



December 20 - 21, 2021

Microbiology: yesterday, today, tomorrow

International conference devoted
to the 100th anniversary of Microbiology
Department at Kazan University



KAZAN FEDERAL UNIVERSITY

MICROBIOLOGY

YESTERDAY, TODAY, TOMORROW

ABSTRACT BOOK

**of International conference devoted to the 100th anniversary
of Microbiology Department at Kazan University**

Kazan, December 20–21, 2021



KAZAN

2021



20 – 21 декабря 2021 г.

Микробиология: вчера, сегодня, завтра

Международная юбилейная конференция, посвященная 100-летию основания кафедры микробиологии в Казанском университете



Казанский федеральный
УНИВЕРСИТЕТ

ДИА+М

www.dia-m.ru

КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МИКРОБИОЛОГИЯ

ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

**Международной юбилейной конференции, посвященной 100-летию
основания кафедры микробиологии в Казанском университете**

Казань, 20–21 декабря 2021 г.



КАЗАНЬ

2021

UDC 579
LBC 28.4
M65

*Reprinted on the recommendation
of the IFMB KFU Academic Council (Kazan)*

Science Editor

Dr. biol. sciences, prof. **O. Ilyinskaya**
(Institute of Fundamental Medicine and Biology of KFU)

Reviewers

Dr. biol. sciences, prof. **S. Selivanovskaya**
(Institute of Ecology and Nature Management of KFU)

M65 **Microbiology: yesterday, today, tomorrow** [Electronic resource]: abstract book of International conference devoted to the 100th anniversary of Microbiology Department at Kazan University (Kazan, December 20–21, 2021). – Electronic text data (1 file: 2,40 Mb). – Kazan: Kazan University Press, 2021. – 168 pp. – System requirements: Adobe Acrobat Reader. – Access mode: <https://kpfu.ru/portal/docs/F619339839/ABSTRACT.BOOK.MB.100.pdf>. – Heading from title screen.

ISBN 978-5-00130-549-1

The conference will consider the fundamental and applied aspects of modern microbiology. The main attention will be paid to the medical, molecular, and agricultural areas of microbiology, modern methods of researching microorganisms, new biotechnologies using microorganisms and microbial enzymes, problems of biocorrosion and counteracting it, as well as promising microbial drugs. The plenary reports will touch upon the history of microbiology in Kazan, problems of modern virology, highlight the role of microbial biofilms in medicine and biology, molecular mechanisms of antitumor and antiviral action of bacterial enzymes, prospects of microbial biotechnology and the role of microorganisms in environment. The purpose of the event is to acquaint the audience with a wide range of studies in the field of microbiology and significant results obtained by KFU scientists and their Russian and foreign colleagues to date. An important outcome of the conference will be the joint development of promising strategies for the development of microbiology. One of the main tasks of the conference will be to attract young people to science.

UDC 579
LBC 28.4

ISBN 978-5-00130-549-1

© Kazan University Press, 2021

УДК 579
ББК 28.4
М59

Печатается по рекомендации Ученого совета ИФМиБ КФУ (г. Казань)

Научный редактор

доктор биол. наук, проф. **О.Н. Ильинская**
(Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ)

Рецензент

доктор биол. наук, проф. **С.Ю. Селивановская**
(Институт экологии и природопользования КФУ)

М59 **Микробиология: вчера, сегодня, завтра** [Электронный ресурс]: тезисы докладов Международной юбилейной конференции, посвященной 100-летию основания кафедры микробиологии в Казанском университете (Казань, 20–21 декабря 2021 г.). – Электрон. текстовые дан. (1 файл: 2,40 Мб). – Казань: Издательство Казанского университета, 2021. – 168 с. – Систем. требования: Adobe Acrobat Reader. – Режим доступа: <https://kpfu.ru/portal/docs/F619339839/ABSTRACT.BOOK.MB.100.pdf>. – Загл. с титул. экрана.

ISBN 978-5-00130-549-1

На конференции будут рассмотрены фундаментальные и прикладные аспекты современной микробиологии. Основное внимание будет уделено медицинскому, молекулярному и сельскохозяйственному направлениям микробиологии, современным методам исследования микроорганизмов, новым биотехнологиям с использованием микроорганизмов и микробных ферментов, проблемам биокоррозии и противодействия ей, а также перспективным микробным препаратам. В рамках пленарных докладов будут затронуты вопросы истории микробиологии в Казани, проблемы современной вирусологии, освещены роль микробных биопленок в медицине и биологии, молекулярные механизмы противоопухолевого и противовирусного действия бактериальных ферментов, перспективы использования микробных биотехнологий. Целью мероприятия является знакомство аудитории с широким спектром исследований в области микробиологии и значимыми результатами, полученными учеными КФУ и их российскими и зарубежными коллегами к настоящему времени. Важным итогом конференции станет совместная разработка перспективных стратегий развития микробиологии. Одной из главных задач конференции станет привлечение в науку молодых кадров.

УДК 579
ББК 28.4

ISBN 978-5-00130-549-1

© Издательство Казанского университета, 2021

СОДЕРЖАНИЕ
CONTENS

Поздравления.....	8
Congratulations	
Программа конференции.....	11
Conference program	
Тезисы. История микробиологии в Казани	15
Тезисы на русском языке.....	22
English abstracts.....	91

ПОЗДРАВЛЕНИЕ

председателя Пермского отделения Микробиологического общества, академик РАН Ившина Ирина Борисовна и коллектива Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук и кафедры микробиологии, и иммунологии Пермского государственного национального исследовательского университета.

Глубокоуважаемая Ольга Николаевна!

Дорогие Коллеги!

Безусловно, никакой даже самый совершенный удалённый формат не может заменить преимущества личного общения... Но как (!) трудно и даже опасно (!) в нынешней короновирусной реальности вырваться из суэты повседневных трудовых будней, чтобы вновь насладиться традиционным гостеприимством организаторов Международной юбилейной конференции, посвященной 100-летию основания Кафедры микробиологии в Казанском университете, и исключительно полезно-приятным пребыванием в одном из самых красивых городов мира и в одном из лидирующих вузов России...

По поручению коллектива Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения, Российской академии наук и кафедры микробиологии и микробиологии Пермского государственного национального исследовательского университета передаю нашим казанским Коллегам поздравления с торжественным юбилеем.

100-летие – немалый исторический срок. Искренне радуемся достижениям Кафедры, возглавляемой Ольгой Николаевной Ильинской, гордимся своими коллегами, которые, несмотря на насыщенную стрессами жизнь, делают всё возможное, чтобы развивать педагогический и научный потенциал

Кафедры, добиваться достойных результатов, а создавать действительно нечто ценное – согласитесь, это сложная задача.

Рады поводу произнести особые слова восхищения и уважения нынешнему заведующему легендарной кафедры легендарного ВУЗа – редкому, красивому человеку, умеющему выстоять в этом негармоничном мире, способному самозабвенно работать и вкладывающего душу в любимое дело, и наконец, просто красивой, обаятельной, чуткой, стильной, изысканной женщине. Желаем профессору Ильинской Ольге Николаевне сохранения прежних сил, вдохновения, энергии, чтобы и впредь удерживать Кафедру на достойном уровне, развивать Научную школу и растить молодую смену.

Желаем успешной работы Конференции, много неизвестного в нашей микробиологической науке, ежечасно требующей всепоглощающей отдачи.

Всем избавления от перегрузок и не покидающего ощущения надежды на ударное финансирование наших исследований и новейшие инструментальные возможности.

Будем работать дальше, будем ценить то, чем наша жизнь драгоценна: а это любимое дело, опыт и профессионализм, талантливые ученики *et cetera, et cetera*.

Будем праздновать каждый День своей жизни, чтобы в нём ни происходило.

И сколько ещё впереди!

С уважением,
председатель Пермского отделения
Микробиологического общества,
академик РАН Ившина Ирина Борисовна



Федеральное государственное учреждение
**«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»**

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (499) 135-2139; факс: (499) 135-6530; www.inmi.ru; e-mail: inmi@inmi.ru

*Коллектив Института микробиологии им. С.Н. Виноградского
Федерального исследовательского центра «Фундаментальные
основы биотехнологии» РАН от всей души поздравляет коллектив
Кафедры микробиологии Казанского (Приволжского) федерального
университета со славным 100-летним юбилеем!*

*Со времен своего создания Кафедра по праву занимает важное место
в комплексе биомедицинских и биотехнологических исследований,
является хранителем лучших традиций отечественной науки и
продолжает свою благородную миссию широкого научного
просвещения.*

*Развиваемые на Кафедре научные направления с использованием
современных методов в сотрудничестве с учеными разных
специальностей позволяют не только заниматься расшифровкой
молекулярных механизмов взаимодействия микроорганизмов, их
ферментов и метаболитов с клетками эукариот и использованием
микроорганизмов в процессах очистки окружающей среды от
тяжелых антропогенных загрязнений, но и формировать научное
мировоззрение, значение которого для воспитания нового поколения
молодых ученых трудно переоценить.*

*Желаем коллективу Кафедры, с которым нас связывают тесные
узы, дальнейшего развития на благо всего комплекса наук о Жизни!*

*От коллектива ИИММ
ФИЦ Биотехнологии РАН
Заместитель директора,
д.б.н. Пименов Н.В.*



Программа конференции

«Микробиология: вчера, сегодня, завтра»

20 декабря 2021 года, понедельник

Аудитория 211

Главный корпус КФУ

Кремлевская улица, 18

09:30 – 10:00

Регистрация

10:00 – 12:30

Пленарные доклады

Приветственная речь директора Института Фундаментальной Медицины и Биологии Андрея Павловича Киясова

Поздравление от декана высшей школы биологии

Рушана Мирзовича Сабирова

Поздравление от декана биолого-почвенного факультета

Анатолия Ивановича Голубева

1. Поздеев О.К. (Казанская государственная медицинская академия). Казанский период В.М. Аристовского. Диалектика развития научных исследований на кафедре микробиологии КГМА.
2. Ульянова В.В. (Кафедра микробиологии, ИФМиБ, КФУ). Секретируемые бактериальные рибонуклеазы – основное направление научных исследований кафедры микробиологии Казанского университета.
3. Ризванов А.А. (Научно-клинический центр прецизионной и регенеративной медицины, ИФМиБ, КФУ). Генная терапия на основе вирусных векторов.
4. Каюмов А.Р. (Центр микробиома и экспосома, ИФМиБ, КФУ). Смешанные бактериальные и грибово-бактериальные инфекции, связанные с образованием биопленок. Новые вызовы и подходы к эрадикации.
5. Ильинская О.Н. (Лаборатория «Микробные модуляторы онкотрансформации», ИФМиБ, КФУ), Гатауллин И.Г. (Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан). Микробиом при колоректальном раке.

12:30 – 13:00

Перерыв на кофе

13.00 – 15.00

Пленарные доклады

1. Зуев Ю.Ф. (Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН). Структура, конформационная динамика и мембранотропные свойства антимикробных пептидов.
2. Гоголев Ю.В. (Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН) От геномики к метагеномике природных микробных сообществ.
3. Селивановская С.Ю., Галицкая П.Ю. (Институт экологии и природопользования, КФУ). Реакция почвенных бактериальных и грибковых микробных сообществ на нефтяное загрязнение.
4. Шарипова М.Р. (Кафедра микробиологии, ИФМиБ, КФУ). Генные технологии как платформа для создания биотехнологий нового поколения.

15.00 – 16.00

Обед

16:00 – 18:00

Круглый стол с участием спонсорских организаций

«Перспективы развития современной микробиологии: междисциплинарность, сотрудничество, бизнес»

Conference Programme

"Microbiology: yesterday, today, tomorrow"

December 20th, 2021, Monday

Room 211

The main building of KFU

18 Kremlyovskaya street

09:30 – 10:00

Registration

10:00 – 12:30

Plenary Session

Welcoming speech of the director of the Institute of Fundamental Medicine and Biology

Andrey Pavlovich Kiyasov

Congratulations from the Dean of the Higher School of Biology

Rushan Mirzovich Sabirov

Congratulations from the Dean of the Faculty of Biology and Soil Science

Anatoly Ivanovich Golubev

1. Pozdeev O.K. (Kazan State Medical Academy). The Kazan period of V.M. Aristovsky. Dialectics of the development of scientific research at the Department of Microbiology of the KSMA.
2. Ulyanova V.V. (Kazan Federal University). Secreted bacterial ribonucleases are the mainstream of scientific research at the Department of Microbiology, Kazan University
3. Rizvanov A.A. (Center for Personalized Medicine, Kazan). Gene therapy based on viral vectors.
4. Kayumov A.R. (Microbiome and Exposome Center). Mixed bacterial and fungal-bacterial infections associated with biofilm formation. New challenges and approaches to eradication.
5. Ilinskaya O.N. (Laboratory "Microbial modulators of oncotransformation", Institute of Fundamental Medicine and Biology), Gataullin I.G. (Republican Clinical Oncological Dispensary of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan). The microbiome in colorectal cancer.

12:30 – 13:00

Coffee-break

13.00 – 15.00

Plenary Session

1. Zuev Yu.F. (Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences). Structure, conformational dynamics and membranotropic properties of antimicrobial peptides.
2. Gogolev Yu.V. (Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences) From genomics to metagenomics of natural microbial communities.
3. Selivanovskaya S.Yu., Galitskaya P.Yu. (Institute of Environmental Sciences). The response of soil bacterial and fungal microbial communities to oil pollution.
4. Sharipova M.R. (Agrobioengineering laboratory, Institute of Fundamental Medicine and Biology). Gene technologies as a platform for the development of new generation biotechnologies.

