

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук  
( ИБХ РАН )

СОГЛАСОВАНО:

Ученый совет ИБХ РАН

Протокол №10 от «22» октября 2014 г.



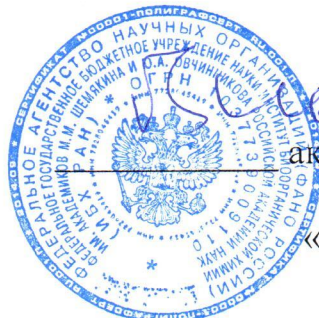
Ученый секретарь

д.ф.-м.н. В.А.Олейников

«22» октября 2014 г.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ИБХ РАН



академик В.Т.Иванов

«22» октября 2014 г.

## РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

по дисциплине Б1.В.ОД.5

## ХИМИЯ ЛИПИДОВ И МЕМБРАНОЛОГИЯ (ЛИПИДОЛОГИЯ)

**Направление подготовки:** 06.06.01 Биологические науки

**Направленность (профиль) программы:**

03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**Уровень высшего образования:**

подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре

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

**Форма обучения:** очная

Москва - 2014



## **Составитель курса: д. х. н. В.В.Безуглов**

*Рабочая программа составлена на основании федерального государственного образовательного стандарта, разработанного для реализации основных профессиональных образовательных программ высшего образования – программ подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки кадров высшей квалификации 06.06.01 «Биологические науки».*

Согласно Федеральному государственному образовательному стандарту высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., и учебному плану аспирантов, разработанного на основе этого стандарта, дисциплина «Химия липидов и мембранология (липидология)» является обязательной учебной дисциплиной вариативной части Блока 1 образовательной программы по направленности (профилю) 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), на изучение которой отведены 2 зачетные единицы. Соответствующий этому объём курса составляет 72 академических часа, из них 24 академических часа лекций, 36 академических часов лабораторных работ, 8 часов самостоятельной внеаудиторной работы аспирантов, включая подготовку к дифференцированному зачету и 4 часа на контроль знаний.

### **1. Цели и задачи изучения дисциплины**

Липиды — одни из основных компонентов биологических мембран. Липиды влияют на проницаемость клеток и активность многих ферментов, участвуют в передаче нервного импульса, в мышечном сокращении, создании межклеточных контактов, в иммунохимических процессах, образуют энергетический резерв организма, участвуют в создании водоотталкивающих и термоизоляционных покровов, защищают различные органы от механических воздействий и др.

Курс «Химия липидов и мембранология (липидология)» играет важную роль в формировании у будущих исследователей и преподавателей научного мировоззрения и современного биолого-химического мышления, достаточной теоретической базы для успешного усвоения аспирантами общепрофессиональных и специальных дисциплин. В процессе изучения курса «Химия липидов и мембранология (липидология)» происходит ознакомление аспирантов с современной научной литературой, вырабатываются умение решать конкретные профессионально ориентированные задачи в объёме, установленном ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденном приказом Минобрнауки РФ №871 от 30 июля 2014 г.

**1.1. Цель курса:** дать аспирантам наиболее важные представления о фундаментальных основах физико-химической биологии и о современных методах исследования, применяемых в этой области для изучения компонентов живой материи, с фокусом на липиды.

**1.2. Задачи курса:** формирование базовых знаний о закономерностях взаимосвязи между структурой и функцией липидов, их биологической роли и связи с другими компонентами живых систем, формирование у аспирантов необходимых навыков самостоятельного поиска информации и решения проблем структурного анализа и определения липидов различных классов в биологических образцах.

#### **1.3. Связь с другими дисциплинами**

Курс «Химия липидов и мембранология (липидология)» в той или иной степени имеет непосредственную связь практически со всеми дисциплинами, изучаемыми на протяжении всего времени овладения аспирантами образовательной программы по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки и является обязательной дисциплиной при подготовке специалистов в области молекулярной биологии, биохимии и биотехнологии (в том числе бионанотехнологии).



