

**ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Научно-методический Центр МЗ РФ по молекулярной медицине,
НИИ биотехнологии**

**Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга,
СПбГБУЗ «Медицинский информационно-аналитический центр»**

Комитет по здравоохранению Ленинградской области;

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова»

**Ассоциация специалистов в области молекулярной медицины
и лабораторной генетики имени Е.И. Шварца**

Академия Молекулярной Медицины

**Ассоциация лабораторной медицины
Санкт-Петербурга и Ленинградской области**

**Общероссийская общественная организация
Научно-практическое общество специалистов лабораторной медицины
имени В.В. Меньшикова, СПб отделение**

СОВРЕМЕННЫЕ BIOTECHNOLOGIES ДЛЯ НАУКИ И ПРАКТИКИ

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
VIII МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ ДНЮ ДНК-2021**

22-23 апреля 2021 года



**Санкт-Петербург
2021**

УДК 663.15/67.08(-41)
ББК 30.16
С23

Научные редакторы: ***Зарайский Михаил Игоревич, Эмануэль Владимир Леонидович***

Рецензенты: ***Ларионова Валентина Ильинична, Карпищенко Анатолий Иванович***

Современные биотехнологии для науки и практики : сборник тезисов
С23 VIII Международной конференции, посвященной Дню ДНК-2021. 22-23 апреля 2021 года / под науч. ред. М.И. Зарайского, В.Л. Эмануэля. – СПб. : РИЦ ПСПбГМУ, 2021. – 60 с. – 1 электрон. опт. диск (CDROM). – Мин. систем. требования: Pentium 100 МГц; 16 Мб RAM; Windows XP; дисковод CD-ROM, Adobe Reader 7.0. – ISBN 978-5-88999-736-8.

Сборник содержит тезисы научных трудов участников VIII международной конференции «Современные биотехнологии для науки и практики», посвященной Дню ДНК-2021.

Разработка и внедрение в клиническую практику инновационных технологий является мощнейшим источником бесценных знаний о патогенезе социально-значимых заболеваний, современных алгоритмах диагностики и мониторинга состояния патологических процессов, а также способах улучшения терапии и качества жизни пациентов.

Сборник предназначен преподавателям и студентам медицинских и биологических факультетов университетов, а также специалистам сферы здравоохранения.

Науки юношей питают,
Отраду старым подают,
В счастливой жизни украшают,
В несчастной случай берегут...

М.В. Ломоносов

Дорогие коллеги, друзья!

Процесс познания мира, который мы называем НАУКОЙ, постоянный и остановить его не в силах никакие препятствия. Основным залогом этого постоянства является ежедневная, кропотливая и самоотверженная работа врачей и биологов различных специальностей, генетиков, лабораторных и научных работников, всех тех, кто вносит свой посильный вклад в расширение наших представлений о патогенезе заболеваний на молекулярном и субмолекулярном уровнях, способах их лечения. Это очень непростой и тернистый путь, на котором мы встречаем большое количество препонов и разочарований. Цена наших неудач – страдания и боль наших пациентов, снижение качества их жизни.

Одним из основных подспорий в нашей работе является развитие и внедрение в повседневную медицинскую и исследовательскую практику инновационных технологий, способных решать большой круг прикладных и научных задач. Именно поэтому наша конференция представляется площадкой, где можно получить знания о современных технологиях, опыте и результатах применения из уст их разработчиков и пользователей.

От имени оргкомитета VIII Международной конференции «Современные биотехнологии для науки и практики», посвященной Дню ДНК-2021, мы благодарим всех участников, спикеров и авторов тезисов за Ваш вклад в развитие современных технологий и надеемся, что в новом 2022 году мы с Вами увидимся в очередной раз.

*Председатель
научно-организационного комитета конференции
доктор медицинский наук
Зарайский Михаил Игоревич*

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ ГЛУТАМАТНЫХ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

А. И. Аксенов

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Глутамат-опосредованная передача сигнала в опухолях способствует их росту и пролиферации. В клетках опухолей также отмечается повышенный уровень экспрессии генов субъединиц NMDA-рецепторов.

Актуальность. В структуре смертности населения, по данным Росстата, злокачественные новообразования занимают второе место. Это связано с трудностями в ранней диагностике и резистентности опухолей к лекарственным препаратам. Для того, чтобы подобрать таргетную терапию к опухолям разных типов и степеней дифференцировки необходимо изучить на молекулярном уровне механизм воздействия препаратов на рецепторы. Для этого можно использовать метод молекулярного докинга на примере NMDA-рецепторов.

Цель исследования. Проведение молекулярного докинга антагониста NMDA-рецептора и поиск положения антагониста с наибольшим значением аффинности.

Материал и методы. Для анализа был выбран антагонист 4-propylphenyl-ACEPC или ((3R,5S)-5-[(2R)-2-amino-2-carboxyethyl]-1-(4-propylphenyl)). Для прогнозирования значений аффинности и его положения был использован метод молекулярного докинга с помощью программы Autodock 4.2. Структура NMDA-рецептора была получена из базы данных белков Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

Основные результаты. Были произведены расчеты термодинамических сил связывания лиганд-рецептор и получены значения аффинности 1,6 и 3,5 Ккал/моль. Наличие различных позиций лиганда говорит о том, что возможны другие более энергетически выгодные позиции.

Выводы. Учитывая последние научные данные о повышении числа NMDA-рецепторов в опухолевых клетках, можно сделать вывод о том, что применение антагонистов NMDA-рецепторов может замедлить рост опухоли и ее дифференцировку.

ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ БИОМАРКЕРОВ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

А.О. Аратова, А.О. Анпилова, С.А. Орлова, О.В. Галкина, Т.С. Васильева

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Введение. Хроническая болезнь почек является глобальной проблемой в системе здравоохранения по всему миру в связи с серьезными медицинскими и социально-экономическими последствиями. Также известно, что 235 млн человек (4-10 % населения в разных странах) страдают бронхиальной астмой (БА).

В настоящее время существуют лишь единичные исследования, посвященные изучению влияния БА на возникновение и прогрессирование хронической болезни почек (ХБП). Результаты этих исследований показывают, что пациенты с БА имеют повышенный риск развития ХБП.

Установление общих биомаркеров БА и ХБП будет ключевым действием в разработке диагностики, мониторинге и контроле эффективности терапии обоих заболеваний. Выявление маркеров повреждения почек у пациентов с ХБП, которые могут иметь значение в патогенезе БА, поможет приблизиться к пониманию возможных общих патогенетических механизмов данных заболеваний.

Цель исследования. Выявление лабораторных предикторов ранней стадии ХБП у больных БА при различных клинико-патогенетических вариантах.

Материал и методы. Нами было обследовано 60 больных БА. Были выделены две группы больных БА: 1-я – 46 пациентов с аллергической (или преимущественно аллергической) бронхиальной астмой (АБА); 2-я – 14 больных с неаллергической бронхиальной астмой (инфекционно-зависимым или преимущественно инфекционно-зависимым вариантом заболевания) (НАБА). Каждая из этих групп была разделена на подгруппы по стадии ХБП (1-3).

Критерии исключения: ХБП 4-5 стадии, острое повреждение почек, острые и хронические инфекционные заболевания, сердечная недостаточность, онкологические заболевания. Критерии включения: ХБП 1-3 стадии, хронические заболевания дыхательных путей. Все пациенты подписывали информированное согласие для участия в исследовании.

Образцы крови и утренней мочи центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин, после чего алиquotированный биоматериал хранили до проведения исследования при температуре –80 °С (не более шести месяцев).

Измерение концентрации креатинина сыворотки крови проводили модифицированным методом Яффе, путем регистрации кинетики реакции. Расчетную скорость клубочковой фильтрации (pCKФ) рассчитывали по формуле СКД EPI. Концентрацию сывороточных и мочевых маркеров повреждения различных компарментов почек определяли методом иммуноферментного анализа (молекула повреждения почек 1 (KIM-1), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF-A), α-глутатион S-трансфераза (αGST)), иммунотурбидиметрическим методом на анализаторе «СА-90», «Furuno» (альбумин, трансферрин, цистатин С (Cys C), Na, IgG).

Основные результаты. По результатам исследования значимых различий между группами АБА и НАБА не выявлено (табл.).

Таблица

Клинико-демографические характеристики групп у больных с бронхиальной астмой при различных клинико-патогенетических вариантах

Характеристики групп исследования	НАБА	АБА	Критерий Манна-Уитни, p<0,05
N	14	46	n/a
Мужчины (%)	7,1 (n=1)	10,9 (n=5)	n/a
Женщины (%)	92,9 (n=13)	89,1 (n=41)	n/a
Средний возраст (M±SD), лет	65±11	63±13	n/a
Вес, кг	76 (67-85)	73,5 (60-93)	0,494
Рост, см	158 (156-167)	162 (155-165)	0,789
ИМТ, кг/м ²	25,1 (21,6-30,3)	28,2 (24,8-32,6)	0,076
pCKФ, мл/мин/м ²	82,9 (57,3-87,0)	83,2 (72,0-91,0)	0,354
Креатинин сыв, ммоль/л	0,077 (0,065-0,091)	0,072 (0,064-0,076)	0,494
VEGF A сыв, нг/мл	1,2 (0,5-3,4)	0,7 (0,2-1,9)	0,334
Альбумин в моче, мг/л	1,5 (0,3-19,0)	0,9 (0,3-15,3)	0,581
IgG мочи, мг/л	0 (0-0)	0 (0-0)	0,064
Трансферрин мочи, мг/дл	0 (0-0)	0 (0-0)	0,979
KIM1 мочи, нг/мл	0,05 (0,1-0,2)	0,2 (0,1-0,5)	0,656
αGST сыв, мкг/л	3,7 (3,1-4,7)	3,6 (3,1-5,6)	0,895
Cys C мочи, мг/л	0 (0-0,01)	0 (0-0,1)	0,267
Na	142,0 (141,0-143,3)	141,0 (140,0-142,0)	0,057

Группы больных с АБА и НАБА были разделены на подгруппы в зависимости от стадии ХБП. У пациентов данных групп на 2-й стадии ХБП была

выявлена корреляция уровня Na ($p=0,04$) и уровня мочевого альбумина у пациентов с ХБП 3-й стадией ($p=0,006$). Отдельно необходимо отметить снижение сывороточного VEGF-A, который можно выделить в качестве маркера тяжести БА при различных клинико-патогенетических вариантах ($p=0,034$).

Заключение. Согласно полученным данным в качестве диагностического критерия тяжести БА можно выделить васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF-A) сыворотки крови. Также важным лабораторным показателем повреждения почек у пациентов с БА можно считать альбуминурию. Отсутствие значимых различий между группами БА может быть связано с многообразием причин данной патологии и различиями в патогенезе и течении заболевания между фенотипами.

БИОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS PUTIDA*, ВЫЗЫВАЮЩЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЕ ОСЕТРОВЫХ РЫБ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В УСЛОВИЯХ РЕГУЛИРУЕМЫХ СИСТЕМ

С.С. Бакиев, А.К. Бисенбаев

НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби»,
г. Алматы, Республика Казахстан

Введение. Бактериальные заболевания являются одним из лимитирующих факторов при выращивании осетровых рыб в условиях регулируемых систем. Несмотря на наличие условий очистки в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ), существует риск массового заражения рыб при возникновении неблагоприятных условий. К числу самых распространенных заболеваний осетровых рыб при выращивании в искусственных условиях являются заболевания, вызываемые бактериями рода *Pseudomonas*.

Цель исследования. Идентификация бактериальных патогенов осетровых рыб, выращиваемых в условиях регулируемых систем.

Цель предусматривает выполнение следующих задач: выделение «чистой» культуры бактерии *Pseudomonas putida*; морфобиологическая и биохимическая характеристика патогена; молекулярно-генетическая идентификация методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); физиологическая характеристика выделенных изолятов бактерий.

Материал и методы. В качестве объектов исследования использовали больных осетровых рыб в возрасте 3-4 лет. В период болезни рыбы ха-

рактиковались малой активностью, заметным снижением потребления комбикормов, у отдельных особей на теле обнаружены некроз мышц и язвы. Для исследования возбудителя инфекции были отобраны образцы смывов с язв и внутренних органов рыб. Идентификацию бактериальных патогенов проводили по результатам определения культуральных свойств колоний бактерий, биохимических характеристик и ПЦР-анализа. Для ПЦР-идентификации использовались тотальная ДНК изолятов и следующие пары праймеров: универсальные бактериальные RW01 5'-AACTGGAGGAAGGTGGGGAT-3' и DG74 5'-AGGAGGTGATCCAACCGCA-3', родоспецифические (*Pseudomonas spp.*) PA-GS-F 5'-GACGGGTGAGTAATGCCTA-3' и PA-GS-R 5'-CACTGGTGTTCCTTCCTATA-3', видоспецифические (*Pseudomonas putida*) P734 5'-CAACTCGGGCGTTGGCATTCTGCT-3' и P1455r 5'-CAAGATCGCCTGGGTACGACGGTT-3'.

Основные результаты. В лабораторных условиях при проведении ряда пересевов с использованием селективных сред определены следующие культуральные свойства колоний бактерий: форма – округлая, размер – до 1,5 мм, цвет – желтый, поверхность – гладкая, профиль – выпуклый, прозрачность – блестящая, края – ровные, структура – однородная, консистенция – мягкая, слегка слизистая. Рост колоний бактерий наблюдается при 37 °С, не наблюдается при 4 и 42 °С в течение ночи.

По результатам биохимической идентификации определено, что бактерии характеризуются как грамотрицательные подвижные палочки, оксидазоположительные; в среде Хью-Лейфсона наблюдается окисление глюкозы (аэробные условия), в анаэробных условиях – отрицательный результат, в среде Меллера с лизином и орнитином образцы показали отрицательный, а с аргинином – положительный результаты. В тесте на желатиназу определено, что образцы не расщепляют желатиназу, отрицательный результат показали образцы изолятов на маннит. Согласно полученным результатам культуральных свойств и биохимической характеристики, бактерии относятся к роду *Pseudomonas*. Для видовой идентификации изолятов применяли ПЦР-метод. По результатам проведенной идентификации ПЦР-методом с использованием универсальных бактериальных, родо- и видоспецифических пар праймеров определено, что выделенные изоляты бактерий идентифицировались как *Pseudomonas putida*.

Заключение. В результате проведенных исследований биохимической и молекулярно-генетической идентификации определены бактерии *Pseudomonas putida*.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ микроРНК В МОЧЕ ЯВАНСКИХ МАКАК, ПОЛУЧАВШИХ РАЦИОН С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ

О.Н. Береснева¹, М.И. Зарайский^{1,3}, М.М. Парастаева¹, А.Г. Кучер¹, И.Г. Каюков¹, С.В. Орлов², К.М. Иванова¹, В.О. Брызгалина¹

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

²ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», г. Сочи, Россия

³ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

Введение. Высокое потребление хлорида натрия с пищей традиционно считается важным фактором кардиоваскулярного риска и роста артериального давления (АД). Значительное содержание натрия в рационе ассоциируется с ремоделированием миокарда и развитием гипертрофии левого желудочка. В последнее время внимание уделяется также изучению влияния высокого потребления хлорида натрия на состояние почек. Однако механизмы потенциального негативного воздействия высокосолевых рационов на почки не установлены. Одним из важных звеньев в данном процессе могут служить микроРНК.

