



МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗБУДЛИВИХ МЕМБРАН

Робоча програма навчальної дисципліни (Силабус)

- Реквізити навчальної дисципліни

Рівень вищої освіти	<i>Другий (магістерський)</i>
Галузь знань	10 Природничі науки
Спеціальність	105 Прикладна фізика та наноматеріали
Освітня програма	Прикладна фізика
Статус дисципліни	Вибіркова (цикл професійної підготовки)
Форма навчання	очна(денна)
Рік підготовки, семестр	1 курс, осінній
Обсяг дисципліни	Загальна кількість: 120 год.(4кр) Лекційних занять: 36 год. Практичні: 18 год. Самостійна робота студентів: 66 год.
Семестровий контроль/ контрольні заходи	екзамен, поточний контроль, модульна контрольна робота
Розклад занять	http://ipt.kpi.ua/navchalnij-protses
Мова викладання	Українська
Інформація про керівника курсу / викладачів	Лектор: Лектор: д.б.н. , професор, член кор. НАНУ , Шуба Ярослав Михайлович, завідувач відділом Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України yshuba@biph.kiev.ua , YShuba@nas.gov.ua Практичні: Д.б.н., професор, Шуба Ярослав Михайлович, YShuba@nas.gov.ua
Розміщення курсу	Посилання на дистанційний ресурс (Moodle, Google classroom, тощо)

- Програма навчальної дисципліни

1. Опис навчальної дисципліни, її мета, предмет вивчення та результати навчання

Курс «Методи дослідження збудливих мембран» є ключовим для опанування студентами сучасними методологічними підходами і фізичними приладами, що широко застосовуються в експериментальній біофізиці для дослідження транспортної та сигнальної функції клітинних мембран. Він ставить за мету розвиток у студентів навичок постановки електрофізіологічного експерименту, реєстрації біоелектричних явищ, обробки та інтерпретації одержаних результатів. Передбачається вивчення механізмів біоелектрогенезу, принципів збору та аналізу електрофізіологічної інформації на макро та мікрорівнях, підходів до клонування, функціональної експресії та структурно-функціональному аналізу мембранних іонних каналів та рецепторів, а також основ флуорисцентної та конфокальної мікроскопії.

Метою курсу «Методи дослідження збудливих мембран» є ознайомлення студентів з теоретичними та експериментальними підходами, які лежать в основі дослідження біоелектричної функції клітинних мембран. Вивчення курсу є необхідним етапом для закладання бази подальшої спеціалізації.

Завданням курсу є розуміння студентами теоретичних засад та опанування ними ключовими методичними підходами, які застосовуються для дослідження іон-транспортної та сигнальної функції клітинних мембран.

Інтегровані вимоги до знань та вмінь по учбовому курсу полягають в тому, що в результаті його вивчення студент повинен:

Знати:

- механізми виникнення біоелектрики та властивості біомембран;
- вимоги та принципи побудови електрофізіологічної апаратури та установки;
- фізичну хімію поведінки металів та скла в електролітах;
- принципи виготовлення та роботи електродів та мікроелектродів;
- загальні методичні підходи для електрофізіологічного дослідження клітин;
- існуючі експериментальні методики електрофізіологічного дослідження різних типів клітин та багатоклітинних препаратів;
- принципи збору, аналізу та обробки електрофізіологічної інформації на макро та мікрорівнях;
- підходи до клонування, функціональної експресії та структурно-функціональному аналізу мембранних каналів та рецепторів;
- властивості експресійних систем для функціонального аналізу клонованих каналів та рецепторів;
- використання флуорисцентних зондів для візуалізації та кількісної характеристики внутрішньоклітинних структур, біологічно активних речовин та процесів;
- основи флуорисцентної та конфокальної мікроскопії;

Вміти:

орієнтуватися та використовувати сучасний арсенал методичних підходів для дослідження клітинних мембран.

Набуті знання та практичні навички сформують у студентів наступні компетентності:

-
- ФК 9 Здатність використовувати знання про фізичну природу об'єктів у роботах по створенню нових приладів, апаратури, систем, обладнання, речовин і матеріалів (наноматеріалів)
- ФК 10 Здатність до аналізу фізичних принципів імплементації інформаційних процесів в фізичних системах, в тому числі в енергетиці та біофізиці
- ФК 11 Здатність до вибору методів дослідження структури, складу та властивостей матеріалів (наноматеріалів), що використовуються або застосовуються в фізичних, біофізичних та енергетичних системах, вибору оптимальних параметрів дослідження і розуміння границь застосування обраного методу
- ФК 12 Здатність готувати об'єкти для дослідження властивостей, явищ і процесів у фізичній, біофізичній системах, в області фізики живих систем.

