

ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»  
(ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России)

«ПРИНЯТО»  
на заседании Ученого совета  
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России  
Протокол № 6  
от «06» 07 2017 г.



«УТВЕРЖДАЮ»  
Генеральный директор  
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России,  
академик РАН  
В.М. Говорун  
\_\_\_\_\_ 2017 г.

**ПРОГРАММА  
ВСТУПИТЕЛЬНЫХ ЭКЗАМЕНОВ В АСПИРАНТУРУ  
по дисциплине  
03.01.02 БИОФИЗИКА**

**Направление подготовки:** 06.06.01 биологические науки

**Уровень образования:** высшее образование - подготовка кадров  
высшей квалификации

**Квалификация выпускника:** Исследователь. Преподаватель-исследователь.

Москва, 2017

## **Введение**

Предмет и задачи биофизики, основные разделы биофизики. История развития биофизики. Методы биофизики. Взаимоотношения биофизики с другими биологическими дисциплинами. Биофизика и медицина.

### **1. Теоретическая биофизика**

#### **1.1. Кинетика биологических процессов**

Описание динамики биологических процессов на языке химической кинетики. Математические модели. Задачи математического моделирования в биологии. Общие принципы построения математических моделей биологических систем. Колебательные процессы в биологии. Автоколебательные режимы.

Кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Влияние ингибиторов на кинетику ферментативных реакций.

#### **1.2. Термодинамика биологических процессов**

Первый и второй законы термодинамики в биологии и медицине. Расчет энтропии и энергии Гиббса биологических процессов и биологически значимых молекул. Термодинамические характеристики молекулярно-энергетических процессов в биосистемах.

Термодинамические условия осуществления стационарного состояния. Общие критерии устойчивости стационарных состояний и перехода к ним вблизи и вдали от равновесия.

### **2. Биофизика фотобиологических процессов**

#### **2.1. Поглощение света в биологических системах**

Основные фотобиологические процессы. Стадии фотобиологических процессов. Фотобиологические явления, используемые в фотомедицине. Электронные переходы в биологически значимых молекулах при поглощении света и люминесценции.

Количественные закономерности поглощения света, закон Бугера-Ламберта-Бера. Спектры поглощения биологически значимых молекул. Особенности поглощения света в биологических системах: влияние неравномерного распределения молекул и светорассеяния, влияние ориентации молекул. Области применения спектрофотометрии в биологии и медицине. Метод импульсного фотолиза и кинетической спектрофотометрии в исследованиях быстрых фотопревращений зрительных пигментов.

#### **2.2. Люминесценция в биологических системах**

Зависимость потока и интенсивности фотолюминесценции от концентрации люминесцирующего вещества. Квантовый выход фотолюминесценции. Влияние экранирующих соединений на поток фотолюминесценции. Спектры фотолюминесценции и спектры ее возбуждения. Люминесцирующие биологически значимые молекулы.

Межмолекулярный перенос энергии электронного возбуждения в биологических системах. Кинетический перенос энергии электронного возбуждения: схема процессов трансформации энергии, уравнение Штерна-Фольмера для тушения фотолюминесценции.

Миграция энергии электронного возбуждения в биологических системах. Миграция энергии в фотосинтетической единице.

Хемилюминесценция в биологических системах. Основные характеристики хемилюминесценции: поток излучения, квантовый выход, спектр излучения. Физические и химические активаторы хемилюминесценции.

Биолюминесценция и биохемилюминесценция. Характеристики биолюминесценции бактерий. Клеточная хемилюминесценция.

Свободные радикалы и их свойства. Роль свободных радикалов в генерации биохемилюминесценции. Биохемилюминесценция при перекисном окислении липидов, ее количественные закономерности.

Биохемилюминесценция при активации фагоцитов. Реакции в активированных фагоцитах, приводящие к генерации свободных радикалов, активных форм кислорода и галогенов. Активаторы хемилюминесценции фагоцитов. Спектры хемилюминесценции активированных фагоцитов.

Использование хемилюминесцентных методов в биологии и медицине.

### **2.3. Первичные и начальные стадии фотопревращений биологически значимых молекул**

Основные характеристики фотопревращений биологически значимых молекул: квантовый выход, абсолютная константа скорости (поперечное сечение фотолитиза), спектр действия.

Фотопревращения молекул белков под действием УФ излучения. Кинетика фотоинактивации белков. Спектры действия фотоинактивации белков. Первичные фотопревращения аминокислотных остатков в белках при УФ облучении.

Фотопревращения молекул нуклеиновых кислот под действием УФ излучения. Фотореактивация фотохимических повреждений ДНК.

