Національний технічний університет України
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

Емблема кафедри (за наявності)

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

Методи аналізу структури біологічно активних речовин

Робоча програма навчальної дисципліни (Силабус)

Реквізити навчальної дисципліни

Рівень вищої освіти	***Перший бакалаврський***
Галузь знань	***16 «Хімічна та біоінженерія»***
Спеціальність	***162 –Біотехнології та біоінженерія***
Освітня програма	***Біотехнології***
Статус дисципліни	***Вибіркова***
Форма навчання	***Очна***
Рік підготовки, семестр	***3 курс, 5 (осінній) семестр***
Обсяг дисципліни	***4 кредити ЄКТС***
Семестровий контроль/ контрольні заходи	***Залік/МКР***
Розклад занять	***Лекції: 1,5 год/тиждень; практичні заняття: 1,5 год/тиждень згідно з розкладом***
Мова викладання	***Українська***
Інформація про керівника курсу / викладачів	***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)*** ***Практичні: канд. техн.наук, с.н.с. Маринченко Лоліта Вікторівна***
Розміщення курсу	***Google classroom. https://classroom.google.com/w/NjM3MjQ1MjU2NzVa/t/all*** ***Код курса https://classroom.google.com/c/NjM3MjQ1MjU2NzVa?cjc=55tygjf***

Програма навчальної дисципліни

1. Опис навчальної дисципліни, її мета, предмет вивчання 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 фахових компетентностей згідно з освітньо-професійною програмою, необхідних для розуміння базових фізико-хімічних методів досліджень структури БАР, які є основою для їх біологічних функцій: здатність використовувати знання з математики та фізики в обсязі, необхідному для досягнення інших результатів освітньої програми; здатність використовувати ґрунтовні знання з хімії та біології в обсязі, необхідному для досягнення інших результатів освітньої програми; здатність обирати і використовувати відповідне обладнання, інструменти та методи для реалізації та контролю виробництв біотехнологічних продуктів різного призначення; здатність комплексно аналізувати біологічні та біотехнологічні процеси на молекулярному та клітинному рівнях.

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, надмолекулярних комплексів).

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 згідно з освітньо-професійною програмою є: вміти застосовувати сучасні математичні методи для розв'язання практичних задач, пов'язаних з дослідженням і проектуванням біотехнологічних процесів; використовувати знання фізики для аналізу біотехнологічних процесів; вміти здійснювати якісний та кількісний аналіз речовин неорганічного, органічного та біологічного походження, використовуючи відповідні методи; вміти визначати та аналізувати основні фізико-хімічні властивості органічних сполук, що входять до складу біологічних агентів (білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди).

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*:**

- визначати та аналізувати основні фізико-хімічні властивості органічних сполук, що входять до складу біологічних агентів (білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди);
- аналізувати біотехнологічні процеси на молекулярному та клітинному рівнях;
- користуватися отриманими теоретичними знаннями та практичними методами у дослідженні БАР;
- планувати й організовувати 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.

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.
5. Личковський Е.І., Тіманюк В.О., Чалий О.В., Лях Ю.Є., Животова О.М. Біофізика. Фізичні методи аналізу та метрологія: підруч. – Вінниця: Нова Книга, 2014. – 464 с.

Допоміжна

1. Аналітичні методи досліджень. Спектроскопічні методи аналізу: теоретичні основи і методики: навчальний посібник для підготовки студентів вищих навчальних закладів / Д.О. Мельничук, С.Д. Мельничук, В.М. Войціцький та ін.: за ред. акад. Д.О. Мельничука. – К.: ЦП «Компринт», 2016. – 289 с. – Режим доступу: http://dglib.nubip.edu.ua:8080/jspui/bitstream/123456789/4019/1/Mel%27nichuk_SPEKTROSKOP%D0%86ChN%D0%86_METODI_ANAL%D0%86ZU.pdf
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.
3. Техніка спектроскопії : навчальний посібник / укл.: І.В. Солтис. – Чернівці : ЧНУ, 2022. – 132 с. – Режим доступу: https://shorturl.at/etuv5

