

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт белка  
Российской академии наук

ПРИНЯТО Ученым советом ИБ РАН

Протокол № 5 от 08.06.2023 г.

Зам. директора ИБ РАН

д. х. н. А. Д. Никулин



*Направление подготовки 06.06.01 – Биологические науки*  
Направленность (профиль) – Молекулярная биология

Рабочая программа по дисциплине

**«ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В  
МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»**

Составитель курса:

кандидат физико-математических наук

**В. В. Филимонов**

Пущино 2023

## **1. Цель изучения дисциплины**

Цель преподавания дисциплины «Физические методы в молекулярной биологии» состоит в содействии формированию следующих компетенций:

***Общепрофессиональными компетенциями:***

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

***Профессиональными компетенциями:***

- готовность к организации и проведению на современном уровне научных исследований в профессиональной области (ПК-1);
- способность выбирать наиболее перспективные направления исследования в области молекулярной (ПК-5);

***Универсальными компетенциями:***

- готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);
- готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языках (УК-4).

## **2. Основные задачи курса**

Курс «Физические методы в молекулярной биологии» является составной частью образовательной программы аспирантуры по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки». Курс рассчитан на аспирантов, специализирующихся в области молекулярной биологии, и научных сотрудников, начинающих работать в этой области.

В курсе дается систематическое изложение основных методов изучения структуры макромолекул как на уровне атомарного разрешения (рентгеноструктурный и нейтроноструктурный анализ, ЯМР), так и на уровне молекулы как целого (гидродинамические методы). Изложение каждого метода сопровождается многочисленными примерами, иллюстрирующими их достоинства и недостатки.

## **3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине**

В результате освоения дисциплины «Физические методы в молекулярной биологии» аспирант должен:

***Знать:***

- современные актуальные направления и арсенал методов и подходов в избранной профессиональной области и смежных областях биологических наук;
- исчерпывающую характеристику объектов и методов по теме исследования;
- методы критического анализа и оценки современных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме при работе в российских и международных исследовательских коллективах.

***Уметь:***

- критически анализировать и оценивать основные концепции и синтезировать новые идеи в избранной профессиональной области и междисциплинарных направлениях;
- обсуждать полученные собственные результаты в профессиональной и междисциплинарной аудитории, в том числе международной;

- следовать нормам, принятым в научном общении при работе в российских и международных исследовательских коллективах с целью решения научных и научно-образовательных задач;
- осуществлять личностный выбор в процессе работы в российских и международных исследовательских коллективах, оценивать последствия принятого решения и нести за него ответственность перед собой, коллегами и обществом;
- критически анализировать и оценивать основные концепции и синтезировать новые идеи в избранной профессиональной области и междисциплинарных направлениях;
- обсуждать полученные собственные результаты в профессиональной и междисциплинарной аудитории, в том числе международной.

*Владеть:*

- навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях;
- навыками анализа основных мировоззренческих и методологических проблем, в т.ч. междисциплинарного характера, возникающих при работе по решению научных и научно-образовательных задач в российских или международных исследовательских коллективах;
- технологиями планирования в профессиональной деятельности в сфере научных исследований;
- технологиями планирования деятельности в рамках работы в российских и международных коллективах по решению научных и научно-образовательных задач
- системным пониманием актуальных проблем методологического арсенала биологических наук;
- системным пониманием перспектив развития и социального значения избранной профессиональной области.

#### **4. Место дисциплины в структуре образовательной программы**

Курс непосредственно связан с рядом других курсов программы послевузовского профессионального образования по молекулярной биологии:

«Принципы структурной организации белков и нуклеиновых кислот»;

«Методы химии белка»

«Физика белка»

«Компьютерные методы исследования макромолекул»

и должен проводиться параллельно с ними.

#### **5. Объем дисциплины**

Общая трудоемкость курса – 2 ЗЕТ, из них лекции – 36 часов.

