

## Электродные методы

1. Электроды. неполяризуемый хлорсеребряный электрод сравнения. Устранение диффузионного потенциала. Ионоселективные (рН) электроды; ионный обмен на поверхности стекла. Применение Pt электрода для определения  $O_2$ . Система для электропорации клеток.
2. Электрические свойства плоских бислойных липидных мембран (БЛМ). Схема установки. Критерии формирования БЛМ по данным электродного и оптических методов. Роль поверхностного натяжения в образовании БЛМ. Сопротивление мембран на переменном токе.
3. Внутриклеточные измерения мембранного потенциала при пропускании электрического тока. Постоянная времени мембраны  $\tau$ . Кабельные свойства цилиндрических клеток. Кабельное уравнение. Зависимость постоянной длины  $\lambda$  от радиуса волокна.
4. Изучение электрических свойств цилиндрических клеток методом фиксации тока и изолирующих мостиков. Сравнение электрических свойств ( $R$  и  $C$ ) внутриклеточных капиллярных микроэлектродов и пипеток для пэтч-кламп регистрации тока и потенциала. Временное разрешение методов.
5. Измерение токов одиночных каналов и интегральных ионных токов методами пэтч-кламп. Применение метода для анализа межклеточных контактов. Чем ограничено применение метода для измерения интегральных токов на разных объектах? Численные примеры.
6. Эквивалентная электрическая схема возбудимой мембраны (по Ходжкину-Хаксли). Интерпретация элементов схемы. Равновесные потенциалы. Мембранный потенциал в условиях разомкнутой цепи: его связь с величинами равновесных потенциалов и проводимостей.
7. Метод фиксации напряжения. Схема установки. Преимущества и временное разрешение метода. Описание ионных токов в модели Ходжкина-Хаксли. Вольт-амперные характеристики для натриевого и калиевого тока в аксонах. Определение проводимости по экспериментальным данным. Воротные токи.

## Спектрофотометрия, спектрофлуориметрия

1. Характеристики светового излучения. Электронные переходы в молекулах. Поглощение монохроматического света растворами. Закон Бугера-Ламберта-Бера.
2. Спектры пропускания и спектры поглощения. Методы измерения спектров поглощения в биологии. Устройство однолучевых и двухлучевых спектрофотометров. Разностная спектрофотометрия.
3. Искажения спектров в биологических объектах. Способы измерения поглощения в суспензии рассеивающих частиц. Применение интегрирующих сфер в спектрофотометрическом анализе.
4. Соотношение между коэффициентами отражения, поглощения и пропускания. Измерение спектров отражения и пропускания. Информация о состоянии растительных организмов, получаемая из спектров отражения.
5. Явление люминесценции. Электронные переходы. Возбужденные молекулы. Время жизни возбужденной молекулы. Законы люминесценции. Принцип Франка-Кондона.
6. Квантовый выход люминесценции. Связь интенсивности люминесценции с концентрацией вещества. Эффекты экранирования и реабсорбции люминесценции. Тушение люминесценции.
7. Приборы для наблюдения люминесценции. Скращенные светофильтры. Флуоресцентная микроскопия. Устройство спектрофлуориметра. Регистрация спектров люминесценции и спектров возбуждения люминесценции.
8. Влияние микроокружения на спектры и квантовый выход люминесценции. Флуоресцентные зонды и метки. Примеры.

9. Хемилюминесценция и биолюминесценция. Механизм и энергетика хемилюминесцентной реакции.

## Магнитная радиоспектроскопия

1. Орбитальный и спиновый моменты количества движения электрона. Орбитальный и спиновый магнитные моменты. Связь момента количества движения и магнитного момента электрона, магнетон Бора,  $g$ -фактор. Энергия электрона (магнитный момент электрона) в магнитном поле  $H_0$ . Взаимодействие магнитного момента электрона, находящегося в магнитном поле  $H_0$  с электромагнитным излучением  $H_1$ . Принцип метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Условие резонанса. Блок-схема спектрометра ЭПР. Спектр ЭПР.