15.00 – 16.00

Lunch

16:00 – 18:00

Round table with the participation of sponsoring organizations

“Prospects for the development of modern microbiology: interdisciplinarity, collaboration, business”

ИСТОРИЯ МИКРОБИОЛОГИИ В КАЗАНИ

Тезисы

КАЗАНСКИЙ ПЕРИОД НАУЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В.М.АРИСТОВСКОГО – ОСНОВОПОЛОЖНИКА МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В КАЗАНИ

Поздеев О.К.

Казанская государственная медицинская академия, филиал ФГБОУ ДПО
РМАНПО Минздрава России, Казань

В ноябре приближающегося нового года исполнится 140 лет со дня рождения славного уроженца г. Чистополь Вячеслава Михайловича Аристовского, оставившего яркий след в деятельности кафедр микробиологии Казанского Университета, Казанской медицинской академии, Казанского медицинского университета и Казанского научно-исследовательского института микробиологии и эпидемиологии. В последний, носивший тогда название Бактериологический институт, он и поступил работать после окончания Казанского Императорского Университета, где вскоре успешно выполнил диссертационную работу на степень доктора медицины (1912). В 1916 г. В.М. Аристовский был призван на военную службу и командирован в Императорский Институт экспериментальной медицины, расположенный в Кронштадтском форте «Александр I», так же известный как «Чумной форт». После войны подполковник В.М. Аристовский возвратился в Казань, где ему было присвоено звание приват-доцента по бактериологии при Казанском университете. С началом Гражданской войны В.М. был мобилизован в Красную Армию и участвовал в военных действиях на Украине. Там Вячеслав Михайлович встретил и подобрал больного сыпным тифом молодого врача-фронтовика Рудольфа Гельцера, а после его выздоровления пригласил в Казань. В 1920 г. он организовал и возглавил кафедру микробиологии медицинского факультета, а Р.Р. Гельцер стал ассистентом кафедры. С 1922 по 1924 одновременно он совмещал обязанности декана медицинского факультета. 22 апреля 1920 года было учрежден «Казанский клинический институт им. В.И.Ленина», ныне известный как Казанская государственная медицинская академия, в 1930 г. В.М. Аристовский был приглашен заведовать и которой он руководил до 1932 г. После того, как медицинский факультет был реорганизован в Казанский медицинский институт (1930), В.М. Аристовский продолжал руководить работой кафедры. В те годы научные интересы Вячеслава Михайловича определяли потребности здравоохранения в борьбе с эпидемическими болезнями периодов гражданской войны, интервенции и голода 20-х годов. Все свои усилия он направил на изучение микробиологии,

иммунологии и патогенеза наиболее актуальных в это время инфекций – возвратного и сыпного тифов, дифтерии, скарлатины, туберкулеза и сифилиса. Разумеется, для всего этого была необходима специализированная научно-производственная база и в 1925 г. по его инициативе был реорганизован Бактериологический институт, влачивший довольно жалкое существование, в Институт эпидемиологии и микробиологии Наркомздрава Татарской АССР, где до 1930 г. он был его директором, а затем (до 1932 г.) научным руководителем. Наибольшую известность В.М. Аристовскому в нашей стране и за рубежом принесли исследования спирохет и в первую очередь возбудителя сифилиса. В 1922 г. вместе со своим бессменным помощником Рудольфом Робертовичем Гельтцером из папулы больного сифилисом он впервые выделил чистую культуру бледной спирохеты на разработанной ими питательной среде, Полученная культура была обозначена как штамм первый. Через 4 года из широкой кондиломы была выделена вторая чистая культура, которую обозначили как штамм второй. После публикации в «Annales de l'Institut Pasteur» статьи об открытии различных штаммов трепонем и состава питательной среды для их культивирования Казань на время стала «микробиологической Меккой» многих ученых Запада. Сюда приезжали ученые из Парижа, Берлина, Праги и Кембриджа. К сожалению, впоследствии, все штаммы возбудителя сифилиса были утеряны и на сегодняшний день ни одна лаборатория мира их не имеет.

В это же время Аристовским и Гельтцером было доказано отсутствие цикличности в развитии спирохеты Обермайера. Был вскрыт механизм образования «рецидивных рас» возбудителя возвратного тифа, что явилось основой для понимания патогенеза рекуррентного течения инфекции и научного обоснования методов рациональной терапии и профилактики возвратных тифов. Также было показано, что своеобразие иммунитета при возвратном тифе обусловлено чрезвычайным разнообразием и изменчивостью антигенов возбудителя. Достоинством упоминания то, что на среде, разработанной Аристовским вместе Р.Р. Гельтцером, в течение семи лет поддерживалась чистая культура *Borellia recurrentis*, выделенная у больного возвратным тифом, сохраняя при этом свои патогенные свойства. В связи с ростом эпидемических вспышек водной лихорадки (безжелтушного лептоспироза) изучались микробиология и иммунология лептоспироза. Для этого Вячеслав Михайлович организовал специальную лабораторию, которую укомплектовал врачами, прошедшими подготовку у ведущих отечественных лептоспирологов. Были

детально изучены эпидемиологические особенности, клиника заболевания, а также выделен возбудитель безжелтушного лептоспироза.

В 1926–1927 г. В.М. Аристовский с коллегами принимал активное участие изучению эффективности вакцины БЦЖ. Впервые в СССР эти опыты были проведены им в Казанском НИИЭМ Работы по изучению дифтерии и скарлатины, также проводимые в эти годы, имели преимущественно иммунологическую направленность. В то время широкое признание получила аллергическая кожная реакция на нуклеопротеиды гемолитического стрептококка у выздоравливающих после скарлатины, вошедшая в литературу под названием реакции Аристовского-Фанкони. В 1932 г. В.М. Аристовский переехал в Ленинград, где он возглавил кафедру микробиологии в Военно-Медицинской Академии.

ИСТОРИЯ ОСНОВАНИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА В КАЗАНИ

Куликов С.Н.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

Как известно первые микробиологические исследования в Казанском императорском университете проводились в середине XIX века и были связаны с изучением болезней животных, проводимых профессором кафедры скотолечения Фридрихом Брауэллем (1806–1882). Уже во второй половине XIX века микробиология как наука стала переживала бурное развитие в связи с фундаментальными открытиями в области жизнедеятельности микроорганизмов и существенного переосмысления их роли в инфекционных заболеваниях человека. Одним из первых осознавшим потребность в учреждении в Казани бактериологического института стал профессор ботаники Николай Васильевич Сорокин (1846–1909), который безуспешно ходатайствовал с этим вопросом перед земством и Советом университета. В 1885 г. так же безуспешно об открытии специальной бактериологической лаборатории просило Казанское медицинское общество, руководимое известным общественным деятелем профессором Александром Васильевичем Петровым. В 1889 г. медицинским факультетом Казанского университета под председательством профессора Николая Фёдоровича Высоцкого была создана комиссия «для совместной с городом и земством выработки решения об учреждении в Казани бактериологической станции». Однако успешной в реализации задуманного стала вторая комиссия по той же проблеме которая

была сформирована в 1894 г. и получившая долгожданное дозволение в 1896 г. на проект устройства при Казанском университете Областного бактериологического института.

Стоит напомнить, что тот период характеризовался хронически неблагоприятным в плане санитарно-эпидемиологической обстановки по всей территории Российской Империи. Тяжёлая эпидемическая обстановка складывалась и в Поволжье, где на исходе XIX века продолжительная эпидемия дифтерии унесла жизни почти половины всех детей в возрасте до 14 лет. Перед второй комиссией, которую также возглавил Н.Ф. Высоцкий, была поставлена задача «изучения и оценки современных способов лечения дифтерии» в том числе приготовление антидифтерийной сыворотки и изучение её эффективности на больных, которая в итоге была успешно выполнена и внесла свою важную лепту в получение одобрения на постройку бактериологического института.

Главное здание нового института – трёхэтажный корпус по проекту Колмакова было построено к концу 1898 г., а при его проектировании за образец был взят Институт Пастера в Париже. В 1900 г. состоялось открытие Бактериологического института, который стал первой научной структурой микробиологического профиля в Казани. В составе Казанского университета Бактериологический институт находился до 1925 г. перейдя затем в качестве Краевого микробиологического института в Наркомздрав ТАССР.

Первым директором института стал Н.Ф. Высоцкий, однако, будучи хирургом по профессии, возглавлял учреждение недолго и в 1904 г. на этом посту его сменил Иван Григорьевич Савченко (1862–1932). В 1905 г. Савченко И.Г. выделил специфический скарлатинозный токсин гемолитического стрептококка и разработал методику получения противоскарлатинозной лечебной сыворотки, производство которой было немедленно развернуто в сывороточном отделении института. Позже в институте стала выпускаться ранее разработанная И.Г. Савченко и Д.К. Заболотным вакцина против холеры. Большой вклад в становление института внёс заведующий отделом лечебных сывороток Фёдор Яковлевич Чистович, который в 1904 г. открыл явление преципитации белка специфическим антителом. В общей сложности с 1902 по 1910 г. научным отделением института было выпущено 36 работ, значительная часть из которых принадлежит И.Г. Савченко К этим же годам относится диссертационная работа Вячеслава Михайловича Аристовского «О влиянии среды на цитолиз в присутствии алексина и фиксатора» впоследствии руководивший институтом с 1918 г. Плодотворная работа казанских микробиологов под руководством

Н.Ф. Высоцкого и И.Г. Савченко позволяет сделать вывод, что именно в первом десятилетии XX в. сложилась и оформилась казанская школа микробиологии, характерной чертой которой стало особое внимание к проблеме иммунитета. Базой становления этой школы стал Бактериологический институт при Казанском университете.

Революционные потрясения 1917 года и разразившаяся вслед за ними Гражданская война не благоприятствовали систематической фиксации фактов научной и производственной деятельности Казанского института. Кроме того, значительная часть институтского архива была утрачена впоследствии. Поэтому многие события его истории в эти бурные годы остаются почти неизвестными. Можно с абсолютной уверенностью утверждать, что во времена революции, Гражданской войны и послевоенной разрухи Казанский Бактериологический институт продолжал функционировать практически непрерывно. Об этом свидетельствуют, в частности, сведения о лечебных препаратах, выпускавшихся (и даже внедрявшихся в производство) институтом в эти годы: противодифтерийная и противоскарлатинозная сыворотки, антирабическая вакцина – 1917 г.; холерная вакцина и вакцина крысиного тифа – 1919 г.; скарлатинозная вакцина по Габричевскому – 1922 г.; стафилококковая и стрептококковая вакцины – 1924 г.

Всякому, кто знаком с лабораторным делом, ясно, что в случае сколько-нибудь значительного перерыва в работе возобновить производство было бы просто невозможно – слишком хрупким было тогдашнее техническое оснащение. К сожалению, нам пока не удалось установить имена работавших в то время рядовых служащих института – их самоотверженные усилия заслуживают самых теплых слов.

THE MAIN MILESTONES IN THE DEVELOPMENT OF MICROBIOLOGY AT THE IMPERIAL KAZAN UNIVERSITY

Trushin M.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

The first scientific works of the staff of the Imperial Kazan University, telling about infectious diseases and their pathogens, methods of their prevention and treatment belong to the first half of the XIX century. The main role in the development of ideas about the causative agents of infectious diseases was played by representatives of the Faculty of Medicine. The appearance of the microscope as a scientific instrument brought the university's naturalists to a new methodological level in the field of microbial research. Another significant factor in the development of microbiology at the university was the phenomenon of scientific trips both within the country and abroad. The last third of the XIX century turned out to be very productive for natural scientists of Kazan University. Original hypotheses about the nature of microbes were put forward (I.P. Skvortsov's microbiosis hypothesis), the first textbook in the field of microbiology was published ("Plant parasites of humans and animals as the cause of infectious diseases. For naturalists, doctors, students and veterinarians" by N.V. Sorokin). A special example of the close interaction of representatives of the medical, physico-mathematical and law faculties of the university is their joint efforts to control the plague in 1879. The Bacteriological Institute as a specialized unit played a significant role in the development of microbiology at the university. At the turn of the late XIX – early XX centuries, knowledge about microbes was consolidated in a number of academic disciplines of the medical faculty of the university. From the beginning of the twentieth century until 1918, according to the level of microbiology development, Kazan University corresponded to the leading domestic scientific and educational institutions.

In carrying out this research, documents were used stored in the State Archive of the Republic of Tatarstan, the State Archive of the Yaroslavl Region, the Russian State Historical Archive, the Manuscript Department of the Pushkin House, as well as in the Lithuanian State Historical Archive, the National Archive of Estonia, the Archive of the University. Of the published sources, the most important are the materials presented in the journal "Scientific Notes of Kazan University", biographical reference books and other monographs on the history of Kazan University.