## **II. Требования к уровню освоения дисциплины**

Курс «Химия липидов и мембранология (липидология)» включает теоретическую и практическую часть. При выполнении лабораторных работ ставится цель освоения наиболее современных экспериментальных методов исследования липидов и мембран клеток. Основным критерием качества выполнения этого вида учебной работы аспирантов как в учебных аудиториях, так и при выполнении домашних заданий является самостоятельность, для обеспечения которой применяются различные методические приёмы. При выполнении лабораторных работ необходимо самостоятельно выполнить все эксперименты и измерения, предусмотренные данной работой, оформить отчёт о проделанной работе. Сдача отчёта о выполненных лабораторных работах производится в форме защиты, которая может проводиться в устной форме ответов на контрольные вопросы по теории и о порядке выполнения работы. Аспиранты, не выполнившие план и не сдавшие отчёты по лабораторному практикуму, к итоговому зачету по предмету не допускаются. В течение семестра аспиранты должны прослушать лекции по 12 темам, указанным в блок-схеме курса. По теоретической части курса аспиранты должны иметь конспекты прослушанных лекций, материалы проработки вопросов, вынесенных на самостоятельное изучение, а также оценки промежуточных контролей.

В рамках данной дисциплины углубляются и развиваются следующие компетенции:

### ***Универсальные компетенции:***

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);
- способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5).

### ***Общепрофессиональные компетенции:***

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);
- готовность к преподавательской деятельности по основным образовательным программам высшего образования (ОПК-2).

### ***Профессиональные компетенции:***

- способность к самостоятельному проведению научно-исследовательской работы и получению научных результатов, удовлетворяющих установленным требованиям к содержанию диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по направленности (профилю) «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» (ПК-1);
- обладание представлениями о системе фундаментальных понятий и методологических аспектов биологии, форм и методов научного познания (ПК-2);
- способность приобретать новые знания с использованием современных научных методов и владение ими на уровне, необходимом для решения задач, возникающих при выполнении профессиональных функций (ПК-3);
- обладание опытом профессионального участия в научных дискуссиях, умение представлять полученные в исследованиях результаты в виде отчетов и научных публикаций (стендовые доклады, рефераты и статьи в периодической научной печати) (ПК-4);
- владение методами отбора материала, преподавания и основами управления процессом обучения фундаментальной биологии в школе и вузе (ПК-5).

В результате освоения дисциплины «Химия липидов и мембранология (липидология)» обучающиеся должны знать:

- основные компоненты биологических мембран и классы липидов;
- номенклатуру отдельных классов липидов;



- принципы образования и функционирования биологических мембран;
- основные пути биосинтеза липидов различных классов, ферменты синтеза и гидролиза липидов;
- биологические эффекты и основные сигнальные пути с участием биоэффекторных липидов;
- пути окислительного и неокислительного метаболизма жирных кислот, а также их свободнорадикального окисления;
- методы выделения и анализа липидов;
- современные методы липидомики;
- методы критического анализа и оценки современных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе, в междисциплинарных областях;
- современные способы использования информационно-коммуникационных технологий;

уметь:

- сравнивать между собой строение, свойства, функции липидов различных классов;
- применять основные методы липидологии и липидомики в научных исследованиях;
- использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности;
- выбирать необходимые методы и оборудование для проведения исследований;
- пользоваться информационными ресурсами Интернет и справочной литературой по биологии и биохимии научного и прикладного характера для быстрого поиска необходимых данных и понятий;
- выделять и систематизировать основные идеи в научных текстах; критически оценивать любую поступающую информацию, вне зависимости от источника;
- при решении исследовательских и практических задач генерировать новые идеи;

владеть:

- навыками выбора методов и средств решения задач исследования липидов и мембран клеток;
- методами теоретического и экспериментального исследования липидов и мембран клеток;
- навыками поиска (в том числе с использованием информационных систем и баз данных), обработки, анализа и систематизации информации;
- навыками критического анализа и оценки современных научных достижений.

### III. Объем дисциплины и виды учебной работы

Форма обучения – ОЧНАЯ

**Общий объем дисциплины:** 1 зачетная единица или 36 академических часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)	Контроль (час)
72	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы		
	24	-	36	8	4
	60				

#### Распределение аудиторных часов по темам и видам учебной работы

№	Наименование тем и разделов (с развернутым содержанием курса по каждой теме и разделу)	Аудиторные занятия (час), в том числе:	
		Лекции	Семинары
1	Введение в липидологию	2	-
2	Жирные кислоты	2	-
3	Липиды биологических мембран	2	-



4	Структурная организация биологических мембран	2	-
5	Биоэффекторные (сигнальные) глицеролипиды	2	-
6	Нейролипиды – семейство липидных нейроактивных веществ	2	-
7	Сфинголипиды как биоэффекторы	2	-
8	Оксилипиды и окислительный метаболизм полиеновых жирных кислот. Липоксигеназное окисление полиеновых жирных кислот	2	-
9	Циклооксигеназные продукты окислительного метаболизма полиеновых жирных кислот	2	-
10	Эпоксигеназа и ее продукты. Свободнорадикальное окисление полиеновых жирных кислот	2	-
11	Биохимия липидных сигналов	2	-
12	Липидомика	2	-
	<b>Всего:</b>	24	-
	<b>Итого:</b>	24	

