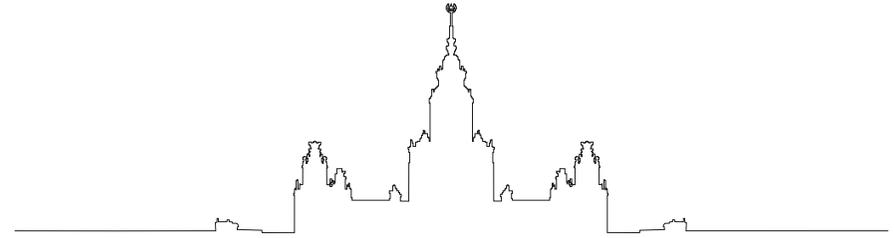
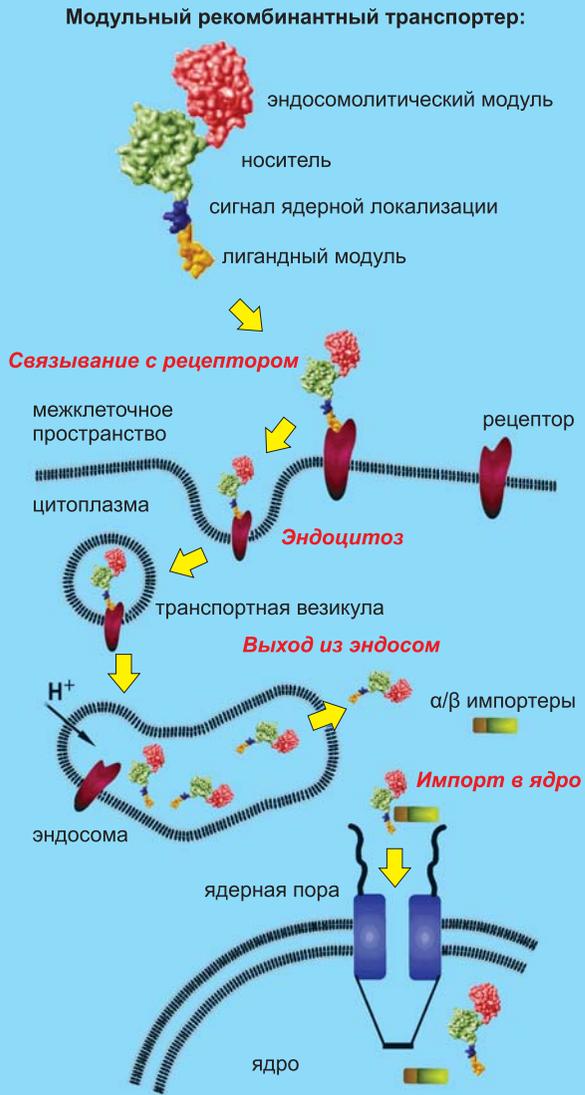


Дается определение биологической дисциплины «Биофизика». Обсуждаются проблемы, стоящие перед биофизикой, и ее современное состояние. Показано, какое образование необходимо получить для успешной работы в области биофизики.

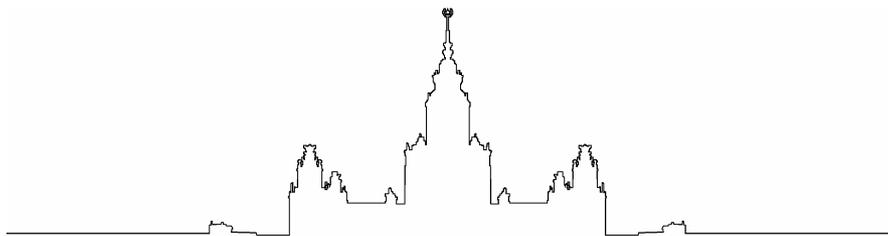


# БИОФИЗИКА



Модульные рекомбинантные транспортеры применяются для адресной доставки в ядро клетки лекарственных веществ (см. стр. 30).





# **БИОФИЗИКА**

**Научная работа на кафедре биофизики  
биологического факультета  
Московского государственного университета  
им. М.В. Ломоносова**

Москва, 2008

**Научная работа на кафедре биофизики биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова**  
Рубин А.Б., Аксенов С.И., Булычев А.А., Веселовский В.А.,  
Веселова Т.В., Гончаренко Е.Н., Иванов И.И., Кольс О.Р.,  
Красильников П.М., Кренделева Т.Е., Кудряшов Ю.Б., Курелла Г.А.,  
Лукашев Е.П., Максимов Г.В., Маторин Д.Н., Нокс П.П., Пащенко В.З.,  
Погосян С.И., Ризниченко Г.Ю., Семин Б.К., Соболев А.С.,  
Страховская М.Г., Тимофеев К.Н., Туровецкий В.Б., Федоров Г.Е.,  
Фрайкин Г.Я. и  
другие сотрудники и преподаватели кафедры биофизики.

В настоящем издании дается краткая характеристика научно-исследовательской работы, которую ведут преподаватели, сотрудники, аспиранты и студенты кафедры биофизики. Читатель познакомится с направлениями научно-исследовательской и научно-практической работы в области такой широко объемлющей биологической дисциплины, каковой является современная биофизика, узнает, какие знания ему предстоит приобрести, если он захочет посвятить себя этой науке. Издание предназначено для старшеклассников и абитуриентов.

**Кафедра биофизики** биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова  
Направление (отделение) – БИОЛОГИЯ-3  
Специальность – БИОФИЗИКА  
Прием студентов с I курса  
Заведующий кафедрой – чл.-корр. РАН, д.б.н., профессор,  
лауреат Государственной премии А.Б. РУБИН

**Специализации:**

- общая биофизика
- радиационная биофизика
- экологическая биофизика
- медицинская биофизика

119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы,  
МГУ, Биологический ф-т, каф. биофизики

Телефон (495) 939-1116

Факс (495) 939-1115

E-mail noc@biophys.msu.ru

Сайт <http://www.biophys.msu.ru/>

# ВВЕДЕНИЕ

**БИОФИЗИКА** (*биологическая физика*) – наука о физических и физико-химических механизмах взаимодействий, лежащих в основе биологических процессов, протекающих на разных уровнях организации живой материи – молекулярном, клеточном, организменном и популяционном. Ее возникновение было стимулировано и подготовлено физиологией и биохимией, а само становление и развитие проходило при тесном взаимодействии биологии с физикой, физической химией и математикой.

Современные успехи биофизики напрямую связаны с достижениями в области физики и химии, с развитием и совершенствованием новых методов исследования и теоретических подходов, применением вычислительной техники, математическим и компьютерным моделированием.

*Теоретическая биофизика* решает общие проблемы термодинамики биологических систем, динамической организации и регуляции биологических процессов, исследует физические и физико-химические свойства макромолекул и их комплексов, устойчивость и динамическую подвижность, механизмы трансформации энергии. Основная тенденция теоретической биофизики – возникновение в молекулярные механизмы, лежащие в основе биологических явлений, познание физической природы взаимодействий в живых объектах.

Достижением биофизики, имеющим общеприкладное значение, является понимание термодинамических свойств организмов и клеток как открытых систем, раскрытие механизмов нелинейных колебательных процессов в биологических системах. На основании теории автоволновых процессов в активных средах строятся модели морфогенеза, роста бактериальных культур, распространения нервного импульса и нервного возбуждения в нейронных сетях.

*Биофизика клетки* изучает свойства биологических мембран, их молекулярную организацию, конформационную подвижность белковых и липидных комплексов, молекулярное строение и механизмы функционирования ионных каналов и межклеточных взаимодействий.

Важное место занимает квантовая биофизика, изучающая начальные этапы взаимодействия биологических структур с квантами света (фотосинтез, зрение, воздействие на кожные покровы и т.д.), механизмы биолюминисценции и фототропных реакций, действие ультрафиолета и видимого света (фотодинамические эффекты) на биологические объекты.

При изучении пространственного строения и физико-химических свойств биологических систем на молекулярном уровне огромное

значение имеет использование современных экспериментальных методов, таких как методы рентгеноструктурного анализа, радиоспектроскопии (ядерного магнитного резонанса – ЯМР, электронного парамагнитного резонанса – ЭПР), спектрофотометрии, атомной силовой микроскопии, лазерной спектроскопии. Они дают возможность получать информацию о механизмах молекулярных превращений без нарушения целостности биологических объектов. Так, современные методы лазерной спектроскопии дают непосредственную информацию о кинетике фотоиндуцированных электронных переходов и колебаниях атомных групп в диапазоне от 50 – 100 фемтосекунд до  $10^{-12}$  –  $10^{-6}$  с и более. Биофизические методы используются для исследования механизмов функционирования липидов, белков и нуклеиновых кислот, их самосборки и внутримолекулярной подвижности.

Достижения в области биофизики широко используются в медицине, биотехнологии и экологии. Медицинская биофизика занимается выявлением в организме (клетке) на молекулярном уровне начальных стадий патологических изменений. Ранняя диагностика заболеваний основана на регистрации спектральных изменений, люминисценции, электрической проводимости образцов крови и тканей, сопровождающих заболевания.

Экологическая биофизика анализирует устойчивость экосистем, влияние абиотических факторов (температура, свет и др.) на организмы, их жизнеспособность и устойчивость при действии загрязняющих веществ. Важнейшей задачей экологической биофизики является развитие экспресс-методов для оценки состояния экосистем.

Объекты биофизики разнообразны – от микроорганизмов до представителей растительного и животного царства, от одиночного организма до популяции, от биомакромолекул до биосферы.

Круг знаний, которые необходимы биофизику, весьма широк. Это относится как к естественным наукам (математика, физика, химия, физическая химия), так и к различным биологическим дисциплинам. Можно, перефразируя известное изречение, сказать: «Настоящий ученый должен знать все о чем-то и чтонибудь обо всем».

В научной работе кафедры биофизики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова представлены основные направления современной биофизики. Практические занятия на кафедре тесно увязаны с началом самостоятельной научно-исследовательской работы студентов по выбранному направлению. Кафедра осуществляет широкие контакты со многими учебными, учебно-научными и научно-практическими учреждениями в области фундаментальной биологии, медицины, сельского хозяйства, экологии и др. Подготовка, полученная на кафедре биофизики, позволяет выпускникам успешно работать в самых разных областях фундаментальной и прикладной науки.

# ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ БИОФИЗИКА

*Теоретическая биофизика* изучает общие проблемы организации и регуляции живых систем разного уровня организации на основе законов квантовой механики, кинетики и термодинамики. Основным методом теоретической биофизики является математическое и компьютерное моделирование, которое все чаще становится инструментом исследования как общих закономерностей, так и особенностей организации конкретных живых систем всех уровней, начиная от биомакромолекул и их взаимодействий, и кончая экологическими системами и биосферой в целом.