Інтернет ресурси

1 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
2 www.arguslab.com
3 www.coursera.org:
4 www.dnatorna.com/
5 www.autodock.scripps.edu
6 www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2b7a
7 https://www.youtube.com/watch?v=_5cnqDCB_Xw
8 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. PMID 23443633
9 Gelatin zymography protocol | Abcam. *www.abcam.com*. Retrieved 2017-05-12
10 my.science.ua
11 https://www.molecula.club/
12 molecula.club
13 http://web.x3dna.org/
14 Engvall, E (1972). Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa. The Journal of Immunology **109** (1): 129–135. ISSN 0022-1767. PMID 4113792
15 https://www.chromatographytoday.com/news/bioanalytical/40/breaking-news/an-introduction-to-bioseparations/34425

Навчальний контент

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
	Тема 1 Гідродинамічні методи дослідження структури і молекулярної маси біологічно активних речовин (БАР). Види взаємодій біомолекул
1	**Лекція 1 Загальний огляд методів, які використовуються для досліджень БАР. Основна характеристика БАР – молекулярна маса, її особливості та роль** 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. 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. Література: базова [1,3], додаткова [1]
2	**Лекція 2 Гідродинамічні методи (вимірювання в'язкості, дифузії) визначання молекулярної маси БАР** 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 квазіупружного розсіювання світла для вимірювання коефіцієнту дифузії глобулярних і видовжених молекул. Література: базова [1,4]
3	**Лекція 3 Гідродинамічні методи (седиментаційний аналіз, електрофорез) визначання молекулярної маси БАР** 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 визначення 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 субодиничного складу макромолекул методом гель-електрофореза. Теорія Дебая-Хюккеля Дебаївська довжина. Література: базова [1,4]

4	**Лекція 4 Види взаємодій. Внутрішньомолекулярні взаємодії в конфігурації та конформації біомакромолекул** 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 [1,4]
	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)
5	**Лекція 5 Оптичні методи дослідження структури БАР. Хіроптичні методи. Дисперсія оптичного обертання і круговий дихроїзм** 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 Моффіта-Янга. Круговий дихроїзм, спектри КД, дихрограф. Приклад конформаційних змін полі-L-лізину. Методи розділення енантіомерів. Топізм. Література: базова [4,5]
6	**Лекція 6 Ультрафіолетова спектроскопія** 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. Констатація наявності та відсутності функціональних груп. Характер і ступінь спряження на прикладі стероїдів. Максимуми поглинання каротиноїдів. Література: базова [1,5]
7	**Лекція 7 Інфрачервона, раманівська спектроскопія у дослідженнях структури БАР** 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 [1,5]
8	**Лекція 8 Домени й третинна будова білків. Динаміка структури білків**. 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 біомакромолекули. Динаміка білкової молекули. Конформаційні зміни і робота ферментів. Абсорбційна й диференційна спектрофотометрія: сольвентно-пертурбаційний і температурно-пертубаційний диференційний спектр.

	Література: базова [1,5]
9	**Лекція 9 Біолюмінесценція. Флуоресцентна спектроскопія білків** Біолюмінесценція 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. Література: базова [1,5]
10	**Лекція 10 Флуоресцентні мітки і зонди та їх використання** 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. Література: базова [1,5]
11	**Лекція 11 Ядерний магнітний резонанс** 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. Література: базова [1,5]
12	**Лекція 12 Електронний парамагнітний резонанс** 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. Література: базова [1,5]
13	**Лекція 13 Структурна мас-спектрометрія** Методи іонізації молекул. Типи іонів, що фіксуються в мас-спектрометрі. 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. Література: базова [1,5]
	Тема 3 Спеціальні методи (рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія)
14	**Лекція 14 Рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія** 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 Література: базова [1,2]