#### IV. Содержание курса «ХИМИЯ ЛИПИДОВ И МЕМБРАНОЛОГИЯ (ЛИПИДОЛОГИЯ)»

##### Раздел 1

##### Введение в липидологию

Липиды и жизнь. Абиотические липиды. Основные компоненты липидов. Определения. Классы липидов. Функции липидов в живых системах Липидная энергетика. Биомембраны. Сигнальные липиды.

##### Раздел 2

##### Жирные кислоты

Жирные кислоты – основной компонент липидных структур. Насыщенные и ненасыщенные кислоты. Эссенциальные жирные кислоты. Номенклатура полиеновых жирных кислот. Биосинтез насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Арахидоновая и докозагексаеновая кислоты. Транспорт жирных кислот в организме. Последствия недостаточности эссенциальных жирных кислот. Транс-жирные кислоты. Биологические эффекты жирных кислот.

##### Раздел 3

##### Липиды биологических мембран

Биологические мембраны: функции и компоненты. Мембранные белки. Углеводы в мембранах Основные типы мембранных липидов. Фосфолипиды. Ремоделинг жирных кислот. Сфингомиелин. Холестерин.

##### Раздел 4

##### Структурная организация биологических мембран

Разнообразие мембран органелл и клеток. История мембранологии. Вода – движущая сила образования мембран. Модели мембран. Асимметрия биологических мембран. Рафты и кавеолы. Холестерин в мембранах Динамика и фазы липидов. Транспорт через мембрану.

##### Раздел 5

##### Биоэффекторные (сигнальные) глицеролипиды



Принципы регуляции в живых системах. Типы глицеролипидов. Фосфолипазы – ключевые ферменты образования сигнальных липидов. Диацилглицерины как эффекторы. Биоэффекторная роль глицерофосфолипидов. Фактор активации тромбоцитов (PAF): биосинтез; метаболизм; биологические эффекты. Лизофосфолипиды. Лизолецитин, фосфатидовая и лизофосфатидовая кислоты как биоэффекторы.

## **Раздел 6**

### **Нейролипиды – семейство липидных нейроактивных веществ**

Каннабиноиды и эндогенные лиганды каннабиноидных рецепторов: анандамид и 2-арахидоноилглицерин. Возможные пути биосинтеза эндоканнабиноидов. Инактивация эндоканнабиноидов: захват и гидролиз. Гидролаза амидов жирных кислот и моноглицеридлипаза – ключевые ферменты метаболизма эндоканнабиноидов.

Капсаицин и другие ванилоиды. Ванилоидные рецепторы и их эндогенные лиганды. Биологические эффекты эндоканнабиноидов и эндованилоидов. Амиды жирных кислот и липоаминокислоты как биоэффекторные липиды. Липидные нейротрансмиттеры и другие липидные нейроактивные соединения.

## **Раздел 7**

### **Сфинголипиды как биоэффекторы**

Сфинголипиды: структура, биосинтез, биологические функции. Сфингомиелиновый цикл: ферменты и индукторы. Сфинголипиды как вторичные мессенджеры, их участие в процессах роста и апоптоза клеток. Гликофинголипиды как межклеточные медиаторы и иммуномодуляторы. Сфинголипиды в патологии.

## **Раздел 8**

### **Оксилипиды и окислительный метаболизм полиеновых жирных кислот.**

#### **Липоксигеназное окисление полиеновых жирных кислот**

Липоксигеназы, их классификация, механизм окисления, ингибиторы. Гидроксикислоты – продукты восстановления липидных гидропероксидов, их биологические эффекты и метаболизм. Лейкотриены: структуры, биосинтез и метаболизм. 5-Липоксигеназа – особый мультипротеиновый комплекс: локализация и регуляция активности; лейкотриеновый метаболон. Лейкотриен А<sub>4</sub>-гидролаза и глутатионтрансфераза. Липоксины и гепоксиллины: биосинтез и биологические эффекты. Резольвины и нейропротектины. Рецепторы липоксигеназных метаболитов. Общие пути инактивации оксипинов. Липоксигеназное окисление в растениях. Фитооксипиновы.

