

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
биофизики и биотехнологии



В.Г. Артюхов
21.03.2022 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Б1.В.05 Биофотоника и фотодинамические эффекты

- 1. Шифр и наименование направления подготовки:**
06.04.01 Биология
- 2. Профиль подготовки:**
Биофизика
- 3. Квалификация (степень) выпускника:**
магистр
- 4. Форма образования:**
очная
- 5. Кафедра, отвечающая за реализацию дисциплины:**
биофизики и биотехнологии
- 6. Составители программы:**
Лысенко Юлия Александровна, канд. биол. наук, ассист.
- 7. Рекомендована:** Научно-методическим советом медико-биологического факультета от 21.03.2022, протокол № 2
- 8. Учебный год:** 2022/2023 **Семестр:** 1

9. Цели и задачи учебной дисциплины:

Цель изучения дисциплины: усвоение обучающимися представлений о физико-химических основах и направлениях действия на биосистемы оптического излучения различной интенсивности, его использовании для диагностики и лечения ряда заболеваний; формирование умений и навыков практического применения методов фотоники в области исследований структурно-функционального состояния биообъектов.

Задачами дисциплины являются:

- 1) усвоение основной терминологии фотоники и биофотоники;
- 2) ознакомление с типами первичных фотофизических и фотохимических процессов, протекающих в биосистемах при воздействии на них оптического излучения различной интенсивности, в том числе лазерных источников;
- 3) знакомство с теоретическими основами методов биоимиджинга, оптической диагностики патологических состояний организма;
- 4) освоение теоретических основ метода фотодинамической терапии;
- 5) знакомство с понятиями нанофотоники и ее практическими приложениями в научных исследованиях и медицине;
- 6) освоение методов выявления и оценки степени модификаций биосистем под действием оптического излучения в присутствии фотосенсибилизатора.

10. Место учебной дисциплины в структуре ООП:

Дисциплина относится к часть, формируемой участниками образовательных отношений, Блока 1 «Дисциплины (модули)». Для успешного освоения ее содержания необходимо иметь знания в области физики электромагнитных излучений, молекулярно-клеточной и физико-химической биологии.

11. Планируемые результаты обучения по дисциплине/модулю (знания, умения, навыки), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями) и индикаторами их достижения:

Код	Название компетенции	Код(ы)	Индикатор(ы)	Планируемые результаты обучения
ПК-2	Способен проводить исследования, направленные на решение исследовательских задач в рамках реализации научного (научно-технического, инновационного) проекта в области профессиональной деятельности	ПК-2.1	Проводит исследования по заданной тематике, применяя высокотехнологичное оборудование	Знать: особенности конструкции источников оптического излучения и оборудования, применяемого для анализа оптических свойств биообъектов Уметь: осуществлять выбор адекватных поставленным задачам методов и методик, применяемых для анализа свойств биосистем Владеть навыками: подготовки образцов для анализа; работы с приборами и источниками питания, применяемыми для исследования биообъектов в области фотобиологии
ПК-3	Способен обрабатывать, интерпретировать и оформлять результаты проведенных исследований в выбранной области науки	ПК-3.2	Анализирует полученные результаты и интерпретирует в контексте выбранной области профессиональной и/или научной сферы	Знать: базовые закономерности, описывающие взаимодействие света с веществом, основные фотометрические величины; направления использования лазеров в научных исследованиях и клинической практике; ключевые механизмы, лежащие в основе процессов фотосенсибилизированной

				<p>модификации биосистем; теоретические основы метода фотодинамической терапии онкозаболеваний; сферы применения нанотехнологий в биофотонике</p> <p>Уметь: интерпретировать полученные экспериментальные результаты и литературные данные по воздействию оптических излучений на биообъекты в контексте текущей научной парадигмы в области биофотоники.</p> <p>Владеть: методами логического и статистического анализа полученных результатов</p>
ПК-7	Способен к организации и проведению самостоятельных исследований в области биофизики и биотехнологии	ПК-7.1	Применяет знание принципов структурной и функциональной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ их функционирования при решении исследовательских задач	<p>Знать: принципы структурной и функциональной организации биологических объектов, биофизические и биохимические основы их функционирования.</p> <p>Уметь: применять теоретические знания для решения конкретных исследовательских задач.</p> <p>Владеть: методами анализа и синтеза теоретических и практических сведений.</p>
		ПК-7.2	Профессионально использует сложное научно-исследовательское оборудование для получения новых знаний о физико-химических механизмах функционирования биологических объектов в норме и при патологии	<p>Знать: физико-химических механизмы функционирования биологических объектов в норме и при патологии.</p> <p>Уметь: профессионально использовать сложное научно-исследовательское оборудование для решения профессиональных задач.</p> <p>Владеть: навыками эксплуатации п сложного научно- исследовательского оборудования</p>

12. Объем дисциплины в зачетных единицах/час. — 3 з.е. /108 ч.

Форма промежуточной аттестации экзамен

13. Трудоемкость по видам учебной работы

Вид учебной работы		Трудоемкость		
		Всего	По семестрам	
			№ семестра 1	№ семестра
Аудиторные занятия		44	44	
в том числе:	лекции	14	14	
	практические	30	30	
	лабораторные			
Самостоятельная работа		28	28	
в том числе: курсовая работа				

(проект)				
Форма промежуточной аттестации (экзамен – __ час.)	36	36		
Итого:	108	108		

13.1. Содержание дисциплины

№ п/п	Наименование раздела дисциплины	Содержание раздела дисциплины	Реализация раздела дисциплины с помощью онлайн-курса, ЭУМК*
1. Лекции			
1.1	Фотоника и биофотоника: основные понятия, физические основы процессов	Фотоника и биофотоника. Определение понятий, история становления. Применение в области биологии и медицины. Диаграмма энергетических уровней молекулы (схема Яблонского). Основные пути дезактивации возбужденных состояний атома и молекулы. Количественные характеристики, отражающие процессы взаимодействия света с веществом. Зависимость типов фотофизических превращений от интенсивности действующего излучения. Лазерные источники излучения	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
1.2	Лазеры в биологии	Лазеры: классификация, принцип действия. Основные характеристики лазерного излучения, спектральный диапазон излучения. Понятие о низко- и высокоинтенсивном лазерном излучении. Двухквантовое поглощение. Эффекты нагрева облучаемого объекта. Световоды (оптические волокна) и их применение в области биофотоники. Использование низкоинтенсивного лазерного излучения для исследовательских и диагностических целей. Методы визуализации биообъектов (биоимиджинг). Моно- и двухфотонная флуоресцентная микроскопия, конфокальная микроскопия. Флуоресцентная микроскопия сверхвысокого разрешения. STED-микроскопия (микроскопия на основе подавления спонтанного испускания). Ферстеровский резонансный перенос энергии (FRET) и его применение в области биоимиджинга. Лазерная спектроскопия комбинационного рассеяния в биологии	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
1.3	Лазеры в медицинских исследованиях и клинической практике	Лазерная физика в биомедицине: диагностика процессов, протекающих в живых организмах, обеспечение контролируемого и точно дозируемого терапевтического и хирургического воздействия. Высокочувствительный спектральный	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123

