



## Методи аналізу структури біологічно активних речовин Робоча програма навчальної дисципліни (Силабус)

### Реквізити навчальної дисципліни

Рівень вищої освіти	<i>Перший бакалаврський</i>
Галузь знань	<i>16 «Хімічна та біоінженерія»</i>
Спеціальність	<i>162 – Біотехнології та біоінженерія</i>
Освітня програма	<i>Біотехнології</i>
Статус дисципліни	<i>Вибіркова</i>
Форма навчання	<i>Очна</i>
Рік підготовки, семестр	<i>3 курс, 5 (осінній) семестр</i>
Обсяг дисципліни	<i>4 кредити ЄКТС</i>
Семестровий контроль/ контрольні заходи	<i>Залік/МКР, залік з лабораторних робіт, ДКР</i>
Розклад занять	<i>Лекції: 2 год/тиждень; практичні заняття: 2 год/тиждень згідно з розкладом</i>
Мова викладання	<i>Українська</i>
Інформація про керівника курсу / викладачів	<i>Лектор: канд. техн. наук, с.н.с. Маринченко Лоліта Вікторівна lolitamarynchenko@gmail.com; lolitamar@ukr.net, 050-156-02-32, 093-181-13-91, (Телеграм, Вайбер) Лабораторні: канд. техн. наук, с.н.с. Маринченко Лоліта Вікторівна</i>
Розміщення курсу	<i>Google classroom. <a href="https://www.sikorsky-distance.org/g-suite-for-education/////Код курсу ///">https://www.sikorsky-distance.org/g-suite-for-education/////Код курсу ///</a></i>

### Програма навчальної дисципліни

#### 1. Опис навчальної дисципліни, її мета, предмет вивчення та результати навчання

Кредитний модуль «Методи аналізу структури біологічно активних речовин» належить до навчальних дисциплін за вибором студентів і відіграє значну роль у підготовці фахівців з біотехнології. Знання про методи досліджень біологічно активних речовин (БАР), які застосовують для визначення їх структури, необхідні спеціалістам, що працюють практично в будь-якій галузі молекулярної біології і біотехнології, клітинної біології і генетики, фармакології та пов'язаних з ними галузей. Ця дисципліна надає майбутнім фахівцям з біотехнології сучасні знання та досвід з фізико-хімічних методів визначення структур БАР, важливих для здійснення їхніх функцій, що дасть змогу прогнозувати, зберігати та модифікувати їхню стабільність під дією факторів довкілля та за певного технологічного навантаження.

**Метою дисципліни** є набуття студентами знань, необхідних для розуміння базових фізико-хімічних методів досліджень структури БАР, які є основою для їх біологічних функцій.

**Предметом дисципліни** є методи досліджень структури БАР на рівні біомолекул для оцінки кількісних характеристик, прогнозування їх властивостей у взаємодії з іншими речовинами, моделювання біологічних процесів за їх участі. Це стосується просторової будови біологічно важливих функціональних молекул, насамперед, білків та нуклеїнових кислот, а також інших БАР (вуглеводів, ліпідів, вітамінів, гормонів, антибіотиків, їх комплексів, надмолекулярних утворень). Фізико-хімічні методи досліджень БАР спрямовані на визначення молекулярної маси, розміру та форми, структурної будови, стереохімії, вторинної, третинної та надмолекулярних структур (взаємодія з лігандами), характерних для цих сполук. Предметом розгляду дисципліни є фізичні основи цих методів (дифузія, мікрокалориметрія, електрофорез, дисперсія оптичного обертання, УФ-, ІЧ-спектроскопія, флуориметрія, ядерний магнітний резонанс, електронний парамагнітний резонанс, рентгеноструктурний аналіз, АСМ та ін.)

**Програмними результатами навчання** дисципліни **Методи аналізу структури БАР** є формування у студентів здатностей: застосовувати знання у практичних ситуаціях; вчитися і оволодівати сучасними знаннями; використовувати базові знання з математики та фізики в обсязі, необхідному для засвоєння загально-інженерних та професійно-орієнтованих дисциплін; використовувати ґрунтовні знання з хімії в обсязі, необхідному для засвоєння загально-інженерних та професійно-орієнтованих дисциплін; комплексно аналізувати біологічні та біотехнологічні процеси на молекулярному та клітинному рівнях; до розв'язування теоретичних і практичних технологічних задач, пов'язаних із застосуванням знань з молекулярної біофізики; до аналізу та вибору ефективних методів досліджень БАР; проведення досліджень структури БАР за відомими методиками; до аналізу отриманих результатів досліджень; до самостійного засвоєння наукової літератури за даним напрямком знань; творчого мислення у вирішенні складних проблем інноваційного характеру і прийняття продуктивних рішень у сфері дослідження ієрархії структурної організації біополімерів.

Згідно з вимогами програми навчальної дисципліни студенти після засвоєння дисципліни мають продемонструвати такі результати навчання:

**знання:**

- про основні поняття та методи досліджень структури БАР;
- основні види взаємодій всередині та між біомолекулами та їх вплив на просторову організацію БАР;
- структурні та біологічні характеристики біополімерів, зв'язок конформаційної будови та функціональних властивостей, вплив різних факторів на зміну конфігурації та конформації і функціональний стан біомолекули;
- сучасні методи дослідження у встановленні форми, молекулярної маси та структури БАР (дифузія, мікрокалориметрія, електрофорез, дисперсія оптичного обертання, флуориметрія, ядерний магнітний резонанс, електронний парамагнітний резонанс, рентгеноструктурний аналіз та ін.), їх фізична сутність;
- сутність нових та інформаційних технологій моделювання біомакромолекул і їх взаємодії з лігандами та лікарськими препаратами.

**уміння:**

- користуватися отриманими теоретичними знаннями та практичними методами у дослідженні БАР;
- планувати й організувати проведення досліджень структури БАР методами біофізики та аналізувати отримані результати;
- аналізувати вплив різних фізичних і хімічних факторів на структуру та функціональні властивості БАР;
- аналізувати навчальну та наукову літературу і використовувати її в практиці.