#### **ПРОГРАММА**

##### **Тема 1. Водные растворы биополимеров.**

Кислотно-основное равновесие. рK, pH и их температурная зависимость.  
Буферные растворы. Ионная сила. Титрование заряженных групп в белках.  
Изоэлектрическая и изоионная точки. Растворимость белков. Влияние аномально титрующихся групп на стабильность белковой структуры. Оsmотическое давление.

Диализ и гель-хроматография как методы перевода биополимеров в растворы нужного состава.

## **Тема 2. Абсорбционная спектроскопия и флюоресценция.**

Спектры оптического поглощения белков и нуклеиновых кислот. Закон ЛамBERTA-БЭРА. Спектрофотометры. Спектрофотометрическое определение концентрации биополимеров. Коэффициенты экстинкции белков, их оценка из аминокислотного состава. Оптическая активность и круговой диахроизм. Поглощение белков в инфракрасной области. Методы определения вторичной структуры белков из оптических спектров. Некоторые программные продукты, доступные в интернете. Гиперхромный эффект у нуклеиновых кислот и его практическое использование.

Флюоресценция. Схема Яблонского. Флюориметры. Природные флюорофоры в белках и их спектры флюоресценции.

## **Тема 3. Термодинамика и кинетика структурных переходов в биополимерах.**

Термодинамические функции состояния. Энергия Гиббса и связь с ней константы равновесия. Энталпия и энтропия. Интенсивные и экстенсивные параметры. Удельный парциальный объем и химический потенциал. Кооперативность конформационных превращений в биополимерах. Реакция нулевого порядка (мономолекулярная). S-образные кривые переходов под действием температуры и изменения состава растворителя. Формула Вант Гоффа. Влияние pH, ионной силы и лигандов на стабильность структуры биополимеров. Разворачивание структуры под действием денатурантов. Методы регистрации и математической обработки кривых плавления. Кинетические параметры переходов и их связь с константами равновесия. Метод остановленной струи и расчет констант скоростей из данных по установлению равновесия. Шевронный график.

## **Тема 4. Дифференциальная сканирующая микрокалориметрия.**

Схема современного сканирующего микрокалориметра. Необходимость совмещения адиабатического и дифференциального принципов измерения для получения высокой чувствительности и точности измерений. Калибровка прибора и расчет температурной зависимости парциальной теплоемкости. Математическая обработка данных и прямое определение теплового эффекта разворачивания структуры биополимера. Модель двух состояний и расчет эффективного изменения энталпии из формы кривой. Доказательство кооперативности перехода нативной структуры небольшого белка и/или короткой шпильки РНК в развернутую форму. Сложные температурные зависимости теплоемкости для мультидоменных белков и нуклеиновых кислот. Алгоритм деконволюции калориметрических кривых и их подгонка по выбранной модели многостадийного перехода с помощью минимизационных алгоритмов.

## **Тема 5. Термодинамика межмолекулярных взаимодействий. Изотермическая титрационная микрокалориметрия. Поверхностный плазменный резонанс.**

Связывание лигандов макромолекулами. График Скэтчарда. Изотермический титрационный микрокалориметр. Общая схема и принцип работы. Получение и математическая обработка данных титрования.

Расчет термодинамических параметров в зависимости от модели связывания. Пределы измеряемых констант равновесия. Использование схемы конкурентного замещения для определения больших констант связывания. Применение буферных растворов с различными энталпиями ионизации для изменения теплот белок-лигандных взаимодействий.

Применение сканирующей микрокалориметрии для определения термодинамических параметров межмолекулярных взаимодействий.

Физический принцип, лежащий в основе метода поверхностного плазмонного резонанса. Современные приборы на основе микрочипов и способы иммобилизации биополимеров. Определение равновесных и кинетических параметров взаимодействия анализ-лиганд. Диапазон измерения равновесных констант. Методы анализа данных.

## **Тема 6. Гидродинамика.**

Трение вращательных и поступательных движений. Диффузия в растворе и в клетке. Фотобличинг.