		<p>анализ газообразных молекул-биомаркеров в процессах газообмена живых организмов с окружающей средой. Диодная лазерная спектроскопия (ДЛС). Детекция газообразных биомаркеров: NO, NO₂, N₂O, NH₃, CO, CO₂, O₂, CH₄, C₂H₄. Методы многокомпонентного лазерного газоанализа для медицинской диагностики. Одновременное детектирование CO и CO₂ для исследования кислородтранспортных свойств гемоглобина в условиях варьирования концентрации CO₂ в крови. Клиническое применение лазерного анализа относительного содержания ¹²CO₂ и ¹³CO₂ в выдыхаемом воздухе в диагностике и терапии Helicobacter pylori-ассоциированных заболеваний. Терапевтическое действие лазерного излучения (явление фотобиомодификации). Термические эффекты высокоинтенсивного лазерного излучения. Лазерный скальпель. Абляция тканей</p>	
1.4	Фотосенсибилизированная модификация биологических систем	<p>Явление фотосенсибилизации. Понятие сенсibilизатора. Эндогенные и экзогенные фотосенсибилизаторы. Энергетические уровни молекулы кислорода. Синглетный кислород и активные формы кислорода как основные интермедиаты в реакциях фотосенсибилизированного окисления биологических систем: механизмы генерации, физико-химические характеристики. Синглетный кислород. Супероксидный анион-радикал и его протонированная форма. Пероксид водорода. Радикал гидроксила. Продукты фотосенсибилизированного окисления биологических молекул основных классов в условиях in vitro и in vivo: аминокислоты, пептиды, белки; азотистые основания, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты; липиды; полисахариды. Схемы реакций фотосенсибилизированного окисления типа I и типа II. Реакции с участием радикальных продуктов сенсibilизатора, супероксидного анион-радикала</p>	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
1.5	Использование процессов фотосенсибилизированного окисления в медицине	<p>Прикладное значение процессов фотосенсибилизированного окисления биосистем: фотодинамическая терапия (ФДТ) опухолевых заболеваний; антимикробная фотодинамическая терапия. Оптические характеристики биологических тканей. Рассеяние и</p>	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123

		<p>поглощение света. Основные хромофоры в УФ-, видимой и инфракрасной областях спектра. Глубина проникновения света в биоткань. «Окна прозрачности». Аппаратура для проведения ФДТ. Основные технические характеристики. Процедура ФДТ. Выбор сенсibiliзатора. Сенсibiliзаторы I, II и III поколения. Направленная доставка сенсibiliзатора. Выбор источника, дозы и схемы облучения. Физико-химические механизмы процессов, инициирующих деструкцию опухолевой массы: первичные фотофизические и фотохимические процессы, реакции типа I и II. Характеристики комплекса процессов, приводящих к деструкции опухолей в результате проведения ФДТ: непосредственное повреждение опухолевых клеток; модуляция компонентов иммунной системы; повреждение компонентов сосудистого русла опухоли. Непосредственное воздействие на клетки опухоли: апоптоз, некроз, аутофагия. Изменение характера первичных процессов в зависимости от места основной локализации сенсibiliзатора (цитоплазма, митохондрии, ядро, лизосомы). Стимуляция иммунного ответа. Молекулярные паттерны, связанные с повреждением. Апоптоз эритроцитов — эриптоз. Окислительная модификация ионных каналов эритроцитов. Синглетный кислород и Gardos-каналы (Ca²⁺-чувствительные калиевые каналы). Изменение концентрации ионов кальция как регулятор каскада процессов программируемой клеточной гибели эритроцитов в результате фотодинамического воздействия. Повреждение клеток эндотелия сосудов</p>	
1.6	Нанотехнологии в биофотонике. Нанофотоника	Оптический пинцет (оптическая ловушка, лазерный пинцет). Квантовые точки. Многоцветное спектральное кодирование	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
2. Практические занятия			
3.2	Лазеры в биологии	Исследование изменений уровня жизнеспособности клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях фотодинамического воздействия методом проточной цитофлуориметрии	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
3.3	Лазеры в медицинских исследованиях и	Изучение изменений величины мембранного потенциала клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях фотодинамического	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123

	клинической практике	воздействия методами проточной цитофлуориметрии и флуоресцентной микроскопии с использованием потенциалчувствительных флуоресцентных зондов	
3.4	Фотосенсибилизированная модификация биологических систем	<p>Определение уровня активных форм кислорода в клетках асцитной карциномы Эрлиха с помощью флуоресцентного зонда — 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеиндиацетата (H₂DCF-DA) — в условиях фотодинамического воздействия.</p> <p>Изучение изменений уровня свободного цитоплазматического кальция в клетках асцитной карциномы Эрлиха в условиях фотодинамического воздействия с использованием флуоресцентного зонда Fura-2/AM</p> <p>Изучение изменений уровня экспонирования фосфатидилсерина на поверхности клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях фотодинамического воздействия .</p>	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
3.5	Использование процессов фотосенсибилизированного окисления в медицине	<p>Исследование электрофоретических характеристик ДНК клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях облучения красным светом в присутствии фотосенсибилизатора — метиленового голубого</p> <p>Исследование изменений популяционного состава иммуноцитов и уровня генерации АФК фагоцитами крови мышей после имплантации клеток АКЭ, подвергнутых фотодинамическому воздействию</p> <p>Исследование изменений концентрации экстрацеллюлярной АТФ в суспензии клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях облучения красным светом в присутствии метиленового голубого</p>	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123
3.6	Нанотехнологии в биофотонике. Нанофотоника	Оптический пинцет (оптическая ловушка, лазерный пинцет). Квантовые точки. Многоцветное спектральное кодирование	https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=3123

3.2. Темы (разделы) дисциплины и виды занятий

№ п/п	Наименование раздела дисциплины	Виды занятий (часов)				
		Лекции	Практические	Лабораторные	Самостоятельная работа	Всего
1	Фотоника и биофотоника: основные понятия, физические основы процессов	2			2	4
2	Лазеры в биологии	2	4		4	10
3	Лазеры в медицинских исследованиях и клинической	4	4		6	14

	практике					
4	Фотосенсибилизированная модификация биологических систем	2	10		6	18
5	Использование процессов фотосенсибилизированного окисления в медицине	2	10		6	18
6	Нанотехнологии в биофотонике. Нанофотоника	2	2		4	8
	контроль					36
	Итого:	14	30		28	108

14. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины

Координация процесса освоения содержания дисциплины, в том числе самостоятельной работы обучающихся, осуществляется с использованием статичных и интерактивных компонентов электронного курса «Биофотоника и фотодинамические эффекты» (далее — Курс), расположенного по адресу <https://edu.vsu.ru/course/view.php?id=2004> на портале «Электронный университет ВГУ». В связи с этим перед началом учебных занятий обучающийся должен выполнить следующее.

1. Проверить наличие доступа к курсу. В случае выявления проблем своевременно обратиться к преподавателю во время аудиторных занятий.

2. Изучить интерфейс курса, знать способы взаимодействия с преподавателем в рамках ЭУМК: сообщение на форуме, отправка личного сообщения, чат.

3. Ознакомиться с целью и задачами дисциплины, перечнем формируемых компетенций и результатов обучения, программой дисциплины, календарным планом, траекторией освоения дисциплины, комплексом вопросов и требований для промежуточной аттестации.