ТЕЗИСЫ НА РУССКОМ ЯЗЫКЕ

РОЛЬ *UREAPLASMA SPP.* В РАЗВИТИИ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Абдрахманов А.Р.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

До настоящего времени увеличение заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП), и связанных с ними воспалительными заболеваниями органов уrogenитального тракта и развитие мужской инфертильности является актуальной проблемой глобальной медицины. В настоящее время по всему миру большое внимание уделяется *Ureaplasma spp.* в развитии воспалительных заболеваний мужской репродуктивной системы. Так, верифицируя *Ureaplasma spp.* в уrogenитальном тракте практически здоровых пациентов, большинство исследователей считают их условно-патогенными инфекциями. Несмотря на это, результаты других исследований свидетельствуют о значительном росте уровня заболеваний органов уrogenитальной системы, ассоциированных с *Ureaplasma spp.* *Ureaplasma spp.* могут являться причиной развития негонококковых уретритов, простатитов, эпидидимитов. Данные утверждения подтверждают исследования Luca Boeri et al. (2020): наиболее часто встречающимся ИППП у бесплодных мужчин явилась *Ureaplasma urealyticum*, определяя 37,4%. Также доказана роль уреоплазм в снижении фертильности у мужчин путем адгезии уреоплазм к уретральным эпителиальным клеткам, сперматозоидам, изменяя различные параметры эякулята: концентрацию, активность, подвижность и/или морфологию, влияя таким образом на уровень фертильности. Таким образом, количество заболеваний, ассоциированных с уреоплазменной инфекцией, продолжает демонстрировать уверенный рост, оказывая негативное влияние на мужскую фертильность.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ СУММАРНОЙ ФРАКЦИИ ЛИПОПЕПТИДОВ РАЗНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS*

Абубакирова А.М., Лутфуллина Г.Ф.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Бактерии рода *Bacillus* являются продуцентами широкого спектра биологически активных соединений, в том числе антибиотиков, метаболитов с поверхностно-активными свойствами, ферментов. Известно, что антимикробная активность *Bacillus* обусловлена синтезом липопептидов группы сурфактина, итурина и фенгицина. Многие липопептиды обладают поверхностно-активными свойствами и являются биосурфактантами. Целью работы явилась получение и сравнительная характеристика антибактериальной активности суммарной фракции липопептидов *B.subtilis* GM5 и *B.intestinalis* GM2. Суммарные фракции липопептидов *B. subtilis* GM5 и *B. intestinalis* GM2 были выделены по методу кислотного осаждения из 1000 мл бесклеточной культуральной жидкости бактерий, выращенных на среде soybean medium nutrition. После осаждения фракции липопептидов высушивали на роторном испарителе и растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО). Антибактериальная активность была исследована в отношении грамположительных бактерий *Micrococcus luteus*. Для приготовления бактериальной суспензии *M.luteus* инкубировали в течение 20 час в среде LB. В контрольную и опытные пробирки со средой LB вносили инокулят *M.luteus* в конечной концентрации 10⁷ КОЕ/мл. В контроль (среда LB) добавляли 1% ДМСО, в опытные варианты – фракции липопептидов *B.intestinalis* GM2 или *B.subtilis* GM5 в концентрации 0.01 мг/мл. Установили, что фракция липопептидов *B.subtilis* GM5 в 4 раза эффективнее ингибирует рост *M.luteus* по сравнению с *B.intestinalis* GM2. Анализ динамики роста *M.luteus* показал, что в присутствии липопептидов рост тест-культуры ингибируется в экспоненциальной фазе роста и раннем стационаре, а в позднем стационаре ингибирующий эффект снижается. На 24ч фракция липопептидов *B.intestinalis* GM2 ингибировала рост *M.luteus* на 30.8%, на 36 час – на 18.7% относительно контроля, что свидетельствует об адаптации *M.luteus* к антимикробным липопептидам GM2. Фракция липопептидов *B.subtilis* GM5 ингибировала рост *M.luteus* на 79.4% на 24ч и 74.6% на 36ч роста. Установлена высокая антимикробная активность фракций бациллярных липопептидов в отношении грамположительных бактерий *M. luteus*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90130

СВЯЗЬ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ МОНО- И ДИКАТИОННЫХ ИМИДАЗОЛИЕВЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С ИХ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРОЙ

Амерханова С. К.¹, Волошина А.Д.¹, Кузнецова Д.А.¹, Тырышкина А.А.¹, Михайлов В.А.², Миргородская А.Б.¹, Захарова Л.Я.¹

¹Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова, Казань

²Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко, Донецк

Природа и заряд полярной головной группы, длина гидрофобного радикала в молекуле являются структурными составляющими поверхностно-активных веществ (ПАВ), которые способны определять их биологические свойства. Известно, что большинство дезинфицирующих средств обладают биоцидным действием против патогенных микроорганизмов. На сегодняшний день большой интерес вызывают моно- и дикатионные ПАВ, содержащие имидазолиевый фрагмент, проявляющие высокую антимикробную активность и низкую цитотоксичность в отношении здоровых клеток. В работе впервые были исследованы антимикробные, токсические свойства и механизмы действия новых имидазолиевых моно- и дикатионных ПАВ с варьируемой длиной гидрофобного радикала и спейсерного фрагмента. Соединения проявили высокую антимикробную активность на широком спектре бактериальных и грибных патогенов, включая метициллин-резистентные штаммы *Staphylococcus aureus*. Показано, что дикатионные ПАВ в 2–4 раза превышали действие известных антибиотиков и оказались эффективными против мультирезистентных штаммов. Они обладали высокой селективностью в отношении микроорганизмов. Соединения-лидеры относятся к категории веществ «умеренно токсичных» (III класс опасности по степени воздействия на организм) и не проявляют мутагенные свойства. Дикатионные ПАВ показали мембранотропный эффект в концентрациях, превосходящих их минимальные ингибирующие (МИК) и минимальные бактерицидные концентрации (МБК).

Таким образом, самыми активными оказались дикатионные ПАВ с децильным радикалом, которые обладали широким спектром антимикробной активности, проявили высокую селективность в отношении клеток микроорганизмов, не показали мутагенные свойства, оказались малотоксичными в экспериментах *in vitro* и умеренно токсичными *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 19-73-30012.

СИНЕРГИЗМ ПРОИЗВОДНЫХ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ 2(5*H*)-ФУРАНОНОВ И 3-ПИРРОЛИН-2-ОНОВ С АМИНОГЛИКОЗИДНЫМИ АНТИБИОТИКАМИ

Бабынин Э.В.¹, Глазкова Р.М.¹, Курбангалиева А.Р.²

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ

²Химический институт им. А.М.Бутлерова, КФУ, Казань

Борьба с распространением антибиотикоустойчивых штаммов бактерий требует не только создания новых лекарств, а также, что не менее важно, разработки альтернативных подходов и стратегий использования уже существующих антибиотиков. Таким подходом для увеличения срока службы существующих антибиотиков может быть их использование в сочетании друг с другом или с неантибиотическими препаратами, которые, например, ограничивают способность устойчивых бактерий разлагать или инактивировать сами антибиотики. Одним из перспективных соединений, которые могли бы усиливать действие известных антибиотиков, являются галогенированные фураноны. Было показано, что фураноны, ингибируя микробную коммуникацию, опосредованную аутоиндукторами AI-1, подавляют образование биопленок. Биопленки обеспечивают повышенную выживаемость микроорганизмов в условиях экспозиции антибиотиков, поэтому их разрушение повышают чувствительность бактерий к антибиотикам.

В этом исследовании нами был проведен скрининг 10 новых галогенированных 2(5*H*)-фуранонов и 3-пирролин-2-онов на возможность их синергического взаимодействия с антибиотиками, известного механизма действия: рифампицин, азитромицин, налидиксовая кислота, офлоксацин, хлорамфеникол, канамицин и мономицин. Выявление синергизма осуществляли с использованием условно-патогенного микроорганизма *Salmonella typhimurium*. Было установлено, что галогенированные фураноны и пирролиноны проявляют в тесте двойных дисков синергетическую активность с аминогликозидными антибиотиками (канамицин, мономицин). В методе шахматной доски, который использовался для четырех наиболее активных из протестированных антибактериальных соединений в сочетании с аминогликозидными антибиотиками (канамицин, мономицин), синергизм, однако, не подтвердился. Выдвинуты гипотезы для объяснения несоответствия результатов, полученных разными методическими подходами. Использование фуранонов в комбинативной терапии требуют дальнейшего изучения, с целью установления механизма взаимодействия фуранонов и антибиотиков.

РАЗДЕЛЬНОЕ И СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ФАРМПОЛЛЮТАНТОВ НА РОДОКОККИ

Бажутин Г.А.^{1,2}, Ширяева Е.Н.¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

²Пермский государственный национальный исследовательский университет

Интенсивное развитие фармацевтики и появление на рынке новых лекарственных препаратов привело к появлению нового класса загрязнителей, так называемых экофармполлютантов. Сведения по микробной конверсии и механизмам запускаемых защитных реакций бактерий на присутствие фармполлютантов немногочисленны. В работе использован штамм *Rhodococcus cerastii* ИЭГМ 1278 из Региональной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegmcol.ru). В качестве фармполлютантов исследовали диклофенак натрия и ибупрофен – нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), наиболее часто детектируемые в окружающей среде. Бактерии выращивали в минеральной среде RS в присутствии 50 мг/л ибупрофена и/или 50 мг/л диклофенака. В качестве субстрата использовали 0,1% D-глюкозу. Морфометрические изменения клеток выявляли с помощью системы совмещенного конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ) FV1000 и атомно-силового микроскопа (АСМ) MFP-3D-BIO. Каталазную и супероксиддисмутазную активность, а также перекисное окисление липидов определяли спектрофотометрически. Липидные включения в клетках определяли методом флуоресцентной микроскопии с предварительным окрашиванием образцов Нильским красным. Присутствие НПВС в среде индуцировало окислительный стресс у бактериальных клеток, о чем свидетельствовали показатели каталазной и супероксиддисмутазной активности родококков. Наиболее значимые изменения активности антиоксидантных ферментов наблюдали в присутствии диклофенака и смеси ибупрофена с диклофенаком. Выраженное перекисное окисление липидов родококков в присутствии диклофенака или фармацевтической смеси коррелировало с пониженным содержанием внутриклеточных липидных включений. Использование АСМ/КЛСМ сканирования позволило выявить морфологические аномалии клеток *R. cerastii* ИЭГМ 1278 под воздействием НПВС, в том числе изменение шероховатости клеточной поверхности и соотношения площади поверхности клетки к ее объему.

Исследование выполнено в рамках госзадания АААА-А19-119112290008-4

АНТИБИОПЛЕНОЧНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОЙ СЕРИНОВОЙ ПРОТЕИНАЗЫ PARC ИЗ *ASPERGILLUS OCHRACEUS* ВКМ-F4104D

Байдамшина Д.Р.¹, Рафия Наср А.¹, Комаревцев С.К.²;

Осмоловский А.А.³, Каюмов А.Р.¹

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж

³Биологический факультет Московского государственного университета им.
М.В.Ломоносова, Москва

Биопленки – сложные микробные сообщества, прикрепленные к поверхностям и окруженные матрицей внеклеточных полимерных веществ (EPS). Образование биопленок считается одним из факторов, определяющих патогенность и устойчивость бактерий к противомикробным препаратам за счет уменьшения проникновения антибиотиков. В наше время идет поиск различных способов борьбы с бактериальными биопленками, например, ферментативный гидролиз биопленок может облегчить проникновение противомикробных препаратов в клетки и повысить эффективность лечения.

PARC является фибринолитической протеазой-активатором протеина С плазмы крови, образуемой микромицетом *Aspergillus ochraceus* ВКМ-F4104D. Рекомбинантная форма фермента была получена в *E. coli* BL21 (DE3), очищена на Ni-NTA-агарозе и предоставлена для работы.

Обработка 48-часовых биопленок, образованных клетками *S. aureus* протеазой PARC (100 мкг/мл) снижает биомассу наполовину как при окрашивании кристаллическим фиолетовым, так и при окрашивании конго-красным. Комбинация PARC с ванкомицином и амоксициллином увеличивала эффективность последнего в 10 раз, что оценивали с помощью МТТ-анализа, окрашивания резазурином и количеству КОЕ. Анализ Live/dead BacLight при комбинировании PARC с антибиотиками также подтвердили предыдущие результаты.

Сериновая протеаза PARC является многообещающим агентом для комбинированной антибиотико-ферментативной терапии для наружного лечения инфекций, связанных с биопленкой, образованной клетками *S. aureus*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ-20-16-00085 (получение белка) и РФФИ-20-04-00247 (исследование биопленок).