Вязкость. Характеристическая вязкость  $[\eta]$ . Сущность явления. Вязкость растворов сферических частиц. Формула Эйнштейна. Вязкость растворов жестких асимметричных по форме, сплошных частиц. Формула Симха. Зависимость характеристической вязкости белков и нуклеопротеидов от молекулярной массы.. Конформация гауссова клубка. Зависимость характеристической вязкости от молекулярной массы для белков в гуанидингидрохлориде и мочевине, возможность определения молекулярной массы в этих растворителях.

Типы и конструкции вискозиметров. Градиентная зависимость вязкости. Вискозиметр Зима и современный ротационный прибор. Вязкость ДНК,

Совместное использование константы поступательного трения и вязкости. Формула Шераги-Манделькерна.

## **Тема 7. Скоростная и равновесная седиментации.**

Метод скоростной седиментации. Коэффициент седиментации и его связь с коэффициентом поступательного трения. Зависимость коэффициента седиментации от молекулярной массы белков и нуклеопротеидов. Оценка конформационного состояния биологических макромолекул из зависимости их константы седиментации от молекулярной массы.

Оптические методы регистрации в диффузии и аналитическом ультрацентрифугировании: метод Филпота-Свенссона, интерференционный метод, абсорбционный метод. Краткое описание центрифуги, роторов, кювет.

Определение молекулярной массы биологических макромолекул методом сочетания седиментации и диффузии. Первая формула Сведберга. Границы применимости. Классический метод седиментационного равновесия. Вторая формула Сvedberga. Приближения к седиментационному равновесию. Метод Арчибалльда. Метод Ифантиса.

Градиент плотности. Зональная и равновесная седиментации в градиенте плотности. Дифференциальная седиментация.

## **Тема 8. Электрофорез.**

Макромолекулы в электрическом поле. Электрофорез в поликарбамидном геле и агарозе. Диск-электрофорез в нативных и денатурирующих условиях. Электрофорез в градиенте мочевины и в присутствии додецилсульфата натрия. Изофокусирование в градиенте pH. Двумерные электрофорезы. Капиллярный электрофорез.

## **Тема 9. Рассеяние света и нейтронов биополимерами.**

Общая характеристика рассеяния света, рентгеновских лучей и нейтронов. Рассеяние света как рассеяние на «связанных» электронах, рассеяние рентгеновских лучей как рассеяние на «свободных» электронах, рассеяние нейтронов как рассеяние на ядрах. Основные физические следствия. Методы статического и динамического рассеяния света.

Радиус инерции. Его связь с формой частицы и с распределением электронной плотности внутри нее. Область формы. Общие законы спада кривой рассеяния для частиц разной формы (палочка, диск, гауссов клубок, компактные частицы). Метод сферических гармоник и его применение к восстановлению трехмерной структуры макромолекул.

Статическое и динамическое рассеяние света. Формула Рэлея. Определение молекулярной массы. Методы интерпретации экспериментальных данных. Рассеяние на малых и больших частицах. Метод Зимма. Проблема определения молекулярных масс и радиусов инерции больших биологических макромолекул. Оценка межмолекулярных взаимодействий и олигомеризации. Сопряжение высокоэффективной жидкостной хроматографии с прибором для измерения рассеяния света.

## **Тема 10. Комбинационное рассеяние света.**

Спектроскопия белков в инфракрасном диапазоне. Колебательные спектры амидной группы и их использование для определения вторичной структуры. Достоинства и недостатки метода.

Физическое описание комбинационного (рамановского) рассеяния света. Неинвазивный характер исследования биологических объектов с помощью комбинационного рассеяния. Методы усиления сигналов КР. Использование наночастиц для исследования клеток и органелл.

## **Тема 11. Некоторые математические методы анализа данных. Графическое представление результатов эксперимента.**

Доступные программные пакеты для анализа и графического представления данных и результатов эксперимента. Статистический анализ. Применение минимизационных алгоритмов.

## **Тема 12. Масс-спектрометрия.**

Физические принципы, лежащие в основе метода. Основные области применения в исследовании биополимеров. Основные методы подготовки образцов и их введение в спектрометр. Определение аминокислотной последовательности белков. Локализация посттрансляционных модификаций первичной структуры. Исследование внутримолекулярной динамики с помощью водородного обмена.