2. Пререквізити та постреквізити дисципліни (місце в структурно-логічній схемі навчання за відповідною освітньою програмою)

Вивчення дисципліни «Методи дослідження збудливих мембран» базується на засадах інтеграції теоретичних та практичних знань, отриманих студентами з попередньо засвоєних дисциплін як загальної, так і професійної підготовки, зокрема з фізики, математики, хімії та біології (бакалавріат) та з паралельним вивченням дисципліни «Основи анатомії і фізіології людини».

Отримані практичні навички та засвоєні теоретичні знання під час вивчення навчальної дисципліни «Методи дослідження збудливих мембран» можна використовувати в подальшому під час вивчення всіх навчальних дисциплін, особливо у дисциплінах, пов'язаних з біологічними системами, а саме: «біофізика мембранних структур», «біохімія клітинних процесів», «молекулярна фізіологія», «біофізика синаптичної передачі» та написання магістерської дисертації за відповідно вибраною траєкторією.

3. Зміст навчальної дисципліни :

Тема 1. Теоретичні основи біоелектрогенезу

- 1.1. Із історії біоелектрики.
- 1.2. Мембранна теорія.

Тема 2. Методи електрофізіології

- 2.1. Металічні електроди.

- 2.2. Внутрішньоклітинні вимірювання електричних потенціалів.
- 2.3. Методи вимірювання біоелектричних сигналів.
- 2.4. Операційні підсилювачі (ОП) та їх параметри.
- 2.5. Метод фіксації струму.
- 2.6. Метод фіксації потенціалу.
- 2.7. Обробка даних, одержуваних методом фіксації потенціалу.
- 2.8. Фіксація потенціалу на багатоклітинних препаратах.
- 2.9. Фіксація мембранного потенціалу на ізольованих клітинах.
- 2.10. Метод внутрішньоклітинної перфузії.
- 2.11. Метод "patch clamp".
- 2.12. Особливості електронної схеми методу "patch clamp".
- 2.13. Реєстрація активності поодиноких каналів.
- 2.14. Комп'ютерна обробка даних по активності поодиноких каналів.

Тема 3. Методи дослідження рекомбінантних каналів та рецепторів

- 3.1. Молекулярно білогічні підходи до дослідження іонних каналів та рецепторів.
- 3.2. Попередній аналіз клонованих каналів та рецепторів.
- 3.3. Структурно-функціональний аналіз клонованих каналів та рецепторів.
- 3.5. Методи введення генетичного матеріалу в експресійні системи.
- 3.6. Електрофізіологічні методи дослідження експресованих каналів та рецепторів.

Тема 4. Методи флуорисцентної мікроскопії

- 4.1. Оптичні вимірювання внутрішньоклітинної концентрації кальцію.
- 4.2. Інші флуорисцентні індикатори.
- 4.3. Флуорисцентний мікроскоп.
- 4.4. Принципи конфокальної мікроскопії.
- 4.5. Методи надшвидкого прикладання розчинів з використанням "caged" біологічно активних речовин.
- 4.6. Вимірювання екзоцитоза та секреції.
- 4.7. Дослідження транспортних процесів в модельних мембранах.

4. Навчальні матеріали та ресурси

Базова :

1. Шуба ЯМ. "Основи молекулярної фізіології іонних каналів", Київ, Наукова думка, 2010.
2. Костюк ПГ, Зима ВЛ, Магура ІС, Мірошніченко МС, Шуба МФ. "Біофізика", Київ, Обереги, 2001.
3. Verkhatsky A, Pappas V. "History of electrophysiology and the patch clamp", Methods Mol Biol. 1183:1-19, 2014.
4. Качалов ЮП, Гнетов АВ, Ноздрачев АД. "Металлический микроэлектрод", Л., Наука, 1980.
5. Костюк ПГ, Крышталь ОА. "Механизмы электрической возбудимости нервной клетки", М., Наука, 1981.
6. Гнетов АВ, Качалов ЮП, Ноздрачев АД. "Стеклянный микроэлектрод", Л., Наука, 1986.
7. Сакман Б, Неер Э. "Регистрация одиночных каналов", Москва, Мир, 1987.