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАЛЛСВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИТОВ *NOCARDIA MANGYAENSIS* H1

Беркутова Е.С., Хиляс И.В.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

В настоящее время загрязнение окружающей среды тяжёлыми металлами представляет серьёзную проблему. Аккумуляция тяжелых металлов и их солей в почве, подземных и поверхностных водах приводит к нарушениям жизнедеятельности организмов. Уникальным свойством микроорганизмов является способность продуцировать низкомолекулярные метаболиты (сидерофоры) для получения железа из окружающей среды для роста и размножения. Наряду с высокой аффинностью к железу III сидерофоры способны связывать другие металлы. Целью работы явилось изучение взаимодействия метаболитов сидерофор-продуцирующего штамма *N. mangyaensis* H1 с тяжёлыми металлами. Для получения метаболитов штамм H1 культивировали 72ч на жидкой минимальной среде с глюкозой в качестве единственного источника углерода и энергии, экстрагировали с помощью сорбента и очищали методом ВЭЖХ. Исследование металлсвязывающей активности ВЭЖХ-очищенных фракций *N. mangyaensis* H1 проводили с использованием солей $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, AlCl_3 , $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$, ZnSO_4 , MnSO_4 , CuSO_4 , GaBr_3 . Результаты детектировали спектрофотометрически в диапазоне 230-700нм. Показано, что все фракции характеризуются появлением пика с максимум поглощения при длине волны 240–250нм в присутствии Fe^{3+} . У фракции со временем удерживания (ВУ) 9–10 мин появился дополнительный пик с максимум поглощения при 310нм в присутствии CuSO_4 и два дополнительных пика при 300 и 310нм в присутствии GaBr_3 . Фракция с ВУ 11мин показала пик с максимум поглощения при 280нм в присутствии GaBr_3 . Для фракции с ВУ 14мин было характерно появление пиков при 400нм в присутствии всех исследуемых металлов. Таким образом, было выявлено, что большинство метаболитов *N. mangyaensis* H1 обладают металлсвязывающей активностью в отношении Fe^{3+} , Cu^{2+} и Ga^{3+} . Наибольшим спектром взаимодействия с исследуемыми металлами обладает фракция с ВУ 14 мин. На основании полученных результатов был сделан вывод, что все исследуемые метаболиты *N. mangyaensis* H1, выделяемые в условиях дефицита железа в культуральную среду, являются сидерофорами.

Работа поддержана стипендией Президента РФ для аспирантов и молодых ученых

ИНКАПСУЛЯЦИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ПОЛИСАХАРИДНУЮ МАТРИЦУ

Богданова Л.Р., Макарова А.О., Макшакова О.Н., Зуев Ю.Ф.
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

Пероральный прием лекарственных средств является одним из самых простых и удобных способов введения медикаментов в организм человека. Однако кислая агрессивная среда желудка, а также воздействие пищеварительных ферментов в тонком кишечнике снижают биодоступность и эффективность ряда лекарств. В настоящее время активно разрабатываются системы адресной доставки, позволяющие защитить молекулы биологически-активных веществ от агрессивной внешней среды и запрограммировать их пролонгированное высвобождение. В качестве защитных контейнеров активно используются различные полимерные соединения. Полисахариды являются перспективными материалами за счет их низкой токсичности, биосовместимости и уникальных физико-химических свойств, меняющихся в зависимости от условий среды. В работе предпринята попытка создания системы доставки биназы – фермента микробного происхождения, обладающего противоопухолевой активностью. В качестве контейнера был выбран растительный полисахарид рамногалактуронан-1, который устойчив к действию желудочного сока и пищеварительных ферментов человека и расщепляется только под действием микрофлоры толстого кишечника.

Были синтезированы микрокапсулы из рамногалактуронана-1 посредством реакции межфазной поликонденсации с толуилендиизоцианатом. В качестве реакционной среды выступила обращенная эмульсия вода в масле на основе диоктил сульфосукцината натрия (АОТ) и циклогексана. Наличие в системах этого типа водного ядра обеспечивает возможность солубилизации в них гидрофильных биологически-активных веществ, в нашей работе - биназы, меченной флуоресцентным красителем флуоресцеинизотиоцианатом. Размер полученных микрокапсул составляет от единиц до 20–30 микрон. Капсулы стабильны в течение месяца при хранении в буферном растворе в холодильнике. Оценка кинетики высвобождения фермента из капсул показала, что биназа, ввиду наличия в ее структуре гидрофобных аминокислот с активными функциональными группами, ковалентно вшита в структуру капсулы, не диффундирует из капсулы и будет высвобождаться только в результате расщепления рамногалактуронана.

КОРОНАРНЫЙ ПОТОК СЕРДЦА КРЫС В РУБЦОВОМ ЭТАПЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Бугров Р.К., Купцова А.М., Шакиров Р.Р., Зефиоров Т.Л.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Инфаркт миокарда (ИМ) – одно из самых распространенных заболеваний в мире, ежегодно уносящий жизни тысяч людей. Острая ишемия вызывает некроз части функциональных мышечных клеток и их замещение волокнами соединительной ткани. Заболевание резко осложняется при присоединении различных инфекций. Изучение кровоснабжения сердца в постинфарктном периоде ИМ в подобных условиях является актуальной проблемой. Цель работы – изучить коронарный поток (КП) сердца крыс на рубцовом этапе экспериментального инфаркта миокарда. Исследование выполнено на белых беспородных крысах, разделенных на 3 группы: 1 группа – контрольная – интактные животные, (n=14); 2 группа – животные, находящиеся в подострый период ИМ (54 день после моделирования инфаркта миокарда), (n=7); 3- группа – животные, находящиеся в постинфарктный (хронический) период рубцового этапа ИМ (120 день после моделирования инфаркта миокарда) (n=7). Формирование модели ИМ проводили наложением лигатуры на переднюю ветвь левой коронарной артерии. КП изучали на изолированном по Лангендорфу сердце на установке Power Lab 8/35 (ADInstruments, Австралия). Значения КП изолированного сердца интактных животных составили 6.8 ± 2.7 мл/мин. У крыс через 54 дня после моделирования ИМ КП изолированного сердца составил 8.9 ± 4.8 мл/мин, через 120 дней – 10.8 ± 4.6 мл/мин. Достоверные различия увеличения КП изолированного сердца в сравниваемых группах обнаружены между интактными животными и группой крыс через 120 дней после моделирования ИМ ($p < 0.05$). В группе животных через 54 дня после моделирования ИМ КП изолированного сердца имел тенденцию к увеличению. В клиническом течении ИМ через 8 недель начинаются процессы организации рубца, развитие грануляционной ткани на месте некротической. В постинфарктный период созревает рубец, миокард адаптируется к новым условиям функционирования. Анализ КП изолированного сердца крыс на 54 и 120 день после экспериментального ИМ и здоровых животных выявил, что КП повышался к 54 дню по сравнению с контрольной группой и продолжали расти к 120 дню после моделирования ИМ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-15-00121

ВЛИЯНИЕ МЫШЕЧНЫХ НАГРУЗОК НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ СЕРДЦА СПОРТСМЕНОВ С ОВЗ В ТЕЧЕНИЕ ГОДА

Вахитов Л.И., Фасхутдинов Л.И., Мосолов Л.Т., Зефирова Т.Л.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Практический опыт работы отечественных и зарубежных специалистов показывает, что наиболее действенным методом реабилитации инвалидов является систематические занятия физической культурой и спортом. Из немногочисленных исследований, характеризующих паралимпийцев с поражениями опорно-двигательного аппарата (ОДА), лишь единицы посвящены баскетболу на колясках и направлены лишь на совершенствование тренировочного процесса. Спортсмены с ограниченными возможностями здоровья часто подвержены различным инфекционным заболеваниям, как вирусной, так невирусной этиологии, особо опасным в соревновательный период. Лица с различными поражениями ОДА имеют отличающиеся морфофункциональные и психофизиологические показатели, которые недостаточно исследованы. Изучена реакция насосной функции сердца (НФС) спортсменов–инвалидов на стандартизированную мышечную нагрузку (МН) и особенности ее восстановления. Анализ показателей НФС проводился в два этапа: в покое и после МН. Выявлено, что в течение годового цикла мышечных тренировок, значения НФС у баскетболистов–колясочников изменяются «скачкообразно». Наиболее высокие значения НФС, зарегистрированные в подготовительном периоде, сменяются их снижением к соревновательному периоду. Установлено, что реакция НФС на выполнение МН и время ее восстановления зависит от уровня тренированности. Наибольшая реакция показателей НФС на МН отмечается в подготовительном периоде. По мере повышения уровня тренированности реакция НФС на выполнение МН снижается, и время восстановления существенно сокращается. К переходному периоду вновь наблюдается увеличение этих параметров. Следовательно, чем выше уровень тренированности у баскетболистов - колясочников, тем меньше реакция НФС и короче время восстановления. Наиболее низкая реакция НФС на выполнение МН и одновременно быстрое восстановление НФС после завершения нагрузки наблюдается в соревновательном периоде. Наибольшая реакция НФС на выполнение МН и более длительное восстановление наблюдается в подготовительном периоде.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-15-00121,

ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ РАЗНЫХ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЕ И МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКЕ ПОСЛЕ ВЫСУШИВАНИЯ ПРИ РАЗНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Гаврилова Е.А., Анисимова Е.А., Каюмов А.Р.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Бактерии рода *Lactobacillus* широко распространены в микрофлоре кишечника многих организмов. Данные микроорганизмы обладают способностью подавлять рост других бактерий, в том числе и патогенных, за счет продукции органических кислот, перекиси водорода и бактериоцинов – антибиотиков пептидной природы. Нами были выделены из силоса более 200 штаммов молочнокислых бактерий, из которых 6 проявляли высокую степень антагонизма с бактериями в жидкой среде. Все бактерии были идентифицированы как *Lactiplantibacillus plantarum* (AG1, 9, 10 и 15) и *Lactobacillus fermentum* (AG 8 и 16) на основе последовательности гена 16SpPHK. Одним из вариантов решения проблемы утилизации спиртовой барды (СБ) является производство на основе высушенной СБ кормовой смеси для животных. Перспективно также производство пищевых добавок с пробиотиками, в частности, бактериями рода *Lactobacillus*. Целью работы было оценить антагонистическую активность лактобацилл, выращенных в СБ и молочной сыворотке (МС) и подвергнутых температурному воздействию.

Для оценки жизнеспособности лактобацилл ночную культуру добавляли в СБ или молочную сыворотку. Далее 1.5 мл среды центрифугировали, сливали надосадочную жидкость и осадок сушили при 50, 55, 60 или 65°C. Снижение жизнеспособности всех штаммов при повышении температуры в СБ шло постепенно. В МС с возрастанием температуры отмечали резкое снижение жизнеспособности вплоть до полного подавления. Скрининг антагонистически активных лактобацилл против *E.coli* показал, что лактобациллы, выращенные в МС, сохраняют антагонистические свойства при более высоких температурах, чем выращенные в СБ. Штаммы, выращенные в СБ, с увеличением температуры теряют антагонистические свойства, полностью утрачивая их при температуре 60°C. Наиболее жизнестойкими оказались штаммы *L.plantarum* AG9 и *L.plantarum* AG10, выращенные в молочной сыворотке, – они сохраняли свою антагонистическую активность при температуре 65°C. Таким образом, новые штаммы лактобацилл представляет интерес для их использования в сельскохозяйственной промышленности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 20-016-00025 А.

ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВА ЛИЗОЦИМА В СЛЮНЕ У ПАЦИЕНТОВ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Ганеева Л.А, Нургалиева А.К., Хашимова Л.Х.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Смешанная слюна содержит защитные компоненты, к которым относят гистатины, кателицидины, иммуноглобулины, кальпротектины и лизоцим, отвечающие за первичную иммунную реакцию. Определение лизоцима в слюне имеет большое значение для оценки неспецифической резистентности организма и первичного иммунодефицита. Показано не только бактерицидное действие лизоцима, но и вовлеченность данного фермента в иммунологические реакции, в частности стимуляции со стороны белкового комплекса комплемента. В работе был использован метод электрофореза в денатурирующих условиях для оценки количества лизоцима в слюне.

Для исследования были отобраны образцы слюны у 20 пациентов. Образцы слюны очищали и определяли в них концентрацию белка с помощью калориметрического метода с бицинониновой кислотой. Для электрофореза в денатурирующих условиях образцы смешивали с загрузочным буфером и денатурировали при 95° С в течение 5 минут. В качестве контроля наносили очищенный лизоцим. Подготовленные образцы наносили в количестве 10 мкг на лунку 15% полиакриламидного геля и проводили электрофорез при напряжении 120В в течение 120 минут. Для окрашивания геля использовали краситель кумасси G250. Визуализацию геля проводили с использованием системы ChemiDoc™ XRS + (Bio-Rad, США).

Материал для исследования собирался у пациентов, не имевших явных общих признаков инфицирования, а также признаков воспаления в полости рта.

По полученным электрофореграммам был произведен расчет количества лизоцима для каждого образца. Были выявлены различия в количественном составе лизоцима среди пациентов.

Определение лизоцима в сыворотке крови, в моче, в слюне является индикативным маркером для множественных патологических состояний, а также позволяет определить степень развития первичного иммунодефицита. Предложенный метод электрофореза для определения количества лизоцима в слюне является емким и точным для поставленной задачи.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского Федерального Университета.

ОТ ГЕНОМИКИ К МЕТАГЕНОМИКЕ ПРИРОДНЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

Гоголев Ю.В.