**досвід:**

- роботи з програмними засобами у моделюванні побудов біополімерів та взаємодій біомакромолекул з лігандами та лікарськими препаратами;
- застосування простого лабораторного обладнання і методів у дослідженнях структури БАР.

## **2. Пререквізити та постреквізити дисципліни (місце в структурно-логічній схемі навчання за відповідною освітньою програмою)**

У структурно-логічній площині програми підготовки фахівців з біотехнології предмет вивчення цієї дисципліни базується на одержаних знаннях з фізики, біофізики, фізичної та колоїдної хімії, біохімії, та тісно переплетений з біоінформатикою, в якій за допомогою програмних методів прогнозують структури БАР.

Логічним підсумком вивчення дисципліни **Методи аналізу структури БАР** є фундамент для подальшої навчальної і дослідницької діяльності підготовка дипломного проєкту за освітньо-професійною програмою підготовки Біотехнології спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія.

### 3. Зміст навчальної дисципліни

**Тема 1** Гідродинамічні методи дослідження структури і молекулярної маси біологічно активних речовин (БАР). Види взаємодій біомолекул

**Тема 2** Спектрофотометричні методи (ультрафіолетова, інфрачервона, раманівська спектроскопія, хіроптичні методи, абсорбційна та диференційна спектрофотометрія, флуоресцентна спектрофотометрія, ядерний магнітний резонанс, електронний парамагнітний резонанс, мас-спектрометрія)

**Тема 3** Спеціальні методи (рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія)

### 4. Навчальні матеріали та ресурси

#### Базова література

1. Костюк, П.Г. Біофізика : підручник / П.Г.Костюк, В.Л.Зима, І.С.Магура та ін. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. - 567 с.
2. Азнакаєв Е.Г. Біофізика: Навч. посіб. – К.: Книжкове видавництво НАУ, 2005.-308 с.
3. Азнакаєв Е.Г. Біомедична інженерія (фундаментальні та прикладні аспекти): Навч. посіб. – К.: Книжкове видавництво НАУ, 2007.-390 с.
4. Кузьмінський Є.В., Голуб Н.Б. Біофізика: Підручник для студентів вищих навчальних закладів. – К.: Видавничий дім "Комп'ютерпрес", 2007. – 421 с.

#### Допоміжна

1. Гроссберг А.Ю., Хохлов А.Р. Фізика в мире полимеров. – М.: Наука. Гл. ред. Физ.-мат. Лит., 1989. – 208 с. – (Б-чка «Квант»; вып. 74).
2. Смик Н.І. Метод капілярного електрофорезу для визначення низькомолекулярних органічних кислот у соках / Н. І. Смик // Вісник Черкаського університету. Хімічні науки. - 2013. - №14. - С. 85-96. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/VchuX\\_2013\\_14\\_13.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/VchuX_2013_14_13.pdf).
3. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)
4. [www.arguslab.com](http://www.arguslab.com)
5. [www.coursera.org](http://www.coursera.org):
6. [www.dnatorna.com/](http://www.dnatorna.com/)
7. [www.autodock.scripps.edu](http://www.autodock.scripps.edu)
8. [www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2b7a](http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2b7a)
9. [https://www.youtube.com/watch?v=5cnqDCB\\_Xw](https://www.youtube.com/watch?v=5cnqDCB_Xw)
10. Vandooren J, Geurts N, Martens E, Van den Steen PE, Opdenakker G (2013). Zymography methods for visualizing hydrolytic enzymes. Nat Methods. **10** (3): 211–220. [doi:10.1038/nmeth.2371](https://doi.org/10.1038/nmeth.2371). PMID 23443633
11. [Gelatin zymography protocol | Abcam. www.abcam.com](http://www.abcam.com). Retrieved 2017-05-12
12. [my.science.ua](http://my.science.ua)
13. <https://www.molecula.club/>
14. [molecula.club](http://molecula.club)
15. <http://web.x3dna.org/>
16. Engvall, E (1972). Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa. The Journal of Immunology **109** (1): 129–135. ISSN 0022-1767. PMID 4113792
17. <https://www.chromatographytoday.com/news/bioanalytical/40/breaking-news/an-introduction-to-bioseparations/34425>

**5. Методика опанування навчальної дисципліни (освітнього компонента)**

**Лекційні заняття**

*Застосовуються стратегії активного і колективного навчання, які визначаються сучасними методами та інформаційними технологіями, зокрема дистанційного:*

№ з/п	Назва теми лекції та перелік основних питань
	<b>Тема 1 Гідродинамічні методи дослідження структури і молекулярної маси біологічно активних речовин (БАР). Види взаємодій біомолекул</b>
1	<p><b>Лекція 1 Загальний огляд методів, які використовуються для досліджень БАР. Основна характеристика БАР – молекулярна маса, її особливості та роль</b></p> <p>Основні методи для дослідження структур БАР: дифузометрія, седиментаційний аналіз, електрофорез дифракція рентгенівського випромінювання, дифракція нейтронів, електронна мікроскопія, спектрофотометрія, диференціальна спектрометрія, ІЧ-спектроскопія, раманівська спектроскопія, квазіпружне розсіювання світла, круговий дихроїзм (КД) і дисперсія оптичного обертання, флуоресцентний аналіз, передача енергії електронного збудження, ЯМР (ядерний магнітний резонанс)-томографія, ЕПР (електронний парамагнітний резонанс)-спектроскопія.</p> <p>Поняття молекулярної маси та дисперсності зразку. Диференційні та інтегральні криві розподілу молекулярної маси. Основні відмінності полімерів, пов'язані зі збільшенням розміру та маси макромолекул, особливості властивостей в двокомпонентних системах полімер-розчинник, специфічні властивості полімерів. Основні біологічно активні речовини – біополімери. Характеристика основних біополімерів, особливості ланцюгової структури біополімерів. Визначення середньочислової ММ структурних ізомерів і гомологів: титрування кінцевих груп; кріометрія; ебуліометрія; мембранна та безмембранна осмометрія.</p> <p>Література: базова [1,3], додаткова [1]</p>
2	<p><b>Лекція 2 Гідродинамічні методи (вимірювання в'язкості, дифузії) визначання молекулярної маси БАР</b></p> <p>В'язкість розчинів біомакромолекул, коефіцієнт в'язкості, формула Пуазейля, характеристична в'язкість, коефіцієнт Сімхи для глобулярних і фібрилярних білків. Метод визначання середньов'язкісної молекулярної маси. Дифузія макромолекул, фрикційний коефіцієнт. Перший закон Фіка. Експериментальні методи вимірювання коефіцієнта дифузії: метод поступальної дифузії для глобулярних молекул, принцип отримання плоскополяризованого світла подвійного променезаломлення, оптична анізотропія розчину, метод обертальної дифузії – подвійне променезаломлення в потоці для видовжених за формою молекул, метод квазіпружного розсіювання світла для вимірювання коефіцієнту дифузії глобулярних і видовжених молекул.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>
3	<p><b>Лекція 3 Гідродинамічні методи (седиментаційний аналіз, електрофорез) визначання молекулярної маси БАР</b></p> <p>Седиментаційний аналіз (диференційне, зональне швидкісне, ізопікнічне (рівноважне), аналітичне центрифугування. Метод швидкості седиментації, зміщення межі й піка седиментації (шлірен-піка). Коефіцієнт седиментації, формула Сведберга. Метод седиментаційної рівноваги, формула Фіка. Основні принципи, види та застосування методу електрофорезу для визначання молекулярної маси Взаємодія між макромолекулами в сольовому розчині (теорія Дебая-Хюккеля). Електрофорез (низьковольтний, високовольтний, фронтальний, зональний, дисковий, капілярний, паперовий, ізоелектричне фокусування, імуноелектрофорез). Електрофоретична рухливість, визначення молекулярної маси та субдиничного складу макромолекул методом гель-електрофореза. Теорія Дебая-Хюккеля Дебаївська довжина.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>

