

Программа вступительных экзаменов для поступающих в аспирантуру кафедры медицинской биофизики

I Квантовая биофизика

Основные фотобиологические процессы. Основные стадии фотобиологического процесса. Основные характеристики электромагнитного излучения. Свойства фотона и электрона. Скорости, массы, энергии и импульсы. Уравнение де Бройля для электрона. Образование стоячей волны электронами. Уравнение Шредингера. Физический смысл уравнения в стационарных условиях. Энергия электрона в потенциальном ящике. Энергетические уровни. Энергетические уровни и электронные переходы в пептидной связи.

Принципиальная схема однолучевого спектрофотометра, принцип его действия. Принципиальная схема двухлучевого спектрофотометра и принцип его действия. Вывод закона Бугера–Ламберта–Бера на основе теории мишеней. Зависимость оптической плотности, пропускания и поглощения раствора от его концентрации. Спектры поглощения. Количественный анализ многокомпонентных смесей. «Эффект сита» при поглощении света биологическими образцами. Влияние светорассеяния на измеряемые спектры поглощения.

Электронные переходы при поглощении света и переносе электрона между молекулами. Роль верхних заполненных и нижних свободных молекулярных орбиталей. Диаграмма Теренина–Льюиса. Построение схемы электронных энергетических уровней в молекуле на основании анализа спектров поглощения, флуоресценции и фосфоресценции. Принципиальная схема спектрофлуориметра. Регистрация спектров флуоресценции и возбуждения. Закон Стокса. Правило Каши. Правило Левшина. Определение квантового выхода, закон Вавилова и следствия из закона Вавилова.

Примеры применения флуоресценции. Свойства фосфоресценции и ее применения в биологии. Поляризация флуоресценции, изучение вязкости среды по измерению поляризации люминесценции. Флуоресцентные метки и зонды, требования к этим веществам. Примеры зондов (1–2 примера) и их применения. Изучение микровязкости (текучести) среды, используя явление эксимеризации пирена. Суть явления сенсibilизированной люминесценции (перенос энергии). Примеры использования этого явления в научных исследованиях. Определение подвижности пептидной цепи, используя явление переноса энергии. Изучение изменения полярности окружающей среды, с использованием метода флуоресцентных зондов. Флуоресцентная микроскопия. Изобразите схему флуоресцентного микроскопа. Что Вы знаете о конфокальной микроскопии? В каких областях медицины флуоресцентная микроскопия находит применение?

Хемилюминесценция (ХЛ). Квантовый выход ХЛ. Квантовый выход возбуждения и квантовый выход эмиссии. Виды хемилюминесценции в живых системах. Что дает изучение хемилюминесценции для медицины. Понятие биолюминесценции. Люциферин и люцифераза. Примеры люминесцирующих живых организмов. Применение биолюминесценции в медико-биологических исследованиях. Происхождение биолюминесценции.

Собственное свечение тканей и клеток. Митогенетические лучи. опыты Гурвича. История изучения слабого свечения тканей и клеток животных и человека. Основные элементы аппаратуры для измерения хемилюминесценции. опыты Б.Н. Тарусова и сотрудников по изучению сверхслабого

свечения органов животных. Химические реакции, ответственные за сверхслабое свечение животных тканей.

Активные формы кислорода. Образование супероксидного радикала клетками-фагоцитами. Место и условия образования супероксидного радикала в дыхательной цепи митохондрий. Основные реакции метаболизма супероксида в норме. Основные реакции метаболизма супероксида в патологии. Роль ионов железа. Мишени повреждающего действия гидроксил-радикала.

Схема реакций цепного окисления липидов. Радикалы липидов и липопероксидов. Роль антиоксидантов и ионов железа. Свечение, сопровождающее перекисное окисление липидов. Связь интенсивности свечения со скоростью реакции цепного окисления. Свечение при реакциях перекисного окисления липидов. Основная хемилюминесцентная реакция. Основные применения метода хемилюминесценции

Аналитическое решение уравнений кинетики ПОЛ. Дальнейшее упрощение системы реакций (от 5 до 3). Дифференциальные уравнения кинетики в системе трех реакций. Стационарное приближение Боденштейна – Семенова. Условия его применимости. Зависимость скорости реакции перекиса от концентрации ионов железа. Понятие "критической концентрации" железа. Триггерная функция Fe^{2+} . Железо как про- и антиоксидант.