2. Принцип метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Условие резонанса. Блок-схема спектрометра ЭПР. Спектр ЭПР. Спин-решеточная и спин-спиновая релаксация. Механизмы спин-решеточной и спин-спиновой релаксации. Ширина линии. Связь ширины линии с временами спин-решеточной и спин-спиновой релаксации. Зависимость ширины спектральной линии от концентрации парамагнитных частиц. Интенсивность сигнала ЭПР. Определение количества парамагнитных частиц в образце. Форма линии ЭПР.

3. Принцип метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Условие резонанса. Блок-схема спектрометра ЭПР. Спектр ЭПР. Механизмы сверхтонкого взаимодействия. Сверхтонкая структура в спектрах ЭПР. Энергетические уровни неспаренных электронов при взаимодействии с ядром. Примеры естественных сигналов ЭПР, наблюдаемых в биологических системах. Проблемы регистрации разрешенных спектров ЭПР в биологических системах.

4. Принцип метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Условие резонанса. Блок-схема спектрометра ЭПР. Спектр ЭПР. Метод спиновых зондов и меток. Какие вещества применяются в качестве спиновых меток и зондов. Применение зондов и меток в исследовании структурно-динамических свойств биомакромолекул и биомембран. Спектр ЭПР ТЕМПО при разных временах корреляции. Связь времени корреляции нитроксильного радикала с микровязкостью среды. Параметр гидрофобности. Исследование процессов перекисного окисления в мембранах методом ЭПР.

5. Принцип метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Условие резонанса. Блок-схема спектрометра ЭПР. Параметр упорядоченности. Применение ЭПР для изучения биологических мембран. рН-чувствительные зонды. Применение для изучения биологических объектов. Применение зондов и меток в исследовании структурно-динамических свойств биомакромолекул и биомембран.

6. Спин ядра. Магнитный момент ядра. Гиромагнитное отношение. Ядерный магнетон. Квантово-механическая интерпретация ЯМР. Энергия магнитного момента ядра в магнитном поле  $B_0$ . Эффект Зеемана. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Условие резонанса. Расстояние между энергетическими уровнями для ядер со спинами  $1/2$ ,  $1$ ,  $3/2$ ,  $2$  в магнитном поле  $B_0$ . Блок-схема спектрометра ЯМР. Спектр ЯМР. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. Применение ЯМР в изучении структурно-динамических свойств макромолекул и биомембран. ЯМР-томография. Достоинства метода ЯМР.

7. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Условие резонанса. Спектр ЯМР. Классическая интерпретация ЯМР. Магнитный момент ансамбля ядерных спинов в поле  $B_0$ . Макроскопическая намагниченность. Ларморова частота. Магнитный момент ансамбля ядерных спинов в магнитных полях  $B_0$  и  $B_1$ . Условие резонанса. Макроскопическая намагниченность. Поперечная намагниченность. Спин-решеточная и спин-спиновая релаксация. Механизмы релаксации. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. Применение ЯМР в изучении структурно-динамических свойств макромолекул и биомембран. ЯМР-томография. Достоинства метода ЯМР.

8. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Условие резонанса. Спектр ЯМР. Стационарный и импульсный методы регистрации сигналов ЯМР. Блок-схема установки. Импульсная Фурье-спектроскопия ЯМР. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. Применение ЯМР в изучении структурно-динамических свойств макромолекул и биомембран. ЯМР-томография. Достоинства метода ЯМР.

9. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Условие резонанса. Спектр ЯМР. Ширина линии ЯМР. Связь ширины линии с временами спин-решеточной и спин-спиновой релаксации. Интенсивность сигналов ЯМР. Причины уширения линий. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. Применение ЯМР в изучении структурно-динамических свойств макромолекул и биомембран. ЯМР-томография. Достоинства метода ЯМР.

10. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Условие резонанса. Спектр ЯМР. Химический сдвиг. Природа химического сдвига. Составляющие химического сдвига. Примеры химических сдвигов различных ядер. Спин-спиновое взаимодействие и его отражение в спектрах ЯМР. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. Применение ЯМР в изучении структурно-динамических свойств макромолекул и биомембран. ЯМР-томография. Достоинства метода ЯМР.

11. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Условие резонанса. Спектр ЯМР. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. Применение ЯМР в изучении структурно-динамических свойств макромолекул и биомембран. ЯМР-томография. Достоинства метода ЯМР.