Додаткова:

1. Verkhatsky A, Krishtal OA, Petersen OH. "From Galvani to patch-clamp: the development of electrophysiology", Pflugers Arch. 453:233-247, 2006. [у вільному доступі]
2. Purves RD. "Microelectrode methods for intracellular recording and iontophoresis", Lond., N.-Y. etc., Academic Press, 1981.
3. Достал И. "Операционные усилители", Москва, Мир, 1982.

4. Збірник методичних статей "Ion channels" в книжковій серії "Methods in Enzymology", v. 207, Academic Press, 1992.
 5. Hille B. "Ion channels of excitable membranes", 3rd Edition, Sunderland MA, Sinauer Associates Inc., 2001.
 6. Ogden DC, editor. "Microelectrode techniques, the Plymouth workshop handbook". 2nd Edition, Cambridge, UK, Company of Biologists, 1994.
 7. Standen NB, Davies NW, Langton PD. "Separation and analysis of macroscopic currents", 1994. http://www.utdallas.edu/~tres/microelectrode/microelectrodes_ch03.pdf
 8. Kostyuk PG, Krishtal OA. "Intracellular perfusion of excitable cells", New York. John Wiley & Sons, Ltd., 1984.
 9. Mert T. "Sucrose-gap technique: advantages and limitations" Neurofiziologiya/Neurophysiology, 39(3);270-274, 2007.
 10. Hamill OP, Marty A, Neher B, Sakmann B, Sigworth FJ. "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches", Pflugers Arch. 391:85-100, 1981.
 11. DeFelice LJ. "Electrical properties of cells. Patch-clamp for biologists", New York and London. Plenum Press, 1997.
 12. Molleman A. "Patch clamping. An introductory guide to patch-clamp electrophysiology", John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, 2003.
 13. "The Axon CNS guide to electrophysiology & biophysics laboratory techniques", http://student.ulb.ac.be/~dgall/Axon_Guide.pdf [у вільному доступі]
 14. Б. Хеймс, С. Хиггинс "Транскрипция и трансляция", М., Мир, 1987.
- Оригінальні журнальні статті та огляди.

Інтернет ресурси

Для знайомства з сучасним станом біофізики мембран та електрофізіології, поглибленого розгляду окремих питань рекомендується ресурс PubMed <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> - база даних, що включає резюме та повні тексти наукових робіт за медико-біологічною тематикою.

- Навчальний контент

5. Методика опанування навчальної дисципліни (освітнього компонента)

В рамках дисципліни заплановано наступні види навчальних занять:

- лекції;
- практичні заняття;
- самостійна робота.

Теми дисципліни взаємозв'язані, матеріал вивчається в логічній послідовності. На практичних заняттях розкриваються найбільш суттєві теоретичні питання, які дозволяють забезпечити студентам можливість глибокого самостійного вивчення всього програмного матеріалу. Теми та порядок виконання практичних занять сформовано в логічній послідовності і повністю узгоджуються з метою дисципліни. Теоретичні і практичні знання поглиблюються шляхом самостійної роботи з використанням рекомендованої літератури та глобальної мережі Internet.

Назва теми лекції та перелік основних питань	
№	Тема 1. Теоретичні основи біоелектрогенезу
Лекція 1	1.1. Із історії біоелектрики. Досліди Гальвані. Перші вимірювання потенціалу пошкодження, струмів спокою та струмів дії. Розвиток методів вимірювання біопотенціалів. Теорії виникнення біоелектричних явищ.
	1.2. Мембранна теорія. Етапи становлення та розвитку мембранної теорії біоелектрогенезу. Структура, функція та властивості біомембран. Підтримання іонного гомеостазу клітини: активні

