

УДК 577.3(076.5)

БИОФИЗИКА В СИСТЕМЕ ДИСЦИПЛИН ПОДГОТОВКИ СТУДЕНТОВ-БИОЛОГОВ: ОТ ТЕОРИИ К ПРАКТИКЕ

(Рец. на кн.: Практикум по биофизике / В. Г. Артюхов [и др.] ;
под общ. ред. В. Г. Артюхова ; Воронежский государственный
университет. – Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2016. – 314 с.)

Г. В. Максимов

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию 27 марта 2017 г.

Аннотация: учебное пособие «Практикум по биофизике» рекомендовано для подготовки бакалавров и магистров по специальности «Биология», проведения лабораторных занятий по биофизике, фотобиологии, физико-химическим методам исследования в биологии. Книга написана понятным, доступным научным языком, качественно оформлена, содержит обширный иллюстративный материал и список рекомендуемой литературы. Авторы учебного пособия – специалисты высочайшего класса, в течение многих лет читающие курс лекций и ведущие лабораторный практикум по биофизике.

Ключевые слова: биофизика, биофизические методы исследования, учебное пособие.

Abstract: the manual «Workshop on Biophysics» is recommended for the learning of bachelors and masters in the specialty «Biology», conducting laboratory classes in biophysics, photobiology, physical and chemical methods of research in biology. The book is written by understandable, accessible scientific language, qualitatively framed, contains extensive illustrative material and a list of recommended literature. The authors of the textbook are experts of the highest class, who have been lecturing and conducting a laboratory workshop on biophysics for many years.

Key words: biophysics, biophysical methods of research, textbook.

Курс «Биофизика» входит в состав базовой части блока «Дисциплины» федерального государственного стандарта высшего образования. Базовые дисциплины обеспечивают универсальность, фундаментальность образования и его практическую направленность. Цель курса «Биофизика» – последовательное изложение основ биофизики как самостоятельной науки, имеющей собственные предмет и методы исследования, теоретическую базу и области приложения. Задачи курса – выявление единства в многообразии биологических явлений через раскрытие общих молекулярных механизмов, лежащих в основе биологических процессов.

Для подготовки квалифицированных специалистов необходимо постоянное совершенствование учебного процесса на основе его фундаментализации. Знания, умения и навыки по фундаментальным дисциплинам представляют собой ценность только тогда, когда вписываются как

элемент в общую систему знаний. Поэтому при подготовке современного биофизика важную роль играет практическая работа. Для решения этой задачи необходимо издание учебных пособий для лабораторных занятий. К сожалению, список учебно-методической литературы по биофизике для студентов-биологов классических университетов весьма невелик. Разработанные ранее учебные пособия, как правило, не охватывают молекулярной биофизики, биофизики клеточных и мембранных процессов, фотобиологии, кинетики биопроцессов, теоретических основ современных физико-химических методов анализа состояния биосистем различного уровня организации. Недавно была издана книга «Физика и биофизика. Руководство к практическим занятиям» (Антонов В. Ф. [и др.]. ГЭОТАР-Медиа, 2009; 2-е изд., 2013), но она предназначена для студентов медицинских и фармацевтических вузов. Настоящий «Практикум по биофизике» представляет собой значительно расширенный, переработанный и углубленный вариант учебно-методического пособия, подго-

© Максимов Г. В., 2017

товленного сотрудниками кафедры биофизики и биотехнологии Воронежского государственного университета в 2001 г. В «Практикуме» детально изложены теоретические основы и практическое использование широкого спектра современных физико-химических методов исследования биосистем. «Практикум» включает 18 тем, каждая из которых содержит теоретическую часть, подробные описания методов анализа, устройства приборов и правил их эксплуатации, цели, задачи и этапы выполнения лабораторных работ, контрольные вопросы и задачи, список рекомендуемой литературы, множество графиков, схем и таблиц.