## **Раздел 9**

### **Циклооксигеназные продукты окислительного метаболизма полиеновых жирных кислот**

Простагландины и тромбоксаны (типы и серии). Взаимопревращения простагландинов. Циклооксигеназа – ключевой фермент биосинтеза простагландинов и лейкотриенов. Механизм окисления арахидоновой кислоты. Типы циклооксигеназ (COX1, COX2). Ингибиторы циклооксигеназ: неселективные (аспирин, индометацин), селективные для COX2. Субстратная специфичность, нейролипиды как субстраты циклооксигеназы. Конвертазы и синтазы – путь к функционально активным структурам простаноидов. Механизмы действия простагландинов и тромбоксанов, их биологическая роль. Рецепторы и механизмы передачи сигнала. Циклопентеновые простагландины – лиганды ядерных рецепторов. Транспорт через мембрану. Основные пути инактивации простагландинов и тромбоксанов.

## **Раздел 10**

### **Эпоксигеназа и ее продукты. Свободнорадикальное окисление полиеновых жирных кислот**



Эпоксигеназы – ферменты семейства цитохрома Р-450. Биологическая активность эпоксиполиеновых жирных кислот. 4-гидроксинафталеналь и изопростаны. Другие изооксиполиены. Нитрополиены – новые сигнальные молекулы, сопряженные с генерацией оксида азота.

## Раздел 11

### Биохимия липидных сигналов

Пространственная организация и динамика клеточных липидов. Типы липидных сигналов. Генерация, распространение и терминирование липидных сигналов. Субклеточная организация систем метаболизма липидов.

## Раздел 12

### Липидомика

Основные проблемы липидологии. Липидомика – новое направление в изучении липидов. Методы выделения и определения строения липидов. Масс-спектрометрические подходы к изучению липидов. MALDI-imaging для отдельных видов липидов.

## V. Лабораторные работы (лабораторный практикум)

Лабораторный практикум как составная часть учебного процесса по дисциплине «Химия липидов и мембранология (липидология)» обеспечивает прочную связь познавательной и профессиональной направленности учебного процесса. В ходе лабораторного практикума достигаются следующие цели:

- 1) подготовка к работе в научной лаборатории путем освоения правил охраны труда и техники безопасности;
- 2) ознакомление с принципами действия и устройством приборов и измерительного оборудования и овладение приемами получения биологических и химических характеристик исследуемых объектов, а также измерений физических величин;
- 3) приобретение навыков экспериментальной работы и ознакомление с методами статистической обработки полученных данных;
- 4) наглядное подтверждение теоретических положений, излагаемых в лекционном курсе, способствующее более глубокому пониманию и усвоению основных положений курса.

Выполнение аспирантом программы лабораторного практикума создает базу для подготовки выпускника аспирантуры к решению профессиональных задач и самостоятельным научным исследованиям. Лабораторный практикум проводится на современном оборудовании в лабораторных помещениях, специализированных по разделам программы курса. Лабораторный практикум проводится в соответствии с расписанием занятий и графиками выполнения лабораторных работ. Перечень лабораторных работ приведен ниже:

### Лабораторная работа №1

#### СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ

Составитель программы: Т.Н.Симонова

### 1. Пояснительная записка

**1.1. Цель курса:** изучение методов солюбилизации биологических мембран детергентами на примере пурпурных мембран галофильных бактерий *Halobacterium halobium*.

**1.2. Задачи курса:** выделить солюбилизованный бактериоопсин с целью дальнейшего использования его для реконструкции в протеолипосомах.

**1.3. Трудоемкость выполнения:** 6 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
12				



	-	1	5	6
	6			

#### 1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практи- ческие занятия, семинары	лаборатор- ные работы
1	Теоретическое введение: мембранные белки, типы детергентов, методы солюбилизации, выделения и анализа мембранных белков; пурпурные мембраны галофильных бактерий, бактериородопсин, липиды пурпурных мембран	-	1	-
2	Солюбилизация пурпурных мембран додецилсульфатом натрия, контроль полноты солюбилизации	-	-	2
3	Подготовка к гель-фильтрации	-	-	0,5
4	Выделение солюбилизированного бактериоопсина и определение его концентрации во фракциях.	-	-	1
5	Объединение фракций, содержащих бактериоопсин, и концентрирование полученного препарата	-	-	1
6	Спектрофотометрический контроль чистоты солюбилизированного бактериоопсина и определение его концентрации в полученном препарате			0,5
	<b>Всего:</b>	-	1	5
	<b>Итого:</b>	6		

#### 2. Перечень тем лабораторных занятий:

1. Осаждение пурпурных мембран галобактерий центрифугированием.
2. Спектрофотометрическое определение концентрации бактериородопсина и бактериоопсина.
3. Солюбилизация мембранных белков.
4. Приготовление буферных растворов
5. Выделение солюбилизированного белка гель-фильтрацией.