	<p>транспортери та іонні канали. Іонна проникність біомембран. Ряди Ейзенмана. Рівняння Нернста. Природа потенціалу спокою та потенціалу дії. Теорія постійного поля. Рівняння Голдмана-Ходжкіна-Каца. Механізми селективності іонних каналів.</p>
	<p>Тема 2. Методи електрофізіології</p>
<i>Лекція 2.</i>	<p>2.1. Металічні електроди. Фізхімія металів в електролитах. Металічні електроди, їх призначення та електрохімічні властивості. Зворотні електроди. Поляризація електродів. Рухливість іонів в електролітах. Соляні містки та дифузійні потенціали. Індиферентний електрод та способи його виготовлення.</p>
	<p>2.2. Внутрішньоклітинні вимірювання електричних потенціалів. Металічні мікроелектроди (МЕ): області їх вживання та недоліки. Виготовлення металічних МЕ. Скляні мікропіпетки та МЕ їх принципові відмінності. Структура та фізичні властивості скла. Типи скла. Фізико-хімічні властивості поверхні розділу скло/електроліт. Електричні параметри скляного МЕ та його еквівалентна схема. Природа виникнення потенціалу кінчика скляного МЕ. Типи вольт-амперних характеристик скляних МЕ. Заповнення скляних МЕ. Механічне та термічне загострення скляних МЭ. Багатоканальні скляні МЕ. Утримувач МЕ</p>
<i>Лекція 3</i>	<p>2.3. Методи вимірювання біоелектричних сигналів. Основні вимірювальні схеми. Апаратура та прилади, які застосовуються в сучасних електрофізіологічних дослідженнях. Загальна блок схема електрофізіологічної установки. Блок схема електрофізіологічного підсилювача Попередні підсилювачі, їх призначення та основні вимоги.</p>
	<p>2.4. Операційні підсилювачі (ОП) та їх параметри. Ідеальний ОП. Зворотній зв'язок в схемах на ОП. Основні схеми включення ОП та їх аналіз. Стабільність схем на ОП. Шумові властивості ОП.</p>
<i>Лекція 4</i>	<p>2.5. Метод фіксації струму. Способи пропускання фіксованого струму через мембрану. Поняття послідовного опору та його компенсація. Схема класичного експерименту Ходжкіна-Хакслі на аксоні кальмара. Типи експериментів, які проводяться методом фіксації струму та їх інтерпретація.</p>
	<p>2.6. Метод фіксації потенціалу. Критерії адекватності фіксації потенціалу. Просторова та часова фіксація. Поняття послідовного опору при фіксації потенціалу. Одно- та двух-МЕ фіксація. Електронні схеми фіксації потенціалу. Области застосування фіксації потенціалу.</p>
<i>Лекція 5</i>	<p>2.7. Обробка даних, одержуваних методом фіксації потенціалу. Способи розділення загального трансмембранного іонного струму на компоненти. Вольт-амперні характеристики (ВАХ) мембрани, миттєві ВАХ, струми протікання. Аналітичний опис ВАХ. Поняття про активацію, деактивацію та інактивацію струмів та відповідних їм каналів. Часова та стаціонарна активація та інактивація струмів, способи їх вимірювання та опису. Експериментальні протоколи, які застосовуються для визначення різних характеристик струмів. Вороні струми. Комерційна програма pCLAMP для збору та обробки електрофізіологічних даних.</p>
<i>Лекція 6</i>	<p>2.8. Фіксація потенціалу на багатоклітинних препаратах. Тканини які утворюють клітинний синцитій. Щільові контакти. Поодинокий та подвійний сахарозний місток. Практичні обмеження та недоліки методів сахарозного містка. Способи врахування та пониження похибок методів сахарозного містка.</p>
	<p>2.9. Фіксація мембранного потенціалу на ізольованих клітинах. Фіксація мембранного потенціалу за допомогою двох внутріклітинних мікроелектродів. Фіксація мембранного потенціалу за допомогою одного внутріклітинного мікроелектроду. Переваги та недоліки кожного з методів фіксації потенціалу. Порівняння електронних схем одно- та двохмікроелектродної фіксації.</p>