Радикал-продуцирующие клетки организма, проведение ХЛ измерений. Основные узлы прибора. Активаторы хемилюминесценции, используемые при изучении клеток крови. Принцип их действия и специфичность. Хемилюминесценция нейтрофилов крови различных групп больных. Метод измерения хемилюминесценции клеток, осаждаемых на адсорбенте. Электропорация клеток крови. Принцип метода и его применение.

Электронные переходы в молекулах ароматических аминокислот (на примере триптофана) при поглощении света, флуоресценции, фосфоресценции, фотоионизации и термолюминесценции. Почему при термолюминесценции триптофана свечение происходит с триплетного, а не с синглетного возбужденного уровня. Фотоиндуцированная хемилюминесценция. Различие спектров термолюминесценции и фотоиндуцированной люминесценции УФ-облученных ароматических аминокислот. Правило Одюбера и его объяснение.

Основные фотобиологические процессы. Примеры фотомедицины. Основные стадии фотобиологического процесса. Определения: свет, хромофор, мишень, спектр поглощения, спектр действия. Мишени для УФ фотонов при инактивации фермента. Одноударная фотохимическая реакция. Уравнение кинетики однокударной фотохимической реакции (вывод уравнения). Примеры спектров действия фотобиологического процесса. Закон Гротгуса-Варбурга. Первичные фотофизические и фотохимические процессы при действии УФ-излучения на белки. Электронные переходы при фотоионизации, термолюминесценции и фотоиндуцированной люминесценции УФ-облученных ароматических аминокислот. Основные промежуточные продукты при действии УФ-облучения на белки и ароматические аминокислоты. Схема фотохимических реакций при УФ инактивации белков. Фотобиологическое действие низкоинтенсивных лазеров и светодиодного излучения.

II Молекулярная биофизика

Определение первичной, вторичной, третичной и четвертичной структуры белка. Геномика и протеомика. Основные методы исследования, применяемые в структурной молекулярной биологии. Метод гель-электрофореза. Метод белковой кристаллографии.

Аминокислоты: химическая структура участка полипептидной цепи. Основные группы полипептидной цепи (пептидная связь, N- конец и т.д.). Название и свойства заряженных

аминокислотных остатков. Химические формулы или основные функциональные группы положительно и отрицательно заряженных остатков. Константа диссоциации кислоты, рН и рК. Кривая диссоциации аминокислоты в водном растворе. Кривая диссоциации белка. Изoeлектрическая точка.

Гидрофобность и гидрофильность аминокислотных остатков. Измерение гидрофобности вещества. Измерение гидрофобности аминокислотного остатка. Примеры гидрофобных, гидрофильных незаряженных и заряженных аминокислотных остатков.

Структура полипептидной цепи. Углы вращения вокруг связей. Вращательная подвижность. Конфигурации. Различие понятий конфигурации и конформации.

Свойства пептидной связи. Изменение энергии при вращении вокруг одинарной связи.

Рентгеноструктурный анализ. Дифрактометр. Основные этапы получения структуры белка методом рентгеновской белковой кристаллографии. Методы выращивания белковых кристаллов. Почему для расшифровки атомной структуры белков используются рентгеновские лучи. Почему для расшифровки атомной структуры белков методом рентгеновской белковой кристаллографии используются белковые кристаллы. Что происходит с лучами, рассеиваемыми сложными объектами. Источники рентгеновского излучения применяются в белковой кристаллографии.

Белковая база данных PDB. Представление структуры белков или их части в программах визуализации (на примере программы RasTop.exe)

Параметры ячейки кристалла. Элементарная ячейка кристалла. Параметры ячейки. Координаты начального атома. Вектор рассеяния. Определение. Связь вектора рассеяния с углом отражения. Сфера отражений Эвальда. Построение и свойства. Направление на рефлекс.

Миллеровы плоскости отражения. Построение и индексы. Закон Брегга-Вульфа. Связь вектора рассеяния с углом отражения от Миллеровых плоскостей, с направлением плоскостей и с межплоскостным расстоянием. Принцип работы рентгеновского монохроматора. Зависимость между индексами миллеровых плоскостей и расположением рефлекса на дифрактограмме. Условия Лауэ. Вывод на основе закона Брегга-Вульфа. Построение обратной решетки кристалла. Почему нужно прецессировать кристалл, чтобы получить набор рефлексов. Свойства обратной решетки кристалла. Связь обратной решетки кристалла с дифрактограммой.