Цель исследования. Проследить изменения экспрессии микроРНК-21, 203 и 133 в моче яванских макак при высоком потреблении поваренной соли с включением и без включения в рацион изолированных протеинов сои.

Материал и методы. Исследование выполнено на 18 яванских макаках-самцах в возрасте 6-8 лет. Животные были разделены на три группы (по 6 в группе). Первая (контроль) получала стандартный рацион. Вторая – рацион с высоким содержанием поваренной соли (8 г NaCl/kg), третья – высокосолевую диету в сочетании с изолированным соевым протеином SUPRO 760 (200 г/кг; ProteinTechnologyInternational, USA). Срок наблюдения – 4 мес.

Определение относительного уровня экспрессии микроРНК в моче заключалось в выделении тотальной РНК с помощью фенольного реактива (TRIreagent-LS) и последующей ее экстракцией хлороформом. Реакцию обратной транскрипции (POT) для приготовления «копийной» ДНК (кДНК) проводили по технологии «Stem Loop» отдельно для исследуемых микроРНК с использованием следующих праймеров: микроРНК-21 – 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACTCAAC-3', микроРНК-133 – 5'-

GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACATTTGGT
 T-3', микроРНК-203 – 5'-
 GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCTAGTG-
 3' и U6 –
 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAAA
 TATG-3', которая рассматривалась как ген сравнения.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) осуществлялась в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen для реализации протокола учета результатов в режиме реального времени на амплификаторе DTLite-4 (ДНК-Технология, Москва). В ПЦР использовались следующие праймеры: микроРНК-21 – 5'-GCCCGCTAGCTTATCAGACTGATG-3', микроРНК-133 – 5'-GCCCGCAGCTGGTAAAATGGAAC-3', микроРНК-203 – 5'-GCCGGTGAATGTTTAGGACC-3' и U6 – 5'-GCGCGTCGTGAAGCGTTC-3', и общий обратный 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'. Реакционные смеси приготавливали отдельно для каждой кДНК. При расчетах применяли полуколичественную оценку уровня экспрессии микроРНК (в относительных единицах – ОЕ) по протоколу $2^{-\Delta\Delta C_t}$ при лабораторном референте (0,09).

Результаты. В контрольной группе отчетливых изменений экспрессии микроРНК-21 в моче в ходе наблюдения (исходная точка и 4 мес. наблюдения) не отмечалось. В двух других выборках через 4 мес. получения высокосолевого рациона имел место значимый рост (примерно в равной степени) данного параметра по сравнению с исходными величинами. Изменения микроРНК-133 или микроРНК-203 в изучаемых группах обезьян были похожи на выявленные для микроРНК-21. Оба высокосолевых рациона приводили к значимому нарастанию относительного уровня экспрессии этих микроРНК в моче по сравнению с базальными значениями. При этом медиана относительного уровня экспрессии микроРНК-133 у обезьян, потреблявших большое количество соли в течение 4-х мес., была значимо больше, чем у животных на высокосолевогом рационе, дополненном соевым изолятом ($P=0,008$; тест Манна-Уитни). Аналогичная ситуация складывалась в отношении микроРНК-203 ($P=0,0065$; тест Манна-Уитни).

Заключеение. Полученные данные позволяют полагать, что потенциально негативное воздействие высокосолевых рационов на состояние почек может опосредоваться эпигеномными механизмами, в частности изменениями экспрессии определенных микроРНК. Не исключено, что активация экспрессии микроРНК-21 (которая на данном сроке наблюдения не подавляется назначением протеинов сои) в какой-то мере ответственна за повреждения почек. Можно также предположить, что соевые протеины могут вмешиваться в данные процессы, изменяя экспрессию некоторых микроРНК.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-015-00221 «Физиологические механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы и почек к высокому поступлению хлорида натрия с пищей у млекопитающих разных видов».

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА NFκBp65 В МИОКАРДЕ И ПОЧКАХ КРЫС W1STAR И СПОНТАННО ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС (SHR), ПОЛУЧАВШИХ РАЦИОН С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ NaCl

О.Н. Береснева¹, М.М. Парастаева¹, Г.Т. Иванова², М.И. Зарайский^{1,3}, А.Г. Кучер¹, И.Г. Каюков¹, К.А. Оганян¹, К.А. Оганян¹

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

³ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

Введение. В настоящее время интерес вызывают представления о том, что рацион с высоким содержанием поваренной соли является независимым детерминантом ремоделирования органов, не ассоциированным с существенным ростом артериального давления. При этом отдельные индивидуумы по-разному реагируют на повышение поступления хлорида натрия с пищей. Возможно, этот механизм реализуется за счет активации пролиферативных, профибротических и провоспалительных цитокинов, сигнальные пути которых контролируются изменениями экспрессии ряда нуклеарных факторов транскрипции.

Цель исследования. Изучить влияние рационов питания с высоким или нормальным содержанием поваренной соли на артериальное давление и уровень экспрессии нуклеарного фактора транскрипции κB (NFκB) в миокарде и почках нормотензивных крыс Wistar и спонтанно гипертензивных крыс (SHR).

Материал и методы. Исследованы крысы стока Wistar (0,34 %; n=8 и 8,0 %; n=8) и линии SHR, получавшие 2 месяца рацион с нормальным (0,34 %; n=8) или высоким содержанием NaCl (8,0 %; n=8). В конце наблюдения у бодрствующих животных измеряли артериальное давление (АД) манжеточным методом. После выведения из эксперимента у крыс определяли относительный уровень экспрессии гена нуклеарного фактора транскрипции κB в миокарде и почках. Тотальную РНК выделяли фенол-хлоро-

формным методом. Приготовление кДНК проводили с помощью реакции обратной транскрипции в модификации для рандомизированных олигопраймеров, с использованием обратной транскриптазы M-MLV. Реакцию амплификации и детекцию результатов проводили с использованием прибора ДТ-96. Для каждой пробы ставили по две отдельные реакции для гена NFκBp65 и гена GAPDH соответственно. Для проведения ПЦР-анализа использовали реакционную смесь с интеркалирующим красителем SYBRGREEN. Вычисление относительного уровня экспрессии гена NFκB проводили по полуколичественному протоколу методом 2-ΔΔPт.

Результаты. Наши исследования показали, что на данном сроке наблюдения диета с высоким содержанием соли не вызывала значимого роста АД у нормотензивных крыс Wistar (8 % NaCl – 135,0±5,0 мм рт. ст., и 0,34 % NaCl – 130,0±5,0 мм рт. ст., $p>0,05$). У крыс SHR, получавших рацион с 8 %-м содержанием NaCl, уровень АД (190±10 мм рт. ст.) также существенно не изменялся по сравнению животными, потреблявшими 0,34 % NaCl (190±10 мм рт. ст.). Однако, несмотря на отсутствие повышения АД, на фоне высокосолевого рациона в нашей работе выявлены отчетливые изменения уровня экспрессии гена нуклеарного фактора транскрипции κB как у крыс Wistar, так и SHR. В ткани миокарда крыс Wistar с высоким потреблением соли относительный уровень экспрессии NFκB был выше в 3,4 раза, а в ткани почек – в 27,4 раза, чем у животных, получавших 0,34 % соли. В ткани миокарда крыс линии SHR, получавших корм с высоким содержанием NaCl, он оказался в 33 раза, а в ткани почек – в 12 раз выше, чем у крыс, получавших рацион с нормальным содержанием соли.

Заключение. Высокое содержание соли в рационе необязательно сопровождается ростом АД, но вызывает активацию NFκB-ассоциированных сигнальных путей как в миокарде, так и в почках крыс различных генетических линий. Это, возможно, сопровождается нарастанием экспрессии NFκB-ассоциированных пролиферативных, провоспалительных и профибротических цитокинов.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-015-00221 «Физиологические механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы и почек к высокому поступлению хлорида натрия с пищей у млекопитающих разных видов».

ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В СЕМЬЕ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ФОРМОЙ АУТИЗМА

*К. Беспалова^{1,2}, А. Перфильева¹, Э. Хусаинова¹, С. Абдикерим¹,
А. Чильдебаева³, Б. Бекманов¹, Л. Джансугурова¹*

¹Институт генетики и физиологии КН МОН РК, г. Алматы, Республика Казахстан

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Республика Казахстан

³Институт истории человечества им. Макса Планка, Йена, Германия

Введение. Расстройства аутистического спектра (РАС) – совокупность деструктивных процессов, возникающих в результате воздействия различных внешних и внутренних (генетических) факторов и проявляющихся в первую очередь в детстве. Как и многие патологии генетического происхождения, аутизм может иметь наследственную форму. Митохондриальная ДНК (мтДНК) наследуется от матери и в то же время подвержена накоплению большого количества мутаций. Некоторые исследования показали роль митохондриальной дисфункции в РАС.

Цель исследования. Изучить спектр вариантов мтДНК в семье с наследственным РАС, чтобы понять вклад мутаций мтДНК в наследственную форму аутизма.

Методы. Мы использовали платформу MiSeq для секвенирования полного генома мтДНК в семье с предположительно наследственной формой РАС. Был обследован пробанд – оценка по тесту CARS на момент исследования – 46 (тяжелый аутизм) и его мать.

Результаты. Было проведено полногеномное секвенирование генома мтДНК пробанда и матери. Мы обнаружили 34 мутации в мтДНК. 6 из них, по данным литературы, являются потенциально патогенными (1005С, 1508Т, 3010А, 606G, 12338С, 13708А). Гетероплазмия не была установлена.

Заключение. Данное исследование дает основание полагать, что мутации в генах мтДНК, обеспечивающие нормальное функционирование клеток, могут способствовать наследственному аутизму. Среди обнаруженных возможно патогенных мутаций большинство было связано с нарушениями слуха и зрения и мышечной слабостью. Эти нарушения типичны для детей с РАС. Результаты представляют собой интересную платформу для дальнейших исследований, которые в будущем могут позволить диагностировать низкий мышечный тонус, нарушения слуха и зрения у детей с РАС. Возможно, причины возникновения аутизма необходимо искать в каждой семье индивидуально.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

О.О. Болгарчук, Л.И. Калюжная, В.Е. Чернов, С.В. Чеботарев, Д.А. Волов

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Введение. С середины прошлого века и по настоящее время трансплантология является передовой областью науки и практической медицины, однако нехватка донорских органов и проблемы иммунологической несовместимости создали серьезные ограничения для ее дальнейшего развития. Достижения в области биотехнологии положили начало принципиально новому подходу к восстановлению и замене утраченных тканей и органов – тканевой инженерии.

Для изготовления тканеинженерного трансплантата донорский биоматериал подвергают децеллюляризации. В ходе данной процедуры ткани освобождаются от клеток и ядерного материала, сохраняя ценнейшие компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ). Удаление генетического материала донора обеспечивает неиммуногенность продукта. Децеллюляризованный биоматериал сохраняет особую архитектуру, свойственную данному типу ткани, а также стимулирует миграцию и рост специфических клеток. Благодаря своим уникальным свойствам, внеклеточный матрикс может заселяться клетками реципиента *in vitro*, либо естественным путем непосредственно после трансплантации.

Цель и задачи. Цель работы – поиск оптимального протокола децеллюляризации соединительной ткани пуповины человека. Для ее достижения решались следующие задачи:

1. Получение внеклеточного матрикса с использованием растворов SDS и NaOH.
2. Оценка остаточного содержания ДНК в полученных продуктах качественным и количественным методами.
3. Сравнительная оценка эффективности обоих методов.

Материал и методы. Пуповины человека получали в результате естественных родов от здоровых рожениц, давших информированное согласие. Биоматериал подвергали предварительной обработке 3 % раствором перекиси водорода, затем удаляли кровеносные сосуды. Вартонов студень измельчали и гомогенизировали, отбирали пробы для анализа содержания ДНК в нативной пуповине.

Формировали две группы биоматериала. Децеллюляризацию материала первой группы проводили с помощью 0,05 % раствора SDS в течение 24 часов, второй группы – с помощью 0,2N раствора NaOH в течение 4 часов. Готовый продукт нейтрализовали, центрифугировали, преципитат подвергали лиофильной сушке и финальной стерилизации ультрафиолетом. Из полученного ВКМ обеих групп экстрагировали ДНК с использованием коммерческого набора реактивов. С помощью спектрофотометра количественно оценивали концентрацию остаточной ДНК. Качественную оценку производили методом электрофореза.

Основные результаты. Количественная оценка показала значительное снижение средней концентрации ДНК в обеих группах по сравнению с нативной пуповиной. Результаты оказались статистически значимыми $p < 0,001$:

Группа	№ измерений	Медиана (P25-P75) нг/мкл
Нативная	23	486,75 (453,65-475,15)
SDS	20	8,975* (8,2-9,6375)
NaOH	20	12,34* (10,975-13,6875)

В ходе качественного анализа было выявлено полное отсутствие крупных фрагментов ДНК после обработки NaOH и значительное их снижение после обработки SDS.

Заключение. На данный момент не существует общепринятых норм для оценки качества децеллюляризации. Широко распространенным и относительно простым методом является микроскопия препаратов, однако данное исследование позволяет определить только наличие видимых цельных ядер. Оценка качества удаления нуклеиновых кислот позволяет с большей точностью оценить безопасность готового продукта для реципиента.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности обоих протоколов децеллюляризации, что выражается в значительном снижении концентрации нуклеотидов в готовом продукте. Однако в группе, обработанной SDS, среди остаточных нуклеиновых кислот были обнаружены крупные фрагменты молекулы ДНК, представляющие потенциальную опасность развития иммунного ответа. В группе NaOH таких фрагментов не оказалось. Протокол с использованием раствора гидроокиси натрия является предпочтительным для децеллюляризации соединительной ткани пуповины человека, поскольку позволяет более качественно удалить ядерный материал, обеспечивая низкую иммуногенность продукта. Кроме того, обработка NaOH требует меньших временных затрат, а продукты нейтрализации щелочи физиологичны.

ШТАММ *DUNALIELLA SALINA* AR-1, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ ОЗЕР ПРИАРАЛЬЯ, И ЕГО НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ

О.А. Верушкина¹, А.К. Тонких¹, Е.Н. Баймурзаев¹, С.В. Кодиров²

¹Институт микробиологии АН РУз,

²Национальный Университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. По данным FAO UN, в Республике Узбекистан дефицит витамина А (β-каротина) испытывают 53 % детей и 38,4 % взрослых. В связи с высыханием Аральского моря в оставшихся многочисленных озёрах Приаралья в 2000-2005 гг. концентрация солей поднялась выше 100 г/л. В этих оставшихся водах обнаружили солеустойчивую микроводоросль *Dunaliella salina*, имеющую биотехнологическую ценность как продуцент каротиноидов (в 1000 раз больше, чем в моркови), липидов и глицерина, используемую в промышленных масштабах во многих странах мира. Перспективно также культивировать дуналиеллу в качестве корма для микрорачков артемий, которые в свою очередь являются ценным кормом при промышленном выращивании осетровых рыб.

Материал и методы. Выделение чистых культур и идентификацию *Dunaliella salina* AR-1 проводили, как описано в монографии Н.П. Масюк и соавт. (2007). Также проведен химический анализ *D. Salina* AR-1.