Тема 1 «Спектральные методы анализа» описывает общие принципы спектроскопии, методы оптической молекулярной спектрофотометрии, качественные и количественные показатели поглощения света, закон Бугера–Ламберта–Бера, метрологию фотометрического анализа, дифференциальную и производную спектрофотометрию, спектральные приборы, порядок работы на спектрофотометре ПромЭкоЛаб ПЭ-5400УФ и содержит четыре лабораторные работы («Исследование спектральных характеристик сывороточного альбумина», «Изучение спектральных свойств оксигемоглобина», «Влияние температуры и УФ-света на спектральные свойства оксигемоглобина», «Определение концентрации исследуемого вещества в растворе»).

Тема 2 «Хроматографические методы исследований» содержит информацию о принципах хроматографического анализа, классификации методов хроматографии по агрегатному состоянию фаз, способу элюции, расположению неподвижной фазы, принципу фракционирования; о физико-химических основах хроматографического процесса, основных параметрах хроматограмм, оптимизации условий фракционирования, определении молекулярной массы белков, носителях для молекулярно-ситовой хроматографии. Экспериментальная часть включает четыре лабораторные работы: «Подготовка матрицы и набивка колонки», «Исследование гель-хроматографических свойств оксигемоглобина», «Определение молекулярной массы оксигемоглобина», «Влияние температуры и УФ-света на гель-хроматографические свойства оксигемоглобина».

Тема 3 «Исследование функциональных свойств гемоглобина» характеризует структуру и кислородсвязывающие свойства молекул миоглобина и гемоглобина, влияние на них дифосфоглицерата, эффект Бора, установку для спектрофотометрической регистрации кривых диссоциации оксигемоглобина. Лабораторные работы «Определение показателей кислородсвязываю-

щей способности растворов гемоглобина человека спектрофотометрическим методом», «Влияние 2,3-дифосфоглицерата на кислородсвязывающую способность растворов гемоглобина человека», «Влияние концентрации водородных ионов на кислородсвязывающую способность растворов гемоглобина человека» позволяют сформировать практические навыки анализа функциональных свойств гемобелка.

Тема 4 «Исследование структурно-функциональных свойств биомолекул в условиях воздействия активных форм кислорода» анализирует проблемы генерации и обнаружения активных форм кислорода в биосистемах. Экспериментальная часть посвящена исследованию спектральных и гель-хроматографических характеристик оксигемоглобина в присутствии активных форм кислорода, функциональных свойств лактатдегидрогеназы и ее УФ-чувствительности в присутствии некоторых модифицирующих агентов.

Тема 5 «Исследование структурно-функциональных свойств биополимеров в условиях воздействия некоторых ксенобиотиков» дает представление о ксенобиотиках, их действии на биосистемы. Студенты получают навыки исследования структурно-функциональных характеристик оксигемоглобина человека, модифицированного солями свинца и кадмия, додецилсульфатом натрия, оксидом углерода.

Тема 6 «Электрофоретические методы анализа биосистем» описывает электрохимические свойства белков и их электрофоретическое поведение, теоретические основы метода, особенности процесса, основные этапы анализа, оборудование для электрофореза, виды электрофоретических методов исследования, диск-электрофорез в полиакриламидном геле, правила техники безопасности при работе с электрофоретическими приборами. Экспериментальная часть содержит четыре лабораторные работы: «Подготовка реактивов для проведения диск-электрофореза в ПААГ», «Исследование электрофоретических свойств оксигемоглобина человека», «Денситометрирование электрофореграмм оксигемоглобина человека и их анализ», «Влияние температуры и УФ-света на электрофоретические свойства оксигемоглобина».

Тема 7 «Математическое моделирование биофизических процессов» знакомит обучающихся с ролью и местом математических моделей в биологии, определением понятия «модель», объектами, целями и методами моделирования, классификацией моделей, этапами математического моделирования, регрессионными моделями в биофизических исследованиях и позволяет сфор-

мировать базовые навыки математического моделирования на примере построения регрессионной модели процесса сатурации интактного (или модифицированного) гемоглобина человека.