#### 3. Форма промежуточного контроля и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

#### 4. Вопросы для контроля знаний

1. Особенности строения мембранных белков Периферические и интегральные мембранные белки.
2. Методы выделения мембранных белков.
3. Понятие о детергентах и их типах. Выбор детергентов для солюбилизации мембранного белка.
4. Пурпурные мембраны галофильных бактерий, их состав.
5. Бактериородопсин, его строение, укладка в мембране.
6. Что происходит при солюбилизации пурпурных мембран додецилсульфатом натрия и холатом натрия? Какие структуры при этом формируются?



7. Спектральные характеристики бактериородопсина в составе пурпурных мембран и в солюбилизованном состоянии.
8. Липиды пурпурных мембран, особенности их строения.

**Лабораторная работа №2**  
**ПРОТЕОЛИПОСОМЫ. АКТИВНЫЙ ИОННЫЙ ТРАНСПОРТ**  
**Составитель: к.х.н. С.В.Сычев**

**1. Пояснительная записка**

**1.1. Цель курса:** ознакомиться на примере бактериородопсина (БР) с методами включения мембранного белка в фосфолипидные везикулы (липосомы), наблюдать функциональную активность реконструированного белка и определить его ориентацию в протеолипосомах. Сборка работающей системы – протеолипосом - из трех компонентов: денатурированного бактериородопсина, ретиналя и экзогенного фосфатидилхолина.

**1.2. Задачи курса:** выработать у аспирантов практические навыки работы с лабораторным оборудованием, используемым в работе с липидами и искусственными мембранами, освоить методы поэтапной реконструкции мембранного белка.

**1.3. Трудоемкость выполнения:** 6 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)
12	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
	-	1	5	
	6			

**1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:**

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практи- ческие занятия, семинары	лаборатор- ные работы
1	Вводная часть. Бактериородопсин – главный компонент пурпурных мембран галофильных бактерий. Понятие о реконструкции мембранного белка. Искусственные мембраны и липиды, используемые для реконструкции. Липосомы и методы их формирования из смешанных липид-детергентных мицелл.		1	
2	Получение липид-детергентных мицелл с использованием холата натрия. Измерение концентрации ретиналя в растворе этанола и расчет нужного объема раствора для проведения реакции присоединения ретиналя к белку. Объединение смешанных мицелл, бактериородопсина и ретиналя и проведение реакции присоединения ретиналя.			1
3	Спектрофотометрическое определение процента регенерации белка.			1
4	Подготовка препаратов для получения протеолипосом методом диализа.			1



5	Приготовление растворов NaCl, подбор параметров записи рН и измерение индуцированного светом изменения рН в полученных протеолипосомах.			1
6	Обсуждение результатов измерений трансмембранного переноса протонов. Определение преимущественной ориентации БР в мембране.			0,5
7	Проведение калибровки электрода и определение протон-переносающей активности БР.			0,5
	<b>Всего:</b>		1	5
	<b>Итого:</b>	6		

## 2. Перечень тем лабораторных занятий:

Реконструкция мембранных белков. Основные этапы работы.

- Ионные детергенты. Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) детергента. Мицеллярные числа используемых в работе детергентов (SDS и холата Na). Геометрическая форма и строение липид-детергентных мицелл.
- Формула определения процента регенерации белка по спектру поглощения связанного ретиналя.
- Методы удаления детергентов для формирования протеолипосом.
- Общий принцип сворачивания полипептидной цепи БР в мембране, компактная нативная структура белка по данным криоэлектронной микроскопии.
- Асимметричное или векторное включение белка в липосомы.

## 3. Форма промежуточного контроля и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

### 4. Вопросы для контроля знаний

- Почему не происходит присоединение ретиналя к бактериоопсину на стадии его добавления к белку в SDS?
- Оценить по порядку величины, сколько молекул белка реконструировано в одну протеолипосому, если она содержит  $\sim 10^4$  молекул липида. Молекулярная масса БР – 26800 Да, средняя молекулярная масса фосфолипида –  $\sim 700$  Да.
- Какова преимущественная ориентация БР в протеолипосомах (каково расположение N- и C-концевых остатков белка на поверхностях мембраны)?
- Как зависит измеряемая величина  $\Delta pH$  от степени (%) регенерации белка?
- Каково время (по порядку величины) цикла фотохимических превращений БР?