### **Лазерная спектроскопия**

1. Применение коротких лазерных импульсов для исследования биологических систем. Квантовый выход и время жизни флуоресценции. Кинетика затухания флуоресценции и анизотропии флуоресценции.

2. Индуктивно-резонансный перенос энергии возбуждения (теория Ферстера). Примеры донорно-акцепторных взаимодействий в нативных биологических и гибридных системах. Эффективное сечение поглощения.

### **Комбинационное рассеяние. Сканирующая микроскопия**

1. Основы теории спектроскопии комбинационного рассеяния. Энергетическая диаграмма, переходы между колебательными подуровнями. Различные типы комбинационного рассеяния.

2. Сравнение явлений резонансного комбинационного рассеяния (РКР) и флуоресценции: поглощение кванта света, с каких уровней осуществляется РКР и испускание кванта флуоресценции, сравнение энергий квантов РКР и флуоресценции.

3. Традиционное представление спектров комбинационного рассеяния. Частотный сдвиг. Факторы, влияющие на интенсивность КР. Информация, которую можно получить из спектров КР.

4. Примеры использования спектроскопии КР в биомедицинских исследованиях.

5. Основы метода сканирующей микроскопии ионной проводимости. Примеры использования этого метода в биологических исследованиях.

### **Конфокальная микроскопия**

1. Устройство и основные элементы прямого оптического микроскопа. Объективы для оптической микроскопии: увеличение, числовая апертура, иммерсия.

2. Разрешение оптического микроскопа при наблюдении объектов в проходящем белом свете. Применения широкопольной микроскопии белого света.

3. Амплитудные и фазовые объекты. Микроскопия темного поля: принцип и применения. Метод ультрамикроскопии.
4. Амплитудные и фазовые объекты. Фазово-контрастная микроскопия: принцип и применения. Инвертированный микроскоп: устройство, преимущества и недостатки.
5. Устройство микроскопа для широкопольной флуоресцентной микроскопии. Разрешение флуоресцентного микроскопа. Молекулярные объекты исследования методом флуоресцентной микроскопии: флуоресцирующие ксенобиотики; собственные клеточные флуорофоры.
6. Принцип конфокальной фильтрации сигнала. Устройство лазерного сканирующего конфокального микроскопа. Молекулярные объекты исследования методом флуоресцентной микроскопии: флуоресцентные зонды и сенсоры на основе органических молекул-флуорофоров.
7. Метод лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и его основные возможности. Разрешение лазерного сканирующего конфокального микроскопа. Молекулярные объекты исследования методом флуоресцентной микроскопии: зеленый флуоресцирующий белок и его аналоги; генокодируемые флуоресцентно-меченые белки; сенсоры и зонды на основе флуоресцирующих белков.

### **Атомно-силовая микроскопия**

1. Конструкция атомно-силового микроскопа. Основные понятия: кантилевер, пьезосканер, фотодетектор.
2. Основные режимы атомно-силового микроскопа.
3. Физический смысл изображений, получаемых с помощью атомно-силового микроскопа.
4. Примеры применения атомно-силовой микроскопии для исследования отдельных молекул.
5. Примеры применения атомно-силовой микроскопии для исследования клеток.

### **Электронная микроскопия**

1. Преимущества и недостатки метода крио-электронной микроскопии для определения структур белков в сравнении с методами рентгеноструктурного анализа и ЯМР.
2. Устройство просвечивающего электронного микроскопа. Типы электронных детекторов.
3. Подготовка образцов для просвечивающей электронной микроскопии (негативное контрастирование, крио-электронная микроскопия).
4. Отличия сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии. Рассеяние электронов. Фазовый и амплитудный контраст.
5. Обработка изображений, полученных с помощью просвечивающей электронной микроскопии, и получение трёхмерных реконструкций молекул. Интерпретация реконструкций в зависимости от разрешения.

### **Молекулярная динамика**

1. Физические основы метода молекулярной динамики. Уравнения движения, лежащие в основе метода.
2. Понятие силового поля, параметры молекулярно-динамических моделей. Описание связей между атомами в молекуле.
3. Применение метода молекулярной динамики к описанию конформационных движений в макромолекулах.

4. Учёт влияния среды в молекулярной динамике. Периодические граничные условия. Понятие термостата.
5. Применение метода молекулярной динамики в биологии. Ограничения применения метода молекулярной динамики.