

ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНСТВО
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Ю.М. ЛОПУХИНА
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»
(ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России)

«ПРИНЯТО»
на заседании Ученого совета
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М.
Лопухина ФМБА России
Протокол № 9
от «01» декабря 2022 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им.
Ю.М.Лопухина ФМБА
России,
член-корреспондент РАН,
профессор



М.А. Лагарькова

«01» декабря 2022 г.

ПРОГРАММА ВСТУПИТЕЛЬНЫХ ЭКЗАМЕНОВ В АСПИРАНТУРУ
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ 1.5.2 БИОФИЗИКА
(биологические науки)

Москва, 2022

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.

Билюминесценция и биохемилюминесценция. Характеристики билюминесценции 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 инициирования.

Фототоксические и фотоаллергические эффекты видимого и ультрафиолетового света. Роль фотоизомеризации уроканиновой 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 биомолекул. 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.