Фотопревращения ненасыщенных липидов под действием УФ излучения. Значение фотолитиза антиоксидантов и фотопревращений гидропероксидов жирных кислот в свободные радикалы для развития фотопероксидации липидов в биомембранах.

### **2.4. Механизм сенсibilизированных фотобиологических процессов**

Типы фотосенсibilизированных процессов повреждения биологических объектов. Фотодинамическое действие. Механизмы фотосенсibilизированного окисления биологически значимых молекул: роль образования синглетного кислорода и реакций переноса электрона. Фотоповреждение молекул нуклеиновых кислот в присутствии псораленов. Реакции фотоприсоединения псораленов к пиримидиновым основаниям.

### **2.5. Биофизические основы фотобиологических процессов, значимых для фотомедицины**

Спектры действия фотобиологических процессов, задачи их определения. Виды спектров действия: при постоянной дозе облучения, при постоянной величине фотобиологического эффекта.

Эффекты облучения кожи ультрафиолетовым излучением. Биологическая эффективность излучений областей УФ-А (320-400 нм), УФ-В (280-320 нм) и УФ-С (длины волн менее 280 нм).

Эритема и рак кожи, индуцируемые избыточным УФ излучением. Спектры действия этих процессов и фотохимические основы их иницирования.

Фототоксические и фотоаллергические эффекты видимого и ультрафиолетового света. Роль фотоизомеризации уроганиновой кислоты и образования тиминового димеров в ДНК клеток кожи в супрессии Т-клеточного звена иммунитета.

Псораленовая фотохимиотерапия (ПУВА-терапия), вклад реакций фотоприсоединения псораленов к ДНК и фотодинамических реакций в терапевтический и побочные эффекты.

Фотодинамическая терапия опухолей (ФДТ). Фотосенсibilизаторы, приме-

няемые в ФДТ. Спектры поглощения фотосенсибилизаторов и «фотодинамическое окно» в спектрах пропускания биологических тканей. Механизмы действия фотосенсибилизаторов.

Биофизические аспекты применения лазерного излучения в медицине: термические эффекты высокоинтенсивного импульсного излучения, генерация реактивных оксидантов, фотохимические превращения биологически значимых молекул при воздействии низкоинтенсивного излучения.

### **3. Молекулярная биофизика**

#### **3.1. Конформация основных биологически значимых макромолекул**

Пространственная структура биологически значимых макромолекул. Типы объемных взаимодействий в макромолекулах: водородные связи; силы Ван-дер-Ваальса; электростатические взаимодействия; поворотная изомерия и энергия внутреннего вращения. Состояние воды и гидрофобные взаимодействия в биополимерах и надмолекулярных структурах. Расчет общей конформационной энергии биополимеров.

Пространственная структура молекул нуклеиновых кислот. Углы вращения остова нуклеиновой кислоты и стерические ограничения. Силы, стабилизирующие упорядоченные конформации. Типы спаривания оснований в кристаллах и растворе. Третичная структура нуклеиновых кислот. Структура хроматина.

Пространственная структура молекул белков. Вторичная структура, влияние электростатических сил и гидрофобных взаимодействий на стабильность вторичной структуры полипептидов и белков. Третичная структура. Макромолекулярная организация глобулярных белков. Четвертичная структура. Анализ числа субъединиц и их взаимного расположения. Стабильность четвертичной структуры белков.

Адсорбция биологически значимых молекул. Физические основы хроматографии. Методы удаления токсических молекул из организма посредством гемосорбции, плазмасорбции, энтеросорбции.

#### **3.2. Динамическое поведение биологических макромолекул в растворах**

Нековалентные взаимодействия биологически значимых макромолекул и малых молекул. Белки, связывающие ионы металлов и органические лиганды. Равновесное связывание лигандов. Типы связывания. Взаимодействие между центрами связывания.

Кооперативное связывание кислорода гемоглобином, кривая оксигенации. Уравнение Хилла. Сывороточный альбумин крови как переносчик жирных кислот и токсических метаболитов.

Конформационное равновесие в полипептидах и белках: переход спираль-клубок. Конформационная стабильность и конформационные изменения. Процесс денатурации белков.

Клеточные механизмы контроля над укладкой полипептидной цепи во вновь синтезируемых белках. Участие белков теплового шока (шаперонов) в репарации структуры денатурированных белков.

Структурные переходы в нуклеиновых кислотах. Структура и стабильность одноцепочечных нуклеиновых кислот. Равновесие между одно- и двухцепочечными структурами. Плавление ДНК. Ренатурация комплементарных цепей.

#### **3.3. Липидные надмолекулярные системы**

Физико-химические свойства липидов, участвующих в формировании биомембран и липопротеинов плазмы крови. Модельные бислойные липидные мембраны: липосомы и плоские бимолекулярные липидные мембраны.