Результаты и их обсуждение. При исследовании проб из различных гиперсолёных озёр Приаралья было обнаружено от 30 до 60 видов различных галофитных микроводорослей, доминирующими видами являлись микроводоросли рода Дуналиелла. С помощью специальных методов были выделены два вида: *Dunaliella minuta* и *Dunaliella salina*. Из этих видов только *D. salina* способна накапливать большие количества β-каротинов, поэтому эта микроводоросль была исследована наиболее подробно [5]. Оказалось, что в отличие от описанных штаммов *D.salina*, которые размножаются в основном продольным делением в подвижном состоянии, Аральский штамм *D. salina* AR-1 даже в благоприятных условиях размножается в слизистых мешках пальмеллах.

Химический анализ *D. salina* AR-1 на содержание общих каротиноидов, липидов и витаминов показал, что данный штамм в основном не отличается от других, описанных в литературе штаммов. Биомасса жёлтой формы содержит 1,6-2,3 % от сухой массы общих каротиноидов, 7 % общих липидов из 17 жирных кислот, из которых около 24 % – это наиболее ценные для питания человека незаменимые (эссенциальные) ω6- 18:2 и

ω3-18:3 кислоты. Состав основных витаминов следующий: В₁ – 3,9 мкг/г, В₂ – 5,7 мкг/г, В₃ – 0,6 мкг/г, В₆ – 15,7 мкг/г, В₉ – 1,8 мкг/г, С – 7,4 мкг/г, D – 39,8 мкг/г, α-токоферол – 60,5 мкг/г.

Сообщение о противораковом действии экстрактов из *D. salina* дало направление на проведение опытов по изучению противоракового действия лиофильно высушенной биомассы *D. salina* AR-1 на модели солидной опухоли Эрлиха (СОЭ) мышей. Показано, что пероральное введение мышам с перевитой СОЭ биомассы на 28 день приводило к торможению роста опухоли на 60 %. Сделан вывод о перспективности дальнейших исследований биомассы *D. salina* AR-1 на противоопухолевую активность.

Имеется сообщение, что спиртовой экстракт *D. salina*, введённый перорально, вызывает нормализацию некоторых биохимических показателей у экспериментальных крыс с AlCl₃-индуцированным нейродегенеративным состоянием (НДС), сходным с болезнью Альцгеймера. В наших экспериментах пероральное введение биомассы *D. salina* AR-1 крысам с этой моделью, индуцированной хлоридом алюминия (AlCl₃), вызывает некоторое восстановление изменений в поведенческой активности животных.

Установлено, что микроводоросли *Dunaliella salina* по параметрам острой токсичности при внутрижелудочном применении в эксперименте относятся к 4 классу малотоксичных препаратов. Продукты не вызывают патологические изменения в организме животных в эксперименте.

Таким образом, наши данные показывают, что биомасса Аральского штамма микроводоросли *D. salina* AR-1 может быть использована в качестве препаратов биологически активных добавок для профилактики авитаминозов, некоторых онкологических и нейродегенеративных заболеваний.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПОЧВЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ НА ЭНЕРГИЮ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

Д.Л. Иткина, А.Д. Сулейманова, М.Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) Федеральный университет,
г. Казань, Россия

В современных условиях развития сельского хозяйства возрастающую значимость приобретает применение бактериальных удобрений на основе рост-стимулирующих ассоциативных ризобактерий (plant growth-promoting rhizobacteria — PGPR). Урожайность сельскохозяйственных растений во многом зависит от разработки новых технологий, способствующих сниже-

нию норм внесения минеральных удобрений и затрат на единицу продукции. Актуальной проблемой сельского хозяйства является борьба с заболеваниями растений фитопатогенными микроорганизмами с целью увеличения качества и повышения урожайности экономически ценных культур. Альтернативой использованию химических удобрений и пестицидов является применение микроорганизмов в качестве биоудобрений. Высокая урожайность растений сопровождается исчерпанием питательных элементов из почвы, дефицит которых восполняют микроорганизмы, мобилизирующие связанные или малодоступные формы минерального питания.

Из почв Республики Татарстан были выделены фитат-гидролизующие штаммы, идентифицированные молекулярно-генетическими методами анализа как *Pantoea brenneri* AS3 ВКПМ В-12911 и *Bacillus ginsengihumi* M2.11. Приоритетным направлением является изучение свойств для использования в качестве биопрепарата ризосферных микроорганизмов, выделенных из почв республики Татарстан и представляющих автохтонную почвенную микрофлору, характерную для данного региона не будет способствовать нарушению агробиоценоза почвы.

Цель работы – оценка взаимодействия штаммов с растениями пшеницы и влияние на всхожесть семян.

Для оценки влияния живых бактерий на энергию прорастания семян растений проведена обработка семян пшеницы сорта Злата и дальнейшая оценка их всхожести. Стерильные семена (по стандартной методике Kai et al., 2005) в течение 2 часов были выдержаны в культуральных жидкостях *P. brenneri* и *B. ginsengihumi* M2.11. Затем семена были перенесены в стеклянные стерильные банки с ватными дисками, смоченными в 5 мл стерильной дистиллированной воде, и помещены в ростовую камеру Pol-Eco-Aragata. Энергия прорастания была оценена с интервалом в 24 часа путём подсчёта вновь проросших семян в течение каждых суток. Оценка длины корней и листьев, прироста сырого и сухого веса была проведена через 4 суток.

В ходе работы выявлено, что при обработке семян пшеницы культуральной жидкостью *P. brenneri* AS3 длина первого листа увеличилась на 50 %, а *B. ginsengihumi* M2.11 – на 25 %.

Таким образом, проведенные опыты показывают, что штаммы *P. brenneri* и *B. ginsengihumi* M2.11 оказывают положительное влияние на рост и развитие пшеницы. Данное исследование можно использовать в биотехнологии при разработке новых биоудобрений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90208.

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММА *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* FCA3L

О.С. Карасева¹, Г.Д. Ожегов¹, Ф.С. Ахатова², Е.А. Анисимова¹,
Р.Ф. Фахруллин², Д.Р. Яруллина¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, НИЛ «Омиксные Технологии», г. Казань, Россия

Спонтанно ферментированные продукты представляют собой богатый резервуар новых пробиотических штаммов лактобацилл. Многие пробиотические изоляты уже широко используются в пищевой отрасли и пробиотикотерапии, где высоко ценятся за свои консервирующие свойства, антагонистическую активность против патогенов и благотворные эффекты на здоровье человека. Однако большое количество потенциально полезных пробиотических микроорганизмов остаются неизученными.

Цель работы – полногеномное секвенирование и оценка пробиотического статуса штамма *Lactiplantibacillus plantarum* FCA3L.

Бактерии *L. plantarum* FCA3L были выделены из квашеной капусты в 2014 году. На среде MRS они образуют колонии белого цвета однородной структуры с ровным краем и диаметром менее 1,5 мм. Таксономическая идентификация выполнена с помощью MALDI Biotyper (Bruker, Германия) и методом секвенирования гена 16S рPHK. АСМ изображения получены с помощью микроскопа Dimension Icon (Bruker, США). *L. plantarum* FCA3L представляют собой короткие палочки 1×2-3 мкм, в основном одиночные, иногда собранные в цепочки. Секвенирование генома выполнено в МЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе на приборе Illumina MiSeq. Сборка генома с помощью ассемблера Unicycler v. 0.4.8. позволила получить 62 контига. Из них 61 контиг объединяются в скаффолд длиной 3,3 млн п.н. и N50 ~321 к п.н., а 1 циклический контиг был идентифицирован как колифаг ϕhi-X174. Аннотация на серверах EggNOG и RAST показала, что среди найденных 3319 генов 793 распределены по 24 категориям, в основном функции генов связаны с репликацией, рекомбинацией и репарацией. Также выявлены гены, кодирующие биосинтез клеточной стенки (гидролаза) и капсидный белок (белок F).

Анализ антагонистической активности *L. plantarum* FCa3L, выполненный методом «агаровых блоков» против целого ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, позволил установить, что данный изолят превосходит референсный штамм *L. plantarum* 8P-A3, выделенный из пробиотического препарата «Лактобактерин» («Лактобактерин сухой» (ФГУП НПО «Биомед»), по способности угнетать рост *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* K-12, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC. Антагонистическая способность *L. plantarum* FCa3L может быть обусловлена их способностью продуцировать органические кислоты (общая титруемая кислотность составила $1,46 \pm 0,24$ мМ/г), образовывать бактериоцины, определенные с помощью высаливания 70 % сульфатом аммония.

С помощью метода MATS (микробная адгезия к растворителю) существенных различий в гидрофобности и кислотно-основных свойствах поверхности клеток штаммов *L. plantarum* FCa3L и 8P-A3 не выявлено. Поскольку адгезия на н-гексадекане не превышала 35 %, оба штамма отнесены к гидрофильным. Высокое сродство к хлороформу и низкая адгезия на этилацетате указывают на основные и электрон-донорные свойства поверхностей клеток обоих штаммов. Однако адгезивность клеток *L. plantarum* FCa3L к буккальным эпителиоцитам была в 1,5 раза выше, чем у *L. plantarum* 8P-A3.

Дискодиффузионным методом установлено, что бактерии *L. plantarum* FCa3L имеют типичный для лактобацилл профиль антибиотикорезистентности: они проявляют устойчивость к ванкомицину, ципрофлоксацину и аминогликозидам и чувствительны к ампициллину, рифампицину, клиндамицину, хлорамфеноколу, эритромицину и тетрациклину.

Полученные результаты обладают большим потенциалом практического использования в биомедицине и пищевой промышленности.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования МЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания 0671-2020-0058 в сфере научной деятельности. Исследование выполнено при поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых (№ МД-2153.2020.3).

ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ЭМБРИОГЕНЕЗА SOX9 И FOXA2 В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Л.Г. Кондратьева, Е.П. Копанцев, И.П. Чернов

ФГБУН Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Введение. Метастазирование представляет собой последовательность взаимосвязанных событий, в ходе которых мигрирующие раковые клетки опухоли образуют очаги вторичного роста в других органах – метастазы. Поиск и детальное исследование механизмов, воздействие на которые может вызывать торможение или полное блокирование метастазирования является фундаментальной задачей. Транскрипционные факторы SOX9 и FOXA2 являются участниками ген-регуляторной сети эмбриогенеза поджелудочной железы (ПЖ). Роль обоих этих факторов в канцерогенезе подтверждена экспериментальными и клиническими данными. Известно, что функция SOX9 связана с несколькими протонкогенными свойствами, включающими способность стимулировать пролиферацию, ингибировать старение клеток и взаимодействовать с другими онкогенами в трансформации опухоли. В то же время высокий уровень экспрессии FOXA2 снижает инвазивность и ассоциирован с эпителиальным фенотипом клеток рака ПЖ. Таким образом, было сделано предположение, что ингибирование экспрессии SOX9 может снизить метастатическую активность клеток рака ПЖ, а ингибирование экспрессии FOXA2, напротив, увеличить ее.

Цель исследования. Исследовать влияние si-РНК ингибирования экспрессии транскрипционных регуляторов эмбриогенеза SOX9 и FOXA2 на пролиферативную активность и метастатический потенциал клеток рака ПЖ.

Материал и методы. Для транзientного подавления экспрессии белков SOX9 и FOXA2 в клетках линии рака ПЖ PANC1 использовали siРНК дуплексы и трансфекцию с помощью RNAiMAX. Для определения содержания белковых продуктов в лизатах клеток использовали вестерн блот анализ, относительный уровень экспрессии генов оценивали с помощью qRT-PCR. Анализ пролиферативной активности клеток проводили методом точной цитофлуориметрии с окраской йодидом пропидия, а также проводили исследование кинетики роста клеток с помощью MTS-теста. Способность клеток к миграции оценивали с помощью Scratch-теста и Transwell assay.

Основные результаты и выводы. В клетках линии PANC1 с подавленным уровнем экспрессии генов SOX9 и FOXA2 был исследован уровень ряда белков активаторов и ингибиторов клеточного цикла. Был выявлен повышенный уровень экспрессии белков ингибиторов митотической прогрессии p21 и p27 в клетках после трансфекции siPHK SOX9. Интересным результатом оказался повышенный уровень экспрессии белка циклина D3 (CCND3) в клетках с подавленной экспрессией гена SOX9. При siPHK ингибировании экспрессии гена FOXA2 в клетках линии PANC1 было показано понижение уровня синтеза ингибитора клеточного цикла p21.

Анализ скорости роста клеток линии PANC1 с подавленной экспрессией гена SOX9 выявил, что подавление экспрессии гена SOX9 снижает скорость роста клеток линии PANC-1, а также уменьшает долю клеток, находящихся в S и G2 фазах клеточного цикла (9 % и 27 %, соответственно, против 14 % и 28 %), и увеличивает долю клеток в G1 фазе (с 54 % до 62 %). При этом подавление экспрессии гена FOXA2 увеличивает скорость роста клеток линии PANC-1, снижает долю клеток, находящихся в G2 фазе (19,5 % против 28 % в той же фазе контрольных клеток) клеточного цикла, и увеличивает долю клеток в G1 и S фазах (с 54 % до 64,5 % для G1 фазы, с 14 % до 16 % в S фазе).

Анализ миграции клеток линии PANC1 с подавленной экспрессией гена SOX9 и FOXA2 не выявил значимых различий в способности к миграциям клеток. При этом было выявлено изменение морфологии клеток линии PANC1 после подавления в них экспрессии гена SOX9 в сторону более эпителиального фенотипа – увеличение среднего размера клеток и количества клеточных контактов. После подавления в клетках линии PANC1 экспрессии гена FOXA2 было также выявлено изменение морфологии клеток – уменьшение среднего размера клеток и количества клеточных контактов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о снижении способности клеток линии PANC1 с подавленным уровнем синтеза белка SOX9 вступать в митоз и о понижении их пролиферативной активности. При этом подавление экспрессии белка FOXA2 приводило к обратным эффектам, также демонстрирующим возможное прямое или опосредованное участие белка FOXA2 в клеточном делении.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00317).

АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ БЕЛКА p53 У ЛИЦ, РАБОТАЮЩИХ С ВЫСОКОТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

В.Ю. Конева, Р.В. Гамазков

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. На сегодняшний день большой интерес вызывает изучение белка p53, играющего ключевую роль в механизме апоптоза. В ответ на повреждение ДНК он тормозит смену фаз клеточного цикла или индуцирует апоптоз, поддерживая таким образом генетическую стабильность в организме. Апоптоз – это процесс, представляющий собой эволюционно развитый, физиологический механизм клеточной гибели, который регулирует клеточную массу и архитектуру многих тканей. При нормальных физиологических условиях уровень белка p53 в клетках весьма низок, поскольку новосинтезированный белок быстро разрушается в протеосомах. Однако при стрессах и повреждениях клетки скорость деградации белка p53 замедляется, что приводит к увеличению его концентрации. Активация p53 происходит в ответ на повреждения ДНК, вызванные ультрафиолетовым или гамма-излучением, токсическими химическими соединениями, канцерогенами, гиперэкспрессией онкогенов, вирусной инфекцией, оксидативным стрессом, гипо- и гипертермией и др.

ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России занимается оценкой состояния здоровья лиц, работающих на химических предприятиях, на которых в процессе трудовой деятельности влияет множество факторов (химические вещества, стресс, гипоксия и др.). Применение данной методики представляется необходимым в качестве ранней оценки неблагоприятного воздействия комплекса производственных факторов на организм человека и выявление работающих, нуждающихся в дополнительном обследовании.

Цель работы. Аprobация методики количественного определения концентрации белка p53 в плазме крови лиц, работающих с высокотоксичными химическими веществами (ВХВ).

Материал и методы. Группу наблюдения составили работники, имеющие контакт с ВХВ. Для забора биоматериала использовали пробирки с антикоагулянтом К₃ЭДТА. Количественное определение белка p53 в плазме крови проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «Bender MedSystems» (Австрия) с оценкой результатов на вертикальном фотометре «Тесан». Следу-

ет отметить, что данная методика предназначена только для исследовательских целей и пока не введена в клиническую практику. В оценке результатов мы ориентировались на следующие референсные значения: <60 Е/мл – отрицательный результат; 60-120 Е/мл – пограничное значение, означающее вероятное присутствие малого количества р53; >120 Е/мл – положительный результат.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия хи-квадрат в программе «БиоСтат 2007». Различия между группами считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты. В 2019 г. было обследовано 37 лиц, работающих в контакте с ВХВ, среди которых было выявлено 40,5 % работников с повышенными показателями (>120 Е/мл). В зависимости от степени контакта с ВХВ статистически значимых различий в частоте изменений уровня протеина р53 обнаружено не было. Тем не менее чаще повышенный уровень р53 отмечался у лиц, имеющих большую степень контакта с ВХВ, по сравнению с лицами, имеющими меньший контакт, у которых повышенный уровень белка р53 зафиксирован в 30,0 % случаев.

В 2020 г. при анализе результатов обследования работников на содержание концентрации белка р53 в плазме крови, в зависимости от наличия контакта с ВХВ, было выявлено, что у лиц контрольной группы (без контакта с ВХВ – 23 человека) повышенные уровни р53 встречались статистически значимо реже (при $P < 0,05$) по отношению к лицам, имеющим контакт с ВХВ (24 человека).

Заключение. Таким образом, обращает на себя внимание большая частота выявления повышенных концентраций белка р53 у работников, имеющих контакт с ВХВ, что требует дальнейшей оценки возможного влияния экзогенных негативных химических факторов на организм человека, проведение экспериментальных и клинических исследований. Представляет интерес наблюдение за данной категорией работников в динамике с целью прогнозирования риска различных патологических состояний.

МОДУЛИРОВАНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КАК НОВЫЙ СПОСОБ БОРЬБЫ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

А.В. Локтева, К.О. Баскакова, Э.А. Фоунд, П.Д. Савельева, Е.И. Кошель

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Популяции микроорганизмов представляют из себя устойчивую систему поликультур, которые связаны за счёт разнообразных связей в пищевой цепи. Обычно имеются 1-2 средообразующих вида, способные регулировать условия среды под наиболее подходящие им параметры. В организме человека одними из таких видов являются представители рода *Lactobacillus sp.*, которые преобладают в кишечной микробиоте, а также в составе бактерий женских половых путей. Большинство инфекционных заболеваний возникают путём изменения соотношения микробного состава – активный рост патогенных культур подавляет рост и снижает численность средообразующих бактерий. Обычно следующее за этими процессами заболевание лечится путём приёма антибиотиков, что приводит к снижению численности не только патогенных культур, но и представителей конститутивной микрофлоры, и требует после себя проведения длительных процедур восстановления. Эту проблему при лечении инфекционных заболеваний можно решить, используя и стимулируя природные процессы саморегуляции микробных сообществ. В качестве системы, способной к мягкой регуляции, предлагается использование живых гибридных материалов, регулирующих состав микроорганизмов за счёт пробиотиков, стимулирующего агента (СА) для пробиотиков, пребиотиков и носителя – гидрогеля.

Цель исследования. Создание живых гибридных материалов для лечения инфекционных заболеваний. Для этого, прежде всего, необходимо подобрать бактериальные культуры, которые являются природными средообразующими видами в организме человека. Также необходимо правильно выбрать СА, способный к стимулированию роста выбранных культур, а также к ингибированию роста патогенов, пребиотики и носитель в виде гидрогеля с необходимыми заданными свойствами.

Материал и методы. Для культивирования микроорганизмов использовали как общие среды (LB), так и селективные (MPC, Сабуро, солевой агар). Ночные культуры готовили путём четырёхкратного разведения культуры и культивирования в течение 24 ч при 37 °С в аэробных условиях для *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и

Staphylococcus aureus и в анаэробных для *Lactobacillus acidophilus*. Для теста на токсичность СА были произведены двойные разведения данного агента в среде от 2 мкг/мл до 15 мкг/мл, культуры добавлялись в 10^7 КОЕ и культивировались в течение 24 ч, после чего производился высев на определение КОЕ. Со-культивирование производилось в модифицированной MPC среде в соотношении с бактериальными культурами 9:0.5:0.5, которые добавлялись в количестве 10^7 КОЕ под влиянием СА. Через 24 ч производился высев на КОЕ. Влияние СА и гидрогеля на клеточной линии HPF оценивалось с помощью МТТ теста. Для оценки ранозаживляющей активности производили эксперименты на крысах с формированием ран с помощью ожогов. Было пять групп животных: крысы с естественным заживлением, с заживлением с использованием гидрогеля, гидрогеля/СА, гидрогеля/*Lactobacillus acidophilus* и гидрогеля/*Lactobacillus acidophilus*/СА.

Результаты. В ходе исследования были подобраны виды рода *Lactobacillus acidophilus*, которые являются представителями нормофлоры человека. Подобранный СА имел положительный эффект на рост пробиотических культур в концентрации до 1 мг/мл и отрицательный – на рост *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* от 30-60 мг/мл. Также СА и гидрогель не имеют отрицательного влияния на рост и активность фибробластов.

Результаты экспериментов на смоделированных раневых поверхностях крыс показывают, что полученный живой гибридный материал имеет лучшие показатели ранозаживления в сравнении с группами без материала с природными процессами заживления, только с гидрогелем, с гидрогелем и лактобактериями, с гидрогелем и СА.

Результаты, полученные в данном исследовании, указывают на перспективу использования живых гибридных материалов как нового способа борьбы с инфекционными заболеваниями за счёт модулирования микробного сообщества.

Данная работа выполнена в рамках Российского научного фонда (грант № 19-74-00125).

МОНИТОРИНГ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПО РЕАРАНЖИРОВКАМ ГЕНОВ IG/TCR МЕТОДОМ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТАМ С ДИАГНОЗОМ ОСТРЫЙ ЛИМФОБЛАСТНЫЙ ЛЕЙКОЗ

Д.В. Луцкович, Е.А. Столярова, Е.А. Полякова, А.Н. Мелешко

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

Введение. Острый лимфобластный лейкоз – онкологическое заболевание, которое наиболее часто встречается в детском возрасте, развивается стремительно и имеет высокую летальность. На сегодняшний день лечение данного заболевания имеет достаточно высокую эффективность и дальнейшую продолжительную ремиссию. Однако всегда остается вероятность развития рецидива, что ухудшает прогноз лечения. Рецидивы возникают у 10-15 % пациентов и являются одной из наиболее частых причин смертности. Выживаемость пациентов, у которых возник рецидив, составляет около 3-19 % (в группе высокого риска). Оценка минимальной остаточной болезни с высокой чувствительностью особенно актуальна для длительного мониторинга, после достижения гематологической ремиссии, до и после проведения трансплантации ГСК.

Цель исследования. Провести оценку минимальной остаточной болезни (МОБ) пациентам с диагнозом острый лимфобластный лейкоз на этапах лечения для оценки эффективности терапии, а также для минимизации вероятности развития рецидива.

Материал и методы. С 2017 по 2020 годы в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Республики Беларусь было исследовано 23 пациента с диагнозом острый лимфобластный лейкоз, которые получали лечение по протоколу ALL MB-2008. Материалом для поиска клональных реаранжировок генов Ig и/или TCR послужили мононуклеарные клетки биоптата костного мозга пациентов. Моноклональные ПЦР продукты, происходящие из лейкозных клеток, отделяли методом гетеродуплексного анализа в полиакриламидном геле. Последовательность молекулярной мишени определяли ДНК-секвенированием и использовали для подбора аллель-специфических праймеров. Показатели МОБ в динамике определяли количественной ПЦР в «реальном времени» (АСО-ПЦР) с чувствитель-

ностью детекции опухолевых клеток от 10^{-4} до 10^{-5} на 15 и 36 дни индукционной терапии, а также на 52 и 100 дни консолидирующей терапии.

Результаты. Все пациенты с острым лимфобластным лейкозом характеризовались снижением показателей МОБ на этапе терапии, у 11 (47,8 %) определялась молекулярная ремиссия на этапе окончания индукционной терапии (36 день терапии), у 3 (13,0 %) пациентов молекулярная ремиссия определялась на этапе I блока консолидирующей терапии, у 5 (21,7 %) – ремиссия была достигнута к 100 дню терапии (этап: консолидация II), у 4 (17,5 %) – не констатировано молекулярной ремиссии в исследуемый период времени.

Заключение. Согласно результатам исследования мониторинг минимальной остаточной болезни по реаранжировкам генов Ig/TCR для пациентов с диагнозом острый лимфобластный лейкоз является важным с точки зрения оценки эффективности проводимой терапии, а также основанием для корректировки лечения и для минимизации вероятности развития рецидива.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЛАГЕЛЛЯРНОГО РЕГУЛОНА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *MORGANELLA MORGANII*, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПОДВИЖНОСТИ

Л.Ф. Миннуллина, Д.С. Пудова, А.М. Марданова

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

Введение. Способность к подвижности является важным фактором вирулентности уропатогенов, который позволяет им перемещаться против тока жидкости и колонизировать верхние отделы мочевыводящих путей. Известно, что многие бактерий, такие как *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Serratia marcescens* и другие, теряют способность к жгутиковой подвижности при увеличении температуры среды до физиологических значений.

Morganella morganii – оппортунистический патоген и возбудитель широкого спектра вне- и внутрибольничных инфекций, среди которых важное место занимают инфекции мочевыводящих путей (ИМП). Ранее нами было показано, что уропатогенные штаммы *M. morganii* могут обладать различной чувствительностью к температуре среды: при увеличении температуры от 30 °С до 37 °С штамм ММ 1 сохранял скорость плавающей подвижности,

при этом скорость миграции штамма MM 190 уменьшалась примерно в 3 раза.

Цель работы – установление вероятных механизмов, приводящих к различиям в плавающей подвижности штаммов *M. morganii* MM 1 и MM 190 при изменении температуры среды.

Материал и методы. В работе были использованы последовательно-сти геномной ДНК штаммов *M. morganii* MM 1 (QUOO00000000) и MM 190 (QMKL00000000), которые ранее были нами секвенированы и загружены в базы данных DDBJ/ENA/GenBank. Штаммы были выделены из мочи пациентов с внебольничными ИМП в 2014 и 2015 гг. соответственно (ООО ЛДЦ «Биомед», г. Казань). Для поиска островов и островков патогенности использовали программу IslandViewer 4. Сравнительный анализ геномных локусов проводили с помощью blastn и Easyfig 2.2.3.

Основные результаты. В геномах исследуемых штаммов *M. morganii* было идентифицировано около 60 генов, ответственных за процесс жгутиковой подвижности. Большая часть этих генов организованы в 14 оперонов, которые делятся на 3 класса в зависимости от типа промотора: *flhDC* («ранние» гены); *flhBA*, *flgAMN*, *flgBCDEFGHIJ*, *fliLMNOPQR*, *fliFGHIJK*, *fliE*, *fliDST*, *fliAZ* («средние» гены); *flgMN*, *flgKL*, *fliDST*, *fliC1*, *fliC2*, *motAB-cheAW*, *tar-tap-cheRBYZ* («поздние» гены). Установлено, что для *M. morganii* характерна дупликация локуса *fliC* (ген белка флагеллина), что говорит о возможности фазовой вариации жгутиковых антигенов, поскольку степень идентичности двух вариантов гена не превышает 77-78 %.

Между штаммами не выявлено существенных различий по нуклеотидной последовательности генов *flhDC*, *hns*, *crp*, *hdfR*, *fliA*, *flgM*, *fliZ*, тем или иным образом связанных с термочувствительной регуляцией подвижности. Однако у штамма MM 1 между генами *fliE* и *fliT* обнаружена инсерция размером в 17,7 кб, в которой идентифицируется остров патогенности, захватывающий также флагеллярные опероны *fliDST* и *fliC1*. В данной области у MM 190 обнаружено 7 генов, не принадлежащих к флагеллярному регулону и не входящих в состав островов патогенности. Схожая картина наблюдается и у 9 штаммов *M. morganii* с полными геномами из БД GenBank (FDAARGOS_63, FDAARGOS_172, FDAARGOS_365, KC-Tt-01, AR_0057, AR_0133, DG56-16, L241 и NCTC12028). Кроме того, было показано, что второй вариант гена флагеллина *fliC2* у MM 1 несколько длиннее, чем у MM 190 (1089 н. п. вместо 1071 н. п., гомология – 91 %), и имеет 5 нуклеотидных замен в регуляторной области, что может быть результатом вставки острова патогенности в непосредственной близости от него.

Выводы. Таким образом, анализ структуры флагеллярного регулона штаммов *M. morgani* позволяет предположить, что отсутствие влияния температуры на плавающую подвижность штамма MM 1 может быть связано со вставкой ДНК в геномном локусе, ответственном за данный признак, а также с экспрессией гена *fliC2*.

РОЛЬ СОВРЕМЕННЫХ БАРИАТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С СУПЕР-СУПЕР-ОЖИРЕНИЕМ

М.А. Мицинский¹, М.Б. Фишман², А.И. Мицинская¹, А.Д. Ахметов¹

¹ГКБ имени С.С. Юдина, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Введение. В настоящее время ожирение признано одной из наиболее важных медико-социальных проблем по причине высокой распространенности и значительных материальных затрат на лечение сопутствующих ему заболеваний. Пропорционально растет частота экстремальных форм ожирения, в частности *super-super-obesity* (ИМТ более 60 кг/м²). В таких клинических случаях методы консервативной терапии имеют чрезвычайно низкую эффективность, что обуславливает актуальность изучения роли современных хирургических подходов в лечении данной категории пациентов.

Цель исследования. Оценить эффективность современных видов бариатрических операций у больных с супер-супер-ожирением и выявить наиболее эффективное хирургическое вмешательство у данной категории пациентов.

Материал и методы. В исследование вошли 142 пациента с супер-супер-ожирением, которым были выполнены следующие типы бариатрических вмешательств: лапароскопическая продольная резекция желудка (ЛПРЖ, 50 пациентов, 35,2 %), лапароскопическое желудочное шунтирование по Ру (ЛЖШ, 22, 15,5 %), лапароскопическое минижелудочное шунтирование (ЛМЖШ, 25, 17,6 %), двухэтапное бариатрическое вмешательство – установка внутрижелудочного баллона и ЛПРЖ (ВЖБ+ЛПРЖ, 21, 14,8 %), ВЖБ и ЛЖШ (ВЖБ+ЛЖШ, 24, 16,9 %).