Универсальной элементарной ячейкой живой материи является биологическая клетка, в которой сконцентрированы все необходимые атрибуты феномена жизни. Одним из основополагающих структурно-функциональных элементов живой клетки является *мембрана*, которая отделяет ее от внешнего мира. Мембрана представляет собой бислойную липидную оболочку, в которую встроены различные белковые молекулы и целые макромолекулярные агрегаты. На поверхности мембраны протекают разнообразные биохимические реакции, необходимые для поддержания жизнедеятельности клетки.

Фундаментальной особенностью живой клетки является то, что она представляет собой совершенную биоэнергетическую машину. Растительные и некоторые бактериальные клетки осуществляют процесс превращения световой энергии в электрическую – фотосинтез. Такие клетки можно назвать биологическими электростанциями, генерирующими энергоемкое соединение – аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ), которая является универсальным биологическим топливом.

Создание трансмембранной разности потенциалов сопряжено с процессом разделения зарядов, т.е. с переносом электронов и протонов через мембрану. Перенос зарядов осуществляется не только в ходе фотосинтеза и дыхания; в той или иной степени процесс переноса зарядов, главным образом электронов и протонов, представлен во многих биохимических реакциях. Изучение физических механизмов, благодаря которым осуществляется перенос зарядов в макромолекулярных биологических системах, представляет актуальную задачу современной биофизики.

Глубокое понимание молекулярных механизмов различных биологических процессов невозможно без широкого использования фундаментальных представлений современной физики, в том числе *квантовой механики*. Например, основу механизма элементарного акта переноса электрона в биологических структурах представляет

туннельный эффект – чисто квантовое явление, не имеющее аналога в классической, т.е. не квантовой, механике. Суть его состоит в том, что в квантовом мире вероятность того, что электрон преодолеет энергетический барьер, не равна нулю, даже если его энергия меньше высоты этого барьера.

Описание физических свойств и динамики биологических молекул представляет собой весьма трудную. В этой связи в практику описания биологических систем и процессов все более широко внедряются современных компьютерные методы численного моделирования. При описании молекулярных процессов необходимо учитывать многие факторы, определяющие эффективность биологических процессов. К таким факторам в первую очередь относится внутримолекулярная конформационная динамика взаимодействующих молекул. Например, скорость и эффективность переноса электрона при первичном разделении зарядов в фотосинтезе существенно зависит от конформационной динамики молекул переносчиков. Для компьютерного моделирования молекулярных процессов используются различные методы квантовой механики, квантовой химии и молекулярной динамики. В настоящее время эти методы являются основными инструментами теоретического изучения сложных молекулярных процессов.

Одним из наиболее важных структурных факторов, определяющих строение и конформационную динамику биологических макромолекул, являются *водородные связи* (особый тип химической связи). Изучение роли водородных связей в конкретных биологических процессах представляет актуальную задачу, в решении которой также помогают методы компьютерного моделирования. С помощью этих методов можно исследовать динамические свойства молекулярных систем, которые недоступны прямому наблюдению.

Молекулярные структуры с сильно развитой системой водородных связей – сеткой водородных связей – обладают способностью проводить электрический ток, причем носителем заряда является протон – ядро атома водорода. Перенос протона осуществляется по так называемому эстафетному механизму. В мембранах существуют специальные каналы, которые переносят протоны с одной стороны мембраны на другую, т.е. осуществляют протонный транспорт. Такой канал представляет собой специальную пору, в которой находится вытянутая цепочка молекул воды, связанных друг с другом водородными связями. Перенос протона через мембрану происходит таким образом, что один протон присоединяется к этой водной цепочке, например, со стороны цитоплазмы и инициирует сдвиг протонов в водородных связях этой цепочки. В результате этого с внешней поверхности мембраны от водной цепочки отщепляется протон, который

находился на внешнем конце этой цепочки. Таким образом, перенос протона на расстояние, равное толщине мембраны, происходит в результате поэтапного смещения отдельных протонов на существенно меньшие (примерно в 200 раз) расстояния.

При изучении конкретных молекулярных процессов, протекающих в биосистемах, необходимо принимать во внимание все возможные факторы и взаимодействия, так как в молекулярных системах (впрочем, как и в нашей жизни) «все влияет на все». Рассмотрим, например, такой фактор, как *температура среды*. Всем известно, что температура человеческого организма должна быть порядка 36 – 37°C. Возникает вопрос, какими особенностями биологических структур определяется такое значение температуры? Что происходит при нарушении нормального функционирования организма из-за увеличения или понижения внутренней температуры тела человека? Этот вопрос относится и к любым другим живым системам, хотя температурный диапазон может немного варьировать.

Изучение температурной зависимости эффективности электронного переноса в конкретных молекулярных процессах позволяет находить ответы или делать те или иные предположения о механизмах влияния температуры на свойства белковых молекул. В этом случае процесс электронного транспорта является зондирующим процессом, с помощью которого тестируются гипотезы о возможных изменениях в конформационном состоянии молекул, участвующих в электрон-транспортном процессе. Использование процесса электронного транспорта в качестве инструмента для изучения микро- и макроконформационных состояний макромолекул, а также тех релаксационных процессов, которые ответственны за структурную перестройку молекулярной системы, является весьма эффективным. Особое значение приобретают методы компьютерного моделирования, с помощью которых можно рассчитывать конфигурации молекул, соответствующие минимуму энергии системы, т.е. такие конфигурации, которые в реальных структурах реализуются с наибольшей вероятностью.

Теоретические работы кафедры направлены на решение вопроса о том, каким образом свойства элементов системы и механизмы их взаимодействия определяют поведение целостной системы. Это – классический научный подход системного анализа и математического моделирования. Биологические системы – сложные многоуровневые системы, протекающие в них процессы имеют сложную пространственно-временную иерархию. Для того, чтобы понять, как компоненты системы нижнего (например, молекулярного) уровня и их взаимодействия определяют процессы на верхнем (например, клеточном) уровне, полезно строить

математические или компьютерные модели, которые формализуют и интегрируют наши представления о компонентах системы и их взаимодействиях.

Качественное (а иногда и количественное) представление о ходе процессов во времени и пространстве можно получить с помощью *кинетических моделей*, которые представляют собой системы дифференциальных уравнений, описывающих процессы во времени и пространстве.

Динамику биомолекул, изменение их пространственной структуры и локальные электрические взаимодействия невозможно описать только с помощью традиционных дифференциальных уравнений. Здесь используются имитационные подходы, которые мы называем *прямым многочастичным моделированием*. Этот тип моделирования стал возможным недавно в связи с развитием компьютерной техники. Мы начали его использовать для описания наиболее хорошо изученных процессов в биомембранах. Он также применим и для описания других процессов в живой клетке, лишь бы мы располагали достаточными сведениями о свойствах отдельных элементов системы и их взаимодействиях. Сюда относятся как структурные данные о биомолекулах, мембранах и других субклеточных наноструктурах, так и физические законы их взаимодействия.

Постановка задачи моделирования, формулировка модели и идентификация параметров – предмет совместной работы специалистов в области биологии, физики, математики, программирования и собственно моделирования.

В настоящее время на кафедре ведутся работы по кинетическому и компьютерному моделированию процессов в растительной клетке на молекулярном, субклеточном и клеточном уровне.

**Кинетические модели процессов в фотосинтетической мембране** описывают с помощью дифференциальных уравнений процессы переноса электрона и трансмембранного переноса ионов. Модели отражают представления о механизмах процессов и о скоростях отдельных реакций, описывают кинетику окислительно-восстановительных превращений компонентов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). Результаты численных экспериментов численно воспроизводят кривые индукции флуоресценции и кинетику электрического потенциала, наблюдаемые в эксперименте на суспензиях хлоропластов и клеток водорослей, а также на листьях зеленых растений. Анализ экспериментальных кривых для разных условий в эксперименте и в природе позволяет сделать выводы о том, как меняются внутренние параметры фотосинтетического аппарата при изменении светового режима,

при серном и азотном голодании, голодании, в присутствии токсичных агентов.

Мы разрабатываем также модели, описывающие связь фотосинтетического электронного транспорта с метаболическими процессами в растительной клетке. Моделирование влияния различных регулирующих факторов позволяет установить, к каким изменениям фотосинтетического аппарата приводят изменения внешней среды (голодание, тепловой шок, ингибиторы). Целью такого рассмотрения является создание своеобразного «определителя», позволяющего оценить места регуляции системы первичных процессов, затронутые тем или иным воздействием.

**Прямые многочастичные модели взаимодействия белков** призваны ответить на вопрос, как характеристики отдельных молекул (структура, форма, распределение локальных зарядов) и молекулярных комплексов, взаимодействуя в ансамбле *in vitro* или в сложном интерьере клетки, проявляются в виде «макропоказателей», которые мы регистрируем биохимическими или спектральными методами. Речь идет в первую очередь о кинетике процесса – то есть об изменении концентраций взаимодействующих молекул.

С использованием баз данных по белкам строятся модели, учитывающие пространственную структуру белков и их электрические заряды (эквипотенциальные поверхности). На компьютере имитируется броуновское движение нескольких сотен молекул белков в растворе, изучается процесс докинга – образования комплекса двух белков, предшествующее акту реакции (например, при окислительно-восстановительной реакции – переносу электрона с реакционного центра одной молекулы на реакционный центр другой). В отличие от молекулярной динамики, где моделируется отдельная молекула или молекулярный комплекс, в прямых многочастичных моделях мы рассматриваем ансамбли взаимодействующих молекул. На вероятность их взаимодействия влияет не только структура и форма молекул, их локальные заряды, но и свойства (например, вязкость) среды, геометрия объема, в котором происходит взаимодействие.

Изучаются детали электростатического взаимодействия отдельных белков-переносчиков. Белки представлены в виде твердых тел с пространственно фиксированными зарядами. Поступательное и вращательное движение белков является результатом взаимодействия броуновских и электростатических сил. Для пространственного описания электростатического потенциала, генерируемого вокруг белков, используется формализм Пуассона-Больцмана.

На основании представлений о механизмах единичного акта докинга и законах движения молекул модель позволяет понять, от каких биофизических величин зависит величина константы скорости реакции, которой мы привыкли оперировать в экспериментальных исследованиях и кинетических моделях. Знания о деталях взаимодействия отдельных белков и их влияния на общую скорость реакции важны для биомедицинских исследований, биоинженерии, биоэнергетики. Прямое моделирование фотосинтетических процессов позволяет выявить роль структурной организации в формировании кинетических сигналов, регистрируемых в биофизических экспериментах (флуорометрия, ЭПР и др.), и исследовать процессы в пространстве и времени на субклеточном уровне.

## **БИОФИЗИКА КЛЕТКИ И МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ**

Разнообразие живых систем во многом определяется многообразием структуры и функции клеточных мембран. Они не только формируют клетку и внутриклеточные структуры, отделяют клетку от внешней среды, защищают ее от проникновения патогенных и чужеродных соединений, но и играют роль селективного, тонко регулируемого, барьера. Кроме того, мембраны – ключевой элемент в генерации электрических импульсов, осуществлении межклеточных контактов, преобразовании и запасании в форме АТФ энергии света и окислительно-восстановительных реакций, а также в регуляции процессов секреции, повреждения и старения клетки. Мембранные рецепторы обеспечивают восприятие света, химических медиаторов, механических стимулов, температуры, электрического поля и др. Чем меньше размеры клеток, тем больше их удельная поверхность и тем более важную роль играют мембраны в жизнедеятельности клетки. Все эти процессы и явления, механизмы их взаимодействия и регуляции составляют важный раздел современной биофизики клетки.