4. Ознакомиться с перечнем основной и дополнительной литературы, а также списком электронно-образовательных ресурсов, необходимых для освоения дисциплины. Получить в библиотеке ВГУ необходимое число печатных экземпляров учебников, учебных пособий, монографий и др. источников информации, а также реквизиты, необходимые для доступа к электронным библиотечным системам, на которые оформлена подписка ФГБОУ ВО «ВГУ».

Во время аудиторных занятий обучающийся должен формировать конспект лекций и протокол проведения лабораторных работ на лабораторных занятиях (шаблон оформления лабораторных работ приведен в разделе 19.3.2 программы). Электронный вариант отчета о лабораторной работе размещается в качестве ответа на задание в электронном курсе.

При изучении дисциплины предусмотрена работа обучающегося в группе, формирующая чувство коллективизма и коммуникабельность, а также самостоятельная работа, способствующая формированию аккуратности, дисциплинированности. Студенты знакомятся с теоретическим материалом в процессе лекционного курса, самостоятельно прорабатывают и усваивают теоретические знания с использованием рекомендуемой учебной литературы, учебно-методических пособий согласно указанному списку, получают навыки проведения экспериментальных исследований в рамках практических занятий.

Текущий контроль знаний обеспечивает проверку усвоения учебного материала, приобретения знаний, умений и навыков в процессе аудиторной и самостоятельной работы. Текущий контроль знаний проводится один раз в семестр. При подготовке к текущему контролю знаний студенты изучают и конспектируют информацию из рекомендуемой преподавателем учебной литературы по темам лекционных и практических занятий, самостоятельно

осваивают понятийный аппарат дисциплины, закрепляют теоретические знания. Планирование и организация текущего контроля знаний, умений и навыков осуществляется в соответствии с содержанием рабочей программы и календарно-тематическим планом с применением оценочных средств.

Обучение лиц с ограниченными возможностями здоровья осуществляется с учетом их индивидуальных психофизических особенностей и в соответствии с индивидуальной программой реабилитации. Для лиц с нарушением слуха при необходимости допускается присутствие на лекциях и практических занятиях ассистента, а также сурдопереводчиков и тифлосурдопереводчиков. Промежуточная аттестация для лиц с нарушениями слуха проводится в письменной форме, при этом используются общие критерии оценивания. При необходимости время подготовки на зачете может быть увеличено. Для лиц с нарушением зрения допускается аудиальное предоставление информации (например, с использованием программ-синтезаторов речи), а также использование на лекциях звукозаписывающих устройств (диктофонов и т.д.). На лекциях и практических занятиях при необходимости допускается присутствие ассистента. При проведении промежуточной аттестации для лиц с нарушением зрения тестирование может быть заменено на устное собеседование по вопросам. При необходимости время подготовки на экзамене может быть увеличено. Для лиц с нарушениями опорно-двигательного аппарата при необходимости допускается присутствие ассистента на лекциях и практических занятиях. Промежуточная аттестация для лиц с нарушениями опорно-двигательного аппарата проводится на общих основаниях, при необходимости процедура экзамена может быть реализована дистанционно.

Методические указания по проработке конспектов лекций, материалов учебника

Внимательно ознакомьтесь с программой, тематическим и календарным планами, с вопросами к аттестации. Выпишите в рабочую тетрадь те понятия, идеи и проблемы, которые вам незнакомы, встретились при изучении этих документов впервые. Изучайте учебный материал последовательно, соответственно рабочему плану. В случае необходимости возвращайтесь к учебникам по общим дисциплинам, обращайтесь к рекомендованной учебной литературе. При изучении каждой темы выписывайте новые понятия и термины в рабочую тетрадь. Используя глоссарий, учебники, энциклопедические словари, Интернет-ресурсы и другие информационные источники, раскройте их этих понятий. Внимательно ознакомьтесь с контрольными вопросами. Постарайтесь на них ответить. В случае затруднений вновь вернитесь к теоретическому материалу и постарайтесь вникнуть в него более глубоко. При необходимости обращайтесь к рекомендованной для изучения учебной литературе. Вычленили концептуальные идеи, заложенные в учебном материале, раскройте их смысл, обоснуйте и выпишите в рабочую тетрадь. Составьте по теме опорный конспект в виде плана-ответа на вопросы, выносимые на аттестацию.

Методические указания по выполнению практических работ приведены в разделе 20.

Методические указания для подготовки к аттестации

1. Внимательно ознакомьтесь с вопросами. Постарайтесь на них ответить. В случае затруднений вновь вернитесь к теоретическому материалу и постарайтесь вникнуть в него более глубоко. При необходимости обращайтесь к рекомендованной для изучения учебной литературе, глоссарию, конспектам лекций.

15. Перечень основной и дополнительной литературы, ресурсов интернет, необходимых для освоения дисциплины

а) основная литература:

№ п/п	Источник
1	Демтрёдер В. Современная лазерная спектроскопия : [учебное пособие] / В. Демтрёдер ; пер. с англ. М. В. Рябининой, Л. А. Мельникова, В. Л. Дербова ; под ред. Л. А. Мельникова. — Долгопрудный : Издательский дом Интеллект, 2014. — 1071 с.
2	Пикулев В. Б. Нанопотоника : учеб. пособие / В. Б. Пикулев, С. В. Логинова. — Петрозаводск : Изд-во ПетрГУ, 2012. — 90 с.
3	Салех Б. Оптика и фотоника. Принципы и применения = Fundamentals of photonics : [учебное пособие] : [в 2 т.] / Б. Салех, М. Тейх ; пер. с англ. В. Л. Дербова. — Долгопрудный : Изд. дом «Интеллект», 2012- . — Т. 1. — 2012. — 759 с.
4	Салех Б. Оптика и фотоника. Принципы и применения = Fundamentals of photonics : [учебное пособие] : [в 2 т.] / Б. Салех, М. Тейх ; пер. с англ. В. Л. Дербова. — Долгопрудный : Изд. дом «Интеллект», 2012- . — Т. 2. — 2012. — 780 с.

б) дополнительная литература:

