
Обобщенный список курсов:

I. Составной курс "Функциональные наноматериалы: получение и свойства"

24 часа (12 лекций)

I.1. Неорганические нанобъекты и наноматериалы

12 часов (6 лекций)

проф., чл.-корр. Гудилин Е.А.

I.2. Органические и гибридные наноматериалы. Супрамолекулярные системы

10 часов (5 лекций)

д.х.н., в.н.с. Вацадзе С.З., д.х.н., доц. Белоглазкина Е.К., к.х.н., доц. Мажуга А.Г.

II. Составной курс "Нанодиагностика и визуализация нанобиоструктур"

48 часов (24 лекции)

II.1. Спецкурс "Сканирующая зондовая микроскопия биобъектов"

8 часов (4 лекции)

д.х.н., проф. Курочкин И.Н., асс. Евтушенко Е.Г.

II.2. Спецкурс "Электронная микроскопия"

6 часов (3 лекции)

с.н.с. Киреев И.И.

II.3. Составной спецкурс "Оптические методы изучения нанобиоструктур"

18 часов (9 лекций)

II.3.1. Флуоресценция, конфокальная микроскопия, цветные белки, FRET, "квантовые точки".

12 часов (6 лекций)

проф. Савицкий А.П.

II.3.2. Спектроскопия кругового дихроизма

2 часа (1 лекция)

проф. Громова Е.С.

II.3.3. ИК и КР спектроскопия

2 часа (1 лекция)

доц. Белоглазкина Е.К.

II.3.4. Методы поверхностного плазмонного резонанса (SPR) и поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии (SERS)

2 часа (1 лекция)

доц. Белоглазкина Е.К.

II.4. Спецкурс "Электрохимия нанобъектов"

8 часов (4 лекции)

проф. Карякин А.А.

II.5. Спецкурс "Хроматографические методы в нанобиотехнологии"

4 часа (2 лекции)

м.н.с. Родин И.А.

II.6. Спецкурс "ЯМР в исследовании нанобъектов"

2 часа (1 лекция)

доц. Мажуга А.Г., Польшаков В.И.

II.7. Спецкурс "Масс-спектрометрия в исследовании нанобъектов"

2 часа (1 лекция)

д.х.н., в.н.с. Вацадзе С.З.

III. Спецкурс "Введение в молекулярное моделирование нано- и биоструктур"

18 часов (7 лекций + 2 часа практическое занятие-зачет)

с.н.с. Упоров И.В., доц. Головин А.В.

Список практических работ 8 семестра НБ1

Задача № 1

Синтез наночастиц золота

Отв. Мажуга А.Г.

Целью практикума является ознакомление студентов с основным методом синтеза золотых наночастиц в области размеров от 10 до 45 нм - цитратным восстановлением золотохлористоводородной кислоты (метод Туркевича). Наблюдение за изменением окраски реакционной смеси в ходе синтеза, а также электронных спектров поглощения готовых наночастиц помогают закрепить полученные в курсе «Физика наноструктур» знания о явлении локализованного поверхностного плазмонного резонанса. Набор практических рекомендаций, а также анализ типичных ошибок, допускаемых в ходе процесса, помогут студентам воспроизвести этот несложный синтез в собственных экспериментальных исследованиях в случае необходимости.

Задача № 2

Электронная микроскопия в бионанотехнологии

Отв. Киреев И.И.

Целью практикума является ознакомление с устройством и принципом работы просвечивающего электронного микроскопа, освоение базовых методов приготовления препаратов различных типов биоматериалов (клетки и ткани, вирусы, макромолекулы) для электронномикроскопического анализа (метод ультратонких срезов, негативное контрастирование), знакомство с методами иммуноэлектронной микроскопии.

План занятий: 1 день: Приготовление реактивов для фиксации, негативного контрастирования и иммуноэлектронной микроскопии. Изготовление пленки-подложки для образцов. Фиксация и иммуноокрашивание образцов клеток млекопитающих, культивируемых на покровных стеклах. Знакомство с устройством просвечивающего микроскопа. Основные функциональные узлы микроскопа, управление микроскопом. Приготовление препаратов вируса табачной мозаики методом негативного контраста.

2 день. Ag-амплификация сигнала на препаратах клеток, фиксированных накануне. Оценка качества окрашивания и амплификации при помощи светового микроскопа. Обезвоживание и инфльтрация препаратов эпоксидной смолой. Просмотр препаратов вирусов, полученных накануне. Полимеризация эпоксидных блоков. Выбор клеток для ультрамикротомии и тримминг блоков.