Методы изучения физических свойств и состояния липидов в биомембранах: спектроскопия ЯМР, методы спиновых и флуоресцентных зондов, дифференциальная сканирующая микрокалориметрия, лазерная спектроскопия комбинационного рассеяния.

Фазовые переходы в фосфолипидном бислое. Зависимость температуры фазового перехода от структуры жирных кислот и характеристических групп фосфолипидов, от содержания холестерина. Латеральная и трансмембранная диффузия молекул в липидных бислоях. Подвижность мембранных белков.

Комплексы белков с липидами. Липопротеины плазмы крови. Физическая структура частицы липопротеина; молекулы, образующие гидрофобное ядро и полярную оболочку. Роль липопротеинов плазмы крови в переносе липидов, развитии атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний.

### **3.4. Методы исследования структуры основных биологически значимых макромолекул**

Анализ вторичной структуры белка методом инфракрасной (ИК)-спектроскопии. Характеристические частоты колебания атомов пептидной группы белков. Анализ спектров поглощения белков в ИК диапазоне.

Физические основы оптической активности биологически значимых макромолекул: методы регистрации дисперсии оптической активности (ДОВ) и кругового дихроизма (КД). Оценка степени спиральности белков методами ДОВ и КД.

Анализ структуры и функции полипептидов и белков с помощью метода флуоресцентных зондов. Основные типы флуоресцентных зондов. Параметры поглощения и флуоресценции зондов. Применение явления индуктивно-резонансного переноса энергии для оценки расстояний между парами зондов, связанных с макромолекулой. Методы определения вращательной и латеральной диффузии молекул.

Магниторезонансные методы исследования структуры и функции биомacroмолекул. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) высокого разрешения в исследованиях структуры полипептидов и белков. Параметры спектров ЯМР: интенсивность и полуширина полос, химический сдвиг.

Спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Параметры спектров ЭПР: интенсивность, полуширина полос. Сверхтонкое расщепление.

Метод спиновых меток и зондов в исследовании биологических мембран и липопротеинов крови. Показатели свойств: время корреляции вращательной диффузии, параметр упорядоченности, параметр гидрофобности.

Магнитная резонансная томография (МРТ). Принцип измерений при МРТ и устройство томографа. Основные виды изображений и способы их регистрации.

## **4. Биофизика клеточных и мембранных процессов**

### **4.1. Основные физические характеристики клетки**

Физические методы изучения структуры и функций клетки. Электрические свойства клеток. Механические свойства клетки и цитоплазмы. Состояние воды и электролитов в клетке. Свободная и структурированная клеточная вода.

### **4.2. Транспорт веществ через мембраны**

Виды процессов переноса веществ через мембраны. Поток и плотность потока вещества. Закон диффузии, уравнение Фика, уравнение для диффузии веществ через мембраны. Основное уравнение электродиффузии (уравнение Нернста-Планка). Решение уравнения электродиффузии для мембран в приближении однородного поля. Уравнение Гольдмана-Ходжкина-Каца.

Проницаемость биологических и модельных мембран; методы ее исследования. Коэффициент проницаемости биомембран, его зависимость от растворимости вещества в липидах, коэффициент распределения.

Транспорт веществ через мембраны путем облегченной диффузии. Поры в биомембранах, методы оценки эффективного размера пор. Динамические поры и механизм их формирования. Зависимость проницаемости биомембран для различных веществ от фазового состояния липидов.

Транспорт воды. Механизм функционирования водных каналов.

Активный транспорт веществ в живой клетке. Молекулярный механизм работы  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$ -АТФаз. Связь транспорта воды с движением других веществ. Осмотическое сжатие и набухание клеток.

#### **4.3. Биофизические механизмы генерации мембранных потенциалов**

Распределение ионов между водной и липидной фазами; межфазный потенциал. Поверхностные заряды и поверхностный потенциал.

Мембранный потенциал живой клетки. Методы измерения биопотенциалов: микроэлектродная техника, характеристики микроэлектродов.

Равновесные потенциалы Нернста и Доннана. Стационарный потенциал: уравнение Гольдмана-Ходжкина-Каца для расчета значений потенциалов покоя и действия.

Генерация клетками электрических импульсов. Биофизический механизм генерации потенциала действия. Метод фиксации напряжения на мембране. Изменения потоков ионов калия и натрия во времени при генерации потенциала действия. Селективность ионных каналов, регуляция работы ионных каналов.

#### **4.4. Биофизика рецепции химических соединений**

Методы изучения холинорецепторов. Молекулярная организация и механизм действия холинорецептора. Кинетика взаимодействия веществ с холинорецепторами.