Результаты лабораторно-инструментальной диагностики, клинические данные сравнивали между собой по типам операций. Период наблюдения составил 2 года.

Результаты. %ЕВМIL у пациентов с супер-супер-ожирением через 1 год после ЛПРЖ составил $50,6 \pm 8,10$ %, ЛЖШ – $76,0 \pm 12,13$ %, ЛМЖШ – $75,10 \pm 12,04$ %, ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ – $81,91 \pm 8,12$ %.

Достижение ремиссии СД2 наблюдалось у 13,3 % случаев через 1 год после ЛПРЖ, 50 % – ЛЖШ, 45,5 % – ЛМЖШ, 54,9 % – ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ.

Нормализация липидного обмена наблюдалась у 48,8 % пациентов после ЛПРЖ, 71,4 % – ЛЖШ, 66,7 % – ЛМЖШ и 72,5 % – ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ. Возврат массы тела отмечался у 20,2 % пациентов через 2 года после ЛПРЖ, 8 % – ЛЖШ, 8,3 % – ЛМЖШ, 7,8 % – ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ. Нутритивная недостаточность наблюдалась в 8 % случаях после ЛПРЖ, 14 % – ЛЖШ, 14 % – ЛМЖШ, 9,5 % – ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ (IIb по Clavien-Dindo).

Были зарегистрированы следующие осложнения: после ЛПРЖ – интраоперационное повреждение печени ввиду больших ее размеров – 3 (6 %) случая, 7 (14 %) случаев – клинические признаки НАСГ (I по Clavien-Dindo), 13 (26 %) случаев ГЭРБ (I по Clavien-Dindo).

После ЛЖШ – 1 (4,5 %) случай мезентериального тромбоза (IIIb по Clavien-Dindo), 1 (4,5 %) случай рабдомиолиза (IVb по Clavien-Dindo), 1 (4,5 %) случай демпинг-синдрома (I по Clavien-Dindo).

После ЛМЖШ – 5 (20 %) случаев НАСГ (I по Clavien-Dindo), 1 (4 %) случай язвы гастроэнтероанастомоза (I по Clavien-Dindo).

После ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ – 1 (2,4 %) случай непереносимости ВЖБ (IIIb по Clavien-Dindo), 7 (16,7 %) случаев НАСГ (I по Clavien-Dindo), 3 (7,1 %) случая ГЭРБ (I по Clavien-Dindo).

Вывод. Двухэтапные бариатрические вмешательства (ВЖБ+ЛПРЖ/ЛЖШ) являются наиболее эффективным методом хирургического лечения пациентов с супер-супер-ожирением и обладают наибольшим влиянием на сопутствующие метаболические нарушения, а также характеризуются меньшей частотой осложнений в сравнении с одноэтапными операциями ввиду снижения массы тела перед основным бариатрическим вмешательством.

ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ИЗВИТОСТИ, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКИМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

В.В. Никитина

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Синдром артериальной извитости (САИ) – редкое аутосомно-рецессивное, наследуемое заболевание соединительной ткани, характеризующееся широким вовлечением артерий с удлинением, отсутствием эластичности магистральных артерий, извитостью и аневризмами крупных и средних артерий, гипермобильностью суставов конечностей.

Цель исследования. Улучшить диагностику и терапию пациентов с синдромом артериальной извитости.

Материал и методы. Исследования пациентов с САИ выполнялись с помощью неврологического, генетического, нейровизуализационного исследований. Недавно у пациентов с САИ были идентифицированы мутации SLC2A10. Этот ген кодирует транспортер глюкозы GLUT10, ранее был предложен в качестве гена-кандидата, мутации которого способствуют развитию сахарного диабета 2 типа. Дефицит этого биохимического параметра индуцирует увеличение активности фактора роста β (TGF-beta), стимулирующего пролиферацию клеток сосудистой стенки. Дефицит GLUT10 приводит к формированию дефектного коллагена и/или эластина. Поддержание ламинарного режима течения в крови зависит от состояния сосудистой стенки, в частности кривизны сосуда. Изменение анатомически правильной кривизны сосуда может быть причиной или следствием сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов. При САИ у больных формируется аномальное удлинение сосудов, что предрасполагает к развитию эндотелиальных дисфункций, атеросклероза, развитию ишемических инсультов. При страдании пациентов артериальной гипертензией, гипертонической болезнью, сахарным диабетом эти патологические процессы развиваются более активно. Впоследствии у пациентов могут формироваться патологические расстройства, такие как аневризмы, дилатации и стенозы артерий, гипертрофии левого желудочка. Наследственные и приобретенные дисплазии соединительной ткани (ПДСТ) сопровождаются системными метаболическими расстройствами различных структур соединительной ткани. В неврологической симптоматике у пациентов с этими заболеваниями наиболее

ярко представлены: цефалгии, поражения черепных нервов, синдромы поражения пирамидной, мозжечковой систем.

Результаты. Верификацию этих заболеваний осуществляют врачи неврологи. Алгоритм диагностических процедур у пациентов с ПДСТ включает в себя выполнение неврологического исследования, нейровизуализационных исследований, анализ лабораторных, иммунологических параметров крови. Во время курации пациентов с ПДСТ неврологом проводится дифференциальный диагноз с метаболическими, митохондриальными заболеваниями, в частности с синдромом MELAS, наследственными артериопатиями, в частности CADASIL, HANAC; лизосомальными заболеваниями, в частности с болезнью Фабри; системными аутоиммунными заболеваниями соединительной ткани, наследственными тромбофилиями.

Заключение. У пациентов с данными заболеваниями при выполнении нейровизуализационных исследований наблюдаются проявления артериопатий головного мозга (ГМ), внутренних органов организма различной степени тяжести. В частности, микроангиопатии ГМ проявляются расширением периваскулярных пространств ГМ, диффузной перивентрикулярной лейкодистрофией, лакунарными инфарктами ГМ, микрогеморрагиями.

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА МНОГОЛОКУСНОЙ МЕТИЛЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР) В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

А.Ф. Николаева, В.О. Сигин, А.С. Танас, В.В. Стрельников

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
Москва, Россия

Введение. Коллектив лаборатории предлагает метод метилчувствительной ПЦР на базе количественной ПЦР в режиме реального времени (МЧ-кПЦР). Это качественный и количественный метод, который подразумевает одновременный анализ нескольких CpG-пар в границах ампликона. На сегодняшний день существует ряд альтернативных методов измерения уровня метилирования ДНК, основанных на бисульфитной конверсии, но в сравнении с МЧ-кПЦР они имеют ряд ограничений. Одним из таких ограничений является деградация ДНК в ходе бисульфитной конверсии, что в дальнейшем может привести к затруднению амплификации.

Цель исследования. Определить порог чувствительности разработанной многолокусной МЧ-кПЦР экспериментальным методом для количественного анализа уровня метилирования ДНК.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использовали ДНК из биоптатов опухолей молочной железы до проведения неоадьювантной химиотерапии. Разработанная тест-система для определения чувствительности трижды-негативного и люминального подтипа Б опухолей молочной железы к неоадьювантной химиотерапии включает 14 маркеров метилирования ДНК. Характеристика метода многолокусной количественной метилчувствительной ПЦР в режиме реального времени проводилась с учетом разработанных коллективом требований к дизайну: включение положительного внутреннего контроля эффективности ПЦР и контроля полноты гидролиза геномной ДНК метилчувствительной эндонуклеазой рестрикции. Дизайн праймеров и TaqMan-зондов проводили с помощью программного обеспечения MPprimer. Специфичность и образование димеров оценивали с помощью MFEprimer и PriDimerCheck. Определение параметров диагностической ценности проводили на основе количественных показателей метилирования маркеров в группах сравнения опухолей, чувствительных и нечувствительных к химиотерапии. Диагностическая ценность разработанных тест-систем в отношении определения принадлежности образца к группе с наличием или отсутствием ответа на HAXT охарактеризована с помощью ROC-анализа и, кроме AUC, включает показатели чувствительности и специфичности, предсказательной ценности положительных и отрицательных результатов.

Результаты. Данные МЧ-кПЦР были проанализированы с помощью метода $Cy0$ и построенных на его основе диаграмм размаха. Оценивали метилирование в процентах отдельно для каждого локуса. Для всех локусов модельный уровень метилирования прямо коррелирует с уровнем метилирования, определенным методом $Cy0$. Коэффициент детерминации для локусов DC, PRKCB_2, SMDS_1 составляет, соответственно, 0,88, 0,89, 0,79. Стандартные отклонения метилирования в локусах DC, PRKCB_2, SMDS_1 составляют, соответственно, 14,31 %, 10,66 %, 9,69 %.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности измерения уровня метилирования методом МЧ-кПЦР в режиме реального времени. Метод позволяет измерять уровень метилирования с аналитической чувствительностью лучшей, чем аналитическая чувствительность бисульфитного секвенирования по Сэнгеру. Предлагаемая технология, обладая такими преимуществами, как простота и экономичность, имеет самостоятельное научное и практическое значение.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ СУБТИЛИЗИНОПОДОБНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ БАЦИЛЛ ПОД КОНТРОЛЕМ КОНСТИТУТИВНОГО ПРОМОТОРА

Ф.Р. Османова, А.О. Корягина, М.Р. Шарипова

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

Введение. Микробные ферменты класса протеиназ обладают высоким потенциалом для применения в сельскохозяйственной биотехнологии [Dos Santos et al., 2017]. Для получения ферментов часто применяют экспрессионные системы, способные обеспечить максимальный выход продукта. Промотор, как основной регуляторный элемент, определяет эффективность экспрессии рекомбинантного белка. В настоящей работе для получения субтилизиноподобной протеиназы *Bacillus pumilus* использовали систему экспрессии под контролем конститутивного промотора P_{degQ36} *B. subtilis* [Takesue, 2009]. Для оценки эффективности экспрессионной системы будет применен хромато-масс-спектрометрический анализ в режиме мониторинга множественных реакций (LC-МС-МС) – сверхчувствительный метод определения количества исследуемого белка, с помощью которого можно дать оценку секретируемой активности рекомбинантных штаммов.

Цель исследования. Количественное определение секретируемой субтилизиноподобной протеиназы бацилл с использованием масс-спектрометрического анализа.

Материал и методы. Ген субтилизиноподобной протеиназы *B. pumilus* (*aprBp*) был клонирован в систему экспрессии под контролем конститутивного промотора P_{degQ36} *B. subtilis*. Первичный отбор трансформантов проводили с помощью теста на 2 % молочном агаре. Для работы использовали трансформанты, показавшие положительный результат теста через 48 часов (области просветления, означающие зоны расщепления белков молока). Для подтверждения наличия гена субтилизиноподобной протеиназы в рекомбинантных штаммах проводили амплификацию с праймерами (для *apr* праймеры – *AprBpst_f/AprBpst_r*). Отбор трансформантов проводили, анализируя полученные продукты амплификации методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Динамику роста рекомбинантных штаммов исследовали в течение 48 часов на питательной среде LB, с добавлением соответствующего антибиотика – эритромицина (1 мкл на 1 мл среды). Протеолитическую активность оценивали по гидролизу азоказеина [Demidyuk et al., 2004]. Для масс-спектрометрического анализа проводили выделение внеклеточной фракции белков. Белки осаждали ТХУ (трихлоруксусной кисло-

той), как описано в работе [Koontz, 2014]. Концентрацию белка измеряли по методу Брэдфорда [Bradford, 1976]. Белковые фракции подвергали трипсинолизу в растворе (Trypsin #V5111, Promega, Англия), как описано в работе [Bochers et al., 2000].

Результаты. Полученная рекомбинантная конструкция, содержащая ген субтилизиноподобной протеиназы *B. pumilus* под контролем конститутивного промотора P_{degQ36}, была трансформирована в штамм *B. subtilis* BG2036 [Anagnostopoulous et al., 1961], в геноме которого делетированы гены двух внеклеточных протеиназ *aprE* и *nprE* и в штамм *B. subtilis* 27-31 (любезно предоставлен проф. J. Altenbuchner), в геноме которого инактивированы гены спорообразования, антимикробных метаболитов, образования биопленок и внеклеточных протеиназ, а также встроена кассета *comK/comS* для повышения эффективности трансформации [Rahmer et al., 2015]. Исследовали динамику роста и активности рекомбинантных штаммов. Было показано, что к 14-16 часам роста рекомбинантные штаммы *B. subtilis* 20-36 (pGP382+*aprBp*) и *B. subtilis* 27-31 (pGP382+*aprBp*) достигали максимальной оптической плотности и переходили в стационарную фазу развития. Максимум протеолитической активности субтилизиноподобной протеиназы наступал к 24 часу роста в штамме *B. subtilis* 27-31 (pGP382+*aprBp*), со значением 1 усл. ед. В рекомбинантном штамме *B. subtilis* 20-36 (pGP382+*aprBp*) максимум протеолитической активности фермента наступал к 26 часу роста и составил 0,6 усл.ед.

Для проведения количественного определения субтилизиноподобной протеиназы был использован пептид NAVDTANNR [Toymentseva et al., 2020]. Анализ проводили на масс-спектрометре QTRAP 4500 (AB SCIEX, Сингапур). Было показано, что в рекомбинантном штамме *B. subtilis* 20-36 (pGP382+*aprBp*) количество белка составляет 0,03 мкг/мл. В штамме *B. subtilis* 27-31 (pGP382+*aprBp*) количество белка составило 0,08 мкг/мл.

Выводы. Таким образом, масс-спектрометрический анализ позволил определить количество субтилизиноподобной протеиназы *Bacillus pumilus*, секретируемой рекомбинантными штаммами бацилл, содержащих систему экспрессии под контролем конститутивного промотора P_{degQ36}.

ДИНАМИКА ТРЕС И КРЕС У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТЕРАПИИ АНТИ-CD20 МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ

Е.А. Полякова, М.В. Стёганцева, Т.А. Углова, Д.В. Луцкович, М.В. Белевцев

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

Введение. На сегодняшний день многократно продемонстрирована высокая корреляция результатов проточной цитометрии и ПЦР в реальном времени в отношении отслеживания динамики восстановления лимфоцитов после трансплантации стволовых гемопоэтических клеток. При этом использование молекулярных методов для отслеживания лимфоцитарной реконституции после применения других лимфотоксических агентов ранее не исследовалось, в частности после применения анти-CD20 моноклональных антител (МАТ). Процесс восстановления В-лимфоцитов после данной терапии оценивается в основном по циркулирующей популяции В-клеток. В рамках стандартного посттерапевтического мониторинга проводится оценка количества CD20+ и CD19+ клеток в периферической крови методом иммунофенотипирования, а также содержание в сыворотке крови IgG, IgM и IgA иммуноглобулины. Детализированное исследование субпопуляций проводится только в крайних случаях. Т-лимфоциты, NK-клетки, как правило, не мониторируются, несмотря на то, что доказано влияние терапии моноклональными анти-CD20 антителами на эти звенья иммунитета.

Цель исследования. Провести мониторинг восстановления Т- и В-лимфоцитов после проведения терапии анти-CD20 моноклональными антителами, сопровождающейся развитием лимфопении.