Лекція 7	<p>2.10. Метод внутрішньоклітинної перфузії. Поєднання методів фіксації потенціалу та внутрішньоклітинної перфузії. Ряд сприятливих внутрішньоклітинних аніонів. Внутрішньоклітинна перфузія на основі пластикових знарядь (мікропіпеток). Виготовлення пластикових знарядь. Послідовний опір. Модифікації методу внутрішньоклітинної перфузії. Аналіз шумів з метою визначення характеристик поодиноких каналів. Переваги та недоліки методу фіксації потенціалу в умовах внутрішньоклітинної перфузії.</p>
Лекція 8	<p>2.11. Метод "patch clamp". Микроелектроди та мікропіпетки. Метод внутрішньоклітинної перфузії з застосуванням скляних мікропіпеток як попередник методу "patch clamp". Основні характеристики та переваги методу "patch clamp". Шляхи досягнення гігаомних контактів між кінчиком мікропіпетки та мембраною. Конфігурації методу "patch clamp". Оцінка ефективності внутрішньоклітинного діалізу в конфігурації "whole cell". Поняття про "перфорований" "patch clamp".</p>
Лекція 9	<p>2.12. Особливості електронної схеми методу "patch clamp". Претворювач струм-напруга, як основний елемент попереднього підсилювача. Вимоги до опору зворотнього зв'язку. Корекція полоси пропускання електронної схеми. Компенсація швидких та повільних перехідних процесів. Компенсація послідовного опору. Комерційно доступні підсилювачі "patch clamp", їх переваги та недоліки.</p>
	<p>2.13. Реєстрація активності поодиноких каналів. Поняття про шуми та способи їх оцінки. Джерела шуму в методі "patch clamp" та шляхи підвищення його чутливості.</p>
Лекція 10	<p>2.14. Комп'ютерна обробка даних по активності поодиноких каналів. Пороговий детектор подій. Вплив полоси пропускання та частоти відцифровки на детекцію подій. Одержання часових та амплитудних характеристик поодиноких каналів. Пачечна активність. Відповідність характеристик макроскопічних струмів та поодиноких каналів. Створення кінетичної схеми роботи каналу по даним його елементарної активності. Комерційна програма для збору та обробки даних по активності поодиноких каналів - pCLAMP.</p>
	Тема 3. Методи дослідження рекомбінантних каналів та рецепторів
Лекція 11	<p>3.1. Молекулярно біологічні підходи до дослідження іонних каналів та рецепторів. Генетичний код та його зв'язок з первинною структурою білка. Біохімічне виділення мембранних білків. Способи клонування іонних каналів та рецепторів. Бібліотеки геномної та комплементарної ДНК. Вектори ДНК.</p>
	<p>3.2. Попередній аналіз клонованих каналів та рецепторів. Виведення первинної структури клонованого каналу. Гидропатичний профіль та його зв'язок з топологією мембранного білка. Ідентифікація транс- и та позамембранних ділянок. Змішані діаграми. Дендрограми гомологічних каналів. Природа різноманіття однотипних каналів: гомологічні гени, альтернативний сплайсинг та редагування мРНК.</p>
Лекція 12	<p>3.3. Структурно-функціональний аналіз клонованих каналів та рецепторів. Основні родини клонованих каналів та рецепторів. Основні та службові субодиниці каналів. Гомо- та гетеромультимерні канали. Ідентифікація функціонально важливих ділянок. Внесення мутацій та функціональна експресія клонованих каналів та рецепторів.</p>
	<p>3.4. Характеристика систем для функціональної експресії екзогенних каналів та рецепторів. морталізовані клітинні лінії, їх одержання та культивування. Ооцити шпорцевої жаби <i>Xenopus laevis</i>, їх морфологія, процедура виділення та утримування.</p>
Лекція 13	<p>3.5. Методи введення генетичного матеріалу в експресійні системи. Способи трансфекції екзогенної ДНК в клітинні лінії. Маркери трансфекції. Транз'єнтна та стабільна трансфекція. Інжекція сумарної мРНК, виділеної з різних тканин, та комплементарної мРНК клонованих каналів в ооцити <i>Xenopus</i>.</p>
	<p>3.6. Електрофізіологічні методи дослідження експресованих каналів та рецепторів. "Patch clamp". Електричні параметри ооцитів <i>Xenopus</i>. Двух-МЕ фіксація потенціалу на ооцитах <i>Xenopus</i> та її особливості. Методика "зрізаного ооцита". Метод скляної воронки для внутрішньоклітинної перфузії та фіксації потенціалу ооцитів <i>Xenopus</i>.</p>