## **Тема 13. Ядерный магнитный резонанс.**

Общие представления о спине и магнитном моменте спине элементарных частиц. Квантование магнитных моментов ядер и их распределение по уровням энергии во внешнем магнитном поле. Наблюдение резонанса при воздействии на образец электромагнитными волнами в радиочастотном диапазоне. Современные приборы для применения в биологии: сложность и дороговизна. Методы приготовления образцов: введение изотопов углерода и азота с получисленным спином. Необходимость сотрудничества с экспертами при планировании и проведении дорогостоящих экспериментов с помощью ЯМР. Одномерные и двумерные спектры. Определение пространственной структуры белков. Исследование молекулярной динамики.

## **Тема 14. Визуализация биологических объектов.**

Критерий разрешения Рэлея. Предел разрешения световых микроскопов. Флюоресцентные микроскопы. Лазерный конфокальный сканирующий микроскоп. Другие методы увеличения разрешения и контраста в световой микроскопии. Методы введения флюоресцентных меток в биополимеры, клетки и органеллы. Неинвазивность подхода и наблюдение клеток *in vivo*.

Дуалистический характер электронов. Длина волны электронов в современных электронных микроскопах. Просвечивающая и отражательная электронная микроскопия. Принципиальные схемы и конструктивные особенности двух типов микроскопов. Методы приготовления образцов, увеличение контраста с помощью тяжелых металлов и их соединений. Криоэлектронная микроскопия. Математическая фильтрация электронномикроскопических изображений.

Атомный силовой микроскоп. Принцип действия и пределы разрешения при исследовании биологических объектов.

## **6. Фонд оценочных средств для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине**

Контроль успеваемости и качества подготовки обучающихся подразделяется на текущий контроль и промежуточную аттестацию.

Текущий контроль предназначен для проверки хода и качества усвоения учебного материала, стимулирования учебной работы обучающихся и совершенствования методики

проведения занятий. Он проводится в ходе всех видов учебных занятий в форме, избранной преподавателем и/или предусмотренной рабочей программой дисциплины

**Показатели и критерии оценивания компетенций на этапе изучения дисциплины,  
описание шкал оценивания**

Этапы формирования компетенций:	Контролируемые разделы	Код контролируемой компетенции	Наименование оценочного средства	Уровни сформированности компетенции в баллах	
<b>1 этап</b>	<b>Модуль I.</b> Общая характеристика физических методов изучения структуры биологических макромолекул в растворе, на подложке и в кристалле. Явления, связанные с внутренним трением в растворах биологических макромолекул. Электронная микроскопия. Масс-спектрометрия. Ядерный магнитный резонанс. Оптические методы изучения биологических макромолекул; флуоресценция.	ОПК-1; ПК-1; ПК-5; УК-1; УК-3	Задания для самостоятельных работ	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
		ОПК-1; ПК-1; ПК-5; УК-1; УК-3	Зачет	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
<b>макс:</b>					<b>5</b>

<b>2 этап</b>	<b>Модуль II.</b> Явления, связанные с рассеянием электромагнитного и нейтронного излучения в растворах биологических макромолекул. Рассеяние рентгеновских лучей и нейtronов на частично ориентированных биологических макромолекулах. Дифракция лучей на кристаллической решетке. Динамическое рассеяние света.	ОПК-1; ПК-1; ПК-5; УК-1; УК-3	Задания для практических работ	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
		ОПК-1; ПК-1; ПК-5; УК-1; УК-3	Зачет	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
<b>макс:</b>					<b>5</b>