**Первичные физико-химические молекулярные процессы.** На кафедре проводятся исследования процессов генерации и проведении возбуждения в нервных клетках (нейрон, глиальная клетка и аксон). Изучается состояние плазматических мембран и основные процессы ионного транспорта. Выявлены изменения ряда параметров, характеризующих состояние плазматической мембраны (мембранный потенциал, содержание мембраносвязанного  $Ca^{2+}$ , ритмическое возбуждение), субклеточных органелл (потенциал внутренней мембраны митохондрий, содержание восстановленных флавопротеинов, вязкость мембран) и цитоплазмы (изменение показателя преломления) пейсмекерного нейрона при действии нейромедиаторов.

Процессы перераспределения  $\text{Ca}^{2+}$  между плазматической мембраной и внутриклеточными органеллами в пейсмекерном нейроне исследуют при термо-, хемо- и механостимуляции локализованных в коже экстерорецепторов и при воздействии нейромедиаторов и NO на нейрон в составе ганглия. Установлено, что изменения электрической активности нейронов при стимуляции экстерорецепторов и действии нейромедиаторов сопровождаются перераспределением  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме: десорбцией  $\text{Ca}^{2+}$ , связанного на плазматической мембране клетки, увеличением концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме, входом  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондрии и стимуляцией работы электрон-транспортной цепи, а также связыванием  $\text{Ca}^{2+}$  субклеточными структурами и регулярными изменениями оптической плотности цитоплазмы.

Развиваемое направление непосредственно связано с нейрофизиологией и физиологией крови, цитологией, а также нейрохимией, молекулярной биологией и моделированием. Эти работы имеют важное практическое применение в рамках медицинской биофизики (см. стр. 29).

Основным подходом данных исследований является работа на нативных (то есть находящихся в природном состоянии) функционирующих объектах – изучение биоэлектrogenеза, переноса кислорода эритроцитами и др. Применяются микроэлектродные методы («пэтч-клямп»), методы микроскопии (флуоресцентная микроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния, интерференционная микроскопия, конфокальная микроскопия), а также радиоспектроскопия (ЭПР, ЯМР) и изотопные методы.

**Мембранные процессы в растительной клетке.** Работы нацелены на изучение электрохимических и фотобиологических процессов, протекающих в хлоропластах и на плазмалемме клетки в индукционный период фотосинтеза и на стадии стационарного фотосинтеза.

Изучается фотогенерация мембранного потенциала  $\Delta\phi$  в хлоропластах. Наиболее быстрые изменения мембранного потенциала (от 10 мкс до 1 с), протекают на тилакоидных мембранах хлоропластов. С использованием уникально крупных хлоропластов печеночного мха *Anthoceros* установлено, что мембранный потенциал, наряду с градиентом pH ( $\Delta\text{pH}$ ), играет важную роль в биоэнергетике в качестве движущей силы для синтеза АТФ. Измерения  $\Delta\phi$  позволяют оценивать проводимость тилакоидных мембран и сопрягающего фактора.

Электрический потенциал тилакоидов оказывает существенное влияние на фотосинтетический перенос электронов, что проявляется в изменениях флуоресценции хлорофилла одиночных хлоропластов при сдвигах  $\Delta\phi$  за счет пропуска тока через микроэлектрод. В зависимости от редокс-состояния первичного

акцептора электронов в фотосистеме II (ФС II), биполярные импульсы тока вызывают симметричные или асимметричные сдвиги флуоресценции. Предложена математическая модель, объясняющая влияние  $\Delta\phi$  на флуоресценцию хлоропластов.

Явления возбудимости отвечают за быстрое закрывание листьев у сейсмочувствительных (мимоза) и ряда насекомоядных растений. Потенциалы действия (ПД) возникают и в проводящих пучках многих высших растений в ответ на механические и температурные стимулы. Вместе с тем, исследования на *Anthoceros* показали, что импульсы типа ПД могут возникать в ответ на короткое (3 с) яркое освещение. Генерация импульсов исчезает при подавлении фотосинтеза и активности  $H^+$ -АТФазы растительной клетки. Генерация ПД под влиянием импульса света сопровождается длительными (10–15 мин) изменениями в состоянии фотосинтетического аппарата.

Светозависимая пространственная самоорганизация потоков  $H^+$  и активности фотосинтеза наблюдается в клетках харовых водорослей, удобных для исследования многих фундаментальных биологических процессов, поскольку они совмещают способность к фотосинтезу с электровозбудимостью и способностью формировать кальциевые отложения. У неосвещенных клеток водоросли *Chara* (длина одной клетки которых может достигать 10 см) профиль рН среды однороден по длине клетки, однако на свету в профиле рН возникают чередующиеся кислые и щелочные зоны с перепадом рН порядка 3-х единиц. Неоднородный профиль рН отражает гетерогенное распределение активных транспортных систем плазмалеммы, он согласован с профилем фотосинтетической активности в слое хлоропластов. Создана математическая модель происходящих процессов.

Недавно установлено, что однократная генерация ПД сглаживает неоднородный профиль рН на период до 10–40 мин в зависимости от интенсивности света и уровня  $Ca^{2+}$  в среде. Влияние короткого электрического сигнала – ПД – аналогично эффекту длительного (~20 мин) помещения клетки в темноту. Сглаживание профиля рН обусловлено остановкой  $H^+$ -насоса в кислых зонах и снижением  $H^+$ -проводимости в щелочных зонах. Генерация ПД вызывает быстрое подавление фотосинтетического переноса электронов, более сильное в щелочных зонах. Анализ световых зависимостей и действия ионофоров говорит о том, что влияние ПД на флуоресценцию хлорофилла и квантовый выход переноса электронов в фотосистеме II обусловлено возрастанием  $\Delta pH$  на тилакоидной мембране. Нарушение согласованных функций хлоропластов и плазмалеммы под влиянием ПД, вероятно, вызвано почти 100-кратным повышением в цитоплазме уровня  $Ca^{2+}$ , являющегося регулятором многих внутриклеточных процессов.

**Проницаемость клеточных мембран для малых незаряженных молекул (неэлектролитов) и газов.** Хотя давно высказывались предположения о том, что в клеточных мембранах существуют поры для просачивания воды, длительное время преобладало мнение, что она просто диффундирует через клеточную мембрану. В конце 1950-х годов было установлено, что в мембранах эритроцитов есть специальные каналы, через которые вода проходит, а ионы – нет. При этом клеточный «водопровод» обладает потрясающей пропускной способностью: до миллиарда молекул воды в секунду. Логично было предположить, что, как и в случае других веществ, например сахаров и аминокислот, транспорт воды через мембрану происходит с помощью белка. Но какой именно белок выполняет данную функцию? Этот вопрос довольно долго оставался без ответа.

Отсутствие заряда у частиц существенно затрудняет исследование их трансмембранного транспорта, и до последнего времени транспорт неэлектролитов оставался наименее изученным. Недавно было показано, что мембранный белок аквапорин образует в мембране водную пору, непроницаемую для ионов. Пространственная структура аквапорина напоминает цилиндрический канал, по которому движутся молекулы воды. Аминокислоты в белке расположены таким образом, что полярность создаваемого ими электростатического поля «переключается» в центре молекулы на обратную. Поэтому молекулы воды, дойдя до середины канала, переворачиваются так, что их дипольные моменты в верхней и нижней части канала направлены в противоположные стороны. Такое переориентирование предотвращает просачивание через канал ионов. К настоящему времени известно около 200 разновидностей белков водных каналов у растений и животных, в том числе 11 – у человека. Благодаря аквапоринам клетки не только регулируют свой объем и внутреннее давление, но и выполняют такие важные функции, как всасывание воды в почках животных и корешках растений.

Открытие аквапоринов стимулировало интерес к чрезвычайно важной проблеме функционирования клетки – механизм трансмембранного транспорта молекул простых газов и других малых незаряженных молекул. Прежде всего это касается молекулярного кислорода и его синглетно возбужденной формы, а также  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{NH}_3$  и др. Постоянный и интенсивный транспорт кислорода через клеточные мембраны – яркая особенность аэробной жизни, обусловленная в первую очередь его необходимостью для процессов дыхания и окислительного фосфорилирования. До последнего времени господствовало мнение, что диффузионное сопротивление липидного бислоя для кислорода практически не отличается от сопротивления слоя воды

аналогичной толщины, и его трансмембранный транспорт осуществляется путем простой диффузии.

В последние годы на кафедре биофизики развернуты систематические исследования мембранного транспорта малых незаряженных молекул и, в первую очередь, кислорода. С помощью специально разработанного прямого метода измерения трансмембранного потока кислорода было установлено, что диффузионное сопротивление липидных слоев для кислорода на два – три порядка выше, чем ранее полагали. Это связано с существованием кислородных каналов в клеточных мембранах, осуществляющих интенсивный кислородный транспорт. Прежде всего, это относится к мембранам эритроцитов, содержащих значительное количество аквапорина.

Найдены условия, при которых интенсивность потока кислорода определяется диффузионным сопротивлением мембраны эритроцитов, а диффузионное сопротивление водной фазы, окружающей клетку, минимизируется. Установлено, что диффузионное сопротивление мембраны эритроцитов для кислорода существенно меньше, чем можно было ожидать в условиях простой диффузии через липидный бислой. Ингибирование каналов аквапоринов приближает диффузионное сопротивление мембран для кислорода к сопротивлению липидного бислоя.

Диапазоны действующих концентраций и величины наблюдаемых эффектов торможения потоков кислорода и воды совпадают. Это означает, что каналный транспорт кислорода и воды в мембранах эритроцитов имеет общую природу. Получены доказательства важной роли мембранного транспорта кислорода в физиологии газообмена человека, в частности, при больших физических нагрузках и различных заболеваниях.

**Проблемы клеточного анабиоза.** Способность к переходу в анабиоз (состояния организма, при котором жизненные процессы настолько замедлены, что отсутствуют видимые проявления жизни) присуща многим живым системам. Это состояние обычно для низших растений (мхи, лишайники), покоящихся спор микроорганизмов и семян высших растений. Семена растений представляются удобным объектом для изучения анабиоза.

При анабиозе в клетках семян происходят деструктивные процессы, которые, в конце концов, приводят семена к гибели. Эти процессы протекают достаточно медленно, на что указывает возможность длительного (годы, десятилетия, и даже столетия) сохранения семенами жизнеспособности.