	Метод макроскопічного "patch clamp". Комерційна установка для одночасного електрофізіологічного дослідження багатьох ооцитів.
	Тема 4. Методи флуорисцентної мікроскопії
Лекція 14	4.1. Оптичні вимірювання внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Перші вимірювання внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Люмінісцентні та флуорисцентні індикатори. Характеристика сучасних флуорисцентних індикаторів кальцію. Методи введення індикаторів в клітину. Формула Гринкевича-Чена для двохвильового методу вимірювання абсолютної концентрації кальцію. Індикатори примембранної та органельної концентрації кальцію.
Лекція 15	4.2. Інші флуорисцентні індикатори. Індикатори потенціалу. Використання зеленого флуорисцентного протеїну та його похідних для візуалізації каналів та рецепторів.
	4.3. Флуорисцентний мікроскоп. Блок схема флуорисцентного мікроскопа. Блок схема установки для флуорисцентних досліджень динамічних процесів. Суміщення флуориметричних та електрофізіологічних досліджень.
Лекція 16	4.4. Принципи конфокальної мікроскопії. Одно- та двохфотонний конфокальний мікроскопи, переваги та недоліки кожного з них. Дослідження ко-локалізації мембранних білків з використанням резонансного переносу енергії.
	4.5. Методи надшвидкого прикладання розчинів з використанням "caged" біологічно активних речовин. Методи надшвидкої зміни розчинів. Поняття про "caged" речовини. Вимоги до "caged" речовин. Способи введення "caged" речовин в клітину. Типи "caged" речовин. Електрофізіологічні експерименти з використанням "caged" речовин.
Лекція 17	4.6. Вимірювання екзоцитоза та секреції. Оцінка екзоцитоза по змінам ємності мембрани. Карбонові електроди. Амперометричні вимірювання секреції.
	4.7. Дослідження транспортних процесів в модельних мембранах. Склад та властивості штучних мембран. Ліпосоми та «плоскі» мембрани. Вбудова мембранних білків в штучні мембрани. Електрофізіологічні вимірювання на плоских мембранах.
Лекція 18	Виконання модульної контрольної роботи (МКР 1.1, МКР 1.2)

Практичні заняття

№ з/п	Назва теми практичного заняття та перелік основних питань.
1.	Експерименти Карло Маттеучі. Дифузійна теорія В.Ю. Чаговця виникнення демаркаційного потенціалу.
2.	Розвиток уявлень про іонну вибірковість мембран та іонні канали. Селективність натрієвих, калієвих і кальцієвих каналів.
3.	Сфери використання металевих електродів у біології і медицині. Природа виникнення потенціалу кінчика скляного МЕ. Кузня Фонбрюна для виготовлення скляних мікроінструментів
4.	Основні електрофізіологічні схеми на базі ОП.
5.	Експериментальні протоколи, які застосовуються для визначення біофізичних характеристик мембранних струмів.
6.	Роль кальцію в секреції. Білки, задіяні в екзоцитозі. Окиснювально-відновні реакції секретованих речовин на поверхні карбонових електродів.
7.	Природа різноманіття однопорочних каналів: гомологічні гени, альтернативний сплайсинг та редагування мРНК. Основні класи та родини іонних каналів
8.	Індикатори примембранної та органельної концентрації кальцію.. Калібрування установки для вимірювання концентрації кальцію.

9.	Типи "caged" речовин.. Електрофізіологічні експерименти з використанням "caged" речовин.
----	--

Питання за темами курсу , що виносяться на самостійне опрацювання:

Назва теми та перелік питань.
<p>Тема 1. Теоретичні основи біоелектрогенезу.</p> <p>1. Теорія Дюбуа-Раймона, потенціал спокою і потенціал дії. 2. Досліди С. Рінгера. 3. Реотом Ю. Бернштейна, вимірювання швидкості розповсюдження ПД. 4. Ліпоїдна теорія мембран Ч. Овертона. 5. Досліди Б. Хілле.</p>
<p>Тема 2. Методи електрофізіології.</p> <p>1. Хлорсрібний електрод, електрохімічні реакції, які на ньому відбуваються.. 2. Операційні підсилювачі (ОП) та їх параметри. 3. Постсинаптичні струми та потенціали. 4. Механізм виникнення ПД. 5. Електронна компенсація послідовного опору. 6. Пасивні заходи по зменшенню послідовного опору. 7. Оцінка потенціалзалежності дії фармакологічних речовин на іонні струми. 8. Конексини, їх структура і функція. 9. Еквівалентна електрична схема багатоглітинного препарату. 10. Способи збільшення адгезії клітин до пластику. 11. Теоретичні основи аналізу шумів з метою визначення характеристик поодиноких каналів. 12. Застосування антибіотиків для "перфорації" мембрани. 13. Геометрія скляних мікропіпеток та способи її оптимізації. 14. Комерційно доступні підсилювачі "patch clamp", їх переваги та недоліки.. 15. Способи покращення електричних параметрів мікропіпеток. 16. Комерційна програма для збору та обробки даних по активності поодиноких каналів – pCLAMP. 17. Теоретичні основи вимірювання ємності клітинної мембрани.</p>
<p>Тема 3. Методи дослідження рекомбінантних каналів та рецепторів</p> <p>1. Екзони та інтрони геномної ДНК 2. Сплайсинг та редагування мРНК. 3. Пороутворювальні та службові субодиниці каналів. 4. Структурні ознаки потенціалкерованих каналів. 5. Критерії вибору клітинних ліній, основні світові банки клітинних ліній. 6. Особливості лабораторного утримання шпорцевої жаби <i>Xenopus laevis</i>. 7. Зелений флуорисцентний білок та його похідні. 8. Умовна трансфекція. 9. Способи видалення оболонок ооцита. 10. Метод макроскопічного "patch clamp".</p>
<p>Тема 4. Методи флуорисцентної мікроскопії</p> <p>1. Флуоресцентні маркери мембрани та огранел. 2. Поняття про каналородопсин. 3. Поняття про TIRF мікроскопію. 4. Оптичний "patch clamp". 5. Теоретичні основи резонансного переносу енергії. 6. Використання антитіл в імунофлуорисцентних дослідженнях.</p>

6. Самостійна робота студента.

Самостійна робота студентів має на меті розвиток творчих здібностей та активізація їх розумової діяльності, формування потреби безперервного самостійного поповнення знань та розвиток морально-вольових зусиль. Завданням самостійної роботи студентів є навчити студентів самостійно

працювати з літературою, творчо сприймати навчальний матеріал і осмислювати його та формування навичок до щоденної роботи з метою одержання та узагальнення знань, умінь і навичок.

На самостійну роботу відводяться наступні види завдань:

- обробка і осмислення інформації, отриманої безпосередньо на заняттях;
- робота з відповідними підручниками та особистим конспектом лекцій;
- опрацювання матеріалу, що винесено на самостійне вивчення.
- виконання підготовчої роботи до практичних занять та до написання МКР;
- підготовка до складання семестрового контролю.

- Політика та контроль

7. Політика навчальної дисципліни (освітнього компонента)

- Відвідування занять

- Відвідування лекцій, а також відсутність на них, не оцінюється. Однак, студентам рекомендується відвідувати заняття, оскільки на них викладається теоретичний матеріал та розвиваються навички, необхідні для успішного складання екзамену.

- Пропущені контрольні заходи

- Результат модульної контрольної роботи для студента, який не з'явився на контрольний захід, є нульовим. У такому разі, студент має можливість написати модульну контрольну роботу, але максимальний бал за неї буде дорівнювати 50 % від загальної кількості балів. Повторне написання модульної контрольної роботи не допускається.

- Календарний рубіжний контроль

- Проміжна атестація студентів (далі — атестація) є календарним рубіжним контролем. Метою проведення атестації є підвищення якості навчання студентів та моніторинг виконання графіка освітнього процесу студентами.

Термін атестації	Перша атестація 8-й тиждень	Друга атестація 14-й тиждень
Критерій поточний контроль	≥ 20 балів	≥30балів

Академічна доброчесність

Політика та принципи академічної доброчесності визначені у розділі 3 Кодексу честі Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Детальніше: <https://kpi.ua/code>.

Норми етичної поведінки

Норми етичної поведінки студентів і працівників визначені у розділі 2 Кодексу честі Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Детальніше: <https://kpi.ua/code>.

Процедура оскарження результатів контрольних заходів

Студенти мають можливість підняти будь-яке питання, яке стосується процедури контрольних заходів та очікувати, що воно буде розглянуто згідно із наперед визначеними процедурами.

-

8. Види контролю та рейтингова система оцінювання результатів навчання (PCO)

Видами контролю успішності засвоєння матеріалу дисципліни є модульна контрольна робота (МКР), тестування, індивідуальна практична робота.