Материал и методы. В исследование было включено 6 пациентов в возрасте от 6 до 11 лет (медиана составила 6,5 лет). Среди них 4 девочки и 2 мальчика. Пяти пациентам при поступлении был поставлен диагноз иммунная тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) и одному – аутоиммунная гемолитическая анемия. Пяти пациентам с ИТП по причине неэффективности лечения внутривенным иммуноглобулином и глюкокортикостероидами была назначена терапия ритуксимабом (четыре еженедельных введения).

Основные результаты. У всех пациентов мониторинг восстановления В-клеточного звена иммунитета после 4-х введений ритуксимаба выявил одинаковую картину. Первые В-лимфоциты начинают детектироваться в периферической крови на 121-й день (Ме). На 293-й день (Ме) после окончания терапии количество В-клеток достигает инициальных значений. При достоверно низком уровне В-лимфоцитов вплоть до нуля на

протяжении 136±100 дней, наивные Т-клетки остаются в пределах нормальных значений. Однако при сравнении с уровнем TREC у здоровых детей они оказались достоверно ниже ($p=0,01$), что связано с применением глюкокортикостероидов. При сравнении данных, полученных проточной цитометрией (CD20+ В-лимфоциты) и ПЦР в реальном времени (количество молекул KREC), установлена высокая прямая корреляция 81,8 %. Это свидетельствует о том, что количественный анализ молекул KREC может использоваться для мониторинга наивных В-лимфоцитов после терапии моноклональными антителами.

Выводы. Метод определения количества копий TREC и KREC может применяться, когда необходимо провести количественную оценку наивных Т- и В-лимфоцитов, а также может быть использован как дополнительный метод параллельно с проточной цитофлуориметрией или отдельно в качестве скринингового метода.

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ОКСИТОЦИНА В МИОМЕТРИИ У ЖЕНЩИН С ОЖИРЕНИЕМ

Д.С. Серегина, Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

Введение. В современном мире одним из социально значимых хронических заболеваний считается ожирение. Доказано, что у беременных с ожирением чаще, чем у пациенток с нормальной массой, встречаются различные осложнения беременности и родов. В свою очередь, наиболее частым осложнением родов у беременных с ожирением являются аномалии родовой деятельности, такие как слабость и дискоординация, вероятно связанные со снижением экспрессии рецепторов прогестерона в миометрии и утратой способности прогестерона подавлять экспрессию окситоциновых рецепторов.

Кроме этого, у женщин с ожирением отмечается абсолютная или относительная гиперэстрогемия, которая может приводить к нарушению аффинности рецепторов прогестерона и, как следствие, нарушению соотношения уровня эстрогенов к уровню прогестерона, которые в норме должны увеличиваться к родам, что может приводить к развитию аномалий родовой деятельности.

Материал и методы. Проведена проспективная оценка характера родовой деятельности у женщин с ожирением, ожирением и гестационным сахарным диабетом и здоровых женщин, а также морфологическое исследование биоптатов миометрия. Биоптаты нижнего сегмента матки были получены во время кесарева сечения у 45 рожениц. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной схеме. Для обзорной окраски использовали гематоксилин и эозин. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах, использовали стандартный одноэтапный протокол с количественной и качественной оценкой экспрессии рецепторов окситоцина с использованием первичных поликлональных кроличьих антител к рецепторам Anti-Oxycytocin Receptor [ab 217212] в стандартном разведении (1:200) производства Abcam (Великобритания). В качестве системы визуализации использовали abcam Mouse and Rabbit Specific HRP Plus (ABC) Detection IHC Kit (RTU)[ab93697]. (Abcam, Великобритания). Количественную оценку результатов иммуногистохимического исследования проводили с помощью программы Видеотест-Морфология 5.0 (ВИДЕОТЕСТ, Россия).

Результаты исследования. По совокупности клинико-морфологических данных были сформированы три группы. Первая группа (основная) – о 15 пациенток с ожирением и индексом массы тела (ИМТ) до беременности $30,95 \pm 2,39$, вторая (сравнения) – 15 пациенток с ожирением (ИМТ= $32,37 \pm 3,69$) и гестационным сахарным диабетом (ГСД), 3 (контроля) – 15 женщин без ожирения и ГСД (ИМТ= $21,14 \pm 1,63$).

Средний возраст родильниц в исследованных группах статистически не различался и составил $30,1 \pm 5,3$, $27,2 \pm 8,8$ и $28,0 \pm 3,9$ лет соответственно. Срок беременности во всех группах не имел различий и составил в среднем 40 недель. Аномалии родовой деятельности достоверно чаще выявлены в основной группе (41,9 %) и группе сравнения (32,3 %), тогда как в группе контроля частота этих осложнений составила 8,33 % ($p < 0,05$).

Результаты иммуногистохимического исследования показали, что экспрессия окситоциновых рецепторов в биоптатах миометрия нижнего сегмента матки в основной группе у женщин с ожирением составила $23,35 \pm 2,09$ и была достоверно ниже ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой ($48,77 \pm 2,69$) и группой рожениц с ожирением и ГСД ($33,68 \pm 3,65$) ($p < 0,05$). Кроме того, достоверное снижение экспрессии рецепторов окситоцина отмечено в биоптатах от рожениц с ожирением и ГСД $33,68 \pm 3,65$ по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, можно полагать, что аномалии сократительной активности матки в родах у пациенток с ожирением возникают из-

за нарушений в рецепторном профиле миометрия, а именно более низкой экспрессии рецепторов окситоцина и, как следствие, более низкой чувствительности миометрия к основному гормону родов – окситоцину. Полученные результаты экспрессии рецепторов окситоцина в миометрии у пациентов с ожирением требуют дальнейшего изучения.

ПРИМЕНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АНТИГЕННЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ АНТИТЕЛ

Н.И. Хаммадов, А.И. Хамидуллина, Э.А. Шуралёв, Т.Х. Фаизов, К.В. Усольцев

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Россия

Введение. Жизнедеятельность живого организма связана с постоянным воздействием на него окружающей среды, такое воздействие включает в себя не только климатические явления, но и знакомство с различного рода микрофлорой, от сапрофитных микроорганизмов до патогенных бактерий и вирусов. Различные организмы отвечают на внешнее воздействие по-разному, способность противостоять негативным воздействиям на организм зависит от уровня резистентности организма.

В отношении к микроорганизмам резистентность складывается из неспецифичной и специфичной резистентности. Специфическая резистентность организма к различным микроорганизмам (гуморальный фактор иммунитета) обусловлена выработкой антител против определенного организма (инфекционного агента).

Для объективной оценки выработки противотуберкулезных антител необходим анализ по нескольким специфичным антигенам *Mycobacterium bovis*, что и являлось целью данного исследования. Для выполнения цели исследования были поставлены следующие задачи: 1) определение противотуберкулезных антител методом иммуноферментного анализа (ИФА) по следующим антигенам: единый антиген *Mycobacterium bovis*, антиген «MPB70» и антиген «MPB83»; 2) определение противотуберкулезных антител методом иммунохроматографического анализа (ИХА). Единый антиген *Mycobacterium bovis* представляет собой белок клеточной стенки микобактерии. «MPB70» представляет собой растворимый секретируемый белок, «MPB83» – гликозилированный липопротеин, встроенный во внешнюю мембрану микобактерий.

Материал и методы. Материалом для исследований служила сыворотка крови крупного рогатого скота от положительно реагирующих на введение «ППД-туберкулина» животных (92 образца). Определение противотуберкулезных антител методом ИХА осуществлялось путем нанесения 4-х капель (100-150 мкл) анализируемой сыворотки крови в зону теста, предназначенную для нанесения образца, интерпретация теста по наличию полоски/полосок в аналитической зоне теста. Определение противотуберкулезных антител методом ИФА по всем антигенам проводили по аналогичной схеме, включающей следующие процедуры: нанесение анализируемых и контрольных образцов; инкубация; промывка; нанесение конъюгата; инкубация; промывка; нанесение субстрата; инкубация; нанесение стоп реагента; анализ оптической плотности раствора, при длине волны 450 нм.

Для анализа полученных результатов использовались данные оптической плотности конечного раствора, полученные ИФА-ридером «Multiskan Go».

Основные результаты. Проведение ИФА и ИХА с анализируемыми и контрольными образцами позволило получить данные, указанные в таблице, значение оптической плотности раствора ниже 0,1 соответствовало отрицательному результату. В таблице указаны пробы, давшие положительную реакцию на наличие противотуберкулезных антител.

Результаты исследований сыворотки крови методами ИФА и ИХА

Проба	ИФА – единый антиген	ИФА – МРВ70	ИФА – МРВ83	ИХА
Сыворотка крови КРС	0,063	0,064	0,086	+ (антиген 3)
Сыворотка крови КРС	0,082	0,078	0,089	+ (антиген 2)
Сыворотка крови КРС	0,048	0,052	0,052	+ (антиген 2)
Сыворотка крови КРС	0,062	0,073	0,072	+ (антиген 2)
Сыворотка крови КРС	0,052	0,058	0,057	+ (антиген 2)
Сыворотка крови КРС	0,053	0,055	0,056	+ (антиген 2)
Сыворотка крови КРС	0,078	0,055	0,106	-
Сыворотка крови КРС	0,063	0,113	0,056	+ (антиген 2)
Сыворотка крови КРС	0,127	0,066	0,153	+ (антиген 1 и 2)
Standard 1 – U0	NK – 0,050	0,049	0,050	
Standard 2 – U20	WPS – 0,437	0,487	0,441	
Standard 3 – U50	PS – 1,237	0,851	0,758	
Standard 4 – U100		1,528	1,344	

Обозначения: U100 – гипериммунная сыворотка в разведении 1:200, остальные значения «U» учитывают соответствующие разведения; NK – отрицательный контроль; WPS – слаболожительная сыворотка; PS – положительная сыворотка.

Заключение. Исследование показывает, что часть анализируемых животных имели контакт с возбудителем туберкулеза, при этом антитела вырабатывались в малом количестве и не на все антигены микобактерий. Патологоанатомических и микробиологических признаков туберкулёза у животных также не установлено. Следовательно, инфицированные животные сдаются на мясокомбинат до начала болезни.

ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСТРАКЦИИ И АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БЫСТРОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Л.А. Шкоденко, М.С. Рубель, Е.И. Кошель

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

Введение. В настоящее время заболевания центральной нервной системы (ЦНС) представляют серьезную проблему для здравоохранения, так как вызывают высокий уровень смертности и осложнений. Диагностика данных заболеваний является трудоемкой из-за высокой стоимости молекулярных методов и требования наличия высококвалифицированного персонала, а также в связи с длительностью микробиологических методов. В связи с этим необходима разработка тест-системы, которая снизит стоимость исследований и упростит процесс их проведения. Разрабатываемая в представленном проекте тест-система будет включать в себя экстракцию, амплификацию и детекцию нуклеиновых кислот в рамках одного устройства. Система ограничена исключительно бактериальными мишенями. Новизна данного устройства заключается в использовании уникальных бинарных сенсоров, способных генерировать цветовой сигнал при взаимодействии с аналитом и являющимися одновременно и методом визуализации, и дополнительной верификацией наличия необходимого фрагмента. Однако для успешной детекции необходима оптимизация экстракции и амплификации нуклеиновых кислот.

Цель и задачи. Целью данной работы является оптимизация выделения и амплификации нуклеиновых кислот бактерий для интеграции данных процессов в тест-систему закрытого типа для быстрой диагностики инфекций ЦНС. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Выбор оптимального способа выделения бактериальных ДНК и РНК.

2. Выбор и оптимизация методов ПЦР и изотермической амплификации нуклеиновых кислот патогенных бактерий.

Материал и методы. Бактерии *Escherichia coli* выращивали на питательной среде LB при температуре 37 °С. *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae* и *Listeria monocytogenes* выращивали на колумбийском агаре при температуре 37 °С при концентрации CO₂ 8-10 %. Для сравнения при оптимизации выделения ДНК был использован коммерческий набор «AmpliSens», фенол-хлороформная экстракция и экстракция с помощью лизирующего буфера (0,25 % SDS, 50 mM NaOH). Для оптимизации выделения РНК был использован стандартный протокол выделения с помощью реактива Extract RNA (Евроген), лизирующий буфер 1 (0, 25 % SDS, 50 mM NaOH), лизирующий буфер 2 (50 mM Tris HCl, pH 7,5, 100 mM NaCl, 5 % глицерин, 1 mM DTT, 1 mM PMSF), лизирующий буфер 3 (0,1 % саркозинат натрия, 1 % SDS, 50 mM ацетат натрия, 10 mM ЭДТА). Сорбция нуклеиновых кислот из лизатов происходила на трех видах магнетита («ежи», «шары», «палочки»), синтезированного в лаборатории SCAMT. Для оптимизации амплификации выделенных нуклеиновых кислот тестировали различные условия проведения ПЦР, LAMP и NASBA. Электрофорез продуктов амплификации осуществлялся в 10 % полиакриламидных гелях и в 2 % агарозных гелях в системах для электрофореза «Bio-Rad». Визуализация результата электрофореза проходила в системе гель-документирования ChemiDoc Touch Imaging system («Bio-Rad»)

Основные результаты. Изотермический лизис с использованием лизирующего буфера 1 (50 mM NaOH, 0,25 % SDS) был выбран в качестве оптимального метода с точки зрения скорости, эффективности и стоимости для выделения ДНК и РНК из бактериальных патогенов. Все три вида разработанного и протестированного магнетита оказались эффективными для сорбции нуклеиновых кислот из лизатов. При оптимизации амплификации было выяснено, что NASBA является оптимальным методом для использования в диагностическом устройстве, поскольку в наибольшей степени совместим с бинарными наносенсорами.

Выводы. В ходе исследования были оптимизированы методы экстракции и амплификации нуклеиновых кислот бактериальных патогенов для интеграции в тест-систему для быстрой диагностики центральной нервной системы.

CREATION OF BIOMATERIALS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY

V.T. Badretdinova, S.A. Serykh

Russia's National Research University of Information Technology, Optical Design and Engineering (ITMO), Saint-Petersburg, Russia

Now, there is more and more interest in research aimed at developing ways to give antimicrobial functions to biomaterials, to study the bactericidal properties of implantation materials and the patterns of interaction of antibacterial agents with the surrounding tissues of the body. This state of the problem is since most of the complications during endoprosthetics (15-45 %) are caused by the development of diseases of infectious and inflammatory etiology, especially in the period immediately after implantation. Therefore, the implantation materials must be viable in contact with living tissue to perform its functions, their chemical composition, structure, and physical and mechanical properties must be close to bone tissue. In addition, the antiseptic or bactericidal properties of the materials will significantly slow down the development and reproduction of harmful microorganisms in the implantation zone in the most dangerous initial postoperative period and minimize the risk of inflammatory processes at later stages of implantation. Such properties significantly increase the bioactivity of implants and create a fundamentally new level of functioning.

Bacterial infections are usually the result of bacterial adhesion to the implant surface and subsequent biofilm formation at the implantation site. If bacterial adhesion occurs before tissue regeneration, often the body's defenses can prevent surface colonization of certain bacterial species that are able to form a protective layer of biofilm. Thus, the adhesion of bacterial inhibitors is necessary to prevent bacterial infection since biofilms are extremely resistant to the immune system and antibiotics. In addition, a single bacterium can break away from the biofilm and to infiltrate the surrounding tissues and the circulatory system. This problem can be solved by creating devices that combine the mechanical functions of various structures based on biocompatible materials with the properties of therapeutic transport systems that deliver the drug to a given area (implants with a pharmaceutical composition). Local delivery of drugs to the implantation site is a promising and effective procedure aimed at preventing bacterial infections by reducing the concentration of bacteria and preventing the attachment of bacteria to the implant surface.