## Лабораторная работа №3 ЛИПОСОМЫ. ИНДУЦИРОВАННЫЙ ИОННЫЙ ТРАНСПОРТ

Составитель: С.В.Суханов

### 1. Пояснительная записка

**1.1. Целью курса** является изучение ионного транспорта через мембрану липосом под действием валиномицина в зависимости от температуры; получение теоретических знаний о структуре, функции и комплексоных свойствах валиномицина; освоение методик получения многослойных и однослойных липосом; получение навыков работы с липосомами и ион-селективной техникой; освоение методики анализа экспериментальных данных, оформления практических результатов экспериментов в виде письменного отчёта.

**1.2. Задачи курса:** выработать у аспирантов практические навыки работы с микропипетками, лабораторным оборудованием (весы, рН-метр, роторный вакуумный испаритель, ультразвуковой дезинтегратор, термостат, ион-селективные электроды).

**1.3. Трудоемкость выполнения:** 6 часов.



Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
	12	-	1	5
			6	

#### 1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практи- ческие занятия, семинары	лаборатор- ные работы
1	Теоретические аспекты мембранного транспорта: принципы функционирования антибиотиков-ионофоров на примере валиномицина; липосомы - модельные мембранные системы.		0,5	
2	Получение многослойных липосом. Набухание / встряхивание липида в водном растворе KCl.			0,5
3	Получение малых униламеллярных липосом. Обработка многослойных липосом ультразвуком.			0,5
4	Гель-фильтрация. Создание градиента ионов калия на мембране липосом. Нанесение и фильтрация однослойных липосом на хроматографической колонке, уравновешенной водным раствором NaCl.			1
5	Ион-селективные измерения с помощью K <sup>+</sup> -электрода. Добавление валиномицина к пробе липосом. Регистрация индуцируемого выхода ионов калия из липосом при различных температурах.			1
6	Ион-селективные измерения. Калибровка K <sup>+</sup> -электрода. Приготовление водных растворов KCl в диапазоне концентраций от 10 <sup>-5</sup> М до 10 <sup>-2</sup> М. Измерение электродного потенциала в приготовленных растворах.			2
7	Составление таблицы результатов измерений и их подготовка для компьютерного анализа. Определение координат точек экспериментальных кривых для дальнейшей обработки. Компьютерный анализ. Ввод экспериментальных данных, расчет и построение зависимости частоты валиномицин-индуцируемого переноса ионов калия через мембрану липосом от температуры.		0,5	
	<b>Всего:</b>		1	5
	<b>Итого:</b>		6	

#### 2. Перечень тем лабораторных занятий:

1. Транспорт ионов через биологические мембраны. Каналы и переносчики.
2. Липосомы - модельная липидная мембранная система.



3. Валиномицин - антибиотик-ионофор, избирательно увеличивающий катионную проницаемость мембран и являющийся образцовым примером  $K^+/Na^+$  избирательности и инструментом для изучения физико-химических свойств биологических мембран.
4. Ион-селективные электроды: принцип действия.
5. Основные правила ведения лабораторного журнала и представления результатов для публичного обсуждения.

### **3. Форма промежуточного контроля и оценки знаний по разделу практикума – зачет.**

#### **4. Вопросы для контроля знаний**

1. Химические формулы: валиномицин, холестерин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозит.
2. Многослойные и однослойные липосомы: методы получения, структура, размеры, физико-химические свойства.
3. Валиномицин: структура, функция и комплексоны свойства.
4. Принцип действия ион-селективных электродов.