Активність та робота студента на практичних заняттях оцінюється від 0,5 до 1 балу за вірну відповідь на запитання, проте кінцевий максимальний бал становить не більше 10.

Модульна контрольна робота розбита на дві частини і проводиться на початку першого та другого календарного контролю (атестацій). Результати модульної контрольної роботи вказуються на бланках для модульної контрольної роботи (завдання, які виконували студенти) з позначенням коректної або некоректної відповіді, а також з коментарями, зауваженнями тощо.

Максимальна кількість балів – 20.

- вичерпна відповідь – 18 – 20 балів;
- відповідь з незначними неточностями – 15-17 балів;
- неповна відповідь та незначні помилки – 9 – 14 балів;
- грубі помилки – 5-8
- незадовільна відповідь – 0 балів.

Результати робіт та тематичних завдань оголошуються кожному студенту окремо у присутності або в дистанційній формі та супроводжуються оціночними листами, в яких студенти можуть побачити свою оцінку за певними критеріями, а також позначення основних помилок та коментарі до них.

Експрес контрольні роботи за темами дисципліни здійснюється на основі тестів і залежить від тривалості контрольного заходу (5-10 хвилин). Кожний блок тестів відповідає вимогам змістової характеристики теоретичних тем.

Умови допуску до екзамену

Умовою допуску до семестрового контролю є виконання усіх поточних контрольних заходів та рейтинг більший за 40 балів ($RD \geq 40$).

Додаткові умови допуску до екзамену:

- Активна самостійна робота над теоретичним матеріалом: пошук та використання інформаційних ресурсів, ілюстрацій, відео, медіа ресурсів, що доповнюють поточний курс (додаються заохочувальні бали).
- Позитивний результат першої та другої атестації.

Семестровий контроль Екзамен.

- вичерпна відповідь – 35 – 40 балів;
- відповідь з незначними помилками – 25-34 балів;
- неповна відповідь та незначні помилки – 15 – 24 балів;
- грубі помилки – 7-14
- незадовільна відповідь – 0-6 балів.

Остаточна оцінка **RD** є сумою рейтингових балів отриманих за поточний контроль та балів отриманих на екзамені після співбесіди зі студентом.

Розрахунок шкали рейтингу:

№ з/п	Контрольний захід	%	Ваговий бал	Кіл-ть	Всього
1.	Тестування	10	2	5	10
2.	Практичні заняття	10	10	1	10
3.	Модульна контрольна робота	40	20	2	40
4.	Екзамен	40	50	1	40
	Всього				100

Таблиця відповідності рейтингових балів оцінкам за університетською шкалою:

Кількість балів	Оцінка
100-95	Відмінно
94-85	Дуже добре
84-75	Добре
74-65	Задовільно
64-60	Достатньо
Менше 60	Незадовільно
Не виконані умови допуску	Не допущено

9. Додаткова інформація з дисципліни (освітнього компонента)

- ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ НА МОДУЛЬНУ КОНТРОЛЬНУ РОБОТУ

1. Теоретичні та практичні аспекти фіксації струму та фіксації потенціалу.
2. Аналіз потенціалзалежності та кінетики іонних струмів.
3. Оцінка селективності іонних каналів.
4. Особливості електронної схеми методу "patch clamp".
5. Конфігурації методу "patch clamp".

6. Технологічні аспекти виготовлення електродів для методу "patch clamp".
7. Геометричні параметри мікропіпеток та мембранних фрагментів.
8. Принципи аналізу та інтерпретації активності поодинокого каналу.
9. Ізоляція та культивування клітин з різних типів тканин.
10. Електрофізіологія на багатоклітинних препаратах.
11. Ооцити *Xenopus* та їх використання для функціонального тестування клонованих каналів.
12. Підходи до структурно-функціонального аналізу клонованих каналів.
13. Флуорисцентна мікроскопія.
14. Кальцій-чутливі флуорисцентні барвники.
15. Конфокальна мікроскопія.

Робочу програму навчальної дисципліни (силабус): Методи дослідження збудливих мембран

Складено професором каф. прикладної фізики, д.б.н., проф, Шубою Ярославом Михайловичем

Ухвалено кафедрою прикладної фізики (протокол № 02/2020-2021 від 04 вересня 2020 року)

Затверджено Вченою радою ФТІ (протокол № 7/1 від 07 вересня 2020 року)