Оказалось, что в семенах медленно развиваются свободно-радикальные процессы деструкции и сшивки макромолекул. Продукты перекисного окисления (перекиси и альдегиды)

участвуют в необратимых сшивках белков, липидов и нуклеиновых кислот. При этом наблюдается слабое свечение воздушно-сухих семян, являющееся флуоресценцией при комнатной температуре.

Проведенные на семенах бобовых культур исследования позволили разработать метод оценки качества индивидуальных семян. Показано, что в каждой партии семян можно выделить три фракции – сильные (I), ослабленные (II) и мертвые (III). Распределение семян по трем фракциям может изменяться в ходе хранения и при различных воздействиях (УФ, ионизирующая радиация, гипертермия и др.). Вещества, тормозящие перекисное окисление липидов (эндогенные антиоксиданты, амидогуанин и др.) продлевают сроки хранения семян.

Семена перспективно использовать и в качестве модели при исследовании общей проблемы старения.

Важным фактором жизнедеятельности является вода, на долю которой приходится основная часть содержимого живой клетки; она является прекрасным полярным растворителем, а также стабилизатором биологически важных структур, хотя ее роль этим не ограничивается. Поэтому чрезвычайно важным являются как фундаментальные, так и прикладные проблемы изучения **роли воды** в биологических процессах. Исследования, выполненные на модельных и биологических системах, привели к выводу, что вода во многом определяет равновесие сил в пределах макромолекул, мембран и других систем. Отражением этого равновесия сил является динамическая структура белков и мембран. Именно с динамикой белков и мембран связана эффективность многих биологических процессов. Оказалось, что макромолекулы ферментов характеризуются более интенсивным внутренним движением по сравнению с неферментными белками. Это, возможно, связано с более жесткими требованиями к процессам регуляции в случае ферментов, где не только сам субстрат, но и продукты его реакции не должны оказываться токсичными для организма.

Особенности динамической структуры биополимеров играют важную роль и на клеточном уровне организации. Здесь изменение динамики в процессах сорбции-десорбции белков приводит к заметному изменению числа степеней свободы и энтропии системы и, соответственно, к малому изменению свободной энергии в подобных процессах. В результате появляется еще один связанный с водой важный механизм управления биологическими процессами с помощью слабых воздействий.

Связь между резкой активацией метаболизма и появлением воды в жидкой фазе была четко показана при изучении изменения состояния воды в ходе набухания семян растений.

Решающую роль в жизнеспособности живой клетки играет *подвижная вода*. Проводимые на кафедре исследования позволили обнаружить неизвестный ранее механизм удержания подвижной воды. Для более чем 100 видов и штаммов грибов, мхов и лишайников с помощью метода ЯМР было показано, что в воздушно-сухих клетках устойчивых к потере воды видов всегда сохраняется некоторое количество подвижной свободной воды. У неустойчивых форм, в том числе у разных штаммов одного вида, такая вода обычно отсутствует. Обычно у устойчивых форм ее количество составляет порядка нескольких процентов, а у криптококков, обитающих в условиях высокогорных пустынь Восточного Памира с резкими колебаниями температуры и влажности в течение суток, количество подвижной воды достигает 30% от веса воздушно-сухой биомассы.

## **БИОФИЗИКА ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Одной из важнейших фундаментальных проблем биофизики является расшифровка механизмов первичных процессов действия света на разные биологические системы. Свет является одним из ключевых факторов среды обитания большинства организмов. Рецепция света и трансформация его энергии лежит в основе зрения, фотосинтеза и ряда фоторегуляторных процессов у растений, в инициации которых участвуют специализированные фоторецепторы, например, родопсин, хлорофилл, фитохром, фототропин, криптохром. Поглощая свет определенного спектрального диапазона, фоторецепторы вступают в фотохимические реакции с образованием первичных фотопродуктов. Последние участвуют в биохимических процессах клеточной регуляции, что приводит к развитию конечных фотобиологических эффектов. В то же время свет индуцирует протекание в клеточных структурах различных деструктивных фотохимических реакций, природа и эффективность которых зависит от длины волны и интенсивности излучения, наличия соответствующих фотоактивных хромофоров и их внутриклеточной локализации, а также способности клеток к фотозащите и репарации фотоповреждений. Наиболее эффективно деструктивные реакции индуцируются высокоэнергетическим ультрафиолетовым (УФ) излучением (<290 нм). Экологическими компонентами оптического излучения солнца являются средневолновый УФ (СУФ, 290–320 нм), длинноволновый УФ (ДУФ, 320–400 нм) и видимый свет (400–700 нм). Уменьшение концентрации стратосферного озона ведет к повышению интенсивности СУФ, который за счет прямого поглощения нуклеиновыми кислотами и белками вызывает образование в них

повреждений, обуславливающих цитотоксические, мутагенные и канцерогенные эффекты. ДУФ и видимый свет, которые макромолекулами непосредственно не поглощаются, могут индуцировать деструктивные реакции за счет фотосенсибилизации с участием эндогенных и экзогенных сенсibilизаторов (хромофоров), способных в фотовозбужденном состоянии реагировать с биосубстратами с образованием реакционноспособных радикалов или генерировать активные формы кислорода, вызывающие окислительный стресс.

**Молекулярная фотобиология.** Исследования в этой области связаны с изучением фундаментальных механизмов воздействия света на клетки дрожжей и бактерий. Основная проблема состоит в выявлении фотоиндуцированных реакций и изучении природы светочувствительности живой клетки при воздействии оптического излучения. В центре внимания – экспериментальное решение следующих вопросов:

- какие потенциально фотоактивные хромофоры (сенсibilизаторы) могут вступать в фотохимические реакции в клетке, не содержащей специализированные фоторецепторные системы;
- какова природа первичных фотопродуктов, ответственных за развитие конечного фотобиологического эффекта;
- какое значение для протекания фотореакций и проявления эффекта имеют внутриклеточная локализация фотоактивного хромофора и его молекулярное микроокружение;
- какие механизмы могут лежать в основе фотоиндуцированной модификации цитотоксических эффектов оптического излучения, которая наблюдается при комбинированных воздействиях света разной длины волны и интенсивности.

Исследования, проведенные на клетках дрожжей, позволили обнаружить, что низкоинтенсивный монохроматический свет в диапазоне 290–380 нм индуцирует два различных фотобиологических эффекта в зависимости от дозы облучения: фотозащиту от УФ-инактивации и фотостимуляцию размножения клеток. Оба эффекта основаны на фотомодуляции активности фермента, катализирующего синтез серотонина – метаболита, у которого были обнаружены ранее не известные функции – протектора ДНК от УФ-повреждений и регулятора клеточного деления. При более высоких интенсивностях и дозах ДУФ-излучение вызывает летальный эффект, в основе которого лежат фотодинамические реакции. Показано, что функцию эндогенного сенсibilизатора выполняет локализованный в ядре клетки НАДН. Установлена способность НАДН фотогенерировать супероксидный анион-радикал кислорода с последующим образованием перекисный водорода и гидроксильного радикала, который непосредственно

участвует в формировании одноцепочечных разрывов ДНК. Кратковременное воздействие видимого света в малых дозах (максимум эффективности в красной области спектра при 680 нм) индуцирует защитный эффект в условиях инактивирующего облучения клеток СУФ и ДУФ. Установлено цитотоксическое действие видимого света, опосредованное эндогенным сенсibilизатором протопорфирином. В условиях индуцированного накопления в митохондриях клетки высокого уровня сенсibilизатора и последующей его релокализации в плазматическую мембрану и ядро наблюдается многократное увеличение летального эффекта вследствие взаимодействия деструктивных процессов, протекающих в этих структурах.

В качестве первоочередной задачи при изучении молекулярного механизма обнаруженного фотозащитного эффекта, индуцированного красным светом, необходима идентификация фоторецептора, опосредующего этот эффект. Полученные ранее данные дают основания предполагать, что фоторецептором в дрожжевой клетке может служить хромопротеид, аналогичный фитохрому – универсальному фоторегуляторному пигменту растений. У микроорганизмов функциональная роль фитохрома пока не определена, хотя гены, кодирующие апофитохром, недавно найдены у некоторых бактерий и грибов. Другая задача связана с изучением молекулярных основ фотосенсibilизирующей активности и фотоллабильности эндогенного протопорфирина, участвующего в фотодинамической инактивации дрожжевых клеток, в зависимости от молекулярного микроокружения.

**Молекулярные механизмы фотосинтеза.** Важнейшей фундаментальной проблемой биофизики является изучение фотосинтеза – процесса преобразования световой энергии солнца в химическую энергию тканей фотосинтезирующих организмов. В первичной (световой) стадии энергия поглощенных квантов света используется для разрыва химических связей восстановителя (в случае высших растений – для фотолиза воды), а часть ее, в конечном счете, запасается в новых химических связях. В последующей (темновой) стадии фотосинтеза запасенная энергия используется для восстановления углекислоты до сахаров в восстановительном пентозофосфатном цикле, осуществляющем создание органического вещества из неорганического. Первичные процессы фотосинтеза включают несколько этапов: поглощение света хлорофиллом антенного комплекса, миграцию энергии поглощенных квантов к реакционным центрам (РЦ) фотосистем, фотохимическое разделение зарядов, перенос электронов по фотосинтетической электрон-транспортной цепи, сопряженный с запасанием энергии в виде химических связей конечного восстановленного продукта – восстановленного НАДФ, а также АТФ.

Поскольку разные этапы первичных процессов фотосинтеза протекают в разных компартментах фотосинтетической мембраны и характеризуются различными временами, для понимания механизма процесса фотосинтеза необходимы исследования, проводимые специалистами разного профиля и использованием объектов разной сложности – от изолированных макромолекулярных белковых и пигмент-белковых комплексов, различных субхлоропластных частиц, хлоропластов, фотосинтезирующих клеток водорослей до нативных растений. Это требует сотрудничества фотофизиков, биохимиков и физиологов растений. Кроме того необходима лабораторная техника, позволяющая исследовать процессы в разном временном диапазоне.

Ключевой энергопреобразующей структурой в фотосинтезирующих организмах являются **реакционные центры фотосистем**, встроенные в фотосинтетические мембраны пигмент-белковые комплексы, выполняющие за счет энергии света высокоэффективный (квантовый выход – до 100 %) и очень быстрый (менее 1 нс) трансмембранный перенос электронов против направления термодинамического потенциала, в результате чего, в конечном итоге, и запасается солнечная энергия.

В проводимых исследованиях используются различные современные методы кинетической абсорбционной и люминесцентной спектроскопии широкого временного диапазона регистрации, ЭПР, ЯМР, ядерный гамма-резонанс, современные подходы теоретического анализа получаемых результатов и построения адекватных физических моделей процессов. Имеется биохимическая база для получения высококачественных активных фотосинтетических препаратов различного состава, включая изолированные мембранные белково-пигментные комплексы разного уровня организации. Основными методами изучения механизмов преобразования световой энергии в первичных стадиях фотосинтеза являются:

- измерение кинетик затухания флуоресценции (импульсная флуориметрия) с временным разрешением до  $10^{-12}$  с;
- лазерная абсорбционная спектроскопия фемто-, пико- и наносекундного ( $10^{-14}$  –  $10^{-8}$  с) диапазона, позволяющая исследовать последовательность и скорости реакций преобразования энергии кванта света в энергию электрохимического потенциала;
- спектроскопия комбинационного рассеяния света, позволяющая изучать природу химических связей синтезированных под действием света соединений;

- широкий спектр традиционных методов оптической спектроскопии, спектроскопии переходных процессов, компьютерного моделирования и радиоспектроскопии.