Из представленного выше списка лабораторных работ составляются графики выполнения практикума, соответствующего разделам теоретического курса, который изучается параллельно в том же семестре. Группа аспирантов разделяется на подгруппы по 4-5 учащихся в каждой. Каждая подгруппа за семестр должна выполнить все три лабораторные работы. В начале семестра на первом лабораторном занятии проводится вступительное занятие, на котором решаются организационные вопросы и проводится инструктаж аспирантов по технике безопасности, что фиксируется в журнале лабораторных работ. Лабораторные работы каждым аспирантом выполняются в составе подгруппы, при этом каждый аспирант самостоятельно ведёт протокол работы. Разработанные в Учебно-научном центре методические указания к каждой лабораторной работе предоставляются аспирантам в печатном виде. После выполнения экспериментальных работ и измерений аспирант обязан представить их результаты преподавателю, ведущему лабораторные занятия, и получить его подпись. Порядок последующей обработки этих результатов и получения окончательного итога, выносимого на защиту каждой работы, описаны в методических указаниях к этой работе. Для получения зачета по каждой лабораторной работе аспирант обязан иметь протокол выполнения этой работы, надлежащим образом оформленный в рабочем журнале аспиранта, и предъявить его преподавателю для получения отметки в дневнике выполнения лабораторных работ. Для защиты выполненных лабораторных работ в расписании занятий предусматриваются отдельные часы. Защита работ может проводиться устно или путем тестирования по специально разработанному педагогическому обеспечению. Пропущенные по любой причине лабораторные работы должны быть отработаны. Для этого предусмотрены дополнительные занятия, которые назначаются преподавателем, работающим с подгруппой. Аспирант, не выполнивший и не защитивший предусмотренные графиком лабораторные работы, к экзамену по дисциплине не допускается.

### **VI. Самостоятельная работа**

В процессе освоения предмета предусмотрено самостоятельное изучение отдельных вопросов лекционного курса в виде проработки лекционного материала и соответствующих разделов курса по учебникам.

### **VII. Требования к знаниям и умениям аспирантов**

Аспиранты на качественно новом уровне, по сравнению со студенческим курсом, должны усвоить основные методы химии липидов и мембранологии (липидологии).

Аспиранты учатся применять усвоенные знания непосредственно в исследовательской лаборатории.



## **VIII. Итоговая проверка знаний**

### **8.1. Форма итоговой проверки и оценки знаний**

Учебный план по дисциплине «Химия липидов и мембранология (липидология)», разработанный в соответствии с ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., по направленности (профилю) программы 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) предусматривает контроль знаний в форме дифференцированного зачета с выставлением оценок в пятибалльной системе.

### **8.2. Вопросы для дифференцированного зачета**

1. Основные компоненты липидов. Определения. Классы липидов. Функции липидов в живых системах Липидная энергетика. Биомембраны. Сигнальные липиды.
2. Эссенциальные жирные кислоты. Типы полиненасыщенных жирных кислот (w-серии, пентадиеновые кислоты).
3. Биосинтез полиненасыщенных жирных кислот из линолевой и олеиновой кислот. Элонгазы и десатуразы растительного и животного царств. Биологические эффекты жирных кислот.
4. Биологические мембраны: функции и компоненты. Мембранные белки. Углеводы в мембранах Основные типы мембранных липидов. Ремоделинг жирных кислот.
5. Структурная организация биологических мембран. Разнообразие мембран органелл и клеток. Вода – движущая сила образования мембран. Модели мембран.
6. Асимметрия биологических мембран. Рафты и кавеолы. Холестерин и сфингомиелин в мембранах Динамика и фазы липидов. Транспорт через мембрану.
7. Фосфолипидные биорегуляторы. Биосинтез и эффекты фосфатидовой кислоты, лизофосфатидовой кислоты, лизофосфатидилхолина, фактора активации тромбоцитов.
8. Классификация фосфолипаз, их основные типы.
9. Диацилглицерины как биоэффекторные липиды.
10. Сфинголипиды: структуры основных типов, биосинтез и катаболизм. Сфингомиелиновый цикл. Сфинголипиды как вторичные мессенджеры. Их роль в клеточной пролиферации, другие биологические эффекты.
11. Простагландины и тромбоксаны. Классификация (типы и серии). Превращения простагландинов различных типов друг в друга. Циклооксигеназы 1 и 2.
12. Понятие о механизме окислительной циклизации с образованием простагландинов H.
13. Биосинтез и основные пути метаболизма простагландинов. Биологические эффекты простагландинов и тромбоксанов, механизмы их действия, рецепторы.
14. Липоксигеназное окисление полиеновых жирных кислот: требования к субстрату. Типы липоксигеназ и понятие о механизме их действия.
15. Гидроксиполиеновые жирные кислоты: биосинтез и примеры биологической активности.
16. Липоксины и гепоксилыны: структуры, пути образования, биологическая активность. Резольвины и нейространы. Липоксигеназное окисление в растениях.
17. Лейкотриены: типы и серии. Биосинтез лейкотриена A<sub>4</sub> из арахидоновой кислоты и его превращение в лейкотриены других типов. Внутриклеточный и межклеточный синтез лейкотриенов, метаболон. Биологические эффекты и рецепторы лейкотриенов. Основные пути метаболизма лейкотриенов.
18. Эпоксигеназный путь окисления арахидоновой кислоты: основные продукты и биологическая активность.
19. Свободнорадикальное окисление полиеновых жирных кислот, основные продукты.
20. Изопростаны и другие изо-оксипилены: структуры и биологическое значение. Нитрооксипилены.
21. Эндоканнабиноиды, эндованилоиды – продукты неокислительного метаболизма жирных кислот. Их биосинтез, метаболизм, рецепторы и биологическая активность.