Практичні 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	***Практична робота 1.*** Побудова кривих молекулярно-масового розподілу за значеннями середніх молекулярних мас полімерів Література: базова [3], допоміжна [1]
2	***Практична робота 2***. Залежність гідродинамічних (седиментаційних) характеристик білків від іонної сили та густини розчину (переходи клубок-глобула). Література: базова [3, інтернет-ресурси]
3	***Практична робота 3.*** Побудова вторинних структур (α і β) поліпептидних ланцюгів за допомогою програми ArgusLab. Вирівнювання геометрії, зв’язків та кутів між атомами. Встановлення водневих зв’язків. Література: допоміжна [3,7]
4	***Практична робота 4.*** Визначення молекулярної маси білків методом седиментаційної рівноваги Література: базова [1]
5	***Практична робота 5.*** Визначення молекулярної маси білків методом електрофорезу Модульна контрольна робота (1,0 год) Література: базова [1]
6	***Практична робота 6.*** Визначення співвідношення вторинних структур білків методом кругового дихроїзму Література: базова [1]
7	***Практична робота 7.*** Зв‘язок електронних спектрів з будовою органічних сполук Література: базова [1]
8	***Практична робота 8.*** Дослідження каротиноїдів і хлорофілу за допомогою УФ-спектрів Література: базова [1]
9	***Практична робота 9.*** Визначення структури речовини за наданими ІЧ- та УФ-спектрами Література: базова [1]
10	***Практична робота 10.*** Інтерпретація мас-спектрів Література: допоміжна [3,7].
11	**Захисти практичних робіт** Література: зазначена у списку, інтернет-ресурси
12	**Модульна контрольна (1,0 год). Захисти практичних робіт.**
13	***Залік***

6. Самостійна робота студента

Самостійна робота студента по дисципліні (66 год) включає підготовку до лекційних занять (28 год) і самостійне вивчення тем, перелік яких наводиться нижче (18 годин), підготовка до практичних робіт і проведення розрахунків і визначень за первинними даними, отриманими на практичних заняттях (10 год), підготовка до модульних контрольних робіт (4 години), підготовка до заліку (6 годин).

№ з/п	*Назви тем і питань, що виноситься на самостійне опрацювання та посилання на навчальну літературу*	*Кількість годин СРС*
1	**Тема 1. Гідродинамічні методи дослідження структури і молекулярної маси біологічно активних речовин (БАР). Види взаємодій біомолекул** Використання полімерів у фармації, зокрема для пролонгування дії лікарських препаратів, допоміжні препарати готових лікарських форм. Явище деструкції макромолекул у разі дії високої температури або зовнішнього поля сил – механічних, електричних, гідродинамічних тощо; дуалізм в'язкості; утворення драглів. Аналітичне центрифугування в дослідженнях. Розрахунки по практичних роботах Література: базова [5], допоміжна [1], інтернет-ресурси	6
2	**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)** Вимірювання розсіювання світла, залежність розсіяння світла від розміру та форми частинок. Синтез D-амінокислот і пептидів живими організмами, їх роль. Ферментний каталіз, 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 Розрахунки по практичних роботах Література: базова [1,5], інтернет-ресурси	10
3	**Тема 3 Спеціальні методи (рентгеноструктурний аналіз, електронна мікроскопія, зондова мікроскопія)** Визначення вторинної будови ДНК, досліди Розалінд Франклін. Формула Вульфа-Брегга. Застосування афінних взаємодій в імуноферментному аналізі. Література: базова [1], інтернет-ресурси	2

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, практичних (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 (РСО)

***Поточний контроль**: МКР – 2 тести, розбиті за темами (по 10 балів кожний), практичні роботи (80 балів – 10х8 балів). Загальна сума балів за семестрову роботу – 100 балів.*