4	<p><b>Лекція 4 Види взаємодій. Внутрішньомолекулярні взаємодії в конфігурації та конформації біомакромолекул</b></p> <p>Види структур речовин біологічного походження. Енергія ковалентних зв'язків, види слабких взаємодій, що їх підтримують різні структури (електростатичні взаємодії; Ван-дер-Ваальсові, індукційні та орієнтаційні диполь-дипольні взаємодії, дисперсійні взаємодії між неполярними групами. Конфігурації та конформації біомакромолекул, рівні організації. Водневий зв'язок, докази існування водневого зв'язку. Гідрофобні взаємодії у водних розчинах. Структура води і льоду. Моделі рідкої води: модель неперервної структури води, модель мерехтливих кластерів. Шкала гідрофобності. Література: базова [1,2,4]</p>
	<p><b>Тема 2 Спектрофотометричні методи (ультрафіолетова (УФ), інфрачервона, раманівська спектроскопія, хіроптичні методи, абсорбційна та диференційна спектрофотометрія, флуоресцентна спектрофотометрія, ядерний магнітний резонанс, електронний парамагнітний резонанс, мас-спектрометрія)</b></p>
5	<p><b>Лекція 5 Оптичні методи дослідження структури БАР. Хіроптичні методи. Дисперсія оптичного обертання і круговий дихроїзм</b></p> <p>Хіроптичні методи (крім ЯМР). Хіральність біологічних сполук. Оптична активність. D- і L-, «+» і «-» - ізомери. Гомохіральність в біології, особливість D-амінокислот в живих організмах. Хіральність у фармакології. Каліксарени – хіральні рецептори. Кругове двопроменезаломлення, подвійне променезаломлення. Дисперсія оптичного обертання, питоме та молярне обертання, рівняння Друде, ефект Коттона (позитивний, негативний). Графік Моффіга-Янга. Круговий дихроїзм, спектри КД, дихрограф. Приклад конформаційних змін полі-L-лізину. Методи розділення енантіомерів. Топізм. Література: базова [1,2,4]</p>
6	<p><b>Лекція 6 Ультрафіолетова спектроскопія</b></p> <p>Типи взаємодії світла з речовиною. Природа УФ-спектру, довжини хвиль, які використовують для досліджень різних речовин. Сутність абсорбції електромагнітних хвиль УФ-діапазону. Фактор інтенсивності та фактор довжини хвиль. Мольний коефіцієнт погашення. Принцип схеми УФ-спектрометрів. Одержання УФ-спектрів. Поняття про хромофорні та ауксохромні групи для ідентифікації структури БАР. Батохромний та гіпсохромний зсув. Можливості та недоліки методу УФ-спектроскопії. Визначення хромофорних груп за УФ-спектром речовини. Константа наявності та відсутності функціональних груп. Характер і ступінь спряження на прикладі стероїдів. Максимуми поглинання каротиноїдів. Література: базова [1,2,4]</p>
7	<p><b>Лекція 7 Інфрачервона, раманівська спектроскопія у дослідженнях структури БАР</b></p> <p>Типи коливань, довжина хвиль ІЧ-спектроскопії, Фур'є-перетворення. Характеристики ІЧ-спектру. Способи введення зразків речовини. Валентні та деформаційні коливання. Характеристичні та нехарактеристичні смуги коливань в ІЧ-спектрах. Основні характеристичні частоти коливань функціональних груп БАР. Групові частоти. Можливості та недоліки методу ІЧ-спектроскопії. Вивчення будови пеніциліну. Визначення функціональних груп за наданим ІЧ-спектром. Література: базова [1,2,4]</p>
8	<p><b>Лекція 8 Домени й третинна будова білків. Динаміка структури білків.</b></p> <p>Диференційна сканувальна мікрокалориметрія. Принцип роботи диференційного мікрокалориметра. Криві плавлення білків з різною температурою плавлення. Калориметрична та ефективна ентальпія. Дослідження доменної структури фібриногену. Домени й третинна будова білків. Локальна густина білкової глобули. Швидкі і повільні рухи біомакромоллекули. Динаміка білкової молекули. Конформаційні зміни і робота ферментів. Абсорбційна й диференційна спектрофотометрія: сольвентно-пертурбаційний і температурно-пертурбаційний диференційний спектр.</p>