№ п/п	Источник
5	Тучин В. В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях / В. В. Тучин. — Изд. 2-е, испр. и доп. — М. : ФИЗМАТЛИТ, 2010. — 488 с.
6	Узденский А. Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии / А.Б. Узденский ; Южный федер. ун-т. — СПб. : Наука, 2010. — 326 с.
7	Змиевской Г. Н. Изучение основных характеристик лазерной медицинской терапевтической аппаратуры на основе полупроводниковых лазеров : методические указания к выполнению лабораторной работы по курсу «Лазерные медицинские системы» / Г. Н. Змиевской. — Москва : Издательство МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2010. — 32 с. — <URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=257322 >.
8	Александров М. Т. Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика) / М. Т. Александров. — М. : Техносфера, 2008. — 583 с.
9	Айхлер Ю. Лазеры. Исполнение, управление, применение / Ю. Айхлер, Г.-И. Айхлер ; пер. с нем. Л. Н. Казанцевой. — М. : Техносфера, 2008. — 438 с.
10	Векшин Н. Л. Фотоника биологических структур / Н. Л. Векшин ; АН СССР, Науч. центр биол. исслед., Ин-т биол. физики. — Пущино : НЦБИ, 1988. — 163 с.
11	Иванов А. С. Руководство по лазеротерапии стоматологических заболеваний / А. С. Иванов. — 2-е изд., испр. и доп. — Санкт-Петербург : СпецЛит, 2014. — 108 с. — <URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=253935 >.
12	Кугейко М. М. Лазерная диагностика и спектроскопия : Учебное пособие для студ. специальностей «Радиофизика», «Физика», «Приборостроение» вузов / М. М. Кугейко. — Минск : БГУ, 2002. — 274 с.
13	Лазерная инженерия хрящей / В. Н. Баграташвили [и др.] ; под ред. В. Н. Баграташвили [и др.]. — М. : ФИЗМАТЛИТ, 2006. — 487 с.
14	Липатов Д. В. Лазерная коагуляция сетчатки / Д. В. Липатов. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — <URL: http://www.studmedlib.ru/book/970406779V0008.html >.
15	Махоткина Н. Н. Применение оптического излучения в физиотерапии (фототерапия) / Н. Н. Махоткина, Г. Н. Пономаренко, Г. Е. Бриль. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — <URL: http://www.studmedlib.ru/book/970411841V0001.html >.
16	Посудин Ю. И. Лазерная микрофлуориметрия биологических объектов / Ю. И. Посудин. — Киев : Вища шк., 1985. — 110 с.
17	Посудин Ю. И. Лазерная фотобиология / Ю. И. Посудин. — Киев : Вища шк., 1989. — 245 с.

18	Приезжев А. В. Лазерная диагностика в биологии и медицине / А. В. Приезжев, В. В. Тучин, Л. П. Шубочкин. — М. : Наука, 1989. — 237 с.
19	Генина Э. А. Методы биофотоники: Фототерапия / Э. А. Генина. — Саратов : Новый ветер, 2012. — 119 с.
20	Степанов Е. В. Диодная лазерная спектроскопия и анализ молекул-биомаркеров / Е. В. Степанов. — М. : Физматлит, 2009. — 416 с. <URL: http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785922111522.html >.
21	Тепловые, гидродинамические и плазменные эффекты при взаимодействии лазерного излучения с веществом / РФЯЦ - ВНИИЭФ ; под общ. ред. Н. С. Захарова, В. Д. Урлина, Н. И. Шенцева. — Саров : РФЯЦ-ВНИИЭФ, 2004. — 425 с.
22	Теренин А. Н. Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений / А.Н. Теренин ; АН СССР; Науч. совет по комплексной проблеме «Фотосинтез». — Л. : Наука, 1967. — 615 с.
23	Тучин В. В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / В. В. Тучин ; пер. с англ. В. Л. Дербова под ред. В. В. Тучина. — Москва : ФИЗМАТЛИТ, 2012. — 811 с. свободные радикалы в биологии : [Пер. с англ. : В 2 т.] / Ред. У. Прайор ; под ред. Н. М. Эмануэль. — М. : Мир, 1979-. Т. 1. — 1979. — 318 с.
24	Свободные радикалы в биологии : [Пер. с англ. : В 2 т.] / Ред. У. Прайор; Под ред. Н. М. Эмануэль. — М. : Мир, 1979-. Т. 2. — 1979. — 328 с.
25	Костюк В. А. Биорадикалы и биоантиоксиданты / В.А. Костюк, А.И. Потапович. — Минск : БГУ, 2004. — 177 с.
26	Абрамова Ж. И. Человек и противокислительные вещества / Ж.И. Абрамова, Г.И. Оксенгендлер. — Л. : Наука, 1985. — 229 с.
27	Зенков Н. К. Окислительный стресс : Биохим. и патофизиол. аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. — М. : Наука/ Интерпериодика, 2001. — 342 с.
28	Бучаченко А. Л. Комплексы радикалов и молекулярного кислорода с органическими молекулами / А.Л. Бучаченко ; АН СССР. Ин-т химической физики; Отв. ред. И.П. Белецкая. — М. : Наука, 1984. — 158 с.
29	Кричевская А. А. Биохимические механизмы кислородной интоксикации / А.А. Кричевская, А.И. Лукаш, З.Г. Брновицкая ; Под ред. В.С. Шугалей. — Ростов н/Д : Изд-во Рост. ун-та, 1980. — 116 с.
30	Гусев М. В. Свободный кислород и эволюция клетки : Теоретическое исследование / М.В. Гусев, Г.Б. Гохлернер ; Под ред. В.П. Скулачева. — М. : Изд-во МГУ, 1980. — 223 с.
31	Эйдус Л. Х. Кислород в радиобиологии / Л.Х. Эйдус, Ю.Н. Корыстов. — М. : Энергоатомиздат, 1984. — 177 с.
32	Разумовский С. Д. Кислород — элементарные формы и свойства / С.Д. Разумовский. — М. : Химия, 1979. — 301 с.
33	Метелица Д. И. Активация кислорода ферментными системами / Д.И. Метелица ; АН СССР, Секция химико-технол. и биол. наук. — М. : Наука, 1982. — 255 с.
34	Фотоника биоминеральных и биомиметических структур и материалов / Ю.Н. Кульчин [и др.] .— М. : Физматлит, 2011. — 223 с.
35	Узденский А.Б. Биофизические аспекты фотодинамической терапии / А.Б. Узденский // Биофизика. — 2016. — Т. 61, № 3. — С. 547—557.
36	ГОСТ Р 8.749-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Светодиоды. Методы измерения фотометрических характеристик
37	ГОСТ Р 8.706-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Фотометры лазерных терапевтических аппаратов встроенные и автономные. Методика поверки
38	ГОСТ 4.452-86 Система показателей качества продукции. Приборы фотометрические. Номенклатура показателей
39	ГОСТ 24286-88 Фотометрия импульсная. Термины и определения
40	ГОСТ 26148-84 Фотометрия. Термины и определения
41	ГОСТ Р 8.705-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Фотометры лазерных медицинских высокоэнергетических аппаратов встроенные и автономные. Методика поверки

42	Приезжев А.В. <i>Лазерно-оптические методы в науках о жизни</i> / А.В. Приезжев, А.В. Быков, Р.А. Мюллера // Квантовая электроника. — 2010. — Т. 40, № 12. — С. 1051—1052.
43	Рощупкин Д.И. <i>Основы фотобиофизики: Учеб. пособ. для студ. биол. и мед.-биол. спец. вузов / ВГУ. Рос. гос. мед. ун-т.</i> — Воронеж, 1997. — 116 с.

в) информационные электронно-образовательные ресурсы (официальные ресурсы интернет):

№ п/п	Источник
1	http://www.lib.vsu.ru
2	http://elibrary.ru

16. Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы

№ п/п	Источник
1	Практикум по биофизике / В.Г. Артюхов [и др.]. — Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2016. — 313 с.

17. Информационные технологии, используемые для реализации учебной дисциплины, включая программное обеспечение и информационно-справочные системы (при необходимости)

При реализации дисциплины используются элементы электронного обучения и дистанционные образовательные технологии.