***Календарний контроль**: проводиться двічі на семестр (за темами), як моніторинг поточного стану виконання вимог силабусу.*

***Семестровий контроль**: залік. Студенти, які одержали рейтинг вище 60 балів, можуть отримати залік автоматом за умови позитивної оцінки за всі практичні роботи і МКР. Загальна сума балів на заліку – 100 балів (бали, отримані за семестр, анулюються).*

***Умови допуску до семестрового контролю**: До заліку допускаються студенти, які одержали позитивну оцінку з МКР, виконали всі практичні роботи і отримали не менше 50 балів. Студенти, які одержали більше 60 балів і бажають підвищити свій рейтинг, також можуть здавати залік.* У цьому разі бали, отримані за виконання всіх практичних робіт і МКР анулюються (за умови отримання за них позитивної оцінки), і остаточний результат складається із балів, що отримані на заліковій контрольній роботі. Сума балів за виконання залікової контрольної роботи переводиться до підсумкової оцінки згідно з таблицею (у разі мінімально позитивної оцінки за всі роботи).

Залікова контрольна робота оцінюється із 100 балів. Контрольне завдання цієї роботи складається з 5 запитань з переліку, що наданий у додатку до робочої програми КМ.

Кожне запитання оцінюється у 20 балів за такими критеріями:

– «відмінно» – повна відповідь (не менше 95% потрібної інформації), надані відповідні обґрунтування та особистий погляд – 19…20 балів;

– «добре» – достатньо повна відповідь (не менше 75% потрібної інформації), що виконана згідно з вимогами до рівня «умінь», або незначні неточності) – 15…18 балів;

– «задовільно» – неповна відповідь (не менше 60% потрібної інформації. що виконана згідно з вимогами до «стереотипного» рівня та деякі помилки) – 12…14 балів;

– «незадовільно» – незадовільна відповідь – 0 балів.

Сума балів за виконання залікової контрольної роботи переводиться до підсумкової оцінки згідно з таблицею п. 6 (у разі мінімально позитивної оцінки за всі роботи).

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 1 модульну контрольну роботу

Додаток Б – основні питання, які виносяться на 2 модульну контрольну роботу

Додаток В – основні питання, які виносяться на залік

Додаток Г – рейтингова система оцінювання

Додаток А

Основні питання, які виносяться на 1 модульну контрольну роботу

1 До яких наслідків приводить збільшення довжини макромолекули? До яких наслідків приводить збільшення міжмолекулярних взаємодій?

2 Характеристика основних біополімерів, особливості ланцюгової структури біополімерів.

3 Методи визначення різних видів молекулярної маси

4 Методи визначення молекулярної маси віскозиметричним методом – принципи, переваги, обмеження методу

5 Експериментальне визначення молекулярної маси методом поступальної дифузії

6 Експериментальне визначення молекулярної маси методом обертальної дифузії

7 Експериментальне визначення молекулярної маси методом квазіупружного розсіювання світла

8 Принцип седиментаційного аналізу, методи аналітичного та препаративного центрифугування

9 Електрофорез – принцип і види, електрофоретична рухливість

10 Енергія взаємодії між зарядженими молекулами у розчині. Теорія Дебая-Хюккеля.

11 Внутрішньомолекулярна рухливість

12 Що таке диференційний спектр поглинання, чому він відповідає у першому наближенні?

13 Які прилади використовують для реєстрації ДОО? Приклади застосування методу ДОО
цих зв'язків? Роль слабких взаємодій в утворенні різних рівнів структури біомолекул

14 Що таке еліптичність речовини, чим вона зумовлена? Що таке спектр КД, на якому приладі його реєструють? Які його переваги?

15 Що таке конфігурація і конформація молекули? Якими зв'язками це визначається і яка енергія

16 Що таке конформаційний параметр Р

17 Чим зумовлений кут обертання площини поляризованого світла у разі його взаємодії з оптично активною молекулою? Як він визначається?