Тема 8 «Определение гидродинамического радиуса макромолекул методом динамического рассеяния света» формирует понятие об электромагнитном поле, излучении и фотонах, исторических предпосылках и теоретических основах метода, спектрометре Photocor Complex и программном пакете Dynals. Лабораторные работы «Определение гидродинамического радиуса молекул бычьего сывороточного альбумина (БСА) методом динамического рассеяния света», «Определение гидродинамического радиуса молекул полигемоглобина», «Определение гидродинамического радиуса молекул полигемоглобина, сшитых с ферментами – супероксиддисмутазой и каталазой», «Определение гидродинамического радиуса молекул белков и моделирование с помощью аппроксимирующей функции взаимосвязи размера и массы биополимера» направлены на выработку практических навыков работы с высокотехнологичным оборудованием.

Тема 9 «Исследование структурных свойств белков методом протолитометрического титрования» посвящена анализу понятия «ионная сила раствора» и метода потенциометрического титрования, буферных свойств белковых молекул, в частности гемоглобина. Подробно описаны установка для протолитометрического титрования, метод определения количества ионогенных групп, способ расчета спектра буферной ёмкости белка. Лабораторные работы «Изучение буферных свойств растворов оксигемоглобина крови доноров», «Изучение термоиндуцированных изменений в структуре молекулы белка методом кислотно-основного титрования», «Изучение буферных свойств растворов УФ-модифицированного оксигемоглобина» демонстрируют возможности применения теоретических знаний на практике.

Тема 10 «Окислительная модификация биомолекул (биосистем)» описывает механизмы образования свободных радикалов, биологическое значение и физиологическую роль свободнорадикальных реакций, повреждение биомолекул активными формами кислорода, окислительную модификацию белков плазмы крови и белковый состав плазмы крови. Экспериментальная часть посвящена исследованию влияния УФ-облучения на уровень окислительной модификации белков плазмы крови.

Тема 11 «Исследование структурных свойств эритроцитов методом регистрации осмотических и кислотных эритрограмм» содержит материалы

об общей морфологии и строении эритроцитов и их мембран, гемолизе и методе регистрации эритрограмм. Тема включает четыре лабораторные работы, посвященные изучению осмотической и кислотной резистентности, влияния химических и физических факторов на кинетику гипоосмотического гемолиза, структурных свойств УФ-модифицированных эритроцитов.

Тема 12 «Использование метода вискозиметрии для исследования структурного состояния биомолекул» охарактеризовывает виды вязкости, ньютоновские и неньютоновские жидкости и реологические кривые, вязкость крови и ее компонентов, методы измерения вязкости. Практические навыки вырабатываются при выполнении лабораторных работ («Калибровка вискозиметра», «Определение вязкости растворов неорганических солей, растворов сахарозы различной концентрации, растворов белков, относительной вязкости плазмы и сыворотки крови человека»).

Тема 13 «Кинетика ферментативного катализа» раскрывает основы явления ферментативного катализа, понятие о единицах ферментативной активности, описывает структурно-функциональные свойства каталазы. Практические навыки анализа кинетических свойств ферментов развиваются при выполнении лабораторных работ (определение функциональной активности каталазы, в том числе при различных концентрациях субстрата и в условиях термомодификации).

Тема 14 «Исследование функциональных свойств мембранных ферментов» кратко описывает структурно-функциональные свойства ацетилхолинэстеразы и Na^+/K^+ -АТФазы. Экспериментальная работа посвящена выделению эритроцитарных мембран, определению функциональной активности ацетилхолинэстеразы и мембраносвязанной Na^+/K^+ -АТФазы.

Тема 15 «Применение оптических методов в энзимодиагностике» содержит сведения об использовании ферментов в медицинской практике и описание методов исследования активности ферментов. Лабораторные работы посвящены исследованию каталитической активности лактатдегидрогеназы и аминотрансфераз в сыворотке крови спектрофотометрическим методом.