Методами импульсной флуориметрии и абсорбционной спектроскопии высокого ( $10^{-14}$  –  $10^{-8}$  с) временного разрешения исследуются процессы миграции энергии электронного возбуждения в антенных пигмент-белковых комплексах, захвата возбуждения фотоактивным пигментом РЦ – первичным донором электрона, и темновых реакции разделения зарядов и переноса электрона в акцепторной цепи электронного транспорта. Показано, что белки, содержащие пигменты антенны и кофакторы, за времена менее  $10^{-12}$  с способны осуществлять тонкую подстройку начальных и конечных состояний донора и акцептора энергии (электрона). В самый начальный момент времени возникает неравновесное начальное состояние донора энергии (электрона). В результате процесса сольватации с участием водородных связей происходит понижение уровня энергии донора и формирование наиболее выгодной конфигурации потенциальной поверхности для реагентов. Как следствие, вероятность обратных (бесполезных) реакций падает, а эффективность прямых энергетически выгодных реакций существенно возрастает.

#### **Наноразмерные синтетические энергопреобразующие системы.**

Базовые принципы высокоэффективного преобразования световой энергии при фотосинтезе легли в основу создания синтетических энергопреобразующих структур на основе порфиринов. Сконструированы различные химические структуры, способные к ~100% межмолекулярному (диады) и внутримолекулярному (димеры) переносу энергии электронного возбуждения от донора к акцептору. В этих синтетических трехкомпонентных системах (безметалльный порфирин – Zn порфирин – хинон) осуществлена последовательность событий, реализуемых в фотосинтезирующих организмах: поглощение света → миграция энергии → разделение зарядов. Такие синтетические структуры могут стать прообразом искусственных энергопреобразующих устройств будущего.

Перспективы (как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте) связаны с возможностью создания гибридных наноразмерных биоэнергетических и биосенсорных устройств. Фотосинтетический реакционный центр является природным наноструктурным образованием. Именно специфика протекания фотофизических и фотохимических процессов в наноразмерных структурах объясняет уникальные энергопреобразующие свойства фотосинтетических РЦ. Гибридные устройства типа: РЦ – нанотрубка или молекулярный провод – электрод – внешняя электрическая цепь могут стать прообразом биоэлектрических генераторов энергии.

**Бактериородопсин.** Эволюционно наиболее ранним фотопреобразующим комплексом является белок бактериородопсин, осуществляющий светоиндуцированный трансмембранный перенос протонов, создающих «движущую силу» для последующего синтеза АТФ. Этот белок, выполняющий в настоящее время функцию так называемого «бесхлорофильного» фотосинтеза у некоторых видов архебактерий, чрезвычайно устойчив к различным воздействиям. Физические механизмы функционирования данного фотопреобразующего комплекса привлекают самое пристальное внимание исследователей в течение последних десятилетий.

В проводимых на кафедре биофизики работах было показано, что конформационная подвижность фототрансформирующих белков, как и в случае классических ферментов, играет ключевую роль в их функционировании. Ее роль проявляется, начиная с пикосекундных стадий переноса электрона, в которых микроконформационная динамика обеспечивает быстрые релаксационные процессы, сопровождающие эффективную временную стабилизацию первичного разделения заряда. Гораздо более медленные конформационные изменения, приводящие к формированию выделенных структурных состояний макромолекулярного комплекса, контролируют направленность и скорость дальнейшего переноса зарядов. Была показана важнейшая роль состояния внутримолекулярных водородных связей в указанных процессах.

Детальное изучение влияния температурного фактора на первичные фотофизические процессы превращения световой энергии позволило сформулировать концепцию фотоконформационного перехода как эффективного механизма регуляции скорости переноса электронов в фоточувствительной макромолекулярной структуре.

Иммобилизация этих белков в полимерных матрицах, формирование на их основе тонких ориентированных пленочных структур, включение полупроводниковых и других электропроводящих компонентов в создаваемые конструкции открывает широкие возможности изучения практического применения белков РЦ и бактериородопсина. Имеется приборная база для формирования и изучения свойств упорядоченных моно- и мультислойных многокомпонентных пленочных конструкций с участием фоточувствительных белков (техника Ленгмюра-Блоджетт, атомно-силовая и туннельная микроскопия, электрохимический анализатор).

**Кислород-выделяющий комплекс хлоропластов (КВК).** Фотохимическое разделение зарядов в РЦ фотосистем индуцирует транспорт электронов в ЭТЦ фотосинтеза. У высших растений и

водородсодержащим донором электронов является вода. Побочный продукт окисления воды, кислород, выбрасывается в атмосферу, его накопление в атмосфере привело к ее радикальной трансформации и послужило фундаментом для развития многочисленных форм животных. Процесс, сопровождающийся фотоокислением воды с выделением кислорода, называется окислительным фотосинтезом, и начальные его стадии (окисление воды) осуществляются в пигмент-белковом комплексе фотосистемы II. Поглощение света ФС II сопряжено с работой каталитического центра – кислород выделяющего комплекса. КВК состоит из 4 катионов марганца и 1 катиона кальция. Фундаментальная роль данного металлофермента в функционировании биосферы определяет высокую интенсивность исследований механизмов работы КВК и ФС II. Однако, несмотря на значительные успехи в понимании основ функционирования ФС II, работа ее ключевого звена, КВК, все еще остается неясной.

В проводимых в настоящее время исследованиях ФС II широко используются новейшие методы, применяемые в передовых областях биофизики, биохимии, молекулярной биологии, нанотехнологии для изучения каталитических центров металлоферментов, механизмов внутри- и межмолекулярного переноса электрона, структурной организации и функционирования наноструктур. К ним можно отнести различные методы регистрации флуоресценции, рентгеноструктурный анализ, точечный мутагенез, компьютерное моделирование структуры, рентгеновскую спектроскопию, ЭПР, инфракрасную спектроскопию с Фурье разложением и т.д. Исследования КВК, проводимые на кафедре биофизики, направлены на выяснение структурной организации КВК с использованием разработанного метода замещения катионов марганца на катионы железа, а также роли кофакторов КВК – катионов кальция и анионов хлора – в окислении воды.

**Проблемы регуляции первичных процессов фотосинтеза.** Фотосинтетический аппарат имеет сложную многоуровневую систему регуляции, которая должна обеспечивать эффективное использование энергии света, а также сопряжение световых и темновых процессов фотосинтеза. Существует целая иерархия регуляторных механизмов, зависящих от физиологического состояния и изменений среды, которые условно можно разделить на «медленные» и «быстрые». «Медленные» предполагают перестройку и изменение структуры хлоропласта и его компонентов, их действие связано с включением генетического аппарата и синтезом новых белков, для чего требуется определенное время (минуты, часы). Эти процессы зависят от

работы регуляторных белков, которые активируются под действием света.

Механизмы «быстрой» регуляции, ответственные за динамические изменения в функционировании отдельных участков фотосинтетической цепи, с синтезом белка не связаны. Они основаны на изменениях констант взаимодействия переносчиков, например, вследствие изменения их конформации, и направлены на недопущение перевосстановленности ЭТЦ при высоких освещенностях. Из результатов исследований последних лет, проводимых на кафедре биофизики, можно предполагать, что следствием наличия гибкой системы регуляции является защита от окислительных повреждений, а целью быстрой регуляции электронтранспортных процессов фотосинтеза – создание оптимального состояния ЭТЦ, когда нет избытка или недостатка электронов на определенных ее участках, что позволяет защитить фотосинтетические мембраны от фотодеструкции.

Наличие большого числа акцепторов электронов открывает дополнительные возможности для регуляции электронного потока и систем ассимиляции  $\text{CO}_2$  и азота, что необходимо для обеспечения процессов синтеза белка в хлоропласте. Кроме того, существование альтернативных путей сброса электронов препятствует «перевосстановлению» компонентов, поддерживая их в определенном редокс-состоянии.

Существует несколько механизмов, защищающих фотосинтетические мембраны от фотоповреждения. Важную роль играет нефотохимическое тушение возбужденных состояний хлорофилла, этот механизм связан с образованием трансмембранного  $\Delta\text{pH}$ , а также работой виолоксантинового цикла. Вся не использованная в фотосинтезе энергия поглощенных квантов света рассеивается в виде тепла или излучается в виде флуоресценции. Увеличение рассеивания энергии в виде тепла уменьшает количество актов разделения зарядов в РЦ и, соответственно, приводит к уменьшению потока электронов в ЭТЦ. Подавляющая часть флуоресценции, наблюдаемой при изучении листьев высших растений или суспензий зеленых водорослей, генерируется в ФС II. В настоящее время параметры флуоресценции широко используются в фундаментальных и прикладных исследованиях как показатель состояния и эффективности функционирования фотосинтетического аппарата. Основная идея состоит в том, что уменьшение эффективности запасаения света в фотосинтезе приводит к увеличению интенсивности флуоресценции. Изменения состояния фотосинтетического аппарата сопровождаются изменением вероятности тушения энергии электронного возбуждения молекул хлорофилла, что и проявляется в изменении квантового выхода и времени затухания флуоресценции.

**Фотоиндуцированное выделение водорода.** Перспективным направлением исследований является фотоиндуцированное выделение водорода эукариотическими микроводорослями – еще один механизм регуляции первичных процессов фотосинтеза. Этот удивительный процесс был открыт более 60 лет назад и активно используется в биотехнологических целях, однако в понимании молекулярных механизмов и принципов регуляции процесса есть еще много белых пятен. Водород выделяется гидрогеназой – ферментом, восстанавливающим протоны до молекулярного водорода. Непосредственными донорами электронов в гидрогеназной реакции являются ферредоксин или НАДФ. Таким образом, фотоиндуцированное выделение водорода тесно связано с работой фотосинтетической ЭТЦ, но непременным условием этого процесса является отсутствие кислорода, который ингибирует активность фермента даже при очень низких концентрациях.

Как биотехнологический прием для разделения во времени процессов фотосинтетического выделения  $O_2$  и светозависимого выделения  $H_2$  можно использовать серное голодание культуры водорослей. Изучение влияния серного голодания на клетки *Chlamydomonas reinhardtii* в аэробных условиях (когда гидрогеназа неактивна) показало, что при недостатке серы происходит инактивация катализируемого ФС II выделения  $O_2$ . В замкнутом культиваторе культура микроводоросли на свету в отсутствие серы в среде проходит несколько последовательных стадий. Сначала идет активное выделение  $O_2$ , затем активность ЭТЦ фотосинтеза снижается, и процессы дыхания начинают преобладать над процессами фотосинтеза. Когда скорость фотосинтетического образования  $O_2$  становится ниже скорости дыхания, культура переходит в анаэробные условия, и через некоторое время начинается выделение  $H_2$ .