18. Материально-техническое обеспечение дисциплины:

394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д. 1, пом. I, Учебный корпус №1 ауд. 59.	Учебная аудитория: Ноутбук Asus X55A/X55A, проектор Sanyo, специализированная мебель, экран для проектора
394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д. 1, пом. I, Учебный корпус №1 ауд. 61	Учебная аудитория, лаборатория: Специализированная мебель, лабораторная посуда, рН-метр портативный HI83141, шейкер-инкубатор для планшета Elmi SHAKER ST 3, микроскопы Микмед, Спектрофотометр ПЭ-54-00 УФ.
394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д. 1, пом. I, Учебный корпус №1 ауд. 67.	Дисплейный класс: Компьютеры Celeron, Pentium, проектор Sanyo, экран для проектора, специализированная мебель
394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д. 1, пом. I, Учебный корпус №1 ауд. 68	Учебная аудитория, лаборатория: Специализированная мебель, лабораторная посуда, центрифуга MPW-340, центрифуга Eppendorf, биохемилюминометр БХЛ-07, блок оптико-механический спектрофотометра СФ-2000, суховоздушный термостат ТС-1/80 СПУ (Россия).
394018, г. Воронеж, площадь Университетская, д. 1, пом. I, Учебный корпус №1 ауд. 349	Учебная аудитория, лаборатория: Специализированная мебель, набор лабораторной посуды и штативов, вытяжной шкаф, микроскопы Биомед-2

19. Оценочные средства для проведения текущей и промежуточной аттестаций

Порядок оценки освоения обучающимися учебного материала определяется содержанием следующих разделов дисциплины:

№ п/п	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Компетенция(и)	Индикатор(ы) достижения компетенции	Оценочные средства
-------	--	----------------	-------------------------------------	--------------------

№ п/п	Наименование раздела дисциплины (модуля)	Компетенция(и)	Индикатор(ы) достижения компетенции	Оценочные средства
2.	Лазеры в биологии	ПК-2 ПК-3 ПК-7	ПК-2.1 ПК-3.2 ПК-7.1 ПК-7.2	Задания, отчеты по практическим работам
3.	Лазеры в медицинских исследованиях и клинической практике	ПК-2 ПК-3 ПК-7	ПК-2.1 ПК-3.2 ПК-7.1 ПК-7.2	Задания, отчеты по практическим работам
4.	Фотосенсибилизированная модификация биологических систем	ПК-2 ПК-3 ПК-7	ПК-2.1 ПК-3.2 ПК-7.1 ПК-7.2	Задания, отчеты по практическим работам
5.	Использование процессов фотосенсибилизированного окисления в медицине	ПК-2 ПК-3 ПК-7	ПК-2.1 ПК-3.2 ПК-7.1 ПК-7.2	Задания, отчеты по практическим работам
6.	Нанотехнологии в биофотонике. Нанофотоника	ПК-2 ПК-3 ПК-7	ПК-2.1 ПК-3.2 ПК-7.1 ПК-7.2	Задания, отчеты по практическим работам
Промежуточная аттестация форма контроля – экзамен				Перечень вопросов

20. Типовые оценочные средства и методические материалы, определяющие процедуры оценивания

20.1. Текущий контроль успеваемости

Контроль успеваемости по дисциплине осуществляется с помощью следующих оценочных средств:

Перечень практических заданий

Пример практической работы

Практическая работа

Исследование изменений уровня фрагментации ДНК клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях фотодинамического воздействия

Цель работы: оценка уровня фрагментации геномной ДНК клеток АКЭ после их темновой инкубации и облучения красным светом (665 нм) в присутствии красителя — метиленового голубого.

Этапы работы:

1. Изучение теоретических положений, лежащих в основе представлений о связи процессов фрагментации геномной ДНК с совокупностью внутриклеточных процессов, инициируемых облучением системы в присутствии сенсibilизатора.
2. Актуализация (повторение) информации о строении молекул ДНК и формах ее внутриядерной организации.
3. Знакомство с теоретическими основами метода горизонтального электрофореза в гелях агарозы. Приготовление агарозного геля.
4. Изучение устройства и правил работы с камерой для электрофореза и источником питания типа «BioRad», трансиллюминатором и системой гель-документации. Получение допуска к работе на оборудовании.
5. Знакомство с методикой выделения ДНК из клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ).
6. Облучение суспензии клеток АКЭ красным светом аппарата «УЛОКС» в присутствии метиленового голубого.
7. Выделение ДНК из клеток АКЭ.

8. Проведение электрофоретического разделения полученных образцов, документирование и анализ электрофореграмм.
9. Формулирование выводов, оформление и сдача работы, ответы на контрольные вопросы и выполнение заданий, приведенных в конце темы.

Экспериментальная часть

I. Облучение суспензии клеток красным светом в присутствии сенсбилизатора

Оборудование и материалы

1. Стерильный ламинарный бокс.
2. Суховоздушный термостат.
3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс. об./мин.
5. Набор автоматических пипеток переменного объема.
6. Полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся центрифужные микропробирки на 1,5—2,0 мл.
7. Штативы для микропробирок на 1,5—2,0 мл.
8. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема до 200 и до 1000 мкл.
9. Емкость для сбрасывания наконечников.
10. Емкость с дезинфицирующим раствором для отработанных жидкостей.
11. Линейка.
12. Устройство для локального облучения красным светом «УЛОКС».
13. Раствор Хенкса.
14. Среда RPMI для культивирования клеток.
15. Спирт, вата, пинцет, препаровальный столик.
16. Исходный раствор метиленового голубого (10^{-3} моль/л).

Ход работы

1. Суспензию клеток АКЭ, извлеченных из перитонеальной полости мыши, отмыть от асцитной жидкости и примесей клеток крови путем центрифугирования и последующего ресуспендирования в растворе Хенкса.
2. Довести концентрацию клеток в суспензии до значения 10^7 кл./мл.
3. Определить уровень жизнеспособности клеток с помощью красителя — трипанового синего (см. Приложение 1).
4. Разделить объем суспензии на: а) контрольный образец (суспензия клеток без модифицирующих агентов); б) образец для облучения красным светом без модификатора; в) образец для инкубирования в смеси с красителем без доступа света (темновая инкубация); г) образец для облучения в смеси с красителем. Для этого добавить в каждую из четырех пробирок по 0,9 мл клеточной суспензии. Затем в пробирки а—б добавить по 0,1 мл раствора Хенкса. Перемешать клеточную суспензию и оставить образец (а) в темновых условиях, а образец (б) облучить в течение 15 мин светом аппарата «УЛОКС», расположив источник излучения на расстоянии 1,5 см от дна кюветы с образцом. Добавить в пробирки в—г по 0,1 мл раствора МГ (в концентрации, в 10 раз превышающей необходимое значение конечной концентрации, заданной преподавателем). Перемешать клеточную суспензию и оставить образец (в) в темновых условиях, а образец (г) облучить в течение 15 мин с помощью аппарата «УЛОКС».
5. После фотомодификации и темновой инкубации подсчитать концентрацию клеток и уровень их жизнеспособности в каждом из четырех образцов. Данные представить в виде таблицы и рассчитать изменения концентрации и уровня жизнеспособности клеток по отношению к показателям контрольного образца (а).