Теоретическая часть темы 16 «Хемилюминесцентный метод анализа» излагает сведения о молекулярных механизмах процесса, активных формах кислорода и хемилюминесценции фагоцитов, свечении при реакциях пероксидного окисления липидов, роли нейтрофилов в поддержании иммунного гомеостаза организма. Экспериментальная часть направлена на освоение методов выделения нейтрофилов и лимфоцитов из

крови доноров, определения интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции нативных и УФ-облученных нейтрофильных лейкоцитов, исследования интенсивности процессов перексидного окисления липидов в иммунocyтах.

Тема 17 «Исследование механизмов апоптоза» определяет морфологические признаки, физиологическое значение апоптоза, участие каспаз, пути реализации, регуляции и методы исследования апоптоза. Особое внимание уделено путям реализации апоптоза, индуцированного УФ-светом. Для выполнения предложены лабораторные работы: «Определение уровня экспрессии Fas-рецепторов лимфоцитов методом ИФА», «Определение активности каспазы-3 лимфоцитов при помощи флуоресцентного метода», «Выделение ДНК из лимфоцитов и исследование ее электрофоретических свойств».

Тема 18 «Использование радиометрического метода для определения активности радионуклидов» содержит информацию о радиоактивности и видах излучений, взаимодействиях радиоактивного излучения с веществом, использовании радионуклидов и ионизирующих излучений в медицине и биологии, детекторах ионизирующих излучений, работе со счетной установкой типа Б-3, дозиметром-радиометром МКГ-01. Тема включает три лабораторные работы: «Определение β -радиоактивности препарата с заданной степенью точности», «Измерение активности радиоактивного препарата, мощности дозы и плотности потока β -частиц в зависимости от геометрических условий счета», «Исследование проникающей способности β -частиц и γ -квантов».

Учебное пособие «Практикум по биофизике» рекомендовано для подготовки бакалавров и магистров по специальности «Биология», проведения лабораторных занятий по биофизике, фо-

тобиологии, физико-химическим методам исследования в биологии. Вместе с тем необходимо отметить, что в настоящее время в биофизических исследованиях активно развивается *экологическое направление*: изучение физико-химических механизмов адаптации и устойчивости организмов в экстремальных условиях среды, выяснение механизмов взаимодействия организма со средой на уровне макромолекул и макромолекулярных комплексов, исследование строения и функционирования мембранных структур, субклеточных частиц, а также клеточных ансамблей, популяций и их сообществ. Такие исследования требуют использования точных, высокочувствительных и высокоинформативных методов, арсеналом которых располагает современная биофизическая наука; многие из них описаны в рецензируемом «Практикуме». Возможности этих методов позволяют применять их для проведения качественного и количественного анализа, изучения структурного состояния и механизмов функционирования биомacroмолекул и их комплексов в условиях воздействия неблагоприятных факторов, фото- и радиобиологических процессов, т. е. решать проблемы, связанные с мониторингом состояния среды и ее качества для жизни. Изложенное выше говорит о необходимости освоения теоретических основ биофизики и приобретения навыков практической работы студентами и аспирантами, специализирующимися в области экологии, рационального природопользования и охраны окружающей среды.

Книга написана понятным, доступным обучающимся научным языком, качественно оформлена, содержит обширный иллюстративный материал и список рекомендуемой литературы. Авторы учебного пособия — специалисты высочайшего класса, в течение многих лет читающие курс лекций и ведущие лабораторный практикум по биофизике.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

Максимов Г. В., доктор биологических наук, профессор кафедры биофизики биологического факультета

E-mail: noc@biophys.msu.ru

Тел.: 8 (495) 939-11-16

Moscow State University named after M. V. Lomonosov

Maksimov G. V., Dr. Habil. in Biology, Professor of the Biophysics Department

E-mail: noc@biophys.msu.ru

Tel.: 8 (495) 939-11-16