О том, что происходит с фотосинтетическим аппаратом при прохождении всех этих стадий, можно судить по параметрам флуоресценции хлорофилла. Изучение динамики активности ФС II *Chlamydomonas reinhardtii* в культиваторе показало, что переход в анаэробноз сопровождается резким падением активности ФС II, по времени совпадающим с началом выделения водорода. Активацию гидрогеназы в анаэробных условиях можно рассматривать как адаптивный механизм, который увеличивает отток электронов на водород, что снижает степень восстановленности пула хинонов и реактивирует часть центров ФС II. Это способствует частичному сохранению фотосинтетического электронного транспорта в голодающих клетках и обеспечивает их некоторым количеством кислорода, что позволяет некоторое время оставаться жизнеспособными в условиях стресса. Временное частичное повышение скорости электронного транспорта вызывает реокисление пула хинонов, что видно по изменению индукционной

кривой флуоресценции. Эти результаты показывают, что изменение редокс-состояния пула хинонов – способ регуляции ЭТЦ при смене условий.

Весьма перспективным при прояснении вопроса о роли фотосистемы II в процессах выделения водорода является использование мутантов с сайт-специфичными повреждением в ФС II. Были использованы мутанты водоросли *C. reinhardtii*, обладающие различной кислород-выделяющей активностью. Представлялось, что частичная потеря кислородвыделяющей активности будет иметь следствием ускорение перехода в анаэробные условия, но не должна отрицательно сказаться на скорости продукции  $H_2$ . Однако оказалось, что, чем больше повреждена способность ФС II к выделению  $O_2$ , тем сильнее снижена способность к выделению водорода. Изучение динамики накопления и расхода метаболитов (крахмала, формата и ацетата) в разных мутантах в ходе серного голодания показало, что образование водорода в большей, чем ожидалось, степени коррелирует с активностью ФС II. Эти исследования могут быть основой для разработки биотехнологических приемов для увеличения выхода  $H_2$ .

## РАДИАЦИОННАЯ БИОФИЗИКА

*Радиационная биофизика* – научная дисциплина, изучающая молекулярные механизмы биологического действия ионизирующих и неионизирующих излучений, выясняющая последовательность явлений, начиная от поглощения энергии радиации отдельными молекулами до сложных биологических нарушений в клетке и организме.

Радиационная биофизика исследует фактически весь спектр электромагнитных излучений (ЭМИ) – от гамма-лучей до низкочастотных радиоволн.

Известно, что в зависимости от энергии, ЭМИ подразделяются на *ионизирующие* и *неионизирующие* излучения, а условной границей между ними принята энергия кванта в 12 эВ («потенциал ионизации» или «энергия ионизации»), соответствующая длине волны около 100 нм – вблизи границы рентгеновского и ультрафиолетового излучений.

Таким образом, к ионизирующим ЭМИ относят гамма- и рентгеновское излучения, а к неионизирующим – более низкочастотные (и, соответственно, более длинноволновые): ультрафиолетовое, видимый свет, инфракрасное и радиочастотные излучения.

В зависимости от длины волны (частоты) излучения, а, следовательно, и энергии кванта, существенно меняется проникающая способность и характер взаимодействия ЭМИ с веществом (биологическими структурами, молекулами).

**Ионизирующие электромагнитные излучения** – это наиболее проникающие, коротковолновые, высокочастотные излучения, кванты которого несут огромную энергию, достигающую многих тысяч и миллионов электрон-вольт. В более широком понятии ионизирующие излучения – это не только *электромагнитные* рентгеновские и гамма-излучения, но и *корпускулярные* излучения высоких энергий. К ним относят заряженные частицы –  $\beta$ -частицы (электроны и позитроны), ядра атомов водорода (протоны), дейтерия (дейтроны), гелия ( $\alpha$ -частицы) и других элементов и ядерные частицы, не имеющие зарядов – нейтроны, а также многие нестабильные частицы, например,  $\pi^+$ ,  $\pi^-$  и  $\pi^0$  мезоны и др. Все эти виды излучения при действии на молекулы могут прямо или косвенно вызывать ионизацию и образование активных радикалов, способных инициировать окислительные свободнорадикальные процессы в клетках и организме.

**Неионизирующие излучения** (оптический спектр и радиочастотные излучения) из-за присущей им низкой энергии не способны к ионизации молекул; они также лишены высокой проникающей способности. При взаимодействии с живыми объектами неионизирующие излучения способны к тепловому и так называемым нетепловым механизмам передачи энергии веществу.

Конечный эффект облучения живых объектов проявляется как в разрушении молекулярных и клеточных структур под действием больших доз радиации, так и в разнонаправленных (повреждающих и стимулирующих) структурно-функциональных изменениях при хронических и низкоинтенсивных воздействиях.

Исходя из специфики общего биологического действия разных типов излучений оформились научные дисциплины, тесно связанные с радиационной биофизикой. Это *радиационная биология*, исследующая эффекты ионизирующих излучений; *фотобиология*, предметом изучения которой являются исследования действия излучений оптического диапазона; *радиобиология радиочастотных ЭМИ* (часто в исследованиях радиочастот выделяют еще и микроволновое электромагнитное излучение). С биофизикой фотобиологических процессов вы уже познакомились в предыдущем разделе.

Различные виды электромагнитных и корпускулярных излучений – важнейший инструмент познания живой материи. Современная биология немыслима без методов радиационной биофизики: рентгеноструктурного анализа, ультрафиолетовой,

видимой и инфракрасной спектроскопии, радиоспектроскопии, лучевой ультрамикротомии, световой, а также сканирующей атомной, электронной и протонной микроскопии, широкого использования радиоактивных изотопов.

Исключительно важное значение приобретает сегодня использование нано-биотехнологии для изучения характера воздействия излучений с биологическими структурами на атомном уровне. Хорошо известно, что многие наиболее впечатляющие успехи в познании структуры и свойств живой материи достигнуты благодаря широкому внедрению методов исследований радиационной биофизики. Такие исследования требуют комплексного подхода, основанного, с одной стороны, на учете физических принципов передачи энергии излучений, их дискретной природы и характера взаимодействия с атомами и молекулами биологических структур, а с другой – на знании уникальных особенностей структурной и функциональной организации живого.

Актуальность исследований биологического действия излучений продиктована многими научными и социальными задачами. Известно, например, что все живое постоянно подвергается действию природных излучений – естественного электромагнитного фона. Так, природный фон *ионизирующих излучений*, состоящий из космической радиации и излучений радиоактивных элементов, залегающих в поверхностных слоях земной коры и входящих в состав самих живых организмов и их продуктов питания, не представляет опасности для жизнедеятельности. Однако, в связи с техногенной деятельностью человека, например, ядерными взрывами и авариями на АЭС и атомных промышленных предприятиях, радиационный фон во многих регионах нашей планеты значительно возрос. Если учитывать возможное внешнее действие возрастающего техногенного фона ионизирующих излучений и радионуклидов, в сочетании с другими загрязнениями среды, например, химическими, то такие условия могут существенно влиять на экологию биоты и состояние здоровья и жизни человека. Все это привело к необходимости углубленных исследований в области *радиоэкологии*.

В исследованиях *неионизирующих излучений* весьма актуальной является оценка электромагнитного загрязнения среды, которая, в связи с появлением искусственных источников ЭМИ, возросла в последние десятилетия во много тысяч раз (!) и может оказаться вредной для жизнедеятельности организмов. Установление норм безопасных уровней облучений – важнейшая задача радиоэкологии.

Наряду с отрицательным влиянием ЭМИ, хорошо известно их применение и на пользу человека – широкое использование

ионизирующих и неионизирующих ЭМИ в *медицинской практике* в качестве **диагностических и терапевтических средств** при многочисленных заболеваниях. Применение и дальнейшие разработки радиационной терапии невозможны без глубоких знаний в области радиационной биофизики всего спектра ЭМИ – механизмов взаимодействия излучений с веществом и последующих изменений в клетках, тканях и организме в целом.

Современное состояние радиационной биофизики показывает, что это – комплексная фундаментальная наука. Она требует объединенных усилий не только радиобиологов и биофизиков, но также физиков, химиков, математиков, представителей буквально всех классических биологических и медицинских направлений. В связи с этим в настоящее время развиваются такие прикладные направления, как радиационная экология и генетика, радиационная биохимия и цитология, радиационная медицина и гигиена и др. В их ряду радиационная биофизика заняла ведущее место, т.к. ее основная задача – выяснение фундаментальных физико-химических и молекулярных механизмов первичных процессов лучевых изменений, протекающих с момента возникновения поглотивших энергию электромагнитных излучений атомов и молекул до появления видимых структурных и функциональных изменений в живой системе на разных уровнях ее организации. Для решения такой задачи необходим углубленный анализ процессов, происходящих на каждом этапе «размена энергии» исследуемого излучения в живой системе, описание этих этапов в терминах молекулярных изменений и создание единой картины, отражающей всю последовательность реакций, приводящих, в зависимости от типа воздействующего излучения и дозы облучения, к закономерным изменениям: повреждениям при остром облучении, нарушениям и стимуляции (т.н. эффект гормезиса) биологических процессов при малых дозах и хронических облучениях.

Следует отметить, что, несмотря на вековой опыт радиационных исследований и, безусловно, большие достижения в этой области науки, все еще недостаточно изучена проблема химической профилактики и защиты от поражающего (повреждающего) и вредного действия ЭМИ. Пожалуй, это самая главная проблема исследований в перспективе, и ее предстоит решать при дальнейшем изучении механизмов действия ЭМИ на разных уровнях организации живого.

## МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА

Направление «*медицинская биофизика*» ориентированно на использовании в медицине результатов фундаментальных исследований в области мембранных процессов, фотобиологии, биофизики клетки. Эти результаты медицина использует для познания на молекулярном уровне механизмов возникновения заболеваний, для ранней диагностики, для выработки способов воздействия на патологические процессы.

Важным направлением исследований в области биофизики клетки, имеющим прикладное медицинское значение, являются исследование **функциональных свойств эритроцитов** и связи изменения формы и объема клетки, а также вязкости и проницаемости клеточной мембраны, с конформацией гемопорфирина гемоглобина и эффективностью переноса кислорода. Выявлены изменения вязкости и проницаемости плазматической мембраны эритроцита и средства гемоглобина к  $O_2$  и NO у больных артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца. Установлено, что при этих болезнях наблюдаются увеличение вязкости липидов различных областей плазматической мембраны, более высокие скорости  $Na^+/H^+$ -обмена, активность  $Ca^{2+}$ -зависимых  $K^+$ -каналов и низкая активность  $Ca^{2+}$ -АТФазы. Предполагается, что выявленные изменения вязкости и проницаемости плазматической мембраны снижают эффективность переноса кислорода гемоглобином при артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца. Установлен характер изменения вязкости плазматической мембраны эритроцита и средства гемоглобина к  $O_2$  и NO у здоровых доноров, проживающих в условиях высокогорья. Вероятно, изменения в содержании комплексов гемоглобин – лиганд и гемоглобин – NO у доноров, проживающих в условиях высокогорья, повышают эффективность переноса кислорода гемоглобином.