Лаборатория молекулярной биологии КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Геномные проекты, стартовавшие в конце прошлого тысячелетия, послужили источником обширной коллекции индивидуальных геномных данных, изучение которых резко продвинуло научный мир в понимании многих вопросов таксономии, функционирования и эволюции организмов. В современных базах данных представлены тысячи геномов микроорганизмов разных таксонов, выделенных из различных источников. Вместе с тем стало ясно, что культивируемые микроорганизмы составляют малую долю микробного биоразнообразия. Во многом, это послужило стимулом развития метагеномики, которая не полагается на необходимость выделять отдельные бактериальные клоны из сложных микробных смесей, а каталогизирует микроорганизмы путем секвенирования всех генов и геномов смешанного сообщества одновременно. Применение данного подхода открыло доступ к скрытым геномным ресурсам, масштабы которых еще предстоит оценить. Были открыты новые организмы и целые таксоны, что привело к необходимости пересмотра всей таксономии и эволюции как про- так и эукариотических ветвей эволюционного древа. Разработаны новые инструменты для мониторинга и изучения патогенных инфекций растений и животных, проведена переоценка значимости внутриклеточного симбиоза, расширены возможности биотехнологии. С помощью метагеномики уже найдены сотни новых биокатализаторов – целлюлаз, липаз, протеиназ, которые находят применение в различных областях. Производство биосурфактантов, антибиотиков, деградация опасных поллютантов получили развитие благодаря новым источникам информации о сложных природных сообществах. В этой связи, изучение малоисследованных, труднодоступных и экстремальных эпитопов приобретает особое значение не только с точки зрения экологии и эволюционно-таксономических исследований, но и в практических областях, связанных с фармакологией и другими отраслями промышленного производства. Применение метагеномики и метатранскриптомики для исследования растительно-микробных и протисто-бактериальных патосистем, азотфиксирующих симбиозов, олиготрофных пещерных сообществ, организмов и сообществ экстремальных мест обитания является весьма перспективным.

ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА НА УСТОЙЧИВОСТЬ АКТИНОБАКТЕРИЙ *RHODOCOCCLUS RUBER* К ХЛОРИДУ РТУТИ

Голышева А.А.¹, Литвиненко Л.В.²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

Антропогенное воздействие на окружающую среду привело к стремительному накоплению техногенных отходов, содержащих ртуть. Восстановление территорий, загрязненных ртутью, является сложной задачей с длительным сроком восстановления. Перспективной группой микроорганизмов для биотехнологических способов очистки являются актинобактерии рода *Rhodococcus*. Технологические преимущества их использования – это полифункциональность родококков, то есть способность трансформировать органические соединения практически всех известных классов, экологическая пластичность, отсутствие патогенных свойств, немикелиальный характер роста, а также устойчивость к широкому спектру ионов тяжелых металлов. Цель исследования – изучение устойчивости коллекционных штаммов родококков к ионам ртути в зависимости от источника углерода и энергии. Объектом исследования служили 66 штаммов *R. ruber*, поддерживаемые в Региональной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegmc.ru). В работе использовали хлорид ртути в концентрации от 0,08 до 80,00 мМ. Бактерии выращивали в МПБ и в жидкой минеральной среде (МС) (г/л): K_2HPO_4 – 1,0; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002. В качестве источника углерода использовали *n*-гексадекан (3,0 об.%), в качестве контроля – питательные среды без внесения ртути. Резистентность клеток к ртути оценивали по показателю минимальной ингибирующей концентрации, определенного микролуночным методом. Плазмиды выявляли горизонтальным гель-электрофорезом. Для анализа гелей, окрашенных GelRed, использовали гель-документирующую систему с контрольным маркером ДНК, состоящим из 10 фрагментов в (от 100 до 1000 п.н.). Все штаммы проявляли способность к росту в присутствии HgCl_2 , устойчивость к ртути варьировала от 0,08 до 1,25 мМ. Обнаружено увеличение (до 8 раз) степени устойчивости родококков к ионам Hg^{2+} при росте бактерий в МПБ, по сравнению с выращенными в МС. У исследованных штаммов плазмиды не обнаружены.

Исследование выполнено в рамках госзадания АААА-А19-119112290008-4.

МОНИТОРИНГ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ *HELICOBACTER PYLORI* ПО РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Гуляев П.Е.¹, Поздеев О.К.²

¹Казанский государственный медицинский университет Минздрава России

²Казанская государственная медицинская академия филиал Минздрава России

Helicobacter pylori один из наиболее распространенных микроорганизмов-комменсалов организма человека, колонизирующим, до 60% жителей всех континентов. В ходе эволюции взаимоотношений с организмом-хозяином, и, очевидно, под воздействием пресса антибиотикотерапии, некоторые штаммы *H. pylori* приобрели вирулентные свойства и с их присутствием связывают развитие атрофического гастрита типа В, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки, а также случаев MALT-лимфом желудка низкой степени злокачественности. *H. pylori* в составе своего генома несет гены *cagA*, *vacA*, *babA* и *iceA*, которые соотносят с повышенной вирулентностью микроорганизма. Исследования гастроэнтерологов в последние годы затрагивают изучение взаимосвязи генотипов *H. pylori* с степенью тяжести протекания гастродуоденальных заболеваний. Для молекулярно-генетического анализа использовали биоптаты слизистой оболочки желудка, полученные при фиброэзофагогастродуоденоскопии пациентов. Экстракция ДНК из биоптатов желудка проводили с применением набора «ДНК-сорб Б», (ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ). Генотипирование выделенных штаммов *H. pylori* на наличие генов *cagA*, *vacA* (субтипы s1, s2, m1 и m2), *babA*, *iceA* (субтипы A1 и A2) проводили с применением набора реагентов НПФ «Литех» (Москва). Детекцию результатов ПЦР-анализа осуществляли методом горизонтального электрофореза в 2,5% агарозном геле в буфере TBE (pH 8,0), содержащем этидий бромид с последующей визуализацией результатов в ультрафиолетовом трансиллюминаторе ($\lambda=310$ нм). Проведенные нами исследования с 2013 по 2019 гг. показали, что в Республике Татарстан у пациентов с хроническим гастритом и язвенной болезнью желудка преобладают изоляты *H. pylori*, относящиеся к генотипу *vacA* 41,7 %. Незначительные различия по распределению показали генотипы *iceA* и *cagA*, 17,6 % и 14,7 % соответственно. Наименее редко выявляемый генотип *babA* был выделен у 3,1 % больных. При сопоставлении полученных данных обнаружилось, что у 23,5 % больных идентифицировали комбинированные генотипы *H. pylori*, т.е. было выделено одновременно несколько генов.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМ СИНДРОМОМ

Жаранкова Ю.С.¹, Скибо Ю.В.², Гурьянова И.Е.¹, Полякова Е.А.¹,
Абрамова З.И.², Белевцев М.В.¹

¹Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Республика Беларусь

²Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Иммунная система организма защищает его от патогенов и контролирует уничтожение дефектных клеток. Первичные иммунодефицитные состояния – гетерогенная группа редких, преимущественно наследственных заболеваний, характеризующихся нарушением работы одного или нескольких компонентов иммунной системы. Одним из них является аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (АЛПС), в основе которого лежат мутации генов, приводящие к дефектам апоптоза. В исследование, проведенное на базе РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии были включены 8 пациентов. Диагноз «АЛПС» ставили на основании диагностических критериев, разработанных ESID (European Society for Immunodeficiencies). Оценивали стандартные гематологические показатели. Оценку популяций лимфоцитов, включая двойных негативных Т-клеток (ДНТ, CD3⁺CD4⁻CD8⁻), проводили с помощью методов стандартной проточной цитометрии. Диагноз АЛПС установлен у 8 пациентов из 5 семей в период с 2009 по 2014гг. Медиана возраста манифестации составила 3 года. У 3 пациентов диагноз был выставлен после 30 лет. Лимфаденопатия и спленомегалия являлись ведущими клиническими проявлениями у всех пациентов. Иммунофенотип лимфоцитов выявил повышение активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA⁺DR⁺), а также НКТ⁺-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺). Повышенное содержание активированных Т-клеток может указывать на дефект в программе апоптоза, что характерно для АЛПС. Оценка ДНТ – один из важных диагностических критериев АЛПС, верхней границей нормы которого является их уровень менее 6 %. В проведенном исследовании этот показатель варьировал от 7,6 до 40 %. АЛПС – редкий синдром, в основе которого лежит ряд патологических механизмов, в том числе апоптоз лимфоцитов. Большинство из них имеют мутации в гене рецепторного белка Fas. У 1/3 пациентов мутации, ассоциированные с дефектами апоптоза, выявить не удастся. Интересно, что похожая на АЛПС клиническая картина с нарушением FAS-зависимого апоптотического пути может наблюдаться при других моногенных нарушениях иммунной системы.

АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *ALTERNARIA* К СИНТЕЗУ ЛЕКТИНОВ

Зинурова Е.Е., Ермакова А.М., Багаева Т.В.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Наиболее опасными заболеваниями растений и сельскохозяйственных культур являются заболевания, вызываемые несовершенными грибами. Наряду с фитофторозом и фузариозом, вызываемыми микромицетами родов *Phytophthora* и *Fusarium*, альтернариозы также представляют собой бич, как для зерновых, так и овощных культур. Для зерновых культур альтернариозы представляют особую опасность, так как резко сокращают сроки хранения зерна, снижают его биологическую ценность и посевные качества. Все сказанное говорит об острой необходимости расшифровки механизма взаимодействия фитопатогенов с растением и поиска фунгицидного препарата, отвечающего требованиям биологической и экологической безопасности.

Ранее в проводимых нами исследованиях было показано, что в первичном взаимодействии фитопатогенов с клетками растений принимают участие лектины микромицетов. Однако, несмотря на значительный интерес к лектинам микромицетов, способность к синтезу данных соединений для многих грибов, в том числе и рода *Alteraria*, не установлена.

В наших экспериментах было изучено 6 штаммов микромицетов рода *Alteraria*, включая музейные штаммы *Alteraria alternate* и *Alternaria solani*, а также изоляты микромицетов, выделенные из почвенных образцов и овощных культур. Результаты исследований показали, что микромицеты рода *Alternaria* способны к синтезу эндогенных и экзогенных лектинов. Наиболее высокий титр активности лектинов был установлен для штамма *A.alternate*. Активность лектинов, выделенных из мицелия грибов была на порядок выше, чем активность внеклеточных лектинов. Показано, что активность лектинов микромицетов рода *Alternaria* повышалась по мере использования буферной системы с низкими значений рН, что свидетельствует о более прочном взаимодействии данных соединений со структурами клеток мицелия.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

АГРЕГАТООБРАЗОВАНИЕ SDS-ДЕГРАДИРУЮЩЕГО ШТАММА *PSEUDOMONAS HELMATICENSIS* КАК КЛЮЧЕВОЙ МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ К ДЕТЕРГЕНТАМ

Зубков И.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт Пищевых добавок –
Филиал «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва

Додецилсульфат натрия (SDS) является одним из наиболее распространённых синтетических поверхностно-активных веществ. SDS оказывает токсическое действие на большое число микроорганизмов, в том числе на различные виды планктона. Сточные воды, содержащие SDS, зачастую не подвергаются должной очистке, что вредит биоразнообразию. Одним из способов дезактивации сточных вод, содержащих алкилсульфаты, является биодegradация с помощью бактерий, большая часть которых принадлежит роду *Pseudomonas*. Наиболее часто для разложения SDS в сточных водах используют штаммы *P.aeruginosa*, являющиеся патогенными. В качестве его замены можно использовать другие псевдомонады. Выделенный в нашем институте изолят *P.helmanticensis* обладает высокой устойчивостью к токсическим концентрациям додецилсульфата (5г/л и более) и способен метаболизировать SDS в модельной сточной воде с высокой эффективностью (остаточная концентрация не более 0,05г/л). Была поставлена задача определить ключевые механизмы устойчивости изучаемого изолята к додецилсульфату. Большая часть штаммов *P.aeruginosa* демонстрирует способность к росту в присутствии SDS благодаря способности образовывать клеточные агрегаты, окружённые полисахаридным матриксом. Помимо полисахаридов матрикс содержит белки и нуклеиновые кислоты, обеспечивающие адгезию клеток с матриксом и между собой. В случае *P.helmanticensis* было показано, что матрикс также состоит в основном из полисахаридов. Методом ВЭЖХ показано, что основным углеводом матрикса является манноза. Наличие ДНК в матриксе показано методом эпифлуоресцентной микроскопии с предварительным окрашиванием выращенной на SDS культуры клеток акридиновым оранжевым.

Таким образом, основной стратегией выживания *P.helmanticensis* в присутствии высоких концентраций SDS является образование агрегатов. Состав матрикса *P.helmanticensis* близок к составу матрикса *P.aeruginosa*. Выделенный непатогенный изолят может успешно использоваться для биодegradации SDS в сточных водах.

СТРУКТУРА, КОНФОРМАЦИОННАЯ ДИНАМИКА И МЕМБРАНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ. СПЕКТРОСКОПИЯ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Зуев Ю.Ф., Хайрутдинов Б.И., Ермакова Е.А.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

Антимикробные пептиды (АМП) – важные компоненты иммунных систем, одним из семейств которых являются небольшие катионные цистеиносодержащие пептиды млекопитающих, насекомых и растений. В данной работе комплекс спектроскопических методов (ЯМР, ИК, КД) и компьютерного моделирования (структурное моделирование, молекулярный докинг, крупно-зернистая молекулярная динамика (CGMD)) был применен для изучения структуры, конформационной динамики и мембранотропных свойств природного и синтетического АМП. В дополнение нами были протестирована биологическая активность изученных пептидов. Растительные дефензины известны своей антимикробной активностью, но их механизм действия не известен. Они могут взаимодействовать с мембранами, образуя в них поры и вызывая разрушение клеток. В качестве модельного аналога АМП на основе аминокислотной последовательности дефензина сосны PsDef1 был смоделирован катионный β -пептид и изучено его взаимодействие с многокомпонентными мембранами. Методом молекулярной динамики исследованы два механизма взаимодействия АМП с модельными многокомпонентными мембранами. Методом CGMD показано, что дефензин не образует пор в модельных мембранах. Его молекулы локализуются на поверхности мембран по принципу “ковровой” модели, образуя комплексы с мембранами, содержащими анионные липиды. Связывание дефензина приводит к изменению распределения липидов в мембране, их упорядоченности, и к изменению электростатического потенциала мембраны, что может служить причиной гибели клетки. Второй механизм взаимодействия АМП с мембранами, исследованный методом CGMD, заключается в образовании полутороидальных пор в мембранах. Пептиды, имеющие β -структуру, могут образовывать такие поры в мембранах. Поры не имеют центрального водного канала, а молекулы воды проникают через мембрану через узкие щели между пептидами или между пептидами и заряженными головными группами анионных липидов. Основную роль в образовании пор играют сильно заряженные анионные липиды. Показано, что олигомеризация пептидов является необходимым условием для образования и стабилизации пор.