18 Чим зумовлений ефект Коттона? Що таке позитивний і негативний Коттон-ефект?

19 Принцип седиментаційного аналізу у визначенні молекулярної маси молекул біополімерів за швидкістю седиментації

20 Метод шлірен-піку (із застосуванням оптичних систем)

21 Створення та застосування градієнту густини

22 Роль конформації молекул БАР у розділенні седиментаційними методами.

23 Що таке дебаївська довжина? Як вона змінюється зі збільшенням іонної сили розчину?

Додаток Б

Основні питання, які виносяться на 2 модульну контрольну роботу

1 Що таке далека і близька зона ультрафіолетового випромінювання? В якій зоні найчастіше проводять вимірювання спектру і чому?

2 Одно- та двопроменеві спектрофотометри. В яких випадках вони застосовуються?

3 Основний закон абсорбційної спектрофотометрії. Чим зумовлена характерна смуга поглинання білків?

4 Як інтенсивність хемілюмінесценції пов'язана зі швидкістю обмінних процесів (принцип)?

5 Чим флуоресценція відрізняється від фосфоресценції?

6 Що таке спектр флуоресценції? Закон Стокса.

7 Чому відбувається поляризація флуоресценції, які параметри її характеризують?

8 Як пов'язана локалізація триптофанілів і їх мікрооточення із спектром флуоресценції білкової молекули?

9 Як змінюється параметр В зі зміною конформації білкової молекули?

10 Що таке флуоресцентні мітки і флуоресцентні зонди? Принцип застосування кальційчутливого флуоресцентного зонда.

11 Для чого застосовують потенціалчутливі флуоресцентні зонди повільної і швидкої відповіді?

12 Що таке метод ЯМР, основні відомості, для яких ядер цей метод застосовується?

13 Емпіричні правила, котрі обмежують значення спінового квантового числа *I* ядра даного ізотопу

14 В чому полягає явище резонансу, що використовують у ЯМР-спектрометрі?

15 Які застосовують розчинники для зразків для ПМР та еталони? Чому?

16 Що являє собою спектр ЯМР? Що таке хімічне зміщення?

17 Що таке інтегральна інтенсивність, які співвідношення площ існують в мультиплетах?

18 Які недоліки або обмеження існують для визначення кількісних характеристик досліджуваної речовини методом ЯМР?

19 Які дослідження білків проводять за допомогою ПМР-спектроскопії?

20 Які речовини можна досліджувати методом ЕПР? Які біологічні процеси і білки ним досліджують?

21 Чим параметри в формулі магнітного спінового моменту в методі ЕПР відрізняються від параметрів методу ЯМР?

22 Основні параметри, які визначаються в методі ЕПР.

23 Які спектральні діапазони використовують в ЕПР-спектрометрах?

24 Які структури і процеси в них досліджують методом спінових міток?

25 Фур'є-перетворення.

26 Можливості та недоліки методу ІЧ-спектроскопії. Приклади ідентифікації БАР за ІЧ-спектром.

27 Структурна мас-спектрометрія. Можливості мас-спектрометрії.

28 Схема мас-спектрометра та принцип методу

29 Методи іонізації молекул

30 Варіанти запису мас-спектрів, можливості та обмеження методу

31 Типи іонів, які реєструються методом мас-спектрометрії

32 Схема рентгенівського експерименту, сутність методу, дифракційна картина, яку отримують

33 Основні етапи рентгеноструктурного аналізу

34 Методи вирішення «фазової проблеми» в рентгеноструктурному аналізі

35 В чому заключається уточнення структури, R-фактор

36 Структурні характеристики досліджуваних біологічних об'єктів: періоди комірок, число рефлексів, різні способи упорядкування молекул ліпідів у розчині

37 Зондова мікроскопія, атомно-силова мікроскопія, тунельна мікроскопія: фізичні основи методу, зображення.