## Формы, уровни и критерии оценивания

Форма оценивания	Уровни оценивания	Критерии оценивания
Практические работы	Не аттестован (Не удовлетворительно)	Аспирант имеет отдельные представления об изученном материале; не может полно и правильно ответить на поставленные вопросы, при ответах допускает грубые ошибки; практические работы не выполнены или выполнены с ошибками, влияющими на качество выполненной работы. Практически не посещает занятия.
	Низкий (Удовлетворительно)	Аспирант знает лишь основной материал; на заданные вопросы отвечает недостаточно четко и полно, что требует дополнительных и уточняющих вопросов преподавателя; практические, лабораторные и курсовые работы выполняет с ошибками, не отражающимися на качестве выполненной работы. Посещает занятия, но не системно.
	Средний (Хорошо)	Аспирант твердо знает учебный материал; отвечает без наводящих вопросов и не допускает при ответе серьезных ошибок; умеет применять полученные знания на практике; практические работы выполняет правильно, без ошибок. Посещает занятия, но не в полном объеме.
	Высокий (Отлично)	Аспирант глубоко изучил учебный материал; последовательно и исчерпывающе отвечает на поставленные вопросы; свободно применяет полученные знания на практике; практические работы (задания) выполняет правильно, без ошибок, в установленное нормативом время. Посещает занятия практически полностью.
Самостоятельная работа	Не аттестован (Не удовлетворительно)	Аспирант неполно изложил задание; при изложении были допущены существенные ошибки; результаты выполнения работы не удовлетворяют требованиям, установленным преподавателем к данному виду работы.
	Низкий (Удовлетворительно)	Аспирант неполно, но правильно изложил задание; при изложении была допущена 1 существенная ошибка; знает и понимает основные положения данной темы, но допускает неточности в формулировке понятий; излагает выполнение задания недостаточно логично и последовательно; затрудняется при ответах на вопросы преподавателя; материал оформлен неаккуратно или не в соответствии с требованиями.
	Средний (Хорошо)	Аспирант неполно, но правильно изложил задание; при изложении были допущены 1-2 несущественные ошибки, которые он исправляет после замечания преподавателя; дает правильные формулировки, точные определения, понятия терминов; может обосновать свой ответ, привести необходимые примеры; правильно отвечает на дополнительные вопросы преподавателя, имеющие целью выяснить степень понимания аспирантом данного материала; материал оформлен недостаточно аккуратно и в

		соответствии с требованиями.
	Высокий (Отлично)	Аспирант обстоятельно, с достаточной полнотой излагает соответствующую тему; дает правильные формулировки, точные определения, понятия терминов; может обосновать свой ответ, привести необходимые примеры; правильно отвечает на дополнительные вопросы преподавателя, имеющие целью выяснить степень понимания аспирантом данного материала. Материал оформлен аккуратно в соответствии с требованиями.
Тестирование	Не аттестован (Не удовлетворительно)	Аспирант выполнил работу не полностью или объем выполненной части работы не позволяет сделать правильные выводы.
	Низкий (Удовлетворительно)	Аспирант выполнил работу не полностью, но объем выполненной части таков, что позволяет получить правильные результаты и выводы; в ходе проведения работы были допущены ошибки.
	Средний (Хорошо)	Аспирант выполнил работу в полном объеме с соблюдением необходимой последовательности действий, но допустил 2-3 ошибки.
	Высокий (Отлично)	Аспирант выполнил работу в полном объеме с соблюдением необходимой последовательности действий; в ответе правильно и аккуратно выполняет все записи, таблицы, рисунки, чертежи, графики, вычисления;/или правильно и аккуратно выполнил все задания; правильно выполняет анализ ошибок.

**Показатели и критерии оценивания компетенций на этапе сдачи зачета с оценкой по дисциплине, описание шкалы оценивания**

По результатам текущего контроля успеваемости за 2 модуля аспирант до экзамена может набрать от 0 до 10 баллов.

Выполнение учебных заданий по дисциплине оценивается от 0 до 10 баллов (до 20 в каждом из 2-х текущего контроля успеваемости).

Код контролируемой компетенции	Наименование оценочного средства	Критерии оценивания (Уровни сформированности компетенции)		
ОПК-1; ПК-1; ПК-5; УК-1; УК-3	Выполнение промежуточных заданий	– не аттестован	0 – 5	
				– низкий 6 – 10
				– средний 11 – 15
				– высокий 16 – 20
макс: 20 баллов				

**Критерии итогового оценивания сформированности компетенций**

Формы оценивания	Уровни оценивания	Критерии оценивания
Ответы (устные или письменные) на вопросы билетов	– не аттестован – низкий – средний – высокий	50% и менее 51% – 65 % 66 % – 84% 85% – 100%

До итогового зачета с оценкой допускается аспирант, набравший сумму в пределах от 5 до 20 баллов (включая оценку по успеваемости и посещаемости).