	Література: базова [1,2,4]
9	<p><b>Лекція 9 Біоломінесценція. Флуоресцентна спектроскопія білків</b></p> <p>Біоломінесценція та її використання в біологічних дослідженнях. Фізична суть флуоресценції і фосфоресценції, перехід електронів між синглетними і триплетними рівнями. Види флуоресценції. Закон Вавилова. Спектр збудження флуоресценції, квантовий вихід флуоресценції, метод Паркера і Ріса. Спектрофлуориметр. Поляризація флуоресценції та її параметри. Флуоресцентна спектроскопія із часовим розділенням. УФ-флуоресценція білків, флуорофори. Три методичні підходи до аналізу внутрішньо-молекулярної динаміки білків за параметрами власної флуоресценції. Двохвильовий флуоресцентний метод.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>
10	<p><b>Лекція 10 Флуоресцентні мітки і зонди та їх використання</b></p> <p>Флуоресцентні мітки і зонди. Використання флуоресцентних зондів в біологічних дослідженнях. Рівняння Хю-Клотца. Рівняння Скетчарда. Ексимери. Потенціалчутливі флуоресцентні зонди повільної і швидкої відповіді. Кальцій-чутливі зонди. Принцип роботи проточного цитофлуориметра.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>
11	<p><b>Лекція 11 Ядерний магнітний резонанс</b></p> <p>Механічний момент – спін ядер з парним і непарним масовим числом. Природа ЯМР на прикладі протона. Блок-схема ЯМР-спектрометра. Спін-коміркова і спін-спінова релаксація. Час поздовжньої спін-коміркової релаксації, час поперечної спін-спінової релаксації. Хімічне зміщення, ефект екранування, спін-спінове розщеплення ліній. Дослідження структури білків і регуляції ферментів методом ПМР. ЯМР-томографія.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>
12	<p><b>Лекція 12 Електронний парамагнітний резонанс</b></p> <p>Парамагнетики в структурі біомакромолекул, метод спінових міток. Спіновий магнітний момент. Величина енергетичного розщеплення для ЕПР і ЯМР, резонансні частоти і величини магнітних полів цих методів. Принцип роботи ЕПР-спектрометрів, X-діапазон і Q-діапазон. Основні параметри, які визначаються в ЕПР-спектрометрії. Види спектрів ЕПР. Використання нітроксильних радикалів як спінових міток. Анізотропія надтонкого розщеплення A і g-фактора. Параметр упорядкованості. Застосування методу, зокрема для діагностики захворювань.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>
13	<p><b>Лекція 13 Структурна мас-спектрометрія</b></p> <p>Методи іонізації молекул. Типи іонів, що фіксуються в мас-спектрометрії. Особливості мас-спектрів органічних сполук різних класів. Можливості мас-спектрометрії. Визначення структурних елементів сполуки за її мас-спектром. Сумісне використання спектральних методів для визначення будови сполук (УФ, ІЧ, ЯМР, ПМР, мас-спектрометрії). Хромато-мас-спектрометрія. Функціональний аналіз. «Зустрічний» синтез. Ідентифікація структури сполук співставленням результатів різних методів.</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>
	<b>Тема 3 Спеціальні методи (рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія)</b>
14	<p><b>Лекція 14 Рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія</b></p> <p>Види рентгенівської та гамма-спектроскопії: дифракція рентгенівських променів, рентгеноструктурний аналіз, гамма-резонансна (Месбауерівська) спектроскопія. Просвічуюча та растрова електронна мікроскопія, оптична конфокальна мікроскопія: фізичні основи, зображення. Атомно-силова мікроскопія, тунельна мікроскопія: фізичні основи, зображення</p> <p>Література: базова [1,2,4]</p>

### Практичні (лабораторні) заняття

Основні завдання циклу лабораторних занять дисципліни “Методи аналізу структури біоогічно активних речовин” є:

- практичне закріплення навчального матеріалу, викладеного на лекційних заняттях;
- знайомство з обладнанням, основними та допоміжними матеріалами, що застосовуються для досліджень структури БАР;
- практичне вміння проводити оцінювання цільового біологічного продукту за характерними для того чи іншого продукту за критеріями (чистотою, ідентичністю, спектром, біологічною активністю тощо).

№ з/п	Назва теми заняття та перелік основних питань
1	<b>Практична робота 1.</b> Побудова кривих молекулярно-масового розподілу за значеннями середніх молекулярних мас полімерів Література: базова [3], допоміжна [1]
2	<b>Практична робота 2.</b> Залежність гідродинамічних (седиментаційних) характеристик білків від іонної сили та густини розчину (переходи клубок-глобула). Література: базова [3, інтернет-ресурси]
3	<b>Практична робота 3.</b> Побудова вторинних структур ( $\alpha$ і $\beta$ ) поліпептидних ланцюгів за допомогою програми ArgusLab. Вирівнювання геометрії, зв'язків та кутів між атомами. Встановлення водневих зв'язків. Література: допоміжна [3,7]
4	<b>Практична робота 4.</b> Докінг СМР6-інгібітора ензиму JAK2 у середовищі ArgusLab Література: допоміжна [3,7].
5	<b>Практична робота 5.</b> Визначення хромофорних груп за наданим УФ-спектром Література: базова [1]
6	<b>Практична робота 6.</b> Визначення функціональних груп за наданим ІЧ-спектром Література: базова [1]
7	<b>Практична робота 7.</b> Визначення типу та кількості атомів Гідрогену сполуки за її спектром ПМР. Визначення структури речовини за наданими ІЧ та ПМР-спектрами Література: базова [1]
8	<b>Практична робота 8.</b> Визначення пептиду за експериментальним мас-спектром Література: допоміжна [5, інтернет-ресурси ]
9	<b>Практична робота 9.</b> Визначення структурних елементів сполуки за її мас-спектром
10	<b>Практична робота 10.</b> Метод зимографії та його застосування для визначення активності ензимів позаклітинного матриксу Література: допоміжна [9-11]
11	<b>Практична робота 11.</b> Імуноферментний аналіз Література: допоміжна [16]
12	<b>Модульна контрольна робота</b>
13	<b>Залік</b>

### 6. Самостійна робота студента **а куди ДКР? А по часу? Вона в інд. Плані намалювалась...**

Самостійна робота студента по дисципліні (66 год) включає самостійне вивчення тем, перелік яких наводиться нижче (26 годин), проведення розрахунків і визначень за первинними даними, отриманими на практичних заняттях (30 годин), модульної контрольної роботи (4 години), підготовка до заліку (6 годин).