22. Липидомика. Основные способы выделения и установления строения биоэффекторных липидов.
23. Биохимия липидных сигналов. Устройство липидной системы клетки. Биохимия основных липидов. Примеры организации липидных сигналов.

## **IX. Учебно-методическое обеспечение дисциплины**

### **9.1. Рекомендуемая литература для освоения теоретического курса**

#### **Основная литература**

1. Ю.А. Овчинников. Биоорганическая химия. М., Просвещение, 1987.
2. Р. Геннис. Биомембраны. Молекулярная структура и функции. М., Мир, 1997.
3. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (5th Edn.). Edited by Dennis E. Vance and Jean E. Vance. Elsevier. 2008.
4. D.E. Metzler Biochemistry. Second edition. Vol 1, Vol 2. Academic Press. 2001 – 2003.
5. М.Г. Сергеева, А.Т. Варфоломеева. Каскад арахидоновой кислоты. М., Народное образование, 2006.

#### **Дополнительная литература**

1. Акимов М.Г., Безуглов В.В., Бобров М.Ю., Варфоломеева А.Т., Грецкая Н.М., Дятловицкая Э.В., Кисель М.А., Коновалов С.С., Сергеева М.Г. Липиды и рак. Очерки липидологии онкологического процесса. / СПб.: Прайм ЕВРОЗНАК, 2009.

#### **Электронные ресурсы**

1. <http://oxylipin.ibch.ru>
2. <http://lipidlibrary.aocs.org>

### **9.2. Рекомендуемая литература для подготовки к лабораторным работам**

#### **Основная литература**

1. Ю.А. Овчинников. Биоорганическая химия. М., Просвещение, 1978, сс. 554-569, 605-610, 669-671.
2. Биологические мембраны. Методы (под ред. Джю Финдлея и У. Эванса). Глава 5, М., Мир, 1990.
3. Ушаков А.Н., Циренина М.Л., Симонова Т.Н., Волков С.К., Колтовая Н.А., Чекулаева Л.Н., Вавер В.А. Фосфолипиды пурпурных мембран галобактерий. Биоорг. Химия, Т.4, №6, СС.774-781, 1978.
4. Р.Геннис. Биомембраны. Молекулярная структура и функции. М. Мир, 1997.
5. А.Б.Рубин. Биофизика Том 2, главы XV и XXXIX. Издательство Московского университета, 2004.
6. Ю.А.Овчинников, В.Т.Иванов, А.М.Шкроб. Мембрано-активные комплексоны. М., Наука, 1974.
7. Ovchinnikov YA. Physico-chemical basis of ion transport through biological membranes: ionophores and ion channels. Eur J Biochem. 1979, V94 (2), 321-36.
8. M.C. Block, J.De Gier and L.L.M. Van Deenen. Some factors affecting the valinomycin-induced leak from liposomes. Biochimica et Biophysica Acta. 1974, V367, 202-209.
9. M.C. Block, J.De Gier and L.L.M. Van Deenen. Kinetics of the valinomycin-induced potassium ion leak from liposomes with potassium thiocyanate enclosed. Biochimica et Biophysica Acta. 1974, V367, 210-224.
10. W.L. Duax, D.A. Langs, G.D. Smith, P. Grochulski, V.Pletnev, V.Ivanov. Molecular structure and mechanism of action of cyclic and linear ion transport antibiotics. Биоорганическая Химия. 1992, Т18, №10-11, С1341-1360.

#### **Дополнительная литература**

1. Henderson R. et al. J.Mol.Biol. (1990) 213, 899-929.



2. Kuhlbrandt W. Nature (2000) 406, 569-570.
3. Dutta A. et al. Biochemistry (2010) 49, 6329-6340.
4. Лебедев А.В., Левицкий Д.О. Антибиотики в липидном бислое: переносчики и каналоформеры. ВИНТИ. Итоги науки и техники. Серия: Биофизика. Т.28, М., 1989.