БИОДЕГРАДАЦИЯ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НЕРАСТУЩИМИ КЛЕТКАМИ РОДОКОККОВ

Иванова К.М.^{1,2}, Гришко В.В.¹

¹Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь

²Пермский государственный национальный исследовательский университет

Дегидроабиетиновая кислота (ДАК) – токсичный (LD_{50} 0,5–6,3 мг/л) трициклический дитерпеноид, продуцируемый хвойными растениями семейства *Pinaceae*. В результате механического и химического воздействия на древесину при получении целлюлозы ДАК высвобождается и накапливается (до 1000 мг/л) в сточных водах целлюлозно-бумажной промышленности. Попадая в окружающую среду ДАК оказывает негативное воздействие на водную фауну. Биоаккумулируемая естественным образом ДАК обнаруживается в сточных водах, морской/речной воде, почве, а также в живых организмах. Перспективным является поиск эффективных способов нейтрализации ДАК, основанных на ферментативной активности микроорганизмов. Описаны разнообразные биодеструкторы ДАК (мицелиальные грибы, грамотрицательные бактерии), однако наибольшая эффективность процесса деградации зарегистрирована при концентрации ДАК не более 300 мг/л. Актуален поиск микроорганизмов, способных эффективно утилизировать ДАК в более высокой концентрации (до 1000 мг/л), сопоставимой с максимальным уровнем аккумуляции кислоты в окружающей среде. Ранее из Региональной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegmcsl.ru) был отобран штамм *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 107, способный полностью деградировать ДАК в течение 7 сут в условиях предварительного выращивания в присутствии *n*-гексадекана (0,1 об.%). В настоящем исследовании для оптимизации процесса использовали “нерастущие клетки” стационарной фазы роста, выращенные в МПБ, отмытые и перенесенные в буферный раствор. Оптимальной оказалась суспензия бактерий с плотностью OP_{600} 2,5 и pH 8,0, биodeградация 500 и 1000 мг/л ДАК протекала в течение 3 и 7 сут., соответственно. Обосновано, что нерастущие клетки *R. rhodochrous* ИЭГМ 107 могут быть использованы в качестве стабильного биокатализатора, активного при повторном (до 3 циклов) использовании, а также в течение длительного периода хранения (до 84 сут, 4°C).

Исследования выполнены в рамках госзаданий АААА-А20-120081990069-3, АААА-А19-119112290008-4, АААА-А19-119031890083-9 и АААА-А18-118030790037-7.

МЕТОДЫ ДОЛГОСРОЧНОГО СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И СТАБИЛИЗАЦИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ШТАММОВ *RHODOCOCCUS* SPP

Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Куюкина М.С., Криворучко А.В.,
Тюмина Е.А., Тарасова Е.В., Иванова К.М.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

Возможности использования микроорганизмов в разработках (R&D) ставят проблему долгосрочного сохранения лабораторных культур в жизнеспособном состоянии, свободном от загрязнения и без изменений в генотипических и фенотипических характеристиках. Актиномицеты рода *Rhodococcus* – сравнительно молодой объект биотехнологии, вопросы их долгосрочного хранения *ex situ* находятся на стадии накопления знаний и разработки индивидуальных режимов их консервирования. С учетом высокой научной и коммерческой ценности *Rhodococcus* задача по поддержанию жизнеспособных родококков состоит в необходимости индивидуального подбора эффективных условий длительного хранения для каждой конкретной биотехнологически ценной культуры. В результате многолетних исследований с учетом структурных и физиологических особенностей штаммов родококков из Региональной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmc.ru>) созданы эффективные протоколы щадящих режимов консервации-реактивации достигших стационарной фазы роста культур, включая подбор адекватных криопротекторов и условий культивирования коллекционных штаммов для обеспечения их долговременного хранения. На основе верификации полученных данных разработаны стандартные операционные процедуры (СОПы) по лиофилизации и низкотемпературному замораживанию (в морозильной камере при температуре менее минус 96°C) культур родококков с предварительно индуцированным алканотрофным обменом. Результаты контрольной проверки уровня жизнеспособности и аутентичности коллекционных культур подтвердили возможность восстановления жизнеспособности и подлинности поддерживаемых в коллекции штаммов после 25-летнего хранения в лиофилизованном состоянии, что свидетельствует о высоком потенциале репаративной и физиологической регенерации актиномицетов рода *Rhodococcus*.

Исследования выполнены в рамках госзаданий АААА-А19-119112290008-4 и АААА-А19-119112290010-7, а также Соглашения № 075-15-2021-1051.

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ *VACCINIUM CORYMBOSUM L.* ПУТЕМ АКТИВАЦИИ РАЗВИТИЯ МЕРИСТЕМ И ИНДУКЦИИ РИЗОГЕНЕЗА

Ионова Н.Э.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

В настоящее время технологии микроклонирования приобрели коммерческий характер и поставлены на поточную промышленную основу, а биоиндустрия посадочного растительного материала представлена широким спектром растений, в том числе голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum L.*). Цель работы состояла в подборе физико-химических условий для индукции роста адвентивных побегов и определении гормонального состава питательной среды для активации ризогенеза у микропобегов голубики высокорослой сорта *Northland*. Экспланты были высажены на три варианта среды *WPM* отличающиеся соотношением концентраций ауксинов (ИУК – 1 мг/л, 2 мг/л, 3 мг/л), цитокининов (кинетин – 3 мг/л, 2 мг/л, 0,5 мг/л) и гиббереллиновой кислоты (2 мг/л, 1 мг/л, 0,5 мг/л), соответственно. Через 14 дней культивирования наблюдали активацию роста побегов из почек, а в течение дальнейших 16–30 дней происходил рост адвентивных побегов из пазушных и апикальных почек. Процент пролиферации меристем на средах *WPM* составил 54,05%. Коэффициент размножения в трех вариантах пассажа был наивысшим при использовании среды *WPM 1* (1,1 шт/эксплант), а на средах *WPM 2* и *WPM 3* данный показатель был 0,5 и 0,8 шт/эксплант, соответственно. Оптимальным содержанием в среде фитогормонов является их соотношение в концентрациях: ИУК – 1 мг/л, гиббереллиновая кислота – 2 мг/л, кинетин – 3 мг/л. Для индукции корнеобразования микропобеги голубики высокорослой были также помещены на три варианта питательной среды с различной концентрацией ауксина (0,5 мг/л, 1 мг/л, 3 мг/л) и двукратно уменьшенным содержанием углеводов, микро и макросолей. Отмечено возникновение каллуса перед появлением корня на средах с концентрацией ИУК 1 и 3 мг/л. При этом процент эксплантов, регенерировавших каллус составил 43% и, в последствии, 28% эксплантов сформировали корни. При пассаже черенков на среду, содержащую минимальное количество ИУК (0,5 мг/л) не наблюдали активации ризогенеза. Таким образом, показана зависимость регенеративного потенциала эксплантов голубики высокорослой от фитогормонального состава питательного субстрата и установлены концентрации стимуляторов роста для инициации и прохождения двух этапов микроклонального размножения голубики сорта *Northland*.

СОДЕРЖАНИЕ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВОКСИДА АЗОТА (II) В КРОВИ МОРСКИХ СВИНОК ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВВЕДЕНИЕ ПРОТИБРУЦЕЛЛЕЗНЫХ ВАКЦИН

Каримова Р.Г.¹, Тухватуллина Л.А.²

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань

Бруцеллы являются факультативными внутриклеточными патогенами, вызывающими заболевание у большинства млекопитающих, в том числе и у человека. При попадании в организм бруцеллы подвергаются фагоцитозу нейтрофилами и макрофагами, который не обеспечивает лизис микроорганизмов. Напротив, через 48–72 ч отмечается повышение количества бактерий в фагоцитах. Несмотря на большое количество исследований бруцеллеза, остаются невыясненными механизмы длительного выживания бруцелл в организме без иммунного распознавания. Одним из механизмов, ограничивающих токсичность для иммунной системы при хронической инфекции, является индукция экспрессии аргиназы-1 через TLR/MyD88-зависимый путь в ответ на обнаружение бактерий. Известно, что внутриклеточная выживаемость бруцелл обеспечивается TXNIP (взаимодействующий с тиоредоксином белок) за счет снижения продукции NO. Мы провели сравнительную оценку содержания стабильных метаболитов оксида азота (II) в плазме крови морских свинок при вакцинации S- и R-формами противобруцеллезных вакцин. Исследования проводили на 15 и 60 день после иммунизации, контролем служили интактные морские свинки.

При введении вакцины штамма *B. abortus 19* (S-форма) содержание стабильных метаболитов NO в крови морских свинок не изменялось, тогда как при иммунизации *B. abortus 82-Rr* (R-форма) уровень нитрит- и нитрит-анионов повышался на 40,8 % ($p < 0,01$) на 15-й день после иммунизации, и на 61,4 % ($p < 0,01$) на 60-й день. Содержание стабильных метаболитов оксида азота (II) коррелировало с бактерицидной активностью сыворотки крови и фагоцитарной активностью нейтрофилов, характеризующих состояние неспецифической резистентности организма.

Таким образом, иммунизация S-формой противобруцеллезной вакцины (*B. abortus 19*), которая является высокоиммуногенной, не вызывает повышения уровня нитрат- и нитрит-анионов в сыворотке крови и блокирует механизмы неспецифической резистентности организма.

РАВНОВЕСНАЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА *ESCHERICHIA COLI* ПЕРМЕАЗЫ ЛАКТОЗЫ LAC_Y

Козлова А.С.¹, Власенкова Р.А.¹, Акберова Н.И.¹, Богданов М.В.^{1,2}

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

² Школа медицины МакГоверна, Хьюстон, США

Лактоз-пермеаза (Lac_Y) *Escherichia coli* один из наиболее широко изученных белков прокариот и принадлежит к новому семейству так называемых белков-перевёртышей, кувыркающихся (“flip-flopping”) в мембране, несмотря на достаточно высокую энергию, необходимую для преодоления гидрофобного барьера в мембране. Трансмембранный домен TMD7 с низкой гидрофобностью должен выходить из мембраны и работать как механический шарнир, позволяющий N-концевому пучку первых шести трансмембранных доменов (N6) переворачиваться по отношению к плоскости бислоя мембраны и C-концевому пучку из пяти TMD (C5). Для понимания, как TMD7 стабилизирует структуру Lac_Y, необходимо проанализировать, как ведет себя исходная структура пермеазы Lac_Y.

Начальные координаты структуры Lac_Y были взяты из базы данных PDB (2v8n). Структура Lac_Y была помещена в бислой размером 120Åx120Åx200Å из незаряженных липидов POPE (1-Palmitoyl-2-Oleoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanolamine). Подготовка системы была проведена с использованием Charmm-GUI и силового поля CHARMM36. Молекулярная динамика проводилась в программе NAMD с использованием явного растворителя (модель воды TIP3) в физиологических условиях (при нейтральном pH и концентрации NaCl 0.15M/L). Длина траектории равновесной молекулярной динамики составила 500 нс. Поведение структуры анализировалось на основе комплекса параметров. Для характеристики стабильности структуры Lac_Y в мембранном окружении использовали следующие параметры полной структуры: количество и положение аминокислот в запрещенных зонах на карте Рамачадрана (применяли пакет R bio3d); площадь, доступная для растворителя (SASA), среднеквадратичное отклонение координат атомов (RMSD), полная энергия структуры лактоз-пермеазы, полученные при помощи VMD. Кроме того, анализировали изменения параметров аминокислот в белке, таких как: вторичная структура (использовали DSSP), среднеквадратичная флуктуация (RMSF), доступность аминокислот Lac_Y для воды. Анализ аминокислотных взаимодействий в структуре Lac_Y проводили при помощи ring2.

Для комплекса полученных параметров проводили анализ главных компонент (РСА) и иерархическую кластеризацию (использовали евклидово расстояние, метод Варда).

Вторичная структура LacY была стабильна на протяжении всей траектории молекулярной динамики. Медиана количества аминокислот в запрещенных зонах была равна 1. На основе анализа SASA и RMSD были обнаружены 2 конформации структуры LacY, одна из которых обладает большей площадью, доступной для растворителя, и низкой энергией, а другая - с меньшей площадью, доступной для растворителя, и высокой полной энергией.