Додаток В

Основні питання, які виносяться на 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 Визначення середньочислової ММ структурних ізомерів і гомологів: титрування кінцевих груп; кріометрія; ебуліометрія; кріометрія, мембранна та безмембранна осмометрія.

4 Експериментальне визначення молекулярної маси методом поступальної дифузії

5 Експериментальне визначення молекулярної маси методом обертальної дифузії

6 Експериментальне визначення молекулярної маси методом квазіупружного розсіювання світла

7 Принцип седиментаційного аналізу, методи аналітичного та препаративного центрифугування

8 Електрофорез – принцип і види, електрофоретична рухливість

9 Енергія взаємодії між зарядженими молекулами у розчині. Теорія Дебая-Хюккеля

10 Як змінюється густина всередині білкової молекули? Від чого це залежить і чим зумовлено?

11 Водневий зв'язок, докази існування водневого зв’язку. Гідрофобні взаємодії у водних розчинах. Структура води і льоду. Моделі рідкої води

12 Хіральність біологічних сполук. Оптична активність. Види енантіомерів. Гомохіральність в біології, особливість D-амінокислот в живих організмах. Хіральність у фармакології.

13 Хіроптичні методи. Яке фізичне явище лежить в основі методів дисперсії оптичного обертання і кругового дихроїзму? Для чого застосовують ці методи?

14 В якій ділянці спектра реєструються ДОО і КД? Чому? Якими електронними переходами зумовлено це поглинання?

15 Як визначається ступінь спіральності за графіком Моффіта-Янга?

16 Які методи використовують для дослідження статичної і динамічної структури білків? Чому?

17 Що таке швидкі та повільні рухи білкової молекули, чим зумовлені? Яка їх природа, як це встановили?

18 Що таке зв’язувальні і розпушувальні орбіталі? Які переходи електронів мають практичне значення для в спектральних дослідженнях речовин і чому?

19 Що таке спектр поглинання і спектр пропускання речовини? Чим зумовлений спектр поглинання білків?

20 Для чого застосовують диференційну спектрофотометрію? Що таке базова лінія?

21 Який вигляд має диференційний спектр поглинання? Які є види диференційної спектроскопії білків?

22 Що таке біолюмінесценція, її прояви. Якими факторами вона може бути викликана?

23 Використання дослідження люмінесценції у медицині

24 Фізична основа флуоресценції

25 Основні види електронних переходів у незбуджений стан

26 Що таке сповільнена флуоресценція?

27 Що таке міграція енергії збудженого стану?

28 Що таке сенсибілізована люмінесценція і які її умови?

29 Що таке спектр збудження флуоресценції? Які його параметри? Що відбувається, якщо енергія кванта більше або менше енергії переходу електрона у збуджений стан?

30 Що таке квантовий вихід флуоресценції?

31 Закон Вавилова

32 Принцип роботи приладу, що вимірює інтенсивність і спектр флуоресценції.

33 В якій області відбувається збудження і випромінювання хлорофілу, білків?

34 Метод Паркера і Ріса. Які речовини використовують як еталони, чому?

