

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

**«СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.
МОЛЕКУЛЯРНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ»**

Составитель курса:

доктор физико-математических наук

Б. С. Мельник

Пущино 2023

1. Цель изучения дисциплины

Цель преподавания дисциплины "Спектральные методы исследования. Молекулярная спектроскопия" 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);

Универсальными компетенциями:

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1).
- готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);

2. Основные задачи курса

Курс "Спектральные методы исследования. Молекулярная спектроскопия" 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 рассказывается основы почти всех спектральных методов, которые могут потребоваться в научной работе студентов и аспирантов. Рассказывается теория и физические основы методов. Кроме того, в лекциях делается акцент на практическое использование методов, поэтому дополнительно рассказывается о том, для каких исследований целесообразно использовать каждый из методов. Для каждого метода объясняются возможные источники ошибки и способы их избежать.

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине

В результате освоения дисциплины "Спектральные методы исследования. Молекулярная спектроскопия" аспирант должен:

Знать:

- современные актуальные направления спектральных методов исследования и арсенал методов и подходов, которые применяются в области молекулярной биологии и биофизике;
- исчерпывающую характеристику объектов и методов по теме исследования;
- особенности анализа и оценки современных научных данных;
- 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 в области исследования белков и белковых комплексов 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 области исследования белков;
- навыками критического анализа и оценки современных научных достижений в области спектральных исследований и исследований белков и белковых комплексов.

4. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Курс "Спектральные методы исследования. Молекулярная спектроскопия" непосредственно связан с рядом других курсов специализации по молекулярной биологии:
«Физика белка»,
«Физические методы в молекулярной биологии»

5. Объем дисциплины

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

ПРОГРАММА

Постановка опытов в спектроскопии. Параметры излучения, меняющиеся при взаимодействии с веществом. Длина волны. Поляризация света. Интенсивность излучения. Спектральные методы исследования в разном диапазоне длин волн. Связь энергетических уровней молекулы со спектрами поглощения и испускания.

Дискретность энергетических состояний молекулы. Постулаты Бора.

Закон Бугера-Ламберта-Бера. Допущения, при которых этот закон выполняется.

Хромофоры в белках «ответственные» за поглощение света в ультрафиолетовом и видимом диапазоне длин волн.

Устройство однолучевого и двулучевого спектрофотометра.

Измерение концентрации белка по спектрам поглощения в области поглощения ароматических аминокислот, в пептидной области (метод Уодделя), по красителю (метод Бредфорда).

Понятие люминесценции и флуоресценции. Стоксов сдвиг спектров флуоресценции.

Закон симметрии спектров поглощения и флуоресценции. Квантовый выход флуоресценции. Время жизни возбужденного состояния. Затухание флуоресценции. Тушение флуоресценции в растворе.

Ферстеровский резонансный перенос энергии. Методика расчета расстояния между донором и акцептором.

Устройство спектрофлуориметра.

Анизотропия и поляризация флуоресценции. Деполяризация флуоресценции при движении молекул.

Явление оптической активности. Атомы, обладающие оптической активностью.

Круговой дихроизм. Спектры кругового дихроизма белков в дальней и ближней ультрафиолетовой области. Спектры кругового дихроизма альфа-спиралей, бетта-структуры и развернутой полипептидной цепи. Расчет процентного содержания вторичной структуры белка по спектрам кругового дихроизма. С чем связана зашумленность спектров кругового дихроизма. Ключевые точки на спектрах кругового дихроизма позволяющие проанализировать изменения в структуре белка.

Инфракрасная спектроскопия. Интерферометр Майкельсона. Фурье ИК-спектрометр. ИК-спектры низкомолекулярных веществ и белков. Анализ вторичной структуры белка по ИК-спектрам.

Рассеяние света в видимом диапазоне длин волн. Постановка опыта, возможности метода.

Малоугловое рентгеновское рассеяние. Определение радиуса инерции белков.

Метод динамического рассеяния света. Связь между размером и скоростью движения разных частиц. Автокорреляционная функция. Понятие гидродинамического радиуса.

Рефрактометрия. Определение концентрации веществ по изменению преломляющей способности раствора.

Поверхностный плазмонный резонанс. Плазмон. Устройство прибора и постановка опыта по измерению поверхностного плазмонного резонанса.

Ядерный магнитный резонанс.

Понятие спина. Химический сдвиг, мультиплетность, интенсивность сигнала – определение и с какими параметрами молекулы связаны. Эффект Оверхаузера, селективное подавление спин-спинового взаимодействия. Два метода измерения спектра ЯМР. Одномерный и многомерный ЯМР. Расщепление линий в ЯМР спектре.

Расчет погрешностей, аппроксимация данных, обнаружение «промахов», соотношение сигнал/шум при усреднении данных.