Анализ взаимодействий аминокислот показал важность TMD7 для структуры LacY, так как TMD7 взаимодействует со множеством трансмембранных доменов, как в N6 – TM2, так и в C5 – TM8, TM9, TM10, TM11, TM12. Полученные результаты показывают, что трансмембранный домен TM7 может влиять на окончательную сборку мембранного белка LacY.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета

ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ GltC В КЛЕТКАХ *LENTILACTOBACILLUS HILGARDII*

Короскина К.П., Журавлева Д.Э., Каюмов А.Р.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Азот является одним из важнейших макроэлементов. Микроорганизмы способны ассимилировать различные азотсодержащие соединения, но предпочтительными источниками являются те, которые не требуют энергетических затрат – ионы аммония и глутамин. Бактерии способны ассимилировать ионы аммония двумя путями: с помощью глутаматдегидрогеназы (GDH путь) и с помощью пары ферментов глутаминсинтетаза/глутаматсинтаза (GS/GOGAT путь). В биосинтетическом GDH пути происходит восстановительное аминирование 2-оксоглутарата в глутамат. В GS/GOGAT пути фермент глутаматсинтаза образует из глутамин и 2-оксоглутарата две молекулы глутамата, который является основным донором восстановленного азота в биосинтетических реакциях. GDH путь активен при высоких концентрациях аммония в отличие от GS/GOGAT.

В клетках *Bacillus subtilis* ключевую роль в регуляции активности фермента глутаматсинтазы играет фактор транскрипции GltC, принадлежащий к семейству белков LysR. Белки семейства LysR широко распространены в прокариотическом царстве, осуществляют регуляцию разнообразного набора генов. Активность этого фактора транскрипции регулируется молекулами эффекторами: α -кетоглутаратом (позитивный эффектор, коактиватор) и глутаматом (негативный эффектор, усиливает репрессирующую активность), а также прямым взаимодействием с глутаматдегидрогеназой RocG, который ингибирует активность GltC.

В геноме *Lentilactobacillus hilgardii* был идентифицирован ген фактора транскрипции GltC (*gltC*), имеющий высокую степень идентичности с генами бактериальных белков GltC. Также проведенное выравнивание аминокислотной последовательности фактора транскрипции GltC *L. hilgardii* выявило высокую степень гомологии с белками GltC других бактерий. На основании этих данных было сделано заключение, что данный белок является фактором транскрипции, по всей вероятности, участвующим в регуляции генов азотного метаболизма.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – докторов наук (№ МД-572.2020.4).

РОЛЬ ДИСУЛЬФИДНЫХ СВЯЗЕЙ В РАСПОЗНАВАНИИ БОЛЬШОГО ВНЕКЛЕТОЧНОГО ДОМЕНА НАТРИЙ-ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NaPi2b МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ

Коротаева А.В., Булатова Л.Ф., Киямова Р.Г.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Поиск мишеней для разработки противоопухолевых препаратов является актуальной задачей. Натрий-зависимый фосфатный транспортер NaPi2b - одна из таких мишеней в силу мембранной локализации и суперэкспрессии в клетках карциномы яичника и легкого. Транспортер NaPi2b – гликопротеин, состоящий из нескольких трансмембранных доменов, в том числе большого внеклеточного домена (ВКД, Loop). В районе ВКД расположен эпитоп MX35 для антител MX35 и L2(20/3), а также терапевтических антител ХМТ-1536 и ХМТ-1592, несколько сайтов N-гликозилирования и 4 цистеина, которые, предположительно, образуют между собой дисульфидные связи. Нами выдвинута гипотеза, что при восстановлении дисульфидных связей, углеводные остатки закрывают эпитоп MX35, что делает его спрятанным (hidden) для моноклональных антител в клетках эукариот. Чтобы проверить это предположение, необходимо изучить распознавание эпитопа моноклональными антителами в клетках эукариот и бактерий при добавлении восстанавливающих агентов типа ДТТ. В ходе работы компетентные клетки *E.coli* штамма BL21 (DE3) были трансформированы вектором pGEX-4T-1 с клонированным участком гена, кодирующим ВКД NaPi2b (pGEX-4T-1/Loop). Были получены лизаты бактериальных клеток *E.coli* BL21 (DE3) с рекомбинантным ВКД транспортера NaPi2b и лизаты клеток линии рака яичника OVCAR-4 эндогенно экспрессирующие NaPi2b. Сравнительный вестерн-блот анализ распознавания “hidden” эпитопа MX35 моноклональными антителами L2(20/3) в присутствии ДТТ и без него в лизатах бактериальных и опухолевых клеток показал, что при добавлении ДТТ сигнал в Вестерн-блоте не регистрируется только в клетках эукариот. Полученные данные подтвердили вклад посттрансляционных модификаций мембранных белков, а именно гликозилирования, в распознавание “hidden” эпитопов моноклональными антителами в опухолевых клетках, что важно учитывать при разработке терапевтических препаратов против злокачественных новообразований.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

**БИОФИЗИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДГЕЗИИ
УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ АКТИНОМИЦЕТОВ
РОДА *RHODOCOCCLUS***

Криворучко А.В.^{1,2}, Изюмова А.Ю.¹, Плехов О.А.¹, Куюкина М.С.^{1,2},
Наймарк О.Б.¹, Ившина И.Б.^{1,2}

¹Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН

²Пермский государственный национальный исследовательский университет

Цель настоящей работы – исследование биофизических механизмов адгезии углеводородокисляющих родококков для разработки стабильных биокаталитических систем на основе прикрепленных клеток *Rhodococcus*. В работе использовали 84 штамма родококков из Региональной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegmcol.ru). В качестве подложек использовали минеральные и органические материалы, а также твердые углеводороды (*n*-алканы C₂₂–C₃₁ и полициклические ароматические углеводороды). Адгезивную активность родококков оценивали при 600нм или 570нм после окрашивания кристаллическим фиолетовым. Морфологические, ультраструктурные, наномеханические и вязкоупругие свойства клеток исследовали с использованием атомно-силового микроскопа MFP-3D-BIO. Рельеф подложек изучали с помощью профилометра-интерферометра высокого разрешения New View 5000. Степень гидрофобности клеток и подложек определяли методами MATH (Microbial Adhesion to Hydrocarbons (Microbial Adhesion to Solvents) и SAT (Salt Aggregation Test), а также по показателям степени адсорбции *n*-гексадекана и водопоглощающей способности. Дзета-потенциал клеток измеряли с помощью анализатора ZetaSizer Nano ZS. Для определения теплового эффекта и динамики адгезии родококков использовали высокочувствительную инфракрасную камеру FLIR[®] SC5000 и платиновые термометры сопротивления PR100. Количество прикрепленных родококков прямо пропорционально ($R=0,93$, $p=0,00$) степени шероховатости клеточной поверхности и поверхности подложки. На поверхности клеток *Rhodococcus* spp. обнаружены специфические придаточные структуры, обладающие повышенной силой адгезии ($>0,6$ нН) и модулем упругости ($>6,0$ МПа) и являющиеся местом локализации адгезинов. Характерной особенностью адгезии родококков является высокий ($Q_{\text{общ}}=0,20-0,53$ Дж) экзотермический эффект, свидетельствующий о прочном необратимом прикреплении клеток.

Исследования выполнены в рамках госзаданий АААА-А19-119112290008-4, АААА-А19-119112290010-7 и АААА-А19-119031890083-9.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИЗОСТАФИНА В СОЧЕТАНИИ С ХИТОЗАНОВЫМИ ПОЛИКАТИОНАМИ

Куликов С.Н.¹, Бруслик Н.Л.¹, Тюрин Ю.А.^{1,2}, Хайруллин Р.З.¹

¹Казанский НИИ Эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,
²Казанский государственный медицинский университет Минздрава России

Борьба с инфекционными заболеваниями, вызываемыми бактериями рода *Staphylococcus*, и, в частности, золотистым стафилококком – *Staphylococcus aureus*, является одной из наиболее актуальных проблем медицины на протяжении длительного времени. Поэтому поиск новых средств, альтернативных антибиотикам, а также разработка новых подходов в борьбе со стафилококковыми инфекциями представляется важной задачей. В рамках нашей работы была поставлена задача разработки антибактериальной композиции, включающей в свой состав лизостафин как основной антибактериальный компонент и хитозан как вспомогательное вещество, способствующий усилению антибактериальной активности лизирующего фермента в отношении золотистого стафилококка. Показано, что композиция лизостафина с высокомолекулярным хитозаном за 4 часа снижает количество клеток *S. aureus* с 10^8 в 1 мл до 10^3 в 1 мл, а композиция лизостафина с низкомолекулярным хитозаном за то же время снижает количество клеток *S. aureus* до 10^2 в 1 мл. При использовании только лизостафина достигается уменьшение количества клеток до 10^4 в 1 мл. Хитозан за счёт своих поликатионных свойств активно взаимодействует с полианионными компонентами клеточных стенок *S. aureus* – тейхоевыми кислотами, приводя к уменьшению связывания ими положительно заряженного лизостафина и его большей вовлечённости в процесс лизиса клеток. Также, хитозан, связываясь с полианионными компонентами клеточных стенок *S. aureus*, способствует высвобождению из комплекса с тейхоевыми кислотами бактериальных автолизиннов, которые вызывают автолиз собственных клеток. Хитозан подготавливает клетку-мишень, делая ее более восприимчивой к лизостафину, а значит, к более низким концентрациям лизостафина. При этом концентрация используемого вспомогательного вещества – хитозана требуется на порядок более низкой, чем самого лизостафина. На разрушение бактериальных клеток лизостафином влияет молекулярная масса хитозанового полимера. Это может быть связано с лучшей способностью низкомолекулярного хитозана проникать во внутренние структуры клеточной стенки бактерий и стимулировать дополнительные процессы их разрушения.

ВЛИЯНИЕ СТАДИИ РОСТА НА ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* В РИЗОСФЕРЕ И РИЗОПЛАНЕ КАРТОФЕЛЯ

Лутфуллин М.Т.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Микробные взаимодействия в ризосфере имеют решающее значение для здоровья и продуктивности растений. Среди ризобактерий, способствующих росту растений (PGPR), широко представлен род *Pseudomonas* (филум *Proteobacteria*, класс *Gammaproteobacteria*), способный защищать растения от патогенов посредством конкуренции за питательные вещества или вызывая индуцированную системную резистентность. Использовали образцы почвы и корней картофеля сорта Жуковский ранний, отобранные в фазе цветения и фазе старения растений. Разнообразие бактериальных сообществ почвы, ризосферы и ризопланы картофеля исследовано секвенированием библиотек генов 16S рРНК на платформе MiSeq. В составе ризосферы и ризопланы растений картофеля на долю представителей филы *Proteobacteria* в фазе цветения приходилось 45.09%±6.78% и 65.65%±11.02%, почвы 39.63±3.39%, в фазе старения 47.56%±2.97%, 57.01%±9.06% и 31.75%±4.77% соответственно. Показано, что филум *Proteobacteria* является доминирующей группой в микробном сообществе почвы, ризосферы и ризопланы в сравнении с филумами *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*. В почве и корневых компартментах фила *Proteobacteria* представлена двумя основными классами: *Alphaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria*. В ризоплане доминировали представители класса *Gammaproteobacteria*, чья доля достигала 56.31%±12.12% в фазе цветения и снижалась до 13.38%±4.19% в фазе старения. В ризосфере доля данного класса была вдвое ниже по сравнению с ризопланом и составляла 20.87%±7.33% в фазе цветения и 11.05% ±1.63% в фазе старения. В почве доля представителей класса *Gammaproteobacteria* была значительно ниже представленности этих бактерий в ризосфере и в ризоплане. Доля *Pseudomonas* была выше в ризоплане (13.89%±3.37%) по сравнению с ризосферой (4.29%±1.27%) в фазе цветения и ниже (в ризоплане 4.94%±1.11) в фазе старения по сравнению с ризосферой (6.50%±0.72%). Количество *Pseudomonas* в почве не превышало 0.04%. Таким образом, изменение количественного соотношения бактерий рода *Pseudomonas* в разных компартментах корней растений картофеля сорта Жуковский ранний зависит от периода вегетации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 20-316-90047.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОПЕПТИДОВ *BACILLUS* НА БАКТЕРИАЛЬНУЮ МИКРОБИОТУ СЛЕПОГО КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Лутфуллина Г.Ф.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Кишечные микробы играют ключевую роль в метаболизме цыплят-бройлеров. Метагеномный анализ микробиоты ЖКТ позволяет найти подходы для улучшения роста и продуктивности цыплят путем введения полезных бактериальных штаммов или их метаболитов. Было исследовано влияние суммарной фракции липопептидов *Bacillus subtilis* GM5 на формирование бактериальных сообществ в слепом кишечнике цыплят-бройлеров кросса Кобб 500. Из 60 суточных цыплят-бройлеров фермерского хозяйства «Лачен» были сформированы 2 группы: первая получала полнорационный комбикорм, вторая вдобавок к комбикорму суммарную фракцию липопептидов *Bacillus* в количестве 10-50 мг на 1 кг корма. Из каждой группы случайным образом были взяты по 3 цыпленка, у которых отобрано по 200 мг содержимого слепого кишечника для выделения геномной ДНК 18 образцов ДНК были секвенированы на платформе MiSeq. На 35 сутки в микробиотах слепой кишки были выявлены бактерии 27 классов. Класс *Bacteroidia* (ф. *Bacteroidetes*) был наиболее многочисленным в опытной группе (48.90% ±2.32%). Фила *Firmicutes* была представлена классами *Clostridia* (44.73%±4.05% в контрольной и 19.01%±1.71% в опытной группе (P<0.05)), *Negativicutes* (5.71%±3.63% и 10.21%±1.79% (P<0.05)), также не классифицированными бактериями (3.16%±0.99% и 1.99%±0.70% (P<0.05)). Известно, что представители фил *Firmicutes* и *Bacteroidetes* участвуют в метаболизме SCFA. Также представители *Firmicutes* синтезируют бутират и пропионат, а *Bacteroidetes* – пропионат, α-амилазу, α-1.2-маннозидазу и эндо-1.4-β-маннозидазу, расщепляют крахмал и другие полимерные вещества. В образцах опытной группы, получавшей суммарную фракцию липопептидов, *Proteobacteria* представлена классами *Betaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria* и *Deltaproteobacteria*, доля которых составляет 1.22%±0.38%, 1.83%±0.66%, 2.18%±0.98%. Фила *Synergistetes* представлена единственным классом *Synergistia*, доля которого составляет 2.07%±1.00% в опытной, и 0.24%±0.33% в контрольной группе (P < 0.05). Таким образом, было показано положительное влияние липопептидов на качественный состав бактериальной микробиоты слепого кишечника цыплят.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 20-34-90130.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ФОСФОНИЕВЫХ СОЛЕЙ, СЕЛЕКТИВНЫХ В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Любина А.П., Терехова Н.В., Волошина А.Д., Татаринов Д.М., Миронов В.Ф.
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН

Несмотря на широкий выбор различных антимикробных препаратов, инфекционные заболевания ежегодно уносят множество жизней. Причиной этому является способность микроорганизмов приобретать устойчивость к антибиотикам, которые в результате теряют свою эффективность. Особенно опасны внутрибольничные инфекции, возбудителями которых зачастую являются штаммы *Staphylococcus aureus* с множественной лекарственной резистентностью.

