

# Мікроскопія та інструментальні методи в біології

## 1. Світло.

Поглинання світла. Колір. Спектрофотометри. Абсорбційні методи. Дипольний момент молекул і довжина хвилі поглинання. (Швадчак В.).

## 2. Флуоресценція.

Принципи флуоресценції. Діаграма Яблонського. Квантовий вихід флуоресценції. Флуорофори. Триптофан та інші природні флуорофори. GFP. Яскравість флуорофорів. Сольватохромізм. (Швадчак В.).

## 3. Спеціальні методи флуоресценції.

Мічення білків. Мітки для цистеїнів та лізінів. Інтеркалюючі барвники. FRET та його застосування для вивчення взаємодій білків. Поляризоване світло. Анізотропія флуоресценції. (Швадчак В.).

## 4. Круговий дихроїзм та інфрачервона спектроскопія.

CD-спектроскопія для визначення структури протеїнів. ІЧ-спектроскопія. (Швадчак В.).

## 5. Методи визначення розмірів молекул.

Електрофорез білків та олігонуклеотидів. DLS. FCS. FCCS. (Швадчак В.).

**6. Хроматографія.** Принципи HPLC (ВЕРХ), препаративна та аналітична хроматографія. Типи колонок. Іонообмінна хроматографія. Хроматографія витіснення.

**7. Мас-спектрометрія.** Мас-спектрометрія. LC-MS. ESI, MALDI та інші іонізаційні методи. Типи мас-детекторів. Фрагментація. LC-MS в протеоміці. (Швадчак В.).

**8. Оптична мікроскопія.** Трансмісійна мікроскопія, фазовий контраст. Флуоресцентна мікроскопія. Принципові схеми мікроскопів. Лазери. Фільтри. Дихроїчні дзеркала. Канали. Цифрові зображення. Роздільна здатність, мікрони та пікселі. Конфокальна мікроскопія. Z-зрізи. (Ковальчук Ю.).

**9. Прикладна флуоресцентна мікроскопія.** Мембранні трекери, фарбування ядер. ImageJ/Fiji. Колокалізація. TIRF. (Ковальчук Ю.).

**10. Сучасна флуоресцентна мікроскопія.** FRET і виявлення взаємодій в мікроскопії. Час життя флуоресценції та FLIM. Дифракційна межа. Подолання ліміту роздільної здатності, STORM. PALM. Застосування для зображення актинових фібрил (Швадчак В.).

**11. Флуорофори для мікроскопії.** Флуоресцентні білки. Низькомолекулярні барвники. Перехресні сигнали на каналах (channel crosstalk) та підбір флуорофорів. Мембранні трекери, фарбування ядер. Фотодеградація під час вимірювань. FRAP. Інтенсивність світла і пошкодження клітин. Контрольоване фототривання (caged molecules). Фотоперемикачі. (Швадчак В.).

**12. Як сконструювати чи модифікувати мікроскоп?** (Хороший П.)

**13. Python для обробки зображень (1)** (Хороший П.)

**14. Python для обробки зображень (2)** (Хороший П.)

**15. Електронна мікроскопія.** Принципи. Роздільна здатність. Типи. Приготування зразків (Бондаренко Н)

**16. CryoEM у вивченні структури білків** (Бондаренко Н.)

**17. Атомна силова мікроскопія (AFM).** Принципи та схема мікроскопів. Роздільна здатність по осях XY і Z. Приготування зразків. Швидкість сканування та пошкодження зразків. Застосування для вивчення структури протеїнів. (Швадчак В.).

**18. ЯМР і ЕПР.** Спін.  $^{13}\text{C}$  і  $^{15}\text{N}$  мічення білків. ЯМР для аналізу структури білків. Твердотільний ЯМР. ЕПР та вільні радикали. (Швадчак В.).

**19. Рентгенівські техніки.** Кристалізація протеїнів. Рентгеноструктурний аналіз. SAXS. (Швадчак В.).

## Семінари

1. Поглинання світла та концентрація
2. Визначення  $K_d$ . Програма Origin для нелінійної регресії (фітінгу) даних.  
Обробка реальних даних експерименту: Протеїн-мембранна взаємодія що вивчалась по зміні флуоресценції триптофану.
3. Анізотропія флуоресценції, FRET, stopped flow.
4. CD, FCS, DLS, електрофорез.
5. Іонообмінна хроматографія: підбір градієнту. HPLC.
6. LC-MS (комбінація хроматографії та мас-спектроскопії)
7. ImageJ та обробка мікроскопічних зображень
8. Флуорофори, мітки, трекери для мікроскопії.
9. Python ([Хороший П.](#))
10. Електронна мікроскопія ([Бондаренко Н.](#))
11. Як вибрати метод що розв'язує експериментальну проблему?