Аспирант, набравший 5 баллов и менее до зачета допускается, но должен добрать недостающие баллы до или во время зачета.

Положительную оценку на зачете успешно выполнившие все тестовые задачи и правильно ответившие на контрольные вопросы.

**Методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующие этапы формирования компетенций**

№ п/п	Наименование оценочного средства	Краткая характеристика оценочного средства	Представление оценочного средства в фонде
1.	Задания для самостоятельных работ	Самостоятельная работа – это вид учебной деятельности, выполняемый аспирантами без непосредственного контакта с преподавателем или управляемый преподавателем опосредованно через специальные учебные материалы.	Вопросы, задания, темы рефератов для самостоятельных работ
2.	Вопросы к зачету / экзамену	Перечень вопросов для зачета / экзамена	Перечень вопросов к зачету / экзамену

**Материально-техническая база для осуществления образовательного процесса по дисциплине**

Для групповых лекционных и семинарских занятий, самостоятельной работы студентов, консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации используется аудитория № 305 (биотехнологический корпус ИБ РАН). Она оборудована стационарным компьютером с выходом в Интернет и принтером, проектором и стационарным экраном, доской для маркеров, имеет 15 посадочных мест (с возможностью организации дополнительных), 5 столов, и отдельный стол со стулом для преподавателя. В аудитории имеется беспроводной доступ к локальной сети и к сети Интернет.

**ЛИТЕРАТУРА**

**ОСНОВНАЯ**

1. Маршалл Э. Биофизическая химия, тт. 1,2, М., "Мир", 1981.
2. Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия, в 3-х тт. М., "Мир", 1984.
3. Сердюк И., Заккаи, Н., Заккаи, Дж. Методы в молекулярной биофизике: структура, функция, динамика В 2-х томах. М., "Вольное дело: Базовый элемент", 2009-2010.
4. Спирин А. С. Молекулярная биология: рибосомы и биосинтез белка, М., "Academia", 2011.
5. Фрайфельдер Д. Физическая биохимия. М., "Мир", 1980.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ

1. Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура молекул в растворах. М., "Наука", 1964.
2. Мартин Р. Введение в биофизическую химию, М., "Мир", 1966.
3. Тенфорд Ч. Физическая химия биополимеров, М., "Мир", 1971.
4. Боуэн Т. Введение в ультрацентрифугирование, М., "Мир", 1973.
5. Останевич Ю. М., Сердюк И. Н. Нейтронографические исследования биологических макромолекул, Успехи физических наук, т. 137, сс. 86-116, 1982.
6. Сердюк И. Н. Физические методы в структурной молекулярной биологии в начале XXI века. Успехи биологической химии. Пущино, ОНТИ ПНЦ РАН, 2002, т.42, сс.3-28.

### Интернет-ресурсы

Зарубежные журналы и библиографические базы данных, доступные через Интернет:

<http://www.chem.msu.ru/rus/library/licensed.html>

<https://scifinder.cas.org>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://biomolecula.ru>