35 За яким параметром можна визначити внутрішньомолекулярну рухомість хромофорних груп у білкових молекулах, як вони взаємопов'язані?
36 Чому використовують флуоресцентну спектроскопію із часовим розділенням, який має бути імпульс?
37 Як, реєструючи зміни спектра триптофанової флуоресценції білка, можна точно оцінювати його конформаційну перебудову? Які фактори впливають на ці перебудови білкової молекули?
38 Як змінюється спектр (пік) триптофану у воді і в білку? З чим це пов’язано? В якому білку ця зміна найбільша?
39 Які процеси в білковій молекулі можна вивчати, реєструючи зміни спектра триптофанової флуоресценції білка?
40 Що таке параметр В у флуоресцентних дослідженнях?
41 Принцип двохвильового флуоресцентного методу. Для чого його застосовують?
42 Для яких саме досліджень застосовують флуоресцентні зонди?
43 Рівняння Хю-Клотца і параметри, які в нього входять. Для чого його застосовують?
44 Рівняння Скетчарда і параметри, які в нього входять. Для чого його застосовують?
45 Що таке ексимер і ексимерна флуоресценція? Для чого її застосовують?
46 В яких саме дослідженнях використовують метод ЯМР в біології?
47 Що таке спінове квантове число, які воно може мати значення?
48 Чому різні ізотопи одного елемента мають різні спінові квантові числа?
49 Як пов’язаний ядерний магнітний момент зі спіном, назвіть параметри, що входять у формулу?
50 Як змінюється енергія протона у разі накладання магнітного поля? Як орієнтуються ядра?
51 Чим зумовлена намагніченість речовини у разі накладання магнітного поля?
52 Яке явище лежить в основі спектроскопії ЯМР? Чому метод називається спектроскопічним?
53 Принцип роботи ЯМР-спектрографа
54 Вимоги до зразків для зняття спектру ПМР (якість, кількість, концентрація)?
55 Вимоги до магнітного поля для зняття спектру ПМР.
56 Назвіть параметри для інтерпретації спектрів ЯМР, покажіть на прикладі спектру
57 Чому одні й ті самі ядра гідрогену мають різні резонансні частоти?
58 Що таке мультиплетність сигналу, як вона визначається для простих спектрів 1 порядку?
59 Що таке константа розщеплення, від чого вона залежить, які значення приймає в біоорганічних молекулах?
60 За якою характеристикою можна визначити відносну рухомість ядер?
61 За якими характеристиками визначають кількість протонів та їх належність до певної функціональної групи?
62 Як за величиною хімічного зміщення визначають тип амінокислотних залишків?
63 Що саме спостерігають на спектрах ПМР для амінокислот, які входять в активний центр ферменту, як визначають такі амінокислоти?
64 Принцип ЯМР-томографії, її переваги перед рентгенографією
65 Які дослідження (медичні і немедичні) проводять за допомогою ЯМР-томографії?
66 Порівняйте значення магнітних полів, які використовуються у методі ЯМР і ЕПР. Чому?
67 Який вигляд має ЕПР-спектр, які параметри вимірюють?
68 Що таке спінові мітки, для чого їх використовують?
69 Яку дію спричиняють антиоксиданти на нітроксильний радикал?
70 Чому методом ЕПР визначають негативні впливи на живу клітину?
71 Які дослідження методом ЕПР проводять в інституті онкології?
72 Диференційна сканувальна мікрокалориметрія. Принцип роботи диференційного мікрокалориметра.

73 Типи коливань, валентні та деформаційні коливання. довжина хвиль ІЧ-спектроскопії.

74 Характеристики ІЧ-спектру. Способи введення зразків речовини.

75 Характеристичні та нехарактеристичні смуги коливань в ІЧ-спектрах. Основні характеристичні частоти коливань функціональних груп БАР. Групові частоти.

76 Методи іонізації молекул для мас-спектрометрії. Типи іонів, що фіксуються в мас-спектрометрі.

77 Особливості мас-спектрів органічних сполук різних класів. Визначення структурних елементів сполуки за її мас-спектром.

78 Сумісне використання спектральних методів для визначення будови сполук (УФ, ІЧ, ЯМР, ПМР, мас-спектрометрії).

79 Хромато-мас-спектрометрія. Функціональний аналіз. «Зустрічний» синтез. Ідентифікація структури сполук співставленням результатів різних методів.

80 Структурна мас-спектрометрія, принцип методу. Можливості мас-спектрометрії.

81 Види рентгенівської та гамма-спектроскопії: дифракція рентгенівських променів, рентгеноструктурний аналіз, гамма-резонансна (Месбауерівська) спектроскопія.

82 Рентгеноструктурний аналіз, основні етапи аналізу структур.

