Оборудование:
 - В. Иные материалы: Слайды (в электронном виде), распечатки таблиц смертности, копии статей из научных журналов.