Исследовано воздействия факторов космического полета ( $\alpha$ -частицы и дейтроны, магнитное поле, оптическое, лазерное излучение) на функционирование нервной клетки и эритроцитов. Впервые обнаружены особенности связывания кислорода в эритроцитах человека в ходе космического полета. Выявлено увеличение вязкости и отношения содержания холестерина к содержанию фосфолипидов, а также увеличение специфической проницаемости плазматической мембраны для ионов  $Na^+$  и  $H^+$  и изменения конформации гемопорфирина гемоглобина. Установлено, что после космического полета обратимо снижается содержание гемоглобина и его комплексов. В ходе космического полета снижение числа дискоцитов осуществляется за счет

увеличения числа трансформированных эритроцитов (книзоцитов и овалоцитов). По-видимому, в условиях космического полета связывание кислорода и содержание комплексов гемоглобина зависит от формы клетки, вязкости и проницаемости плазматической мембраны.

**Методы адресной доставки лекарств и генетического материала в клетки.** Эти исследования находятся на стыке биофизики, молекулярной биологии, биоинженерии, нанобиотехнологии, фармакологии и онкологии. Одним из методов является *опосредованный мембранными рецепторами эндоцитоз* (см. иллюстрацию на последней странице обложки) – процесс избирательного концентрирования и поглощения клеткой веществ, для которых на плазмалемме существуют специфичные интернализуемые рецепторы.

Большое место в этих работах занимает проблема внутриклеточной доставки противораковых лекарств. Фотосенсибилизаторы – молекулы, генерирующие при освещении активные формы кислорода, – используются для фотодинамической терапии рака и ряда др. болезней; к сожалению, они вызывают поражение здоровых клеток и тканей, и другие побочные эффекты, причем их цитотоксическое действие ограничивается преимущественно плазматической мембраной. Для доставки фотосенсибилизаторов в наиболее чувствительную к ним мишень – ядро – сконструированы модульные рекомбинантные транспортеры (МРТ). В состав МРТ входят:

- лиганд к интернализуемому рецепторам, обеспечивающий поглощение МРТ клеткой,
- эндосомолитический компонент, обеспечивающий выход МРТ из эндосом в цитоплазму,
- сигнал ядерной локализации, ответственный за транспорт МРТ в ядро клетки,
- белок-носитель и
- фотосенсибилизатор либо другой лекарственный компонент, который требуется доставить в ядро.

Для улучшения внутриядерной доставки конъюгатов применяются аттенюированные (ослабленные) аденовирусы, обладающие способностью образовывать поры в мембранах эндосом. Наиболее эффективные модульные конъюгаты оказались на несколько порядков более эффективными, чем свободные, неконъюгированные фотосенсибилизаторы. Транспортеры могут быть эффективно использованы для доставки других локально действующих лекарств – радионуклидов, испускающих альфа-частицы и также применяемых для терапии рака. Показано, что транспортеры могут увеличивать цитотоксическое действие источника альфа-эмиттера астата-211 примерно в десять раз.

МРТ придают фотосенсибилизаторам клеточную специфичность: конъюгаты фотосенсибилизатор-МРТ обладают в сотни и тысячи раз большей эффективностью в отношении клеток-мишеней, чем немодифицированные фотосенсибилизаторы, но – в отличие от последних – не фототоксичны в отношении клеток, не являющихся мишенями. Оказалось возможным заменять лигандные модули в составе МРТ, что позволило переключить МРТ на другой тип клеток-мишеней, а также существенно (более чем в 3000 раз) увеличить фототоксическую эффективность применяемых фотосенсибилизаторов.

При разработке метода *рецептор-опосредуемой трансфекции* предпринята попытка имитировать вирусный путь доставки генетической информации, используя искусственные конструкции. Известно, что вирусы эффективно переносят свой генетический материал в клетки-хозяева. У большинства вирионов есть:

- компоненты, ответственные за узнавание интернализуемых (т.е. поглощаемых путем эндоцитоза после связывания с соответствующим лигандом) рецепторов на поверхности этих клеток,
- компоненты, обладающие эндосомолитической активностью,
- участки, обеспечивающие транспорт нуклеиновых кислот в ядро,
- компоненты, обратимо связывающие нуклеиновые кислоты.

Удалось продемонстрировать возможность доставки генов *in vivo*, например, в эпителиальные клетки молочных желез с использованием конструкций, доставляющих ДНК путем рецептор-опосредуемого эндоцитоза. Этот же подход был эффективно использован и для трансфекции ранних эмбрионов млекопитающих.

**Антимикробная фотодинамическая терапия** – новый перспективный метод лечения инфекций кожи и слизистых, основанный на избирательной окислительной деструкции патогенных микроорганизмов при комбинированном воздействии красителя (фотосенсибилизатора) и оптического излучения соответствующего спектрального состава.

При исследовании молекулярных основ фотодинамической инактивации клеток большое внимание уделяется комплексному определению параметров их жизнедеятельности: интенсивности дыхания, целостности плазматической мембраны и генетического аппарата. Это помогает установить механизмы действия фотосенсибилизаторов, их субклеточную локализацию и основные мишени окислительной деструкции. Разработан новый метод скрининга фотосенсибилизаторов с антибактериальной

активностью по тесту фотоиндуцированного подавления биолюминесценции генно-инженерных штаммов бактерий.

В последние годы отмечается все ускоряющийся процесс развития лекарственной устойчивости патогенных микроорганизмов. В этой связи антимикробной фотодинамической терапии уделяется большое внимание, и этот метод рассматривается как альтернативный способ борьбы со штаммами возбудителей заболеваний, устойчивыми к действию традиционных лекарственных препаратов.

Разработаны новые и модифицированы известные методики качественной и количественной оценки внутриклеточной локализации и внутриклеточного движения макромолекул. В их число входят: методы конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, метод восстановления флуоресценции после фотоотбеливания, позволяющий определять константы скорости и коэффициенты диффузии перемещающихся молекул в клетке, долю подвижных и неподвижных изучаемых молекул и др., методы радиационной инактивации, различные варианты видеоинтенсифицированной микроскопии, включая методы деконволюции, поверхностный плазмонный резонанс и атомно-силовая микроскопия.

Разработка новых методов исследования часто приводит к появлению новых направлений в медицинской практике. Так произошло и в случае метода зондового микрофлуориметрического анализа клеток или метода флуоресцентных зондов. Активное его применение в последние десятилетия показало широкие, подчас недоступные для других методов, возможности такого подхода. Это, в первую очередь, связано с возможностью проведения с помощью набора флуорохромов комплексного количественного анализа структуры и различных сторон метаболизма живой клетки.

Целый ряд флуоресцирующих соединений (как внутриклеточной природы, так и вводимых в клетку извне) обладает способностью отвечать изменением параметров собственной флуоресценции на изменение физико-химических свойств окружения. Благодаря этому создается возможность следить за такими параметрами клетки, как электрический потенциал на мембране, концентрация протонов и кальция, вязкость липидного бислоя, подвижность компонентов плазматической мембраны и ее проницаемость, клеточная жизнеспособность, синтетическая активность клетки, состояние ее митохондриального и лизосомального аппарата, содержание некоторых внутриклеточных соединений. Число специально синтезируемых флуорохромов постоянно растет, что позволяет изучать все новые стороны клеточного метаболизма.

С помощью зондового микрофлуориметрического анализа клеток и молекулярной фотобиологии микроорганизмов исследуют механизмы модифицирующего и повреждающего действия на клетки биологически активных факторов различной природы (электромагнитного излучения рентгеновского и ультрафиолетового и видимого диапазонов, изменения силы тяжести, гипоксии и реоксигенации, активных форм кислорода, биологически активных веществ, регуляторных пептидов, ряда фармакологических препаратов, включая фотосенсибилизаторы). На базе проводимых исследований ведется работа по созданию клеточных тест-систем и животных моделей для оценки эффективности биологического действия факторов физической и химической природы и изучению механизмов их действия.

В последние годы флуорохромы все более активно применяются при изучении одиночных клеток. Такой подход, в значительной степени благодаря успешному развитию микрофлуориметрической техники (конфокальная микроскопия и др.), оказывается значительно более информативным, чем флуориметрия клеточных суспензий, и позволяет проводить более тонкий анализ механизмов функционирования клетки, в частности, даже на уровне отдельных внутриклеточных органелл. Следует особо подчеркнуть, что метод дает уникальную возможность для изучения гетерогенности клеток в популяции по исследуемому параметру. С этой целью используются специально разработанные приборы – проточные флуориметры. Важным достоинством микрофлуориметрического метода является также и то, что для проведения исследований требуются минимальные количества биологического материала. Это особенно важно в условиях, когда по тем или иным причинам количества его ограничены, как, например, в случае использования клинического материала в научно-исследовательской работе и при постановке флуоресцентных диагностических тестов, которые получают все более широкое применение в медицине.

Одним из направлений исследований, проводимых с использованием зондового микрофлуориметрического анализа животных клеток, является анализ механизмов модифицирующего и повреждающего действия на клетки (главным образом – иммунокомпетентные) биологически активных факторов различной природы. С использованием разработанного микрофлуориметрического метода определения внутриклеточного рН изучается влияние различных факторов физической и химической природы (и их сочетаний) на функционально-метаболическую активность клеток, состояние их плазматических мембран, систему внутриклеточной рН-регуляции, генерацию ими активных форм кислорода и др. Применение ингибиторов и активаторов различных регуляторных систем клетки позволило

углубить представления о процессах, происходящих при этом на клеточном уровне и выявить связь наблюдаемых изменений с состоянием системы внутриклеточной рН-регуляции.

Особое внимание в последние годы уделяется изучению механизмов повреждающего действия на клетки  $\text{H}_2\text{O}_2$ -индуцированного окислительного стресса и защиты от него с помощью факторов различной природы (лекарственные препараты семакс и мексидант, внутри- и внеклеточный рН и др.).

## ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОФИЗИКА

Качество и продолжительность жизни человека на Земле неразрывно связаны с состоянием окружающей среды. С момента образования кафедры биофизики в 1953 году ее основатель Б.Н. Тарусов инициировал работы по изучению физико-химических механизмов адаптации и устойчивости организмов в экстремальных условиях среды. К настоящему времени на кафедре сформировалось экологическое направление исследований, основной задачей которого стало выяснение физико-химических механизмов взаимодействия организма со средой на уровне макромолекул и макромолекулярных комплексов, строения и функционирования мембранных структур, субклеточных частиц, а также клеточных ансамблей, популяций и их сообществ. Такие исследования требуют использования всего арсенала современных биофизических методов, многие из которых могут быть реализованы только в условиях лаборатории. В то же время большая часть исследований должна быть проведена на природных объектах в экспедициях. В связи с этим на кафедре биофизики был разработан ряд приборов для исследования состояния объектов в природной среде. Объектами исследований были цианобактерии гейзеров Камчатки, беспозвоночные Японского моря, растения Памира и Чукотки, коралловые рифы Вьетнама и Мадагаскара, эндемики Байкала, фитопланктонные сообщества Белого, Балтийского, Черного, Каспийского, Японского, Охотского и многих других морей. Кафедра биофизики активно участвует в Федеральных целевых программах «Мировой океан», целевой комплексной программе ДВО РАН «Биологическая безопасность Дальневосточных морей Российской Федерации». Работы проводятся в кооперации с учеными разных стран (США, Черногории, Франции, Польши, Южной Кореи, Вьетнама).

Растения являются весьма чувствительными индикаторами, быстро реагирующими на возникновение неблагоприятной ситуации. К неблагоприятным воздействиям относятся загрязнения солями тяжелых металлов, гербицидами, органикой (нефть), недостаток минерального питания и др. С использованием

метода **кинетической флуорометрии** были исследованы, например, клетки водорослей, обработанных солями ртути, солями меди, гербицидами (атрозин). Найдены ключевые параметры флуоресценции, свидетельствующие как о повреждении пигментного аппарата, так и о конкретном участке электрон-транспортной цепи, в котором произошло нарушение.

Фундаментальные исследования по изучению природы флуоресценции хлорофилла легли в основу методов **диагностики состояния растений** в изменяющихся условиях среды. Об ухудшении состояния растений можно судить не только по снижению величины переменной флуоресценции (которая характеризует активность первичных процессов фотосинтеза), но и по величине дисперсии статистического распределения этого показателя между ветками одного дерева и между разными деревьями в популяции. У здоровых деревьев разброс в значениях переменной флуоресценции незначителен; у поврежденных – значительно выше. Такая же закономерность обнаружена и для популяций деревьев: чем лучше экологические условия, тем выше величины относительной флуоресценции для отдельных деревьев и тем меньше разброс средних показателей между разными деревьями. Таким образом, средняя дисперсия значений переменной флуоресценции может служить дополнительной характеристикой состояния посадок; чем больше эта величина, тем в худшем состоянии находится фитоценоз.

Центральным звеном биоценозов, определяющим состояние и продуктивность водных экосистем, является фитопланктон. При действии различных экологических факторов и антропогенных загрязнений изменяется фотосинтетическая активность клеток природного фитопланктона, поэтому ее регистрация является чувствительнейшим сенсором состояния водной среды в целом. Фундаментальные исследования экологии фотосинтеза микроводорослей и фитопланктона расширили представления о роли первичных процессов фотосинтеза в обеспечении эффективности работы фотосинтетического аппарата в общем метаболизме клеток природных водорослей. Сформулирована и экспериментально обоснована концепция клеточного регулирования начальных этапов фотосинтетических процессов на уровне реакционных центров у фитопланктона под действием экологических факторов.

Проводимые работы по изучению природы генерации быстрой и замедленной флуоресценции и термолюминесценции хлорофилла растений и водорослей позволили разработать оригинальные погружные зонды для регистрации активности фотосинтетических процессов у природного фитопланктона по параметрам быстрой и замедленной флуоресценции. Эти приборы могут быть использованы для биотестирования природных и сточных вод; с их

применением было проведено зондирование состояния водной среды в Черном, Средиземном, Норвежском и Южно-Китайском морях и озерах Байкал и Иссык-куль. При исследовании глубинного разреза в Тирренское море была обнаружена зона подъема глубоких холодных вод, обогащенных минеральными солями, в которой наблюдалось увеличение количества и активности фитопланктона. Этот пример наглядно демонстрирует перспективность использования подобных зондов для изучения динамических характеристик водных систем. Полученные результаты свидетельствуют о возможности определения загрязненности вод в ситуациях, когда концентрация водорослей еще заметно не снижается, например, на ранних стадиях загрязнения.

## Сокращения

АТФ	аденозинтрифосфорная кислота
АЭС	атомная электростанция
ДВО РАН	Дальневосточное отделение Российской Академии Наук
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДУФ	длинноволновый УФ (320–400 нм)
КВК	кислород-выделяющий комплекс
МРТ	модульный рекомбинантный транспортер
НАДН	никотинамидадениндинуклеотид (восстановленный)
НАДФ	никотинамидадениндинуклеотидфосфат
ПД	потенциал действия
РЦ	реакционный центр
СУФ	средневолновый УФ (290–320 нм)
УФ	ультрафиолетовое излучение
ФС I	фотосистема I
ФС II	фотосистема II
ЭМИ	электромагнитное излучение
ЭМП	электромагнитное поле
ЭПР	электронный парамагнитный резонанс
ЭТЦ	электрон-транспортная цепь
ЯМР	ядерный магнитный резонанс

Если вы хотите более подробно познакомиться с современной биофизикой, мы рекомендуем вам следующие книги:

- А.Б. Рубин Биофизика. В 2 т. Изд. 3-е. Учебник. М.: Изд. Моск. ун-та; «Наука». Т. I. Теоретическая биофизика. 2004. 448 с. Т. 2. Биофизика клеточных процессов. 2004. 469 с.
- А.Б. Рубин. Лекции по биофизике. Учебное пособие. М.: «ПРОГРЕСС-Традиция». 1998. 168 с.
- Ю.Б. Кудряшов. Радиационная биофизика (Ионизирующие излучения). М.: «Физматлит», 2004. 446 с.
- Ю.Б. Кудряшов, Ю.Ф. Перов, А.Б. Рубин. Радиационная биофизика (Радиочастотное и микроволновое электромагнитное излучение). М.: «Физматлит», 2007. 250 с.
- Г.Ю. Ризниченко. Лекции по математическим моделям в биологии. Ч. I. Описание процессов в живых системах во времени. Учебное пособие. М-Ижевск.: Научно-издат. центр «Регуляция и хаотическая динамика», 2002. 232 с.
- Г.Ю. Ризниченко, А.Б. Рубин. Биофизическая динамика продукционных процессов. М-Ижевск.: «Институт компьютерных исследований», 2004. 464 с.

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АБИТУРИЕНТОВ

Кафедра биофизики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова – ведущее учебное заведение России, проводящее подготовку студентов по специальности «биофизика». На кафедре готовят высокообразованных специалистов, владеющих глубокими знаниями в областях современной экспериментальной биологии, физики, физической химии, математики, необходимых для изучения и анализа механизмов биологических процессов.

Учебный план кафедры включает лекции, семинары и практические занятия по основным биологическим дисциплинам, общему курсу и специальным разделам физики, химии и математики. Основные концепции современной биофизики изучаются в рамках спецкурсов по направлениям:

- Теоретическая и молекулярная биофизика (кинетика и термодинамика биологических процессов, пространственная организация биополимеров, динамические свойства глобулярных белков, электронные свойства биополимеров);
- биофизика клетки и мембранные процессы (структурно-функциональная организация биомембран, транспорт веществ и биоэлектрогенез, трансформация энергии в биомембранах);
- биофизика фотобиологических процессов (первичные процессы фотосинтеза, первичные фотопроцессы в биологических системах);
- радиационная биофизика (биофизические механизмы действия ионизирующих излучений, общая радиобиология, радиоэкология);
- медицинская биофизика;
- экологическая биофизика.

В последнее время большое место в учебном процессе отводится вопросам биоинформатики и биоинженерии.

На Большом практикуме кафедры задачи сгруппированы в тематические циклы, широко используются компьютерные технологии. Важное место в работе практикума занимает освоение биофизических методов исследования, их особенностей и требований, предъявляемых к ним.

Студенты проходят летние полевые и лабораторные практики на Звенигородской и Беломорской биологических станциях, на базе филиала биологического факультета МГУ в г. Пущино, а также в ряде институтов РАН. На 4-ом курсе студенты выполняют курсовую, а на 5-ом курсе дипломную работу.

В 2008 году прием абитуриентов на кафедру осуществляется по результатам вступительных экзаменов: математика, русский язык и литература, химия, биология или физика (по выбору). Все экзамены проводятся письменно. Срок обучения на кафедре – 5 лет, выпускники получают квалификацию «специалист».

**Biophysics** (or *biological physics*) is an interdisciplinary science studying physical and physico-chemical mechanisms of biological processes. Living systems at all levels of organization – from molecules to cells, organisms, populations and ecosystems – are objects of biophysical research. Biophysics interacts with biochemistry, molecular biology, physiology, systems biology, nanotechnology and bioengineering. Biophysical methods are widely applied in medicine, agriculture and environmental and ecological monitoring.

**Biophysics Department** of Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, was founded by Prof. Boris N. Tarusov in 1953. It was the world first educational institution in the field of biophysics. Its academic backbone was formed by leading specialists in biophysics, radiobiology, photochemistry and biophotonics: Alexander A. Krasnovskiy, Alexander N. Terenin, Gleb M. Frank, Alexander M. Kuzin. Nowadays it's one of the leading research and educational centers on biophysics. Its staff includes 25 Full Professors and about 40 Ph.D. scientists. Head of the Department is Corresponding Member of Russian Academy of Sciences Prof. Andrey B. Rubin.

The program of biophysical education covers 5 academic years (academic year at MSU starts in September and ends in June). Applicants are admitted according to the results of entrance exams. Educational program includes lectures, seminars and practical trainings on most of biological and physical disciplines, chemistry, and mathematics. Over 25 special courses cover areas of biophysics:

- theoretical and molecular biophysics,
- biophysics of cellular and membrane processes,
- biophysics of photobiological processes,
- radiation biophysics,
- medical biophysics, and
- ecological biophysics.

All courses are delivered in Russian.

Students of the department are engaged in summer practical work at MSU biological stations near Zvenigorod and at the White Sea, in Puschino Scientific Center, and in a number of research institutes of Russian Academy of Sciences.

Biophysics Department of Biological Faculty of MSU provides top-class qualification to young scientists for their work in the field of fundamental and applied biophysics.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	3
Теоретическая биофизика .....	5
Биофизика клетки и мембранных процессов .....	10
Биофизика фотобиологических процессов .....	16
Радиационная биофизика .....	25
Медицинская биофизика .....	29
Экологическая биофизика .....	34
Используемые сокращения .....	37
Рекомендованная литература .....	37
Информация для абитуриентов .....	38
About Lomonosov MSU Biophysycs Department .....	39

### *На обложке:*

- Схема строения нейрона
- Стадии транспорта модульного рекомбинантного транспортера (МРТ) внутрь клетки-мишени

Редакционная коллегия:

А.Б. Рубин, О.Р. Кольс, Т.Е. Кренделева, Г.Ю. Ризниченко, С.С. Хрущев

Отпечатано в ООО «Новый печатный двор»

Москва, Хибинский проезд, д. 12

Подписано в печать \_\_.05.2008 г.

Тираж 1000 экз.