№ з/п	Назви тем і питань, що виносяться на самостійне опрацювання та посилання на навчальну літературу	Кількість годин СРС
1	<b>Тема 1. Гідродинамічні методи дослідження структури і молекулярної маси біологічно активних речовин (БАР). Види взаємодій біомолекул</b> Використання полімерів у фармації, зокрема для пролонгування дії лікарських препаратів, допоміжні препарати готових лікарських форм.	6



	<p>Явище деструкції макромолекул у разі дії високої температури або зовнішнього поля сил – механічних, електричних, гідродинамічних тощо; дуалізм в'язкості; утворення драглів. Преципітація, визначення швидкості зсідання еритроцитів. Аналітичне центрифугування в дослідженнях.</p> <p>Розрахунки по практичних роботах 1,2</p> <p>Література: базова [1,2,5], допоміжна [1], інтернет-ресурси</p>	10
2	<p><b>Тема 2. Спектрофотометричні методи (ультрафіолетова (УФ), інфрачервона, раманівська спектроскопія, хіроптичні методи, абсорбційна та диференційна спектрофотометрія, флуоресцентна спектрофотометрія, ядерний магнітний резонанс, електронний парамагнітний резонанс, мас-спектрометрія)</b></p> <p>Вимірювання розсіювання світла, залежність розсіяння світла від розміру та форми частинок. Синтез D-амінокислот і пептидів живими організмами, їх роль. Застосування ДОО та КД в дослідженні клубка, <math>\alpha</math>-спіралі і <math>\beta</math>-структур. Ферментний катализ, апаратура в люмінесцентному аналізі, визначення кількості апоптичних і некротичних клітин методом проточної цитофлуориметрії. Використання біолюмінесценції в діагностиці захворювань. Вимірювання коливання вмісту кальцію в клітині. Використання методу ЯМР для досліджень харчових продуктів. Використання ЕПР для досліджень метал-ферментних взаємодій, впливу вільних радикалів</p> <p>Виконання практичних робіт 3-9</p> <p>Література: базова [1,2,5], інтернет-ресурси</p>	12          16
3	<p><b>Тема 3 Спеціальні методи (рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія)</b></p> <p>Визначення вторинної будови ДНК, досліди Розалінд Франклін. Формула Вульфа-Брегга. Застосування афінних взаємодій в імуноферментному аналізі. Методи аналізу тримірних структур для визначення параметрів матеріалів. Біоінформаційні бази даних вирішених тривимірних структур</p> <p>Виконання практичної роботи 9</p> <p>Література: допоміжна [9-11,16], інтернет-ресурси</p>	8          4

## Політика та контроль

### 7. Політика навчальної дисципліни (освітнього компонента)

**Політика щодо дедлайнів та перескладання:** Роботи, які здаються із порушенням термінів без поважних причин, оцінюються на нижчу оцінку. Перескладання модулів та лабораторних робіт відбувається за наявності поважних причин.

**Політика та принципи академічної доброчесності** визначені у розділі 3 Кодексу честі

Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Детальніше: <https://kpi.ua/code>. Використання додаткових джерел інформації під час оцінювання знань заборонено (у т.ч. мобільних девайсів). Мобільні пристрої дозволено використовувати лише під час он-лайн тестування та виконання розрахунків.

**Норми етичної поведінки:** Норми етичної поведінки студентів і працівників визначені у розділі 2 Кодексу честі Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Детальніше: <https://kpi.ua/code>.

**Політика щодо відвідування:** Відвідування лекцій, лабораторних занять, а також відсутність на них, не оцінюється. Однак, студентам рекомендується відвідувати заняття, оскільки на них викладається теоретичний матеріал та розвиваються практичні навички, необхідні для формування компетентностей, визначених стандартом освіти. Система оцінювання орієнтована на отримання балів за активність студента, а також виконання завдань, які здатні розвинути практичні уміння та навички. За об'єктивних причин



(наприклад, хвороба, працевлаштування, міжнародне стажування тощо) навчання може відбуватися в он-лайн формі за погодженням із лектором.

### **8. Види контролю та рейтингова система оцінювання результатів навчання (PCO)**

**Поточний контроль:** МКР – тест, розбитий за темами (20 балів), ДКР -30 балів, практичні роботи (50 балів, з яких практичні роботи 1-9 (по 5 балів) – 45 бал, 10,11 (по 2,5 бали) – 5 балів). Загальна сума балів за семестрову роботу – 100 балів. Докладніша інформація щодо поточного контролю та критеріїв оцінювання наведена в PCO з дисципліни.

**Календарний контроль:** проводиться двічі на семестр як моніторинг поточного стану виконання вимог силабусу.

**Семестровий контроль:** залік. Загальна сума балів на заліку – 100 балів (бали, отримані за семестр анулюються).

**Умови допуску до семестрового контролю:** семестровий рейтинг від 60 до 100 балів, написання МКР, захист лабораторних робіт.

Таблиця відповідності рейтингових балів оцінкам за університетською шкалою:

Кількість балів	Оцінка
100-95	Відмінно
94-85	Дуже добре
84-75	Добре
74-65	Задовільно
64-60	Достатньо
Менше 60	Незадовільно
Не виконані умови допуску	Не допущено