Пример оформления таблицы с результатами экспериментов

Таблица

Значения концентрации клеток в суспензии (С) и уровня их жизнеспособности (А) в условиях облучения красным светом в присутствии красителя — метиленового голубого

Наименование образца	С, кл./мл				С, %	А, %				ΔА, %
	Номер измерения			С _{ср.} *		Номер измерения			А _{ср.} *	
	1	2	3			1	2	3		
Контроль										
Облучение красным светом										
Темновая инкубация с МГ										
Облучение в присутствии МГ										

Примечание: * — среднее арифметическое трех измерений соответствующего показателя; С, % — значение показателя в % относительно контрольной величины (С_{ср.}), принятой за 100 %; ΔА — разность между значениями А_{ср.} контрольного и соответствующего экспериментального образцов

II. Выделение ДНК из клеток асцитой карциномы Эрлиха

Выделение тотальной ДНК с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» (АмплиСенс). Комплект реагентов представлен: лизирующим раствором (содержит в том числе гуанидинизотиоцианат, тритон X-100); раствором для отмывки 1 (включает гуанидинизотиоцианат, тритон X-100); раствором для отмывки 2 (в состав входят изопропанол, азид натрия); сорбентом универсальным (на основе силикагеля).

Оборудование и материалы

1. Стерильный ламинарный бокс.
2. Жидкостный или твердотельный термостат от 25 до 100 °С.
3. Сухоподушный термостат.
4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс. об./мин.
5. Вортекс.
6. Набор автоматических пипеток переменного объема.
7. Полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся центрифужные микропробирки на 1,5—2,0 мл.
8. Штативы для микропробирок на 1,5—2,0 мл.
9. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема, желательно с аэрозольным барьером (фильтром), до 200 и до 1000 мкл.
10. Емкость для сбрасывания наконечников.
11. Емкость с дезинфицирующим раствором для отработанных жидкостей.

Процедура выделения

1. Осадить клетки 4 образцов (а—г) путем центрифугирования. Аккуратно отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок клеток. Отбросить супернатант (супернатант также может содержать ДНК, вышедшую из клеток, в случае необходимости — оставить надосадочную жидкость для дальнейшей работы). Добавить к каждому осадку такой объем раствора Хенкса, чтобы концентрация клеток в нем была равна 10⁷ кл./мл.

2. Инкубировать лизирующий раствор и раствор для отмывки 1 (если они хранились при температуре 2—8 °С) при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

3. Промаркировать 4 пробирки (образцы а—г) и внести в них по 100 мкл клеточной суспензии из соответствующих образцов (а—г). В каждую пробирку внести 300 мкл лизирующего раствора. Перемешать образцы с помощью вортекса и затем инкубировать при 65 °С в течение 5 мин. На данном этапе происходит лизис цитоплазматической и внутриклеточных мембран и солиubilизация их компонентов. Пробы при этом должны полностью «раствориться». Отцентрифугировать образцы 5 с при 5 тыс об./мин. Если образцы все же содержат включения, необходимо отцентрифугировать их в течение 5 мин (12000 об./мин) и использовать для дальнейшей работы супернатант.

4. С помощью вортекса тщательно ресуспендировать сорбент универсальный и добавить по 25 мкл сорбента с использованием отдельных наконечников в каждую пробирку. Перемешать на вортексе, оставить в штативе на 2 мин, еще раз перемешать, затем оставить в штативе на 5 мин. При этом происходит сорбция ДНК (и ряда сопутствующих компонентов) на поверхности силикагеля.

5. Осадить сорбент универсальный в пробирках центрифугированием при 5 тыс об./мин в течение 30 с. Аккуратно удалить надосадочную жидкость, не затрагивая осадок.

6. Внести в образцы по 300 мкл раствора для отмывки 1, перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента. Осадить сорбент центрифугированием при 5 тыс об./мин в течение 30 с. Супернатант отбросить.

7. Добавить к осадку по 500 мкл раствора для отмывки 2, перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента, отцентрифугировать образцы в течение 30 с при 10 тыс об./мин. Удалить супернатант.

8. Повторить процедуру отмывки из п. 8. Полностью удалить надосадочную жидкость. После данного этапа на поверхности сорбента остается сорбированная ДНК, очищенная от примесей посторонних веществ.

9. Поместить пробирки в суховоздушный термостат при температуре 65 °С на 5—10 мин (заранее установить нужное значение температуры). В процессе высушивания сорбента крышки пробирок должны быть открыты. Необходимо добиться полного испарения влаги с поверхности сорбента, но, в то же время, исключить пересушивание образцов, так как в последнем случае могут возникнуть проблемы с элюцией ДНК.

10. В каждую пробирку добавить по 50 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК. Перемешать на вортексе. Поместить в термостат при температуре 65 °С на 5 мин, периодически встряхивая на вортексе.

11. Отцентрифугировать пробирки при 12 тыс об./мин в течение 1 мин. Отобрать надосадочную жидкость, содержащую ДНК.

12. В случае необходимости добавить раствор РНКазы к образцам для удаления примесей РНК.

III. Электрофоретический анализ полученных образцов

Приготовление геля агарозы

1. Приготовить навеску агарозы для получения геля концентрацией 1 % в объеме 45 мл. В качестве растворителя использовать ТАЭ-буфер (0,5-кратный, рН 8,0; см. Приложение). Перенести навеску в коническую колбу и при помешивании стеклянной палочкой добавить 45 мл буфера. Нагреть смесь до кипения при постоянном перемешивании. После полного растворения агарозы оставить колбу в водяной бане при температуре 50 °С для охлаждения. Внимание! Запрещается вливать неохлажденную жидкость в форму для заливки во избежание повреждения пластика. После установления необходимой температуры добавить к расплавленной агарозе краситель GelRed в объеме, обеспечивающем разведение исходного препарата в 10000 раз. Тщательно перемешать.

2. Установить строго горизонтально на поверхности рабочего стола заливочный столик, используя для контроля указатель уровня расположения.

3. Поместить на столик форму для заливки, укрепить ее. Поместить в пазы формы гребенку. Заполнить форму расплавом агарозы, при этом не следует допускать образования воздушных пузырьков. Оставить гель до застывания в темном месте.

4. После полного застывания геля аккуратно вынуть гребенку, заполнить образовавшиеся лунки соответствующими образцами, предварительно смешав их с буфером для загрузки. В последнюю лунку добавить бромфеноловый синий для наблюдения за процессом передвижения.

Проведение электрофореза

1. Смешать образцы с загрузочным буфером в отдельных пробирках.
2. Внести в лунки геля пробы в следующем порядке: 1 — ДНК-маркер (5 мкл); 2, 3 — контроль; 4, 5 — облучение; 6, 7 — темновая инкубация с МГ; 8, 9 — облучение с МГ; 8 — лидирующий краситель (бромфеноловый синий)

3. Поместить гель в камеру для электрофореза. Внимание! Лунки геля должны быть расположены на стороне катода (отрицательно заряженный полюс). В лунки наложить электродный буфер до границ геля, заполнить резервуары для электродного буфера соответствующим раствором, поверхность геля должна быть покрыта буфером на высоту примерно 1 мм. Уровень жидкости в резервуарах не должен подниматься выше критической отметки, нанесенной на поверхность камеры. Закрывать камеру крышкой, присоединить клеммы электродов к источнику питания, соблюдая полярность.