A review of the literature showed a variety of materials used in modern medicine, as well as a variety of methods for applying calcium phosphate coatings to metal implants to give them new functional and biological properties.

Despite the constant appearance of new developments, there are materials that have long been successfully used in medicine, including titanium and its alloys. However, there is a problem of adaptation of metal implants in the human body. The solution to this problem is the application of coatings that have a positive effect on the living organism and stimulate the regeneration of bone tissue. The leading place among the materials for obtaining coatings on the surface of implants is occupied by isomorphic varieties of hydroxyapatite (HA).

During the experiment in six-well plates we have formed calcium phosphate samples and got the Liesegang rings. Four wells were loaded with antibiotics: gentamicin, tetracycline, the other two were control samples. Next, we investigated the biocompatibility of the samples using the C2C12 cell line. The experiment was conducted for a week, DMEM with glutamine was used as the medium. Photos were taken on an optical microscope "Leica DMI8", which show the growth of cells in different parts of the Petri dish.

As a result, calcium-phosphate samples with loaded antibiotics were obtained. The biocompatibility of the obtained samples was evaluated. It was found that the addition of antibiotics does not inhibit cell growth, but tetracycline has a toxic effect on cells, gentamycin on the contrary promotes cell growth. Thus, it was shown that these systems can be used as bio-coatings for implants.

EFFECT OF NANOPARTICLES OF Fe_3O_4 ON SEDIMENTATION OF PROTEASES FROM THE CULTURAL FILTRATE OF MICROMYCETE *FUSARIUM GIBBOSUM*

A. Ciloci, S. Clapco, Tiurina J., S. Labliuc, E. Dvornina

Institute of Microbiology and Biotechnology, Chisinau, Republic of Moldova

Introduction. Filamentous fungi are important producers of different biological active substances, including proteolytic enzymes with wide range of application in different industries, as well as in pharmaceuticals and medicine (as component of drugs using for treatment of respiratory tract disorders, cardiovascular disease, inflammation etc.). Thus, the researches focused on the identification of new methods for improving productivity of micromycetes are of great interest. In the last years a strong impact of metal oxide micro- and nanoparticles on fungal morphology and their production properties has been demonstrated.

According to previous study the cultivation of micromycete *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 – perspective producer of proteolytic enzymes, on the nutritive medium including the nanoparticles of Fe_3O_4 (65-70 nm) in concentration of

10 mg/l ensures the increasing of neutral proteases activity by about 50 %. Presented research was focused on the determination of optimal parameters of proteases sedimentation from the cultural filtrate (CF) obtained after fungal strain submerged cultivation in classical conditions (control sample, without nanoparticles) and in the presence of nanooxid of iron (experimental sample).

Material and methods. The precipitation was carried out with 96 % rectified ethyl alcohol, cooled to -12-15 °C. The influence of the ratio of cultural filtrate and ethyl alcohol (1:2, 1:3; 1:4 and 1:5) used as precipitant and pH of the sedimentation medium (3,0-9,0) on the weight (g/l) and enzymatic activity (u/g) of the preparation was studied. Proteolytic activity was assayed using the method proposed by Willstätter.

Results and discussions. The weight of enzymatic preparation was mostly influenced by the pH of sedimentation medium. Thus, both in the control and experimental samples, two maxima (at pH 5,0 and 8,0) of the preparation weight were highlighted. The quantity of preparation obtained from CF resulting from the cultivation of micromycetes in the presence of Fe₃O₄ nanoparticles was by 17,7 % higher than in the control sample. According to the data, higher values of acid protease activity, in both variants, was revealed in the samples precipitated with four volumes of alcohol. Thus, the enzymatic activity in the control and experimental variant constituted 8736 u/g and 10752 u/g, respectively, being by 23,1 % higher in the sample precipitated from CF obtained after submerged cultivation in the presence of nanoparticles. Regarding the influence of pH value of sedimentation media, it has to be noted that both in the control and experience samples, two maxima of acid and neutral proteases activity were recorded: the first was observed in the sample obtained from the cultural liquid with pH 5,0 and another from the medium with pH 8,0. The higher level of acid proteases activity was revealed at pH 5,0, constituting 20048 u/g in the control and 24248 u/g in the experimental variant. At the pH 8,0 the activity of acid proteases was 10640 u/g and 12992 u/g, respectively. In both cases, the activity of the enzymatic preparation obtained from CF resulted after cultivation of fungal strain in the presence of iron oxide nanoparticles exceeded the activity of the control by about 22 %. Similar to acid proteases, the higher level of neutral protease activity was established in the samples precipitated with 4 volumes of ethyl alcohol, constituting 7728 u/g and 10640 u/g, respectively, in the control and experimental samples. The stimulating effect provided by iron oxide on the enzymatic activity was maintained, the activity in the experimental sample being 37,7 % higher than in the control. Depending on the pH of the sedimentation medium, two maxima of neutral protease activity were established: 11648 u/g and 12096 u/g in the control and experimental samples, respectively, at the pH

5,0 and 9968 u/g, respectively, 12768 u/g – at pH 8,0. In the case of pH 8,0, the stimulating effect of the nanoparticles was more obvious, constituting 28,0 %. The maximum activity of the alkaline proteases was observed in the sample precipitated with 4 volumes of alcohol, constituting 13833 u/g in the control variant and 16520 u/g in the experimental sample, respectively. Activity in the sample obtained from CF resulted after cultivation in the presence of Fe₃O₄ was by 19,1 % higher than in the control. In both variants (control and experimental), there are three maxima of alkaline protease activity when precipitating the preparation from the cultural filtrate with different pH values, marked at pH 3,0; 6,0 and 8,0. In the case of the first maximum, the values of the proteolytic activity in the control and experimental samples were equal and constituted 20832 u/g. In the case of the second and third peak, the value of the alkaline protease activity was higher in the experimental variants compared to the control. Thus, at pH 6,0 the enzymatic activity was 18368 u/g and 22232 u/g, respectively, the increase being 21,0 %. The highest value of alkaline protease activity (26208 u/g) in the experimental sample was revealed at pH 8,0, exceeding the control sample activity by 34,5 %.

Conclusions. The research results highlighted that optimal parameters of proteases recovery from CF of micromycete *F. gibbosum* obtained after submerged cultivation in the absence and presence of nanoparticles of iron oxide (65-70 nm) are identical and consists in: the ratio LC: ethanol – 1:4; pH of precipitation medium – 5.0 and 8.0. The preparations obtaining from the culture filtrate resulted after cultivation of micromycete on nutritive media containing nanoparticles of iron oxide showed superior enzymatic activity, exceeding by about 20-40 % the level of the sample obtained in classical conditions of cultivation. This modern method of producer-strain cultivation in the presence of nanooxid of iron could be used for obtaining of proteolytic enzymatic preparation with high activity.

MOLECULAR GENETIC MECHANISMS OF CARCINOGENESIS

R.R. Gimaeva, D.I. Gabelko

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

Introduction. Carcinogenesis is the process of transformation of a normal cell into a tumor cell. The main reason for the emergence of tumor cells is the accumulation of mutations by the cell, which, in turn, occurs as a result of a violation of genetic stability. The genes that regulate the process of DNA repair,

protooncogenes, and tumor suppressor genes are most often susceptible to mutations.

The aim of the study was to analyze the medical literature on mutations in genes leading to carcinogenesis.

Material and methods. We analyzed the scientific and medical literature devoted to molecular genetic markers of cancer.

Results and discussion. Genetic disorders have a leading role in the induction and promotion of carcinogenesis. Carcinogenesis is affected by mutations in genes, as well as adverse environmental factors. It is also known that both exogenous and endogenous factors can have a significant effect on the rate of occurrence of mutations. Genetic disorders lead to the development of both hereditary oncological diseases and sporadic tumors.

There are 3 main stages of carcinogenesis: initiation, promotion and progression. At the first stage (initiation stage), the cell undergoes the first mutational shock, that is, the first mutational transformation, which gives rise to the process of carcinogenesis and leads to genetic instability. At this stage, there is an accumulation of "genetic breakdowns" in the cell, which gradually lead to an increase in the degree of its malignancy. At the second stage (the stage of promotion), cells already transformed by mutations acquire a number of new properties that contribute to their further adaptation and survival in the environment. They stop responding to signals coming from the environment, acquire auto- and paracrine stimulation of proliferation signals, and also inhibition of the process of apoptosis (programmed cell death), genetic instability, changes in cell morphology and the absence of replicative aging are observed. Under the further influence of the factors of the body's immune system, the cells of the tumor clone continue to accumulate mutations. This leads to qualitative changes in the phenotype of cancer cells, the emergence of many tumor clones instead of one initial one. This stage is called tumor progression (third stage of carcinogenesis).

Mutations in specific genes are genetic markers of a particular type of cancer. That's why it is very important to timely detect mutations in the genes associated with the development of a particular type of tumor, as this will allow to detect the specific changes long before its clinical manifestations and take the necessary measures.

Conclusion. Modern DNA research' methods allow to detect mutations in specific genes and to predict the possibility of the oncological disease corresponding to them. The search for markers at an early, preclinical stage of tumor changes is one of the most important tasks of practical oncology, as this will allow to begin earlier treatment of carcinogenesis, as well as to monitor patients with an increased risk of developing a certain type of tumor.

THE INFLUENCE OF MUTATIONS IN THE BRCA1 AND BRCA2 GENES ON THE DEVELOPMENT OF HEREDITARY BREAST CANCER

R.R. Gimaeva, D.I. Gabelko

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

Introduction. Breast cancer (BC) is an oncological disease that today is not only a medical but also a social problem. This is due to the high morbidity and mortality among the female population. According to modern data in the medical literature, about 1.7 million new cases of breast cancer are registered in the world every year. Breast cancer is the most common cancer among the female population. 5-10 % of the total incidence is hereditary breast cancer. Hereditary breast cancer (BC) caused by mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes accounts for up to 30 % of cases.

The aim of the study was to analyze the medical literature on mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes leading to breast cancer.

Material and methods. We analyzed the scientific and medical literature devoted to mutations of the BRCA1/2 genes, causing a high risk of breast cancer's developing.

Results and discussion. Breast cancer is the most widely spread type of cancer among women. According to the statistics, hereditary breast cancer, ranges from 5 % to 10 % of the total disease. There are more than a one thousand different gene mutations are known that lead to breast cancer. Mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes cause a high risk of breast cancer; they account for up to 30 % of cases. Violation of the normal function of the BRCA1 and BRCA2 genes leads to errors in the repair of DNA damage, which in turn causes further cell growth with the resulting mutations and inducing apoptosis. Accumulation of DNA breaks repair errors leads to disruptions in the regulation of the cell cycle, apoptosis, cell differentiation and, as a consequence, to genome instability. This event is key in the process of carcinogenesis. Today, there are about 1,000 different mutations in the BRCA1 / 2 genes associated with breast cancer. Mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes are associated with a high risk of new cases of breast cancer. In addition to these genes, it was found that genes such as CHEK2, PTEN, TP53, ATM, RAD51, PTEN, NBS1, MSH, MLH, and others are associated with breast cancer. Mutations in these genes cause an average and low risk of developing breast cancer.

Conclusion. Timely medical and genetic counseling is an integral component of cancer care. The identification of an inherited oncological disease have

a great importance, as it allows to timely change the tactics of the treatment and apply a personalized approach, as well as assess the possibility of the simultaneous use of surgical treatment and preventive contralateral mastectomy in each case. According to published data, accurate genetic identification of the form of hereditary breast cancer with subsequent personalized therapy can reduce patient mortality by 90 %. This allows us to consider genetic testing as one of the most important tools to increase the effectiveness of treatment of cancer patients.

PHYSIOLOGICAL MARKERS OF INDIVIDUAL RISK OF PSYCHOEMOTIONAL MALADJUSTMENT AS A FACTOR OF SITUATIONAL DEMAND FOR PSYCHOACTIVE SUBSTANCES

N.O. Nazarov¹, Y.A. Shatyr², G.A. Croslova², A.P. Aksarina³, A.B. Mulik³

¹"KDL Volgograd" LLC "KDL Domodedovo-Test", Volgograd, Russia

²Volgograd State University, Volgograd, Russia

³S.N. Golikov Federal State Research Center of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Introduction. In previous studies, it was determined that the combination of psychosomatic and psychological manifestations of stress reactions and affective disorders is accompanied by a situational demand for psychoactive substances. At the same time, a high level of general non-specific reactivity of the organism was found to be associated with a person's tendency to psychoemotional maladaptation (A.B. Mulik et al., 2020). Further study of this issue requires the specification of the physiological prerequisites for the individual risk of psychoemotional maladaptation of a person.

Aim of the study was to determine the individual specificity of the manifestation of standard electroencephalography (EEG) indices in persons with a high level of general nonspecific reactivity of the organism, characterized by a tendency to psychoemotional maladjustment and a situational risk of psychoactive substances consumption.

Material and methods. The study involved students of Volgograd State University in the number of 26 people of both sexes, 18-24 years old, characterized by a high level of general non-specific reactivity of the organism. The software and hardware complex "Encephalan-131-03" (Russia) was used for EEG analysis. The registration of standard EEG indicators was carried out in 19 standard monopolar leads according to the International system of leads "10-20".

The assessment of the general non-specific reactivity of the organism was carried out by analyzing the values of the threshold of thermal sensitivity of the organism, using a laboratory algometer (A.B. Mulik et al., 2009).

Results. As a result of the study, it was revealed that individuals characterized by a high level of general non-specific reactivity of the organism have a minimal intensity of the alpha-rhythm amplitude, relative to individuals with a low and medium level of reactivity of the organism. This circumstance indicates their increased functional and behavioral reactivity (M.N. Rusalova, 2016). Analysis of interhemispheric asymmetry of the high level of general nonspecific reactivity revealed the presence of elevated right activity (coefficient of interhemispheric asymmetry in the occipital leads in average of 10 units), which confirms their tendency to emotional reactivity. The presentation of photostimulation caused a significant ($p<0,05$) decrease in the amplitude of the alpha rhythm relative to the background value in the subjects by an average of 70 %. During phonostimulation in the group of subjects, there was also a decrease in the amplitude of the alpha rhythm by an average of 20 % relative to the background.

Conclusion. Thus, the results of the study indicate that the analysis of standard EEG indicators allows optimizing the personalization of the assessment of the individual risk of psychoemotional maladjustment as a factor of situational demand for psychoactive substances.

The work was supported by the RFBR within the framework of Project No. 20-013-00145 "Mechanisms for the complex influence of environmental factors on the consumption of psychoactive substances by the population of local territories of the Russian Federation".