### **9 Додаткова інформація з дисципліни (освітнього компонента):**

Додаток А – основні питання, які виносяться на контрольну роботу та залік

Додаток Б – приклад залікового білету

Додаток В – рейтингова система оцінювання

## Додаток А

### Основні питання, які виносяться на контрольну роботу та залік

- 1 Основні методи для дослідження структур БАР: застосування кожного методу
- 2 Поняття молекулярної маси (чим характеризується і від чого залежить?) та дисперсності зразку. Диференційні та інтегральні криві розподілу молекулярної маси.
- 3 До яких наслідків приводить збільшення довжини макромолекули? До яких наслідків приводить збільшення міжмолекулярних взаємодій?
- 4 Характеристика основних біополімерів, особливості ланцюгової структури біополімерів.
- 5 Визначення середньочислової ММ структурних ізомерів і гомологів: титрування кінцевих груп; кріометрія; ебуліометрія; кріометрія, мембранна та безмембранна осмометрія.
- 6 Методи визначення молекулярної маси віскозиметричним методом – принципи, переваги, обмеження методу
- 7 Експериментальне визначення молекулярної маси методом поступальної дифузії
- 8 Експериментальне визначення молекулярної маси методом обертальної дифузії
- 9 Експериментальне визначення молекулярної маси методом квазіупругого розсіювання світла
- 10 Принцип седиментаційного аналізу, методи аналітичного та препаративного центрифугування
- 11 Електрофорез – принцип і види, електрофоретична рухливість
- 12 Енергія взаємодії між зарядженими молекулами у розчині. Теорія Дебая-Хюккеля.
- 13 Що таке конфігурація і конформація молекули? Якими зв'язками це визначається і яка енергія цих зв'язків? Роль слабких взаємодій в утворенні різних рівнів структури біомолекул
- 14 Водневий зв'язок, докази існування водневого зв'язку. Гідрофобні взаємодії у водних розчинах. Структура води і льоду. Моделі рідкої води
- 15 Хіральність біологічних сполук. Оптична активність. Види енантіомерів. Гомохіральність в біології, особливість D-амінокислот в живих організмах. Хіральність у фармакології.
- 16 Хіроптичні методи. Яке фізичне явище лежить в основі методів дисперсії оптичного обертання і кругового дихроїзму? Для чого застосовують ці методи?
- 17 В якій ділянці спектра реєструються ДОО і КД? Чому? Якими електронними переходами зумовлено це поглинання? Які прилади використовують для реєстрації ДОО? Приклади застосування методу ДОО
- 18 Чим зумовлений кут обертання площини поляризованого світла у разі його взаємодії з оптично активною молекулою? Як він визначається?
- 19 Чим зумовлений ефект Коттона? Що таке позитивний і негативний Коттон-ефект?
- 20 Як визначається ступінь спіральності за графіком Моффіта-Янга?
- 21 Що таке еліптичність речовини, чим вона зумовлена? Що таке спектр КД, на якому приладі його реєструють? Які його переваги?
- 22 Які методи використовують для дослідження статичної і динамічної структури білків? Чому? Що таке швидкі та повільні рухи білкової молекули, чим зумовлені? Яка їх природа, як це встановили?
- 23 Як змінюється густина всередині білкової молекули? Від чого це залежить і чим зумовлено?
- 24 Що таке далека і близька зона ультрафіолетового випромінювання? В якій зоні найчастіше проводять вимірювання спектру і чому?
- 25 Що таке зв'язувальні і розпушувальні орбіталі? Які переходи електронів мають практичне значення для в спектральних дослідженнях речовин і чому?
- 26 Що таке спектр поглинання і спектр пропускання речовини? Чим зумовлений спектр поглинання білків?

- 27 Одно- та двопробеневі спектрофотометри. Чим відрізняються і в яких випадках застосовуються?
- 28 Основний закон абсорбційної спектрофотометрії. Чим зумовлена характерна смуга поглинання білків?
- 29 Для чого застосовують диференційну спектрофотометрію? Що таке базова лінія?
- 30 Що таке диференційний спектр поглинання, чому він відповідає у першому наближенні? Який вигляд має диференційний спектр поглинання? Які є види диференційної спектроскопії білків?
- 31 Що таке біолюмінесценція, її прояви. Якими факторами вона може бути викликана?
- 32 Як за інтенсивністю хемілюмінесценції можна визначити швидкість обмінних процесів (принцип)?
- 33 Використання дослідження люмінесценції у медицині
- 34 Фізична основа флуоресценції
- 35 Чим флуоресценція відрізняється від фосфоресценції?
- 36 Основні види електронних переходів у незбуджений стан
- 37 Що таке сповільнена флуоресценція?
- 38 Що таке міграція енергії збудженого стану?
- 39 Що таке сенсibiliзована люмінесценція і які її умови?
- 40 Що таке спектр збудження флуоресценції? Які його параметри? Що відбувається, якщо енергія кванта більше або менше енергії переходу електрона у збуджений стан?
- 41 Що таке спектр флуоресценції? Закон Стокса.
- 42 Що таке квантовий вихід флуоресценції?
- 43 Закон Вавилова
- 44 Принцип роботи приладу, що вимірює інтенсивність і спектр флуоресценції.
- 45 В якій області відбувається збудження і випромінювання хлорофілу, білки?
- 46 Метод Паркера і Ріса. Які речовини використовують як еталони, чому?
- 47 Чому відбувається поляризація флуоресценції, які параметри її характеризують?
- 48 За яким параметром можна визначити внутрішньомолекулярну рухомість хромофорних груп у білкових молекулах, як вони взаємопов'язані?
- 49 Чому використовують флуоресцентну спектроскопію із часовим розділенням, який має бути імпульс?
- 50 Як пов'язана локалізація триптофанілів і їх мікрооточення із спектром флуоресценції білкової молекули?
- 51 Як, реєструючи зміни спектра триптофанової флуоресценції білка, можна точно оцінювати його конформаційну перебудову? Які фактори впливають на ці перебудови білкової молекули?
- 52 Як, реєструючи зміни спектра триптофанової флуоресценції білка, можна точно оцінювати його конформаційну перебудову? Які фактори впливають на ці перебудови білкової молекули?
- 53 Як змінюється спектр (пік) триптофану у воді і в білку? З чим це пов'язано? В якому білку ця зміна найбільша?
- 54 Які процеси в білковій молекулі можна вивчати, реєструючи зміни спектра триптофанової флуоресценції білка?
- 55 Що таке параметр В у флуоресцентних дослідженнях?
- 56 Як змінюється параметр В зі зміною конформації білкової молекули?
- 57 Принцип двохвильового флуоресцентного методу. Для чого його застосовують?
- 58 Що таке флуоресцентні мітки і флуоресцентні зонди? Принцип застосування кальційчутливого флуоресцентного зонда.
- 59 Для яких саме досліджень застосовують флуоресцентні зонди?
- 60 Рівняння Хю-Клотца і параметри, які в нього входять. Для чого його застосовують?
- 61 Рівняння Скетчарда і параметри, які в нього входять. Для чого його застосовують?