4. Задать необходимые значения параметров источника питания. Нажать кнопку «Пуск». Дождаться, когда лидирующий краситель пройдет примерно 6/10 расстояния от старта, выключить прибор. В случае внесения флуоресцентного красителя GelRed непосредственно в гель, вынуть его, поместить на поверхность фильтра трансиллюминатора, закрыть гель кожухом системы гель-документации и с помощью камеры сделать ряд снимков геля. Если используется постокрашивание, перейти к выполнению п. 7.

7. Получить 50 мл раствора GelRed в H₂O с его конечным разведение относительно исходного раствора коммерческого препарата в 3300 раз (то есть получить 3-кратный раствор красителя объемом 50 мл). Поместить гель в контейнер для окрашивания, добавить окрашивающий раствор в объеме, обеспечивающем полное погружение геля. Оставить для окрашивания на 30 мин в темноте.

8. Проанализировать полученные результаты. Отметить: число полос на дорожке. Рассчитать процентное содержание ДНК в каждой фракции, отметить характер полос на электрофореграмме (симметричность/асимметричность), дискретность, размытость зон и др. Определить значения длин фрагментов исходя из сравнения их положения с позициями компонентов маркера молекулярных масс.

9. Оформить работу в тетради.

Контрольные вопросы к практической работе

1. Чем определяется выбор процента агарозы для разделения фрагментов ДНК определенного размера? Какими свойствами агарозного геля ограничивается нижний и верхний пределы используемых концентраций агарозы?

2. Связи какого типа формируют мицеллярную структуру агарозного геля?

3. Каким образом (способом) молекулы нуклеиновых кислот и их фрагменты перемещаются в матрице геля агарозы под действием электрического поля?

4. При какой температуре происходит плавление агарозы и формирование твердого геля? Почему они не совпадают? Что такое «гистерезис»? С какой целью в экспериментах применяется легкоплавкая агароза? Каковы ее температура плавления и застывания?

5. Каким образом на качество разделения фрагментов нуклеиновых кислот влияют параметры проведения эксперимента: сила тока в цепи и напряжение?

6. Буферные системы каких типов используются для проведения электрофореза нуклеиновых кислот и почему? Чем определяется выбор ионов в этих растворах? Каковы должны быть значения ионной силы таких растворов и значения их pH?

7. Каким образом на качество разделения образцов нуклеиновых кислот влияет время проведения электрофореза?

8. Оказывают ли влияние на ход электрофоретического разделения изменения температуры геля и буферного раствора?

9. Какое влияние на характер миграции образцов нуклеиновых кислот оказывает внесенный в гель, буфер или в образец ДНК флуоресцентный краситель?
10. Каким образом можно оценить размер фрагментов ДНК после их разделения методом электрофореза в геле агарозы?
11. Какими основными характеристиками должны обладать флуоресцентные красители, используемые для детекции ДНК в гелях?
12. Приведите примеры красителей, специфичных в отношении дцДНК, оцДНК, РНК.
13. Какова конструкция трансиллюминатора, используемого в работе? С какой целью лампы трансиллюминатора закрыты фильтром? Для чего используются дополнительные фильтры при фотографировании изображения?

Пример задания

В процессе исследования уровня фрагментации ДНК клеток солидной опухоли, взятых из различных ее зон после терапевтической обработки, получены следующие электрофореграммы (гель агарозы (1 %), трис-боратный буфер). Сопоставьте номер дорожки и вариант интерпретации данных из списка, приведенного ниже. Соответствующих вариантов может быть: несколько; ни одного; один. В случае отсутствия в списке подходящего варианта интерпретации данных необходимо сформулировать собственный.

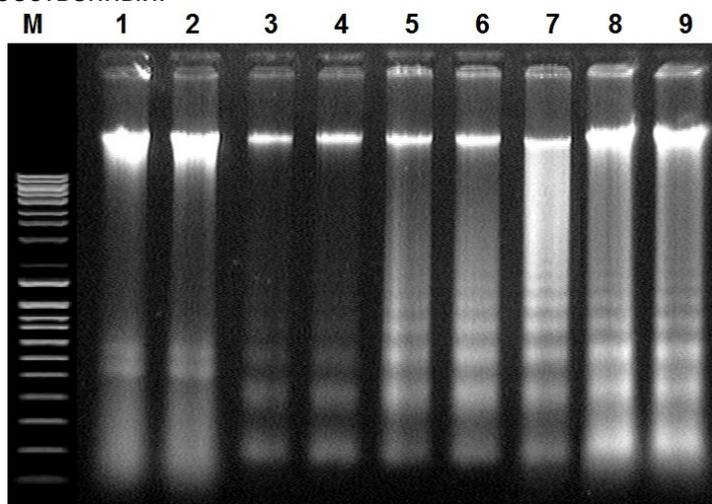


Рис. 1 Электрофореграммы: М — маркер молекулярных масс (значения длин фрагментов см. на рис. 2); номера дорожек 1, 2 — ___; 3, 4 — ___; 5, 6 — ___; 7 — ___; 8, 9 — ___

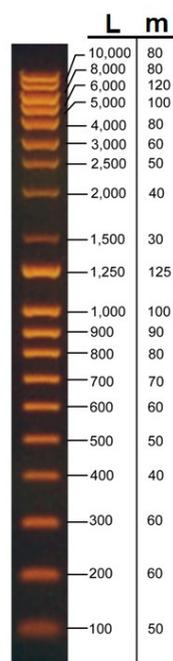


Рис. 2. Набор стандартов молекулярных масс ДНК Q-Step4: L — длина фрагмента ДНК (в парах нуклеотидов); m — масса ДНК в данной фракции (нг)

1. На электрофореграмме наблюдается пять визуально различимых фракций.
2. На дорожке наблюдается «ДНК-лестница», а также шмер — протяженная полоса ДНК (с хаотическим разрывами по длине цепи), что может свидетельствовать о наличии в части клеток помимо апоптотических также и некротических процессов, или говорит о недостаточной разрешающей способности метода, не позволяющей выявить дискретный характер полос с длиной фрагментов более 1500 п. н.
3. На электрофореграмме имеется полоса высокомолекулярной ДНК и «ДНК-лестница» — фрагменты с длиной, кратной 200 п. н., следовательно, как минимум у части клеток в образце происходит межнуклеосомная фрагментация ДНК, что в ряде случаев может указывать на наличие в них апоптотических процессов.
4. В образце имеется фракция ДНК с размерами более 10000 п. н.
5. В образце имеется фракция ДНК с размерами менее 200 п. н.
6. Образец содержит примесь деградированной высоко- и низкомолекулярной РНК.
7. В описании задания не указан метод визуализации полученных фракций, поэтому интерпретация данных затруднительна.
8. Образец содержит слишком большое количество ДНК («перегрузка дорожки»), а также полосы, соответствующие большой и малой субъединицам РНК и низкомолекулярной РНК, следовательно, требуется добавить РНКазу при выделении и снизить количество ДНК, вносимой в лунку. Межнуклеосомная фрагментация в данных условиях эксперимента не выявляется.
9. В описании задания не указан флуоресцирующий краситель, используемый для визуализации полученных фракций, поэтому интерпретация данных затруднительна.
10. На электрофореграмме наблюдаются четыре фракции разделяемых компонентов.
11. В образце имеется фракция с размером фрагмента 2000 п. н.