83 Основні положення, на якій побудовано математична модель розсіювання рентгенівських променів

84 Необхідність кристалізації зразків, зв’язок отриманого зображення з досліджуваною структурою, формула Вульфа-Брегга

85 Досліди Розалінд Франклін в побудові моделі ДНК

86 Можливі рішення фазової проблеми

87 Види структур речовин біологічного походження

88 Електронна мікроскопія, просвічуюча та растрова електронна мікроскопія, оптична конфокальна мікроскопія: фізичні основи, зображення

89 Зондова мікроскопія, атомно-силова мікроскопія, тунельна мікроскопія: фізичні основи методу, зображення.

Додаток Г

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

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

– виконання модульної контрольної роботи, яка поділяється на дві;
– роботи на 10 практичних заняттях;

2. Критерії нарахування балів.

2.1. ***Модульна контрольна робота***, розділена на 2 частини по 10 балів, оцінюється сумарно у 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 на МКР 10 (+1 додатковий). Позитивним результатом однієї частини контрольної роботи (результат зараховується) є правильні відповіді на 6 питань (6 балів).

2.2. ***Практичне заняття*** оцінюються із 8 балів:

– «відмінно» – творче вирішення завдання, вільне володіння матеріалом – 7,6-8 балів;

– «добре» – вірне виконання завдання з незначними недоліками – 6-7,5 балів;

– «задовільно» – вірне виконання завдання з деякими помилками – 4,8-5,9 балів;

– «незадовільно» – незадовільне виконання – 0 балів;

– два найкращих студента можуть додатково отримати + 1 бал.

2.3. ***Залікова контрольна робота*** оцінюється із 100 балів. Анулюються бали, отримані на контрольній роботі та на практичних заняттях. Контрольне завдання цієї роботи складається з 5 запитань з переліку, що наданий у додатку до робочої програми КМ.

Кожне запитання оцінюється з 20 балів за такими критеріями:

– «відмінно» – повна відповідь (не менше 95% потрібної інформації), надані відповідні обґрунтування та особистий погляд – 19…20 балів;
– «добре» – достатньо повна відповідь (не менше 75% потрібної інформації), що виконана згідно з вимогами до рівня «умінь», або незначні неточності) – 15…18 балів;
– «задовільно» – неповна відповідь (не менше 60% потрібної інформації. що виконана згідно з вимогами до «стереотипного» рівня та деякі помилки) – 12…14 балів;
– «незадовільно» – незадовільна відповідь – 0 балів.

3. Умовою позитивної першої атестації є отримання не менше 25 балів (6 балів за 1 тест, 4 практичні роботи по 4,8 бали), умовою позитивної другої атестації є отримання не менше 50 балів (12 балів за 2 тести, 8 практичних по 4,8 бали)

4. Сума рейтингових балів, отриманих студентом протягом семестру, за умови позитивної оцінки за всі практичні роботи, МКР, переводиться до підсумкової оцінки згідно з таблицею (п.6).

5. Умовою допуску до заліку є отримання студентом не менш, ніж 50 балів за виконання всіх практичних робіт та одержання позитивної оцінки за МКР. Студент, який у семестрі отримав більше 60 балів, але бажає підвищити свій результат, може взяти участь у заліковій контрольній роботі. У цьому разі бали, отримані за виконання практичних робіт і МКР анулюються (за умови отримання за них позитивної оцінки), і остаточний результат складається із балів, що отримані на заліковій контрольній роботі. Сума балів за виконання залікової контрольної роботи переводиться до підсумкової оцінки згідно з таблицею п. 6 (у разі мінімально позитивної оцінки за всі питання).

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

Робочу програму навчальної дисципліни (силабус):

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

Ухвалено кафедрою біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології (протокол № 15 від 29.06.22)

Погоджено Методичною комісією факультету біотехнології і біотехніки[1] (протокол № 9 від 30.06.22)