- 62 Що таке ексимер і ексимерна флуоресценція? Для чого її застосовують?
- 63 Для чого застосовують потенціалчутливі флуоресцентні зонди повільної і швидкої відповіді?
- 64 В яких саме дослідженнях використовують метод ЯМР в біології?
- 65 Що таке метод ЯМР, основні відомості, для яких ядер цей метод добре розроблений і поширений?
- 66 Що таке спінове квантове число, які воно може мати значення?
- 67 Чому різні ізотопи одного елемента мають різні спінові квантові числа?
- 68 Емпіричні правила, котрі обмежують значення спінового квантового числа  $I$  ядра даного ізотопу
- 69 Як пов'язаний ядерний магнітний момент зі спіном, назвіть параметри, що входять у формулу?
- 70 Як змінюється енергія протона у разі накладання магнітного поля? Як орієнтуються ядра?
- 71 Чим зумовлена намагніченість речовини у разі накладання магнітного поля?
- 72 В чому полягає явище резонансу, що використовують у ЯМР-спектрометрії?
- 73 Яке явище лежить в основі спектроскопії ЯМР? Чому метод називається спектроскопічним?
- 74 Принцип роботи ЯМР-спектрографа
- 75 Вимоги до зразків для зняття спектру ПМР (якість, кількість, концентрація)?
- 76 Які застосовують розчинники для зразків для ПМР та еталони? Чому?
- 77 Вимоги до магнітного поля для зняття спектру ПМР.
- 78 Що являє собою спектр ЯМР?
- 79 Назвіть параметри для інтерпретації спектрів ЯМР, покажіть на прикладі спектру
- 80 Чому одні й ті самі ядра гідрогену мають різні резонансні частоти?
- 81 Що таке хімічне зміщення?
- 82 Що таке мультиплетність сигналу, як вона визначається для простих спектрів 1 порядку?
- 83 Що таке константа розщеплення, від чого вона залежить, які значення приймає в біоорганічних молекулах?
- 84 Що таке інтегральна інтенсивність, які співвідношення площ існують в мультиплетах?
- 85 Які недоліки або обмеження існують для визначення кількісних характеристик досліджуваної речовини методом ЯМР?
- 86 За якою характеристикою можна визначити відносну рухомість ядер?
- 87 За якими характеристиками визначають кількість протонів та їх належність до певної функціональної групи?
- 88 Як за величиною хімічного зміщення визначають тип амінокислотних залишків?
- 89 Які дослідження білків проводять за допомогою ПМР-спектроскопії?
- 90 Що саме спостерігають на спектрах ПМР для амінокислот, які входять в активний центр ферменту, як визначають такі амінокислоти?
- 91 Принцип ЯМР-томографії, її переваги перед рентгенографією
- 92 Які дослідження (медичні і немедичні) проводять за допомогою ЯМР-томографії?
- 93 Які речовини можна досліджувати методом ЕПР? Які біологічні процеси і білки ним досліджують?
- 94 Чим параметри в формулі магнітного спінового моменту в методі ЕПР відрізняються від параметрів методу ЯМР?
- 95 Порівняйте значення магнітних полів, які використовуються у методі ЯМР і ЕПР. Чому?
- 96 Основні параметри, які визначаються в методі ЕПР.
- 97 Які спектральні діапазони використовують в ЕПР-спектрометрах?
- 98 Який вигляд має ЕПР-спектр, які параметри вимірюють?
- 99 Що таке спінові мітки, для чого їх використовують?
- 100 Яку дію спричиняють антиоксиданти на нітроксильний радикал?

- 101 Які структури і процеси в них досліджують методом спінових міток?
- 102 Чому методом ЕПР визначають негативні впливи на живу клітину?
- 103 Які дослідження методом ЕПР проводять в інституті онкології?
- 104 Диференційна сканувальна мікрокалориметрія. Принцип роботи диференційного мікрокалориметра.
- 105 Типи коливань, валентні та деформаційні колювання. довжина хвиль ІЧ-спектроскопії.
- 106 Фур'є-перетворення.
- 107 Характеристики ІЧ-спектру. Способи введення зразків речовини.
- 108 Характеристичні та нехарактеристичні смуги коливань в ІЧ-спектрах. Основні характеристичні частоти коливань функціональних груп БАР. Групові частоти.
- 109 Можливості та недоліки методу ІЧ-спектроскопії. Приклади ідентифікації БАР за ІЧ-спектром.
- 110 Структурна мас-спектрометрія. Можливості мас-спектрометрії.
- 111 Методи іонізації молекул. Типи іонів, що фіксуються в мас-спектрометрії.
- 112 Особливості мас-спектрів органічних сполук різних класів. Визначення структурних елементів сполуки за її мас-спектром.
- 113 Сумісне використання спектральних методів для визначення будови сполук (УФ, ІЧ, ЯМР, ПМР, мас-спектрометрії). Хромато-мас-спектрометрія. Функціональний аналіз. «Зустрічний» синтез. Ідентифікація структури сполук співставленням результатів різних методів.
- 114 Види рентгенівської та гамма-спектроскопії: дифракція рентгенівських променів, рентгеноструктурний аналіз, гамма-резонансна (Месбауерівська) спектроскопія. 115 Рентгеноструктурний аналіз, основні етапи аналізу структур.
- 116 Схема рентгенівського експерименту, дифракційна картина, яку отримують
- 117 Основні положення, на якій побудовано математична модель розсіювання рентгенівських променів
- 118 Необхідність кристалізації зразків, зв'язок отриманого зображення з досліджуваною структурою, формула Вульфа-Брегга
- 119 Досліди Розалінд Франклін в побудові моделі ДНК
- 120 Можливі рішення фазової проблеми
- 121 Структурні характеристики досліджуваних біологічних об'єктів: періоди комірок, число рефлексів, різні способи упорядкування молекул ліпідів у розчині
- 122 Види структур речовин біологічного походження
- 123 Електронна мікроскопія, просвічуюча та растрова електронна мікроскопія, оптична конфокальна мікроскопія: фізичні основи, зображення
- 124 Зондова мікроскопія, атомно-силова мікроскопія, тунельна мікроскопія: фізичні основи методу, зображення.