Структурный фактор. Интерференция волн, рассеянных двумя центрами. Структурный фактор электрона и атома. Структурный фактор как вектор на комплексной плоскости. Сложение структурных факторов. Структурный фактор атома как функция координаты атома в элементарной ячейке. Структурный фактор рефлекса. Структурный фактор элементарного объема кристаллической ячейки. Уравнение структурного фактора рефлекса как функции распределения электронной плотности и уравнение электронной плотности как функции структурных факторов рефлексов.

Этапы расчета распределения электронной плотности в пределах элементарной ячейки на основе данных о структурных факторах рефлексов. Карта электронной плотности. Как влияет разрешение на карте электронной плотности на распознавание структуры молекулы.

Проблема фаз и как она решается в белковой кристаллографии. Построение Харкера для определения структурных факторов белка и его изоморфно-замещенных производных.

Пространственная структура сывороточного альбумина. Домены.

Силы и взаимодействия в белковой глобуле. Стерические ограничения. Силы ближнего и дальнего порядка в белковой глобуле. Электростатические взаимодействия ионов, ион-дипольные и

диполь-дипольные взаимодействия. Взаимодействия диполь-индуцированный диполь и про силы Лондона. Изменение энергии системы при сближении двух незаряженных атомов. Диаграммы Рамачандрана.

III Биофизика клетки

Живые клетки и биологические мембраны. История изучения биологических мембран. Зависимость коэффициентов проницаемости веществ через мембрану от коэффициентов их распределения. Сравнение модели мембран по Даниели-Давсону и жидко-кристаллической модели. Современное представление о строении мембран. Функции мембран в различных клеточных структурах. Основные функции липидного бислоя в мембранах. Свойства фосфолипидов. Самосборка мембран. Конфигурации жирнокислотных цепей. Кинки.

Виды работы в живой клетке. Природа осмотического давления и работа осмотических сил. Уравнение работы ионных насосов, его связь с уравнением работы при расширении газа. Работы по переносу ионов через мембрану при равенстве концентраций ионов по ее сторонам. Электрохимический потенциал ионов, его физический смысл. Связь константы равновесия со свободной энергией химической реакции. Коэффициент распределения веществ между фазами, гидрофильность и гидрофобность веществ. Равновесный мембранный потенциал. Распределение Больцмана с позиций термодинамики равновесных состояний.

Фазовые переходы липидов в мембранах. Кривые плавления, определение и параметры. Метод флуоресцентных зондов и его применение для измерения кривых плавления. Метод дифференциальной сканирующей микрокалориметрии. Основные параметры кривых ДСК. Определение степени плавления липидного слоя по кривым ДСК. Теория фазовых переходов. Температурная зависимость константы равновесия "жидкость-твердая фаза". Кооперативная единица плавления. Ее экспериментальное определение. Зависимость параметров фазового перехода от размеров кооперативной единицы плавления. Влияние холестерина на фазовые переходы. Феноменология и объяснение.

Поток ионов через мембрану. Определение потока. Направление потоков. Электрохимический потенциал иона. Пассивный и активный транспорт ионов. Диффузия, электрофорез и электродиффузия. Насыщаемый транспорт. Механизм простой диффузии иона через липидный бислой. Подвижность жирнокислотных цепей, кинки и потенциальные ямы. Выведите уравнение диффузии незаряженных частиц в сплошной среде. Связь коэффициента диффузии с вязкостью среды. Уравнение потока молекул через мембрану. Связь проницаемости с вязкостью вещества мембраны. Связь между проницаемостью мембраны и проницаемостью примембранных слоев воды. Для каких молекул или ионов основным барьером служит липидный бислой и почему. Зависимость диффузии и проницаемости от температуры. Энергия активации диффузии.

Электродиффузия и электрофорез. Электрические потенциалы в живой клетке. Профиль потенциала в мембране. Влияние электрического поля на энергетический профиль липидного слоя в мембране. Понятия безразмерного заряда, потенциала и энергии. Вывод общего дифференциального уравнения электродиффузии. Однobarьерная модель ионного транспорта через мембрану. Уравнение переноса незаряженных частиц через мембрану при однobarьерной модели ионного транспорта. Уравнение электрофореза при однobarьерной модели ионного транспорта. Многобарьерная модель ионного транспорта через мембрану. Уравнение Нернста-Планка.

Поры и каналы в биомембранах. Спонтанные поры в липидном бислое. Зависимость энергии от радиуса и трансмембранной разности потенциала. Электрическая стабильность мембран. Строение грамицидинового канала. Ионные токи через одиночные каналы в бислойных липидных мембранах. Методика исследований и результаты. Строение и свойства калиевого канала. Что вы

знаете о молекулярной структуре ионных каналов. Ионные токи через клеточные мембраны. Методика исследований и результаты.