3 день. Знакомство с техникой ультратонких срезов. Изготовление стеклянных ножей. Получение ультратонких срезов (демонстрация). Контрастирование срезов. Просмотр и фотографирование препаратов. Обсуждение результатов.

Приборная база: практикум будет проводиться на базе приборного парка отдела электронной микроскопии НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского. В отделе имеется два просвечивающих микроскопа NU-12 (80-100 kV) и H-700 (200 kV) (Hitachi), несколько ультрамикротомов и другое оборудование для пробоподготовки (напылительные установки, термостаты, найфмейкеры, оптические микроскопы и т.п.).

Задача № 3

Использование метода Сканирующей Силовой Микроскопии для изучения белок-полиэлектrolитных пленок

Отв. Евтушенко Е.Г.

Данная практическая работа предназначена для закрепления полученных студентами знаний о теоретических основах Сканирующей Зондовой Микроскопии. В первую очередь, они знакомятся с устройством ключевых узлов Сканирующего Силовой Микроскопа (ССМ) NT-MDT Solver P47 и общими практическими приемами приготовления образцов для ССМ, накладывающими ограничения на области применения

метода. Немаловажным является также овладение первичными навыками работы на ССМ: знакомство с реализацией систем подвода-отвода, обратной связи, регистрации изгиба и/или амплитуды колебаний кантилевера, а также основным режимом получения топографии применительно к биологическим образцам – прерывисто-контактной силовой микроскопией («tapping-mode»).

В теоретической части задачи основные принципы ССМ изложены кратко, так как они уже знакомы студентам из лекционных занятий. Основное внимание уделено теоретическим основам выбора корректных условий получения ССМ-изображений, анализу артефактов и искажающих факторов метода. Второстепенной задачей данной работы является ознакомление с процедурами обработки и анализа данных ССМ-топографии. Данная задача несомненно важна для будущих ученых так как примерно в трети публикуемых работ, содержащих данные ССМ-топографии, обработка изображений либо не проводится, либо осуществляется некорректно, что значительно снижает их информативность.

Объектом изучения данной задачи являются белок-полиэлектrolитные наноструктуры на углеродной поверхности, полученные методом послойного нанесения полиэлектролитов (синтетических полимеров или белков). Этот метод находит широкое применение при изготовлении высокочувствительных электрохимических аналитических систем. Студентам предлагается изучить фермент-полиэлектrolитные структуры, составляющие основу тирозиназного фенольного электрохимического датчика.

Дополнительно студентам будет предложено охарактеризовать адсорбированные на поверхности полученные ими золотые наночастицы, сравнить данные метода ССМ с данными электронной микроскопии.

Задача № 4

Приготовление конъюгатов золотых наночастиц с белками и использование их для изготовления иммунохроматографических тест-полосок

Отв. Евтушенко Е.Г.

Данная практическая работа предназначена для ознакомления студентов с методом быстрой конъюгации золотых наночастиц с белками; устройством, принципами функционирования и общей методикой изготовления иммунохроматографических тест-систем.

Работа является завершающей в цикле практических работ, проводящих студентов через весь путь от собственноручного синтеза нанообъектов (золотых наночастиц), через их характеризацию с помощью современных физических методов (ПЭМ, ССМ, DLS) и модификацию их биомолекулами, к созданию на их основе конечного продукта.

В теоретической части задачи рассмотрены основные принципы предлагаемого к использованию метода физической адсорбции белка на золотых наночастицах и проверки степени связывания путем дестабилизации коллоида растворами с высокой ионной силой. Большое внимание уделено принципам работы иммунохроматографических тест-полосок, а также практическим требованиям, предъявляемым к материалам, используемым для их изготовления.

В практической части задачи студенты знакомятся с приемами работы с золями золотых наночастиц, способами оценки их стабильности как визуально, так и при помощи спектроскопии видимой области. Важной частью задачи является ознакомление студентов с принципами функционирования белкового принтера.

Задача №5

Компьютерное моделирование био- и наноструктур

Отв. Упоров И.В., Головин А.В.

Цель занятия - используя средства поиска доступные в Internet, найти белок, содержащий заданную аминокислотную последовательность, определить круг его гомологов,

построить множественное выравнивание гомологов, построить модель пространственной структуры выбранного белка-гомолога. Ознакомиться с работой программы молекулярной графики ruMOL, различными способами визуализации белковой структуры. Подготовить модельную структуру белка-гомолога для проведения расчётов по методу молекулярной динамики, провести расчёт траектории длительностью в 5 пс, обработать полученную траекторию.