Шаблон отчета о выполнении практической работы

Отчет о выполнении практической работы № _ <Название темы>, выполненной в рамках дисциплины Б1.В.05 Биофотоника и фотодинамические эффекты обучающимся 1 курса <Ф.И.О.>, направление — 06.04.01 Биология, профиль Биофизика

Цель работы:

Этапы работы:**Оборудование и материалы:**

Ход работы: (краткое описание хода работы с указанием первичных данных, расчетных формул, результатов промежуточных и конечных расчетов; иллюстративный материал (графики, фотографии и пр.), обобщающие таблицы)

Выводы:**Описание технологии проведения**

Работа считается выполненной и зачтенной, если студент в конце занятия представил отчет в соответствии с данными методическими рекомендациями.

Требования к выполнению заданий (или шкалы и критерии оценивания)

Критериями оценивания выполнения лабораторной работы являются:

- подготовка к занятию (оформление занятия в рабочей тетради в соответствии с методическими рекомендациями);
- ответы на устные вопросы по теме занятия и содержанию лабораторной работы;
- активность и самостоятельность при выполнении заданий;
- оформление результатов в соответствии с методическими рекомендациями;
- умение анализировать, обсуждать полученные результаты и самостоятельно формулировать выводы.

20.2. Промежуточная аттестация

Промежуточная аттестация по дисциплине осуществляется с помощью следующих оценочных средств:

Вопросы к экзамену

1. Фотоника и биофотоника. Определение понятий, история становления. Применение в области биологии и медицины.
2. Диаграмма энергетических уровней молекулы (схема Яблонского). Основные пути дезактивации возбужденных состояний атома и молекулы.
3. Лазеры: классификация, принцип действия.
4. Световоды (оптические волокна) и их применение в области биофотоники.
5. Основные характеристики лазерного излучения, спектральный диапазон излучения.
6. Понятие о низко- и высокоинтенсивном лазерном излучении. Двухквантовое поглощение. Эффекты нагрева облучаемого объекта.
7. Использование низкоинтенсивного лазерного излучения для исследовательских и диагностических целей. Терапевтическое действие лазерного излучения (явление фотобиомодификации).
8. Термические эффекты высокоинтенсивного лазерного излучения. Лазерный скальпель. Абляция тканей.
9. Методы визуализации биообъектов (биоимиджинг). Моно- и двухфотонная флуоресцентная микроскопия, конфокальная микроскопия.
10. Флуоресцентная микроскопия сверхвысокого разрешения. STED-микроскопия (микроскопия на основе подавления спонтанного испускания).
11. Ферстеровский резонансный перенос энергии (FRET) и его применение в области биоимиджинга.
12. Одномолекулярная флуоресцентная микроскопия.
13. Давление света. Оптический пинцет и его применение в научных исследованиях.
14. Квантовые точки. Применение в биологии и медицине.
15. Флуоресцентные белки и их применение в биологии и медицине.

16. Оптогенетика для исследования работы нервных клеток.
17. Аптамеры и флуоресцентная детекция. Флуоресцентные метки в аптасенсорах.
18. Апконвертирующие нанофосфоры (наноразмерные антистоксовы фосфоры, НАФ) для тераностики и возбуждения фотосенсибилизаторов.
19. Терапевтические аспекты биофотоники. Фотодинамическая терапия: общие представления.
20. Понятие фотосенсибилизации. Фотосенсибилизаторы: основные классы, фотофизические и фотохимические свойства.
21. Фотосенсибилизаторы I, II и III поколений для фотодинамической терапии. Направленная доставка сенсибилизатора. Генетически кодируемые фотосенсибилизаторы.
22. Аппаратура для проведения ФДТ. Основные технические характеристики. Процедура ФДТ.
23. Физико-химические механизмы, лежащие в основе реакций, приводящих к деструкции опухолевой ткани: первичные фотофизические и фотохимические процессы, реакции типа I и II.
24. Синглетный кислород как один из интермедиатов процессов фотосенсибилизированного окисления биомолекул. Физико-химические свойства, способы генерации и методы обнаружения.
25. Продукты взаимодействия синглетного кислорода с белками, нуклеиновыми кислотами, липидами, полисахаридами.
26. Активные формы кислорода (супероксидный анион-радикал и его протонированная форма, радикал гидроксила, пероксид водорода) как интермедиаты процессов фотосенсибилизированного окисления биосистем.
27. Процессы, приводящие к деструкции опухоли в результате проведения ФДТ: непосредственное повреждение опухолевых клеток.
28. Процессы, приводящие к деструкции опухоли в результате проведения ФДТ: модуляция компонентов иммунной системы.
29. Процессы, приводящие к деструкции опухоли в результате проведения ФДТ: повреждение компонентов сосудистого русла опухоли.

Описание технологии проведения

Промежуточная аттестация проводится в форме устного экзамена. Контрольно-измерительные материалы промежуточной аттестации включают в себя теоретические вопросы, позволяющие оценить уровень полученных знаний. На подготовку ответа отводится 30 мин.

Требования к выполнению заданий, шкалы и критерии оценивания

Для оценивания результатов обучения на экзамене используются следующие показатели:

- 1) знание учебного материала и владение понятийным аппаратом дисциплины;
- 2) умение связывать теорию с практикой;
- 3) умение иллюстрировать ответ примерами, фактами, данными научных исследований;
- 4) знание: базовых закономерностей, описывающих взаимодействие света с веществом, основных фотометрических величин; направлений использования лазеров в научных исследованиях и клинической практике; ключевых механизмов, лежащих в основе процессов фотосенсибилизированной модификации биосистем; теоретических основ метода фотодинамической терапии онкозаболеваний; сферы применения нанотехнологий в биофотонике;
- 5) умение интерпретировать полученные экспериментальные данные по воздействию оптических излучений на биообъекты в контексте текущей научной парадигмы в области биофотоники.

Критерии оценивания компетенций	Шкала оценок
---------------------------------	--------------

<p>Обучающийся в полной мере владеет понятийным аппаратом данной области науки (теоретическими основами дисциплины), способен иллюстрировать ответ примерами, фактами, данными научных исследований, применять теоретические знания для решения практических задач в области биофотоники, демонстрирует знания, умения и навыки из п. 19.1 в объеме вопросов КИМ</p>	<p><i>Отлично</i></p>
<p>Обучающийся владеет понятийным аппаратом данной области науки (теоретическими основами дисциплины), способен иллюстрировать ответ примерами, фактами, данными научных исследований, но допускает незначительные ошибки, неточности, испытывает затруднения при решении практических задач, тем не менее может откорректировать ответ после наводящих вопросов преподавателя</p>	<p><i>Хорошо</i></p>
<p>Обучающийся демонстрирует неполное соответствие знаний, умений, навыков приведенным в п. 19.1 показателям, допускает значительные ошибки при решении практических задач, но отвечает на дополнительные вопросы преподавателя</p>	<p><i>Удовлетворительно</i></p>
<p>Обучающийся демонстрирует отрывочные, фрагментарные знания, допускает грубые ошибки при ответе на вопросы, демонстрирует явное несоответствие знаний, умений, навыков приведенным в п. 9.1 показателям, не отвечает на дополнительные вопросы преподавателя</p>	<p><i>Неудовлетворительно</i></p>