<http://academic.ru>

## **Вопросы для промежуточной аттестации.**

1. Какой pH будет у раствора, если в нем смешать эквимолярные количества ацетата натрия и уксусной кислоты, рК которой равен 4,76?
2. Пригоден ли буфер на основе Tris-HCl для регистрации температурной зависимости теплоемкости белка?
3. Чем различаются однолучевой и двулучевой спектрофотометры? Какой прибор предпочтительней для титрационных экспериментов?
4. Наличие каких аминокислот в белке нужно учитывать при расчете коэффициента экстинкции на 280 нм?
5. Какова средняя величина гиперхромного эффекта при разворачивании двойных спиралей ДНК и РНК?
6. Какие элементы вторичной структуры белка вносят наибольший вклад в значения молярной эллиптичности на 220 нм?
7. Как изменяются спектры возбуждения и флюоресценции триптофана, если он переходит из гидрофобного в полярное окружение?
8. С помощью какого прибора можно определить удельный парциальный объем биополимера с наибольшей точностью?
9. Какова средняя величина удельного парциального объема у глобулярных белков?
10. Какова формула Вант Гоффа, связывающая тепловой эффект реакции с температурной зависимостью константы равновесия?
11. Что такое эффективное изменение энталпии и как его рассчитать по температурной зависимости физического параметра исходя из предположения о кооперативности перехода?
12. В какую сторону будет изменяться температура середины денатурационного перехода, если лиганд связывается сильнее с развернутым состоянием?
13. У какого денатуранта (мочевины или гуанидин гидрохлорида) эффективная константа связывания с полипептидной цепью выше?
14. Как выглядит уравнение для DBM (модель связывания денатуранта)?
15. Как можно оценить величину изменения теплоемкости при тепловом разворачивании белка и «параметр пропорциональности»  $m$  в модели линейной экстраполяции, зная координаты пространственной структуры белка?
16. Как связаны константы прямой и обратной скоростей мономолекулярной реакции с ее равновесной константой?
17. Как выглядит и что отражает «шевронный график»?
18. Каковы различия между переходным и промежуточными состояниями белка?
19. Какими физическими соображениями обосновывалась необходимость использования адиабатного и дифференциального принципов при создании современного микрокалориметра для исследования биополимеров?
20. Какой физический параметр на самом деле измеряется при работе дифференциальных микрокалориметров? Как осуществляется калибровка?
21. Чем обусловлено наличие холодовой денатурации у белков?
22. Как могут выглядеть температурные зависимости теплоемкости мультидоменных белков?
23. Как проводится деконволюция сложных калориметрических кривых?
24. Как определяются термодинамические параметры взаимодействия белок-лиганд с помощью титрационной микрокалориметрии?
25. Приведите пример определения параметров взаимодействия белок-лиганд с помощью сканирующей микрокалориметрии.
25. В каких пределах можно измерять константы межмолекулярных взаимодействий методом поверхностного плазмонного резонанса?
26. Назовите достоинства и недостатки метода ППР.

27. Каковы различия между относительной, удельной и характеристической вязкостями?
28. Как устроены вискозиметр Зимма и его современный аналог?
29. Какова зависимость характеристической вязкости от молекулярной массы развернутого белка?
30. Какие методы определения коэффициентов поступательной диффузии биополимеров вам известны?
31. Чем различаются методы зонального скоростного центрифугирования и центрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия?
32. В чем заключается метод средней точки для определения константы седиментации?
33. Как рассчитать молекулярную массу по данным седиментации и диффузии?
34. Каков принцип разделения белков в методе SDS- электрофореза?
35. Что такое диск-электрофорез?
36. Как проводится изоэлектрическое фокусирование?
37. В каких целях используется двумерный электрофорез белков?
38. Какие параметры структуры белка можно определить с помощью статического светорассеяния?
39. Какую информацию о поведении белка в растворе можно извлечь с помощью метода динамического светорассеяния?
40. Как ведут себя заряженные частицы в электромагнитном поле (закон Лоренца)?
41. В каких исследованиях можно применять современную масс-спектрометрию?
42. Назовите физические явления лежащие в основе ядерного магнитного резонанса
43. Что такое химический сдвиг?
44. Какие типы двумерных спектров ЯМР используются для определения пространственной структуры белков?
45. Какие физические характеристики биополимеров можно определить с помощью метода малоуглового рассеяния рентгеновских лучей?
46. Какие колебания ответственны за спектр поглощения белков в инфракрасной области?
47. Какие элементы вторичной структуры белков определяются точнее всего с помощью инфракрасной спектроскопии?
48. Что такое комбинационное рассеяние света?
49. Какие преимущества имеет конфокальный флюоресцентный микроскоп перед простым световым микроскопом?
50. Назовите основные методы введения флюоресцентных меток в биологические объекты?
51. Что такое криоэлектронная микроскопия и каковы ее преимущества?