В данной работе было исследовано два ряда фосфониевых солей, обладающих селективностью в отношении грамположительных бактерий, в том числе метициллин-резистентных штаммов *S. aureus*. Соединения проявляли антимикробную активность в микромолярных концентрациях на уровне препарата сравнения норфлоксацина. Кроме того, они показали низкую цитотоксичность *in vitro* и не вызывали гемолиза в диапазоне активных концентраций.

Протестированные соединения вызывали увеличение проницаемости внешних покровов бактерий. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) клеток *S. aureus*, обработанных соединением-лидером одного из рядов, показала изменение структуры цитоплазматической мембраны, нарушение внутриклеточной морфологии, увеличение числа разрушенных клеток в популяции. Однако значительного разрушения клеточной стенки не было выявлено. Исследование протеомного профиля бактерий под воздействием фосфониевых солей показало изменение экспрессии белков, вовлеченных во множество внутриклеточных процессов, таких как гликолиз, метаболизм аминокислот, нуклеиновых кислот, жирных кислот, биосинтез кофакторов, гомологичная рекомбинация. Было показано, что взаимодействие исследуемых соединений с бактериальной клеткой запускает ответные реакции на стресс, в том числе окислительный.

Таким образом, протестированные производные фосфониевых солей представляют интерес в качестве основы для создания новых эффективных противомикробных агентов.

ХАРАКТЕРИСТИКА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА БИОСИНТЕЗИРОВАННЫХ РОДОКОККАМИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

Макарова М.В.¹, Куюкина М.С.^{1,2}, Ившина И.Б.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

В течение последних десятилетий активно разрабатываются экологически чистые и экономичные способы получения наночастиц благородных металлов. Биохимические процессы позволяют восстанавливать ионы металлов до нанометаллов без использования токсичных растворителей. Для биосинтеза наночастиц золота (НЧЗ) использовали штаммы *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 766 и *R. ruber* ИЭГМ 1135 из Региональной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegmc01.ru). Изучение морфологии родококков и синтезированных ими НЧЗ проводили на совмещенной системе конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ) FV1000 и атомно-силового микроскопа (АСМ) MFP-3D-BIO. Выделенные НЧЗ исследовали методами динамического и электрофоретического рассеяния света на анализаторе ZetaSizer Nano ZS. Антимикробную активность биосинтезированных НЧЗ оценивали по снижению жизнеспособности тест-культур *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Micrococcus luteus* ИЭГМ 401, определенную микролуночным методом с помощью окрашивания ИНТ. Процент жизнеспособных клеток рассчитывали по разнице ОП₆₃₀ с контрольной (без внесения НЧЗ) бактериальной суспензией. С помощью КЛСМ-АСМ выявлены усиление поверхностного рельефа, сдвиг дзета-потенциала в положительную область и образование клеточных агрегатов родококками в процессе биосинтеза НЧЗ. Клетки *R. erythropolis* ИЭГМ 766 формировали монодисперсные НЧЗ сферической формы размером 70±20 нм с электрокинетическим потенциалом 12 мВ, тогда как НЧЗ из *R. ruber* ИЭГМ 1135 были в полтора раза крупнее и имели отрицательный заряд (-20 мВ). Синтезируемые родококками НЧЗ оказывали антимикробное действие на бактерии, подавляя жизнеспособность клеток *E. coli* ATCC 25922 и *M. luteus* ИЭГМ 401 на 65 и 18–51% соответственно. Благодаря положительному заряду и высокой дисперсности синтезированные *R. erythropolis* НЧЗ будут востребованы в биомедицине, НЧЗ из *R. ruber* могут найти применение в биотехнологическом извлечении золота из упорных руд и концентратов.

Исследования выполнены в рамках госзаданий АААА-А20-120081990069-3 (ПГНИУ) и АААА-А19-119112290010-7 (ИЭГМ УрО РАН) при финансовой поддержке гранта РФФ 18-14-00140.

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ БЕЛОК-ПОЛИСАХАРИДНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ В ПРИСУТСТВИИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

Макарова А.О.¹, Богданова Л.Р.¹, Зеленихин П.В.², Зуева О.С.³, Зуев Ю.Ф.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

²Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

³Казанский государственный энергетический университет, Казань

В последнее время большое внимание уделяется разработке биосовместимых и биодеградируемых материалов медико-биологического назначения на основе биологически активных веществ из морских гидробионтов и, в частности, полисахаридов водорослей. Благодаря уникальной структуре и широкому спектру биологической активности, низкой иммуногенности и токсичности, эти полисахариды нашли применение в регенеративной медицине, тканевой инженерии и как системы доставки биологически-активных веществ. Однако, свойства гидрогелей не всегда обеспечивают их практическое применение. Одним из подходов к изменению характеристик гидрогелей является использование функциональных наноматериалов, в том числе углеродных нанотрубок (УНТ). Целью данной работы явилось исследование биосовместимости всех компонентов в качестве потенциальных систем доставки на основе желатина, κ-каррагинана, альгинат натрия и при добавлении УНТ в отношении клеток опухолевых клеток рака шейки матки человека HeLa. Цитотоксичность анализировалась с помощью МТТ-теста. Показано, что формирование капсул на основе альгината натрия происходит в присутствии двухвалентных катионов, стабилизированных Ca^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , которые значительно снижают жизнеспособность клеток HeLa. К-каррагинановые гели, в отличие от альгинатных, обладают низкой токсичностью, так как формирование и стабилизация микрокапсул κ-каррагинана происходит только при изменении температуры и не требует наличия двухвалентных катионов. Анализ токсичности УНТ демонстрирует, что модификация поверхности может повысить биосовместимость УНТ, присутствие в системе фетальной сыворотки снизило цитотоксичность УНТ. Установлено, что в сконструированных системах не наблюдалось значительной цитотоксичности, что указывает на потенциальное применение микросфер с добавлением УНТ в качестве носителя для доставки в кишечник и толстую кишку. Полученные оригинальные биосовместимые гибридные материалы исследованы в качестве систем для инкапсуляции и пролонгированного высвобождения фармакологических и диагностических препаратов.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ОТНОШЕНИИ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Махди Мохаймен М. М.¹, Паук М.С.², Ширяк Т.Ю.², Харитоновна М.А.¹

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (Казань), Россия

Метициллинрезистентный золотистый стафилококк способен вызывать широкий спектр инфекций. В их числе инфекция кожи и мягких тканей, пневмония, костно-суставные инфекции, синдром токсического шока и бактериемия, которая может осложняться эндокардитом или тяжелым сепсисом. Возможностью решения глобальной проблемы роста устойчивости микробов к антибиотикам являются продукты современной нанотехнологии.

Было исследовано антибактериальное действие раствора наночастиц серебра в воде, стабилизированных катионным полимером поливинилпирролидоном (Ag/PVP) размером 20 ± 8 nm на клинические изоляты *S. aureus* MRSA 1065, MRSA 1130, MRSA 1131 и штамм *S. aureus subsp. aureus* ATCC 29213. Было проведено определение минимальных ингибирующих (подавляющих) концентраций (МИК) и минимальных бактерицидных концентраций (МБК). МИК оценивали визуально и нефелометрически, измеряя оптическую плотность при длине волны 590 нм. Для определения МБК осуществляли десятикратные разведения бактериальной культуры из лунок и производили посев на селективную солевую среду, используя капельно-чашечный метод определения количества жизнеспособных бактерий (Drop Plate анализ). Показано, что МИК Ag/PVP для клинических изолятов *S. aureus* MRSA 1065, MRSA 1130 и MRSA 1131 составили 12,5 мкг/мл, 25 мкг/мл и 12,5 мкг/мл, соответственно. МИК Ag/PVP штамма *S. aureus subsp. aureus* ATCC 29213 был ниже – 6,25 мкг/мл. МБК Ag/PVP для клинических изолятов *S. aureus* MRSA 1065, *S. aureus* MRSA 1130 и *S. aureus* MRSA 1131 составили 25 мкг/мл. МБК Ag/PVP стандартного штамма *S. aureus subsp. aureus* ATCC 29213 был ниже – 12,5 мкг/мл. У исследуемых штаммов *S. aureus* МБК соответствовало (*S. aureus* MRSA 1130) либо вдвое превышало (*S. aureus* MRSA 1065, *S. aureus* MRSA 1131 и *S. aureus* ATCC 29213) значение МИК. Таким образом, наночастицы серебра, стабилизированные катионным полимером поливинилпирролидоном (AG/PVP/W), являются эффективным антибактериальным препаратом в отношении метициллинрезистентных штаммов *S. aureus*.

РОСТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Моисеева О.Э., Лутфуллин М.Т.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Во засушливых регионах мира урожайность сельскохозяйственных культур растений ограничена из-за повышенной засоленности почвы. Бактерии, способствующие росту растений (PGPR) модулируют регуляцию абиотического стресса через механизмы, индуцирующие системную устойчивость растений. PGPR бактерии способны продуцировать гидролитические ферменты, биоактивные соединения, фитогормоны, за счет которых способны увеличивать урожайность растений в условиях абиотического стресса. Целью работы являлось изучение ростостимулирующей активности ризосферных бактерий в условиях абиотического стресса. Исследование ростостимулирующей активности ризосферных бактерий *Pseudomonas putida* MG-8 и *Ochrobactrum grignonense* MG-4 и влияния на солеустойчивость растений проводили на семенах яровой пшеницы сорта «Хаят». Стерильные семена выдерживали в суспензии клеток *P. putida* MG-8 и *O. grignonense* MG-4 с концентрацией 10^7 КОЕ/мл в течение 1 часа, затем проращивали в присутствии 170 мМ NaCl и в нормальных условиях. Контролем служили семена пшеницы, не обработанные бактериями. Через 7 сут определяли сухую биомассу корней и стеблей. За 100% принимали средний сухой вес корней и стеблей пшеницы контрольного варианта. Обработка бактериями позитивно влияла на прирост биомассы пшеницы. Прирост сухой биомассы стеблей при обработке *P. putida* MG-8 составлял $4.17 \pm 0.10\%$, а *O. grignonense* MG-4 – $11.68 \pm 0.30\%$ относительно контрольного варианта. Прирост сухой биомассы корней составлял $3.54 \pm 0.09\%$ при обработке штаммом MG-8, а в случае штамма MG-4 – $13.04 \pm 0.33\%$. Анализ биомассы корней и стеблей пшеницы, пророщенных в присутствии соли, показал, что инокуляция бактериями способствует адаптации растений к солевому стрессу. В присутствии NaCl средняя биомасса корней и стеблей снижалась на 22-23% относительно контроля. Обработка семян суспензией *P. putida* MG-8 снижала ингибирование роста корней и стеблей на $33.75 \pm 0.84\%$ и $19.29 \pm 0.48\%$ соответственно. Обработка семян пшеницы ризосферными штаммами стимулировала увеличение сухой биомассы корней и стеблей проростков пшеницы и приводила к снижению ингибирующего эффекта соли.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 20-316-90047.

**ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ
BACILLUS PUMILUS БИНАЗЫ И БЫЧЬЕЙ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ
РНКАЗЫ А *IN VIVO***

Мохамед И.С., Сенькова А.В., Марков О.В., Савин И.А., Марков А.В.,
Зенкова М.А., Миронова Н.Л.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск

Важная роль миРНК в пролиферации и дифференцировке клеток повысила интерес к экзогенным рибонуклеазам (РНКадам) как инструментам для контроля опухоль-ассоциированных внутриклеточных и циркулирующих внеклеточных миРНК. В данной работе мы исследовали противоопухолевую активность биназы из *B. pumilus*, относящейся к семейству РНКаз T1, и бычьей панкреатической РНКазы А, относящейся к семейству РНКазы А, *in vivo* на модели лимфосаркомы RLS₄₀ и меланомы В16 и провели поиск их