## Додаток Б

### Приклад залікового білету дисципліни

#### "Методи аналізу структур біологічно активних речовин"

Національний технічний університет України «КПІ імені Ігоря Сікорського»

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 – Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма біотехнологія

Навчальна дисципліна Методи аналізу структур біологічно активних речовин

Семестр 5

Кредитний модуль 1

### ЗАЛІКОВИЙ БІЛЕТ

- 1 Хіроптичні методи. Яке фізичне явище лежить в основі методів дисперсії оптичного обертання і кругового дихроїзму? Для чого застосовують ці методи?
- 2 Принцип роботи приладу, що вимірює інтенсивність і спектр флуоресценції.
- 3 Для чого застосовують диференційну спектрофотометрію? Що таке базова лінія?
- 4 Методи визначення середньочислової молекулярної маси: титрування кінцевих груп; кріометрія; ебуліометрія; мембранна та безмембранна осмометрія
- 5 Структурна мас-спектрометрія. Можливості мас-спектрометрії

Затверджено на засіданні кафедри екобіотехнології, біоінформатики та біоенергетики

Протокол № \_\_\_\_\_ від « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 року

Зав.кафедри \_\_\_\_\_ проф. Голуб Н.Б.

Екзаменатор \_\_\_\_\_ доц. Маринченко Л.В.



## Додаток В

### Рейтингова система оцінювання результатів навчання студентів з дисципліни «Методи аналізу структури біологічно активних речовин»

*Поточний контроль: МКР – тест, розбитий за темами (20 балів: 20+ питань по 1 балу), ДКР - 30 балів, практичні роботи (50 балів, з яких практичні роботи 1-9 (по 5 балів) – 45 бал, 10,11 (по 2,5 бали) – 5 балів). Загальна сума балів за семестрову роботу – 100 балів. Докладніша інформація щодо поточного контролю та критеріїв оцінювання наведена в РСО з дисципліни.*

1. Рейтинг студента з кредитного модуля складається з балів, що він отримує за:

- виконання 1 контрольної роботи (тесту);
- роботи на 11 практичних заняттях;
- виконання домашньої контрольної роботи (ДКР).

2. Критерії нарахування балів.

2.1. Контрольна робота оцінюється із 20 балів:

- контрольна робота виконується он-лайн у Гугл-формі, що висилається кожному студенту (питання перемішано, варіанти відповідей перемішано). Кожне питання оцінюється в 1 бал. Кількість питань 20 (+2 додаткових).

2.2. Практичне (семінарське) заняття оцінюється із 5 балів:

- «відмінно» – творче вирішення завдання, вільне володіння матеріалом – 5 бали;
- «добре» – вірне виконання завдання з незначними недоліками – 4 бали;
- «задовільно» – вірне виконання завдання з деякими помилками – 3 бали;
- «достатньо» – вірне виконання завдання з помітними помилками – 2 бали;
- два найкращих студента можуть додатково отримати + 1 бал.

2.3. Домашня контрольна робота оцінюється із 30 балів за такими критеріями:

- «відмінно» – творчий підхід до розкриття проблеми – 30-26 балів;
- «добре» – глибоке розкриття проблеми, відображена власна позиція – 25-20 балів;
- «задовільно» – обґрунтоване розкриття проблеми з певними недоліками – 19-14 бали;
- «незадовільно» – завдання не виконане, ДКР не зараховано – 0 балів.

За кожний тиждень затримки із поданням домашньої контрольної роботи нараховуються штрафні –2 бали (усього не більше – 8 балів). Наявність позитивної оцінки з ДКР є умовою допуску до залікової контрольної роботи.

2.4. Залікова контрольна робота оцінюється із 60 балів. Контрольне завдання цієї роботи складається з 5 запитань з переліку, що наданий у додатку до робочої програми КМ.

Кожне запитання оцінюється з 12 балів за такими критеріями:

- «відмінно» – повна відповідь (не менше 90% потрібної інформації), надані відповідні обґрунтування та особистий погляд – 10-12 балів;

- «добре» – достатньо повна відповідь (не менше 75% потрібної інформації), що виконана згідно з вимогами до рівня «умінь», або незначні неточності) – 7...10 балів;
- «задовільно» – неповна відповідь (не менше 60% потрібної інформації, що виконана згідно з вимогами до «стереотипного» рівня та деякі помилки) – 4...10 балів;
- «незадовільно» – незадовільна відповідь – 0 балів.

3. Умовою позитивної першої атестації є отримання не менше 27 балів, другої атестації – отримання не менше 45 балів за умови зарахування ДКР.

4. Сума рейтингових балів, отриманих студентом протягом семестру, за умови зарахування ДКР, переводиться до підсумкової оцінки згідно з таблицею (п.6). Якщо сума балів менша за 60, але ДКР зараховано, студент виконує залікову контрольну роботу. У цьому разі сума балів за виконання ДКР та залікову контрольну роботу переводиться до підсумкової оцінки згідно з таблицею п. 6.

5. Студент, який у семестрі отримав більше 60 балів, але бажає підвищити свій результат, може взяти участь у заліковій контрольній роботі. У цьому разі остаточний результат складається із балів, що отримані на заліковій контрольній роботі та балів з РГР.

6. Таблиця переведення рейтингових балів до оцінок:

Бали	Оцінка
100...95	Відмінно
94...85	Дуже добре
84...75	Добре
74...65	Задовільно
64...60	Достатньо
Менше 60	Незадовільно
ДКР не зараховано	Не допущено

#### **Робочу програму навчальної дисципліни (силабус):**

**Складено** доцентом кафедри екобіотехнології, біоінформатики та біоенергетики, к.т.н., с.н.с. Маринченко Л.В.

**Ухвалено** кафедрою екобіотехнології, біоінформатики та біоенергетики (протокол № 1 від 30.08.21)

**Погоджено** Методичною комісією факультету біотехнології і біотехніки<sup>1</sup> (протокол № \_\_ від \_\_\_\_\_)