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	
1 этап	Модуль I. Спектральные методы исследования в разном диапазоне длин волн. Связь энергетических уровней молекулы со спектрами поглощения и испускания. Измерение концентрации белка по спектрам поглощения. Понятие люминесценции и флуоресценции. Их использование при исследованиях макромолекул. Ферстеровский резонансный перенос энергии. Устройство спектрофлуориметра. Анизотропия и поляризация флуоресценции. Спектры кругового диахроизма белков.	ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Задания для самостоятельных работ	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
		ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Зачет	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
макс:				5	

2 этап	Модуль II. Инфракрасная спектроскопия. ИК-спектры низкомолекулярных веществ и белков. Анализ вторичной структуры белка по ИК-спектрам. Фурье ИК-спектрометр. Рассеяние света в видимом диапазоне длин волн. Малоугловое рентгеновское рассеяние. Метод динамического рассеяния света. Поверхностный плазмонный резонанс. Ядерный магнитный резонанс.	ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Задания для самостоятельных работ	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5
		ОПК-1; ПК-1; УК-1; УК-3	Зачет	не аттестован низкий средний высокий	2 и менее 3 4 5

макс: **5**

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; УК-1; УК-3; ПК-1	Выполнение промежуточных заданий	<ul style="list-style-type: none"> – не аттестован – низкий – средний – высокий 	<table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>0 – 5</td> </tr> <tr> <td>6 – 10</td> </tr> <tr> <td>11 – 15</td> </tr> <tr> <td>16 – 20</td> </tr> </table>	0 – 5	6 – 10	11 – 15	16 – 20
0 – 5							
6 – 10							
11 – 15							
16 – 20							

макс: 20 баллов

Критерии итогового оценивания сформированности компетенций

Формы оценивания	Уровни оценивания	Критерии оценивания				
Ответы (устные или письменные) на вопросы билетов	<ul style="list-style-type: none"> – не аттестован – низкий – средний – высокий 	<table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>50% и менее</td> </tr> <tr> <td>51% – 65 %</td> </tr> <tr> <td>66 % – 84%</td> </tr> <tr> <td>85% – 100%</td> </tr> </table>	50% и менее	51% – 65 %	66 % – 84%	85% – 100%
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, либо 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. А. В. Финкельштейн, О. Б. Птицын. Физика белка. Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. — 4-е издание, исправленное и дополненное. — Москва: Книжный дом Университет, 2012. — С. 15. — 524 с. — 500 экз. — ISBN 978-5-98227-834-0.
2. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. Пер. с англ. — М.: Мир, 1986. - 496 с., ил.
3. Сердюк И., Заккаи Н., Заккаи Дж. Методы в молекулярной биофизике. Структура. Функция. Динамика. Учебное пособие. Издательство КДУ, 2009. - 543с. - ISBN: 978-5-98227-452-6

Типовые вопросы для проведения промежуточной аттестации:

1. Три основных варианта постановки опыта в спектроскопии. Три свойства света, которые регистрируют в экспериментах. Что такое поляризация?
В каком диапазоне длин волн можно использовать допущение, что свет проходит через однородную среду?
2. Энергетические состояния молекулы. Электронные, колебательные, вращательные уровни.
3. Закон Бугера-Ламберта-Бера. Допущения, при которых этот закон выполняется.
4. Принципиальная схема (устройство) однолучевого и двулучевого спектрофотометра и флуориметра
5. Метод измерения концентрации белка по поглощению ароматических аминокислот.
6. Метод Уодделя.
7. Метод Бредфорда.
8. Понятие люминесценции и флуоресценции, в чем отличие этих терминов?
9. Стоксов сдвиг спектров флуоресценции. Закон симметрии спектров поглощения и флуоресценции.
10. Квантовый выход флуоресценции. Как экспериментально измерить квантовый выход флуоресценции.
11. Время жизни хромофоров в возбужденном состоянии. Затухание флуоресценции хромофора.
12. Тушение флуоресценции примесями в растворе.
13. Методика расчета расстояния между донором и акцептором. Ферстеровский резонансный перенос энергии.
14. Анизотропия и поляризация флуоресценции. Деполяризация флуоресценции при движении молекул.
15. Явление оптической активности
16. Спектры кругового дихроизма белков в дальней и ближней ультрафиолетовой области. Спектры кругового дихроизма альфа-спиралей, бета-структуры и развернутой полипептидной цепи.
17. С чем связана зашумленность спектров кругового дихроизма. «Ключевые точки» на спектрах кругового дихроизма, позволяющие проанализировать изменения в структуре белка.
18. Интерферометр Майкельсона. В чем принципиальное отличие «обычного» ИК-спектрометра от фурье ИК-спектрометра.
19. Анализ вторичной структуры белка по ИК-спектрам.
20. Рассеяние света в видимом диапазоне длин волн. Постановка опыта, возможности метода.
21. Малоугловое рентгеновское рассеяние. Возможности метода, определение радиуса инерции белков.
22. Метод динамического рассеяния света. Связь между размером и скоростью движения разных частиц.
23. Автокорреляционная функция. Понятие гидродинамического радиуса.
24. Определение концентрации веществ по изменению преломляющей способности раствора.
25. Плазмон. Устройство прибора и постановка опыта по измерению поверхностного плазмонного резонанса.
26. Понятие спина. Химический сдвиг, мультиплетность, интенсивность сигнала – определение и с какими параметрами молекулы связаны.
27. Что такое Эффект Оверхаузера. Селективное подавление спин-спинового взаимодействия.

28. Постановка опыта в одномерном и многомерном ЯМР.
29. Расщепление линий в ЯМР спектре. Какие особенности ЯМР спектров позволяют определить химическую формулу вещества?
30. Обнаружение «промахов» при проведении экспериментов. Соотношение сигнал/шум при усреднении данных. Что такое аппроксимация данных и как ее «правильно» проводить?