Биопотенциалы клеток. Методы их исследования.

Механизм генерации потенциалов покоя. Условия формирования потенциала Нернста и Доннана. Доннановское равновесие и потенциал Доннана. Основные отличия стационарного состояния от равновесного. Решение дифференциального уравнения электродиффузии (Нернста-Планка) в приближении постоянного поля (Гольдмана). Электрофоретическое уравнение как частный случай уравнения Гольдмана для потока ионов через мембрану. Стационарный мембранный потенциал. Вывод уравнения Гольдмана-Ходжкина. Вклад электрогенной помпы в стационарный мембранный потенциал. Уравнение Томаса. Механизм генерации потенциалов действия. Схема измерения потенциала действия. Форма потенциалов действия, ее качественное объяснение. Связь различных фаз потенциала действия с равновесными ионными потенциалами для ионов калия и натрия. Эквивалентная электрическая схема мембраны по Ходжкину. Зависимость величины ионного тока от величины мембранного потенциала. Вывод уравнения и его физический смысл. Ионные токи через мембрану. Метод фиксации потенциала. Кинетика ионных токов калия и натрия. Последовательность активации и инактивации натриевого канала при развитии потенциала действия.

Распространение возбуждения по нервному волокну. Схема опыта по изучению распространения электрического импульса по нервному волокну (на примере гигантского аксона кальмара). Как зависит плотность ионного тока через мембрану нервного волокна от удельного сопротивления вещества мембраны, ее толщины, удельной емкости, приложенного потенциала и скорости его изменения. Как связана плотность тока, текущего через мембрану, с изменением плотности ионного тока по ходу распространения электрического импульса, (т.е. вдоль волокна). Телеграфное уравнение, описывающее распространение электрического импульса по нервному волокну.

Электрическое поле сердца. Теория электрокардиографии.

Ионные насосы. Механизм активного переноса ионов.

Биоэнергетические функции митохондрий. Перенос электронов в дыхательной цепи. Общая схема строения митохондрии. Наружная и внутренняя мембраны, их строение и функции. Дыхательная цепь митохондрий. Ее состав. Основные переносчики электронов и путь электронов по дыхательной цепи. Участки сопряжения. Дыхательные комплексы Грина. Строение и перенос электронов в дыхательном Комплексе I. Строение и перенос электронов в дыхательном Комплексе II. Строение и перенос электронов в дыхательном Комплексе III. Строение и перенос электронов в дыхательном Комплексе IV. Суперкомплексы. Механизмы переноса электронов между редокс-центрами.

Хемоосмотическая теория Митчела. Схемвокислительного фосфорилирования по Митчелу. Электрохимический потенциал иона. Электрохимический потенциал протона и его составляющие. Почему и где при работе дыхательной цепи происходит перенос протонов через мембрану. Н-АТФ-аза - строение и функции. При каких условиях Н-АТФ-аза митохондрий начинает синтезировать АТФ из АДФ и фосфата, а при каких она будет осуществлять его гидролиз. Перенос ортофосфата и ионов кальция через мембраны митохондрий. Изменение мембранного потенциала в митохондриях при добавлении ортофосфата к среде инкубации органелл. Изменение мембранного потенциала в митохондриях при добавлении солей кальция к среде инкубации органелл. Что происходит, если в среду инкубации митохондрий, содержащей субстраты дыхания и растворенный кислород, добавить фосфат и соли кальция.

Биофизические механизмы нарушения биоэнергетики. Полярографический метод определения содержания кислорода в водном растворе. Условия переноса электронов с инертного (например, платинового) электрода на молекулы в растворе. Полярографическая волна. Зависимость силы тока в полярографической ячейке от содержания кислорода, электропроводности среды и перемешивания. Кривая потребления кислорода в суспензии митохондрий. Функциональные состояния митохондрий по Б. Чансу. О чем говорит снижение потребления кислорода в 3-м (фосфорилирующем) состоянии митохондрий. О чем говорит увеличение потребления кислорода в 4-м состоянии митохондрий (состояние дыхательного контроля). Коэффициент дыхательного контроля.

Электрический пробой липидных и биологических мембран. Электропорация. Ее применение. Пробой БЛМ разностью потенциалов от внешнего источника. Пробой БЛМ собственным ионным диффузионным потенциалом. Влияние перекисидации липидов, фосфолипазы и растяжения мембраны на ее электрическую стабильность. Принцип измерения потенциала пробоя мембран митохондрий. Роль электрического пробоя мембран в условиях патологии.