

Вопросы к зачету по курсу «Методы современной биологии» 2019/2020 учебный год

Электродные методы (Булычев А.А.)

1. Электроды. Неполаризующийся 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 оптического методов. Роль поверхностного натяжения в образовании БЛМ. Сопротивление мембран на переменном токе.
3. Внутриклеточные измерения мембранного потенциала при пропускании электрического тока. Постоянная времени мембраны τ . Кабельные свойства цилиндрических клеток. Кабельное уравнение. Зависимость постоянной длины λ 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 методов 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.

Электронная микроскопия (Станишнев-Коновалова Т.Б.)

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.

Атомно-силовая микроскопия (Багров Д.В.)

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.

Спектрофотометрия и спектрофлуориметрия (Погосян С.И.)

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. Скрещенные светофильтры. Флуоресцентная микроскопия. Устройство спектрофлуориметра. Регистрация спектров люминесценции и спектров возбуждения люминесценции.
8. Флуоресценция хлорофилла для оценки состояния фотосинтетического аппарата высших растений и водорослей.
9. Влияние микроокружения на спектры и квантовый выход люминесценции. Примеры использования методов флуоресцентных зондов и меток.
10. Хемилюминесценция и биолюминесценция. Механизм и энергетика хемилюминесцентной реакции. Устройства для измерения слабых световых потоков.

Лазерная спектроскопия (Максимов Е.Г.)

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.

Флуоресцентные методы биомониторинга и биотестирования фототрофных организмов (Маторин Д.Н.)

1. Природа генерации быстрой и замедленной флуоресценции в растворах.
2. Механизм быстрой флуоресценции хлорофилла в фотосинтетических мембранах.
3. Методы регистрации различных параметров флуоресценции растений и водорослей. Метод оценки фотосинтетической продукции фитопланктона.
4. Биоиндикация растительных организмов с использованием флуоресцентной аппаратуры.
5. Природа генерации замедленной флуоресценции и термолюминесценция хлорофилла в фототрофных организмах.

6. Применение замедленной флуоресценции и термолюминесценция для индикации физиологического состояния растений и природного фитопланктона.
7. Биотестирование загрязнений флуоресцентными методами.

Оптическая микроскопия (Феофанов А.В.)

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.
6. Молекулярные объекты исследования методом флуоресцентной микроскопии: флуоресцирующие ксенобиотики; собственные клеточные флуорофоры.
7. Молекулярные объекты исследования методом флуоресцентной микроскопии: флуоресцентные зонды и сенсоры на основе органических молекул-флуорофоров.
8. Принцип конфокальной фильтрации сигнала. Устройство лазерного сканирующего конфокального микроскопа.
9. Метод лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и его основные возможности. Разрешение лазерного сканирующего конфокального микроскопа.

Комбинационное рассеяние (Браже Н.А.)

1. Основы теории спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Традиционное представление спектров комбинационного рассеяния. Частотный сдвиг. Факторы, влияющие на интенсивность КР. Информация, которую можно получить из спектров КР.
2. Примеры использования спектроскопии КР в биомедицинских исследованиях.
3. Основы метода спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР, SERS). Понятия плазмона и плазмонного резонанса, условие усиления комбинационного рассеяния от исследуемых молекул. Наноструктуры и наночастицы, обладающие плазмонным резонансом. Информация о молекулах и клетках, которую можно получить из спектров ГКР (SERS).
4. Примеры использования спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (SERS) в биомедицинских исследованиях.

Радиоспектроскопия (Яковлева О.В.)

1. Принцип метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Условие резонанса. g -фактор. Регистрация спектра ЭПР. Основные характеристики спектра ЭПР. Информация, получаемая из спектра ЭПР.
2. Спин-решеточная и спин-спиновая релаксация. Времена спин-решеточной и спин-спиновой релаксации. Ширина линии в спектре ЭПР. Связь ширины линии с временами спин-решеточной и спин-спиновой релаксации.
3. Сверхтонкое взаимодействие электронов и ядер. Константа СТС.
4. Применение ЭПР в биологии. Особенности биологических образцов. Примеры исследования радиобиологических, фотобиологических и ферментативных процессов.
5. Метод спиновых зондов и меток. Применение зондов и меток в исследовании структурно-динамических свойств биомакромолекул и биомембран.

6. Принцип метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Квантово-механическая и классическая интерпретация явления ЯМР. Условие резонанса.
7. Регистрация спектров ЯМР. Стационарный и импульсный методы регистрации сигналов ЯМР. Спектр ЯМР. Основные характеристики. Информация, получаемая из спектра ЯМР.
8. Спин-решеточная и спин-спиновая релаксация. Ширина линии ЯМР. Связь ширины линии с временами спин-решеточной и спин-спиновой релаксации. Причины уширения линий.
9. Химический сдвиг. Природа химического сдвига. Факторы, определяющие химический сдвиг.
10. Основные направления использования ЯМР в биологии и медицине. ЯМР-томография.

Основы томографических методов (Розенкранц А.А.)

1. Методы реконструкции изображений в томографии. Виды излучений, используемые для томографии.
2. Рентгеновская компьютерная томография.
3. Магнитно-резонансная томография.
4. Позитронная эмиссионная томография.
5. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография.

Методы машинного анализа. Анализ данных методами машинного обучения (Плюснина Т.Ю.)

1. Анализ данных методами машинного обучения.
2. Типы машинного обучения: с учителем (классификация, регрессия), без учителя (кластеризация), общая характеристика.
3. Подготовка данных для анализа методами машинного обучения.
4. Алгоритмы классификации: дерево принятия решений, случайный лес.
5. Метод главных компонент (РСА), уменьшение размерности данных.
6. Понятие кластеризации. Вычисление расстояния между объектами. Оценка расстояния между кластерами. Применение метода кластерного анализа для создания групп сходных объектов (кластеров). Представление результатов анализа.
7. Метод k -средних. Иерархическая кластеризация. DBSCAN - кластеризация на основе плотности, графовые методы.

Молекулярная динамика (Коваленко И.Б.)

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.