PERSPECTIVES ON USING HEMATOLOGICAL ANALYZERS IN THE FIGHT AGAINST NEW COVID-19 STRAINS: FEATURES OF HEMATOLOGICAL INDICATORS IN ELDERLY PERSONS INFECTED WITH SARS-CoV-2

S.A. Rukavishnikova, T.A. Akhmedov, A.S. Pushkin, U.R. Saginbaev

The Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Introduction. The beginning of 2020 was marked by the announcement of a pandemic of a new coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus. In addition, the appearance of new strains of the virus can aggravate the situation. This disease poses a particular danger to certain categories of citizens, including the elderly. One of the pathogenesis pathways of this disease is associated with dam-

age of the lung parenchyma. As a rule, an increase in the permeability of cell membranes and vascular walls and relatively late formation of the immune response is detected. The detection of changes in hematological indices will make a certain contribution to clarify the pathogenesis and develop new diagnostic algorithms in terms of identifying and predicting new COVID-19 strains in the elderly.

Aim: to identify the features of hematological indices in elderly patients infected with SARS-CoV-2.

Methods. A retrospective study of hematological indices of 83 elderly patients (60-74 years old) was carried out, divided into two groups: group 1 – patients with pneumonia caused by SARS-CoV-2 (54 people; 48,1 % men, 51,9 % women) Group 2 – patients with pneumonia caused by other microorganisms (29; 55,2 % and 44,8 %, respectively). The study included patients hospitalized in the City Hospital №2, Saint-Petersburg, Russia in March-April 2020. The study was performed on a Cell-Dyn Sapphire hematology analyzer (Abbott, USA) on the day of hospitalization.

Results. Statistically significant differences were revealed in the number of leukocytes, lymphocytes, neutrophils, erythrocytes and in the volume of platelets (table). The characteristic features of the hemoglobin level, the distribution width of erythrocytes by volume and hematocrit were revealed. Differences in the indicated leukocyte indices were the most significant ($p \leq 0,01$) and it should be noted.

Table

Hematological indices in elderly patients

Hematological indices	COVID-19 <i>Me (Q1;Q3)</i>	Other pneumonia <i>Me (Q1;Q3)</i>
<i>WBC, 10⁹/L</i>	6,3 (4,7;8,2)**	8,3 (6,6;9,7)**
<i>NEU, 10⁹/L</i>	3,8 (2,5;5,8)**	5,8 (3,8;7,5)**
<i>LYM, 10⁹/L</i>	1,0 (0,8;1,2)*	1,4 (1,1;1,9)*
<i>MON, 10⁹/L</i>	0,5 (0,4;0,7)	0,7 (0,4;1,1)
<i>EOS, 10⁹/L</i>	0,04 (0,01;0,10)	0,05 (0,01;0,18)
<i>BAS, 10⁹/L</i>	0,04 (0,02;0,06)	0,04 (0,02;0,06)
<i>RBC, 10¹²/L</i>	4,5 (4,2;4,9)*	4,1 (3,5;4,7)*
<i>HGB, g/L</i>	130 (121;140)*	119 (100;137)*
<i>HCT, %</i>	40,4 (36,8;42,6)*	36,2 (30,8;40,6)*
<i>MCV, fL</i>	88,8 (84,8;91,2)	88,0 (85,5;91,3)
<i>MCH, pg</i>	29,0 (27,5;29,6)	29,0 (27,4;30,0)
<i>MCHC, g/L</i>	32,7 (31,9;33,0)	32,9 (31,7;33,5)
<i>RDW-CV, %</i>	11,8 (11,3;12,4)**	13,2 (12,2;15,6)**
<i>PLT, 10⁹/L</i>	226,5 (183,3;264,3)	240,0 (159,0;332,0)
<i>MPV, fL</i>	7,8 (6,9;8,8)	8,1 (7,3;9,2)
<i>PDW, %</i>	20,3 (19,6;21,3)*	19,8 (16,6;21,0)*
<i>PCT, %</i>	0,18 (0,15;0,22)	0,19 (0,12;0,26)

Note: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$.

Lower lymphocyte counts in COVID-19 are likely associated with the manifestation of such a phenomenon as "cytokine storm". A delayed immune response may be the cause. Changes in individual erythrocyte indices are consistent with modern concepts of the pathogenesis of a new coronavirus infection and they are characteristic of blood clotting processes.

Conclusion. In the course of the study we identified the features of a blood test in elderly patients diagnosed with pneumonia caused by SARS-CoV-2, the main feature is lymphocytopenia. The detected distinctive features are consistent with the data of the scientific literature, which describe the pathogenetic mechanisms of the course of the new coronavirus infection. In addition, the identification of such changes in the future may be useful in the examination of patients with pneumonia caused by new strains of SARS-CoV-2.

GENETIC CONSTRUCTION OF A BACTERIAL STRAIN FOR THE TOOTH ENAMEL RESTORATION

P.D. Saveljeva, E.I. Koshelev

Russia's National Research University of Information Technology, Optical Design and Engineering (ITMO), Saint-Petersburg, Russia

Introduction. Dental enamel is the hardest and the most mineralized tissue in the human organism. Despite that fact, enamel cannot regenerate itself after damages because it is formed by a layer of ameloblasts that are lost after the tooth eruption. Amelogenin is the main enamel matrix extracellular protein which is secreted by ameloblast cells within the developing tooth. Previous researches showed that amelogenin may be involved in process of tooth tissues repair after caries disease. Recombinant human amelogenin can contribute to the periodontal tissues' regeneration.

Goal. The aim of this research is the development of the recombinant strain of bacteria – commensal of the human oral cavity, which will be capable of synthesizing the human amelogenin.

Tasks. The objectives of the current work are:

1. To select and to obtain a human tooth cell line as the source of amelogenin gene.
2. To make genetic construction for AMELX gene expression (table).
3. To choose bacterial system as potential protein producer.
4. To develop material consisting of a polymeric base and bacteria, synthesizing amelogenin, for the tooth restoration.

Genes encoding amelogenin in the human organism

Name	Description	Location	Aliases
AMELX	amelogenin X-linked	Chromosome X	AMG, AMGX
AMELY	amelogenin Y-linked	Chromosome Y	AMGL, AMGY

Materials. Human tooth cell line, chemical reagents required for RNA extraction from cells` lysate, reverse transcriptase MMLV, Hot Start Taq 2X Master Mix/ Q5 High-Fidelity 2X Master Mix, forward and reverse primers for coding DNA sequence of a target gene, agarose powder.

Methods. RNA extraction from eukaryotic cells, reverse transcription, standard PCR (Polymerase chain reaction), electrophoresis in agarose gel, a transformation of competent bacteria with plasmid.

Main results:

1. Cooperation was established with Pokrovsky bank of stem cells to obtain for this research human tooth cell line – human pulp mesenchymal stem cell line was received. RNA samples were extracted from cells` lysates and were used as a template for the reverse transcription. Standard PCR was performed with cDNA as a matrix to obtain the amplicon – gene of interest. Primers for PCR were calculated using information about gene from NCBI and program VectorNTI. Using electrophoresis, it was checked that this human cell line has the expression of a target gene (according to NCBI size of the gene`s coding sequence is 576 base pairs).
2. Map of expression plasmid pET51b was constructed using program SnapGene.
3. Bacterial strain as potential amelogenin producer was chosen – it is *Chryseobacterium sp.* because this strain initially was isolated from healthy human oral cavity.
4. The future purpose of this research is to include recombinant bacteria – amelogenin producer to the surface of polymer strips and to test its ability of tooth enamel restoration.

Conclusion. As AMELX gene source human pulp mesenchymal stem cell line was received. It was proven that it can express target gene, using molecular biology methods. Genetic construction for gene expression was made. Bacterial producer of target protein was chosen. Research work on target gene isolation is currently proceeding.

СОДЕРЖАНИЕ

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ ГЛУТАМАТНЫХ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ <i>А.И. Аксенов</i>	4
ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ БИОМАРКЕРОВ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ <i>А.О. Аратова, А.О. Анпилова, С.А. Орлова, О.В. Галкина, Т.С. Васильева</i>	5
БИОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИИ <i>PSEUDOMONAS PUTIDA</i> , ВЫЗЫВАЮЩЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЕ ОСЕТРОВЫХ РЫБ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В УСЛОВИЯХ РЕГУЛИРУЕМЫХ СИСТЕМ <i>С.С. Бакиев, А.К. Бисенбаев</i>	7
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ микроРНК В МОЧЕ ЯВАНСКИХ МАКАК, ПОЛУЧАВШИХ РАЦИОН С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ <i>О.Н. Береснева, М.И. Зарайский, М.М. Парастаева, А.Г. Кучер, И.Г. Каюков, С.В. Орлов, К.М. Иванова, В.О. Брызгалина</i>	9
УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА NFκBp65 В МИОКАРДЕ И ПОЧКАХ КРЫС WISTAR И СПОНТАННО ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС (SHR), ПОЛУЧАВШИХ РАЦИОН С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ NaCl <i>О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Г.Т. Иванова, М.И. Зарайский, А.Г. Кучер, И.Г. Каюков, К.А. Оганян, К.А. Оганян</i>	11
ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В СЕМЬЕ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ФОРМОЙ АУТИЗМА <i>К. Беспалова, А. Перфильева, Э. Хусаинова, С. Абдикерим, А. Чильдебаева, Б. Бекманов, Л. Джансугурова</i>	13
ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ <i>О.О. Болгарчук, Л.И. Калюжная, В.Е. Чернов, С.В. Чеботарев, Д.А. Волов</i>	14
ШТАММ <i>DUNALIELLA SALINA</i> AR-1, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ ОЗЕР ПРИАРАЛЬЯ, И ЕГО НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ <i>О.А. Верушкина, А.К. Тонких, Е.Н. Баймурзаев, С.В. Кодиров</i>	16

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПОЧВЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ НА ЭНЕРГИЮ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ <i>Д.Л. Иткина, А.Д. Сулейманова, М.Р. Шарипова</i>	17
ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММА <i>LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM</i> FSA3L <i>О.С. Карасева, Г.Д. Ожегов, Ф.С. Ахатова, Е.А. Анисимова, Р.Ф. Фахруллин, Д.Р. Яруллина</i>	19
ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ЭМБРИОГЕНЕЗА SOX9 И FOXA2 В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Л.Г. Кондратьева, Е.П. Коланцев, И.П. Чернов</i>	21
АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ БЕЛКА P53 У ЛИЦ, РАБОТАЮЩИХ С ВЫСОКОТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ <i>В.Ю. Конева, Р.В. Гамазков</i>	23
МОДУЛИРОВАНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КАК НОВЫЙ СПОСОБ БОРЬБЫ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ <i>А.В. Локтева, К.О. Баскакова, Э.А. Фоунд, П.Д. Савельева, Е.И. Кошель</i>	25
МОНИТОРИНГ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПО РЕАРАНЖИРОВКАМ ГЕНОВ IG/TCS МЕТОДОМ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТАМ С ДИАГНОЗОМ ОСТРЫЙ ЛИМФОБЛАСТНЫЙ ЛЕЙКОЗ <i>Д.В. Луцкович, Е.А. Столярова, Е.А. Полякова, А.Н. Мелешко</i>	27
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЛАГЕЛЛЯРНОГО РЕГУЛОНА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ <i>MORGANELLA MORGANII</i> , РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПОДВИЖНОСТИ <i>Л.Ф. Миннуллина, Д.С. Пудова, А.М. Марданова</i>	28
РОЛЬ СОВРЕМЕННЫХ БАРИАТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С СУПЕР-СУПЕР-ОЖИРЕНИЕМ <i>М.А. Мицинский, М.Б. Фишман, А.И. Мицинская, А.Д. Ахметов</i>	30
ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ИЗВИТОСТИ, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКИМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ <i>В.В. Никитина</i>	32

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА МНОГОЛОКУСНОЙ МЕТИЛЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР) В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ <i>А.Ф. Николаева, В.О. Сигин, А.С. Танас, В.В. Стрельников</i>	33
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ СУБТИЛИЗИНОПОДОБНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ БАЦИЛЛ ПОД КОНТРОЛЕМ КОНСТИТУТИВНОГО ПРОМОТОРА <i>Ф.Р. Османова, А.О. Корягина, М.Р. Шарипова</i>	35
ДИНАМИКА ТРЕС И КРЕС У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТЕРАПИИ АНТИ-CD20 МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ <i>Е.А. Полякова, М.В. Стёганцева, Т.А. Углова, Д.В. Луцкович, М.В. Белевцев</i>	37
ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ОКСИТОЦИНА В МИОМЕТРИИ У ЖЕНЩИН С ОЖИРЕНИЕМ <i>Д.С. Серегина, Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль</i>	38
ПРИМЕНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АНТИГЕННЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНЫХ АНТИТЕЛ <i>Н.И. Хаммадов, А.И. Хамидуллина, Э.А. Шуралёв, Т.Х. Фаизов, К.В. Усолцев</i> ...	40
ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСТРАКЦИИ И АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БЫСТРОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ <i>Л.А. Шкоденко, М.С. Рубель, Е.И. Кошель</i>	42
CREATION OF BIOMATERIALS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY <i>V.T. Badretdinova, S.A. Serykh</i>	44
EFFECT OF NANOPARTICLES OF Fe ₃ O ₄ ON SEDIMENTATION OF PROTEASES FROM THE CULTURAL FILTRATE OF MICROMYCETE <i>FUSARIUM GIBBOSUM</i> <i>A. Ciloci, S. Clapco, J. Tiurina, S. Labliuc, E. Dvornina</i>	45
MOLECULAR GENETIC MECHANISMS OF CARCINOGENESIS <i>R.R. Gimaeva, D.I. Gabelko</i>	47
THE INFLUENCE OF MUTATIONS IN THE BRCA1 AND BRCA2 GENES ON THE DEVELOPMENT OF HEREDITARY BREAST CANCER <i>R.R. Gimaeva, D.I. Gabelko</i>	49
PHYSIOLOGICAL MARKERS OF INDIVIDUAL RISK OF PSYCHOEMOTIONAL MALADJUSTMENT AS A FACTOR OF SITUATIONAL DEMAND FOR PSYCHOACTIVE SUBSTANCES <i>N.O. Nazarov, Y.A. Shatyr, G.A. Croslova, A.P. Aksarina, A.B. Mulik</i>	50

PERSPECTIVES ON USING HEMATOLOGICAL ANALYZERS IN THE FIGHT AGAINST NEW COVID-19 STRAINS: FEATURES OF HEMATOLOGICAL INDICATORS IN ELDERLY PERSONS INFECTED WITH SARS-CoV-2
S.A. Rukavishnikova, T.A. Akhmedov, A.S. Pushkin, U.R.Saginbaev..... 51

GENETIC CONSTRUCTION OF A BACTERIAL STRAIN FOR THE TOOTH ENAMEL RESTORATION
P.D. Saveljeva, E.I. Koshel..... 53

ДЛЯ ЗАМЕТОК

Научное издание

СОВРЕМЕННЫЕ BIOTEХНОЛОГИИ ДЛЯ НАУКИ И ПРАКТИКИ

СБОРНИК ТЕЗИСОВ
VIII МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ ДНЮ ДНК-2021

22-23 апреля 2021 года

Научные редакторы
М.И. Зарайский, В.Л. Эмануэль

Редактор *И.Б. Нечуева*
Верстка *О.В. Иванова*

Подписано к использованию 09.06.2021.
Формат 60×84 1/16, 60 стр. Усл. печ. л. 3,75.
Тираж 50 экз. Заказ № 89/21.
197022, Санкт-Петербург, улица Льва Толстого, 6-8.
Редакционно-издательский центр ПСПбГМУ