Физико-химическая модель взаимодействия ацетилхолина и его аналогов с рецептором. Биофизические механизмы действия циклической АМФ, роль ионов кальция в действии цАМФ. Биофизические механизмы функционирования хеморецепторов.

#### **4.5. Биофизика межклеточных взаимодействий**

Физико-химические характеристики клеточной поверхности, методы их изучения. Клеточные контакты: типы, электрические свойства, механическая прочность. Методы изучения адгезии клеток. Биофизические механизмы агрегационного взаимодействия эритроцитов, активированных тромбоцитов. Механизм нарушения межклеточных взаимодействий в патологии.

### **5. Физико-химические механизмы патологии**

#### **5.1. Роль повреждения различных структур клетки в патологии**

Роль повреждения мембран в развитии клеточной патологии. Последствия для клетки повреждения плазматической мембраны, мембран митохондрий, лизосом, ядерной мембраны. Основные физико-химические причины нарушения барьерных свойств мембран: перекисное окисление липидов, ферментативное расщепление липидов и белков, изменение заряда и конформации белков, адсорбция белков, осмотическое растяжение мембран.

#### **5.2. Фосфолипазное повреждение мембран**

Распространение связанных с мембраной фосфолипаз. Фосфолипазы, входящие в состав экзотоксинов. Роль активации фосфолипаз в повреждении клеток при

тканевой гипоксии. Трансформация физической структуры и проницаемости мембран в результате действия фосфолипаз.

Фосфолипазы митохондрий. Роль активации фосфолипаз в повреждении митохондрий при тканевой гипоксии.

Клеточные механизмы восстановления структуры и функций мембран после действия фосфолипаз.

### **5.3. Перекисное окисление мембранных липидов**

Перекисное окисление липидов как фундаментальный механизм мембранной патологии. Общая схема реакций цепного окисления органических соединений. Методы изучения перекисного окисления липидов: анализ потребления кислорода и накопления различных продуктов перекисного окисления, измерение хемилюминесценции и флуоресценции.

Реакции инициирования, продолжения, разветвления и обрыва цепей окисления ненасыщенных липидов. Перекисное окисление липидов под действием УФ облучения. Триггерная роль ионов Fe(II). Условие возникновения и активации перекисного окисления в клетке. Физико-химические механизмы действия перекисного окисления липидов на структуру и функции мембран: разрушение функциональных групп белков, модификация физических свойств липидного бислоя, увеличение проницаемости для ионов, снижение электрической прочности мембран.

Основные типы патологических процессов, связанные с перекисным окислением липидов: авитаминозы, недостаток селена в пище, интоксикации, действие ионизирующей радиации, действие УФ-лучей, воспаление, катаракта и другие глазные болезни, болезни иммунной системы, атеросклероз. Роль свободнорадикальных процессов в канцерогенезе.

Свободнорадикальные процессы и тканевая гипоксия. Перекисное окисление и старение. Некроз и апоптоз: современные представления о механизмах.

### **5.4. Свободные радикалы**

Основная классификация свободных радикалов: первичные, вторичные и третичные радикалы. Генерация свободных радикалов в цепях переноса электрона. Роль ионов железа в генерации свободных радикалов. Супероксидный и гидроксильный радикалы, методы их обнаружения. Синглетный кислород и его действие на клеточные структуры.

Механизмы дезактивации инициаторов перекисного окисления липидов: роль супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, каротиноидов.

### **5.5. Антиоксиданты**

Понятие об антиоксидантах. Классификация антиоксидантов. Антиоксидантные ферменты, и механизмы их работы. Перехватчики радикалов. Хелаторы ионов металлов. Основные способы измерения антиоксидантной активности.

### **5.6. Апоптоз**

Основные представления о механизмах апоптоза. Современные гипотезы о механизмах апоптоза. Роль цитохрома c в апоптотических реакциях. Способы регуляции апоптотических реакций.

### **5.7. Осмотическое нарушение структуры и функции клеток**

Причины и следствия нарушения осмотического равновесия между клеткой и средой, между клеткой и клеточными органеллами, выключение клеточных "насосов", сдвиги в ионной проницаемости мембран.

Модификация молекулярной организации мембран при их осмотическом растяжении.

### **5.8. Электрический пробой как механизм нарушения барьерной функции мембран в патологии**

Явление электрического пробоя мембран. Методы изучения электрического пробоя. Электрический пробой искусственных (БЛМ, липосомы) и природных мембран (эритроциты, митохондрии) ионным диффузионным потенциалом.

Снижение электрической прочности мембран (потенциала пробоя) при перекисном окислении липидов, действии фосфолипаз, осмотическом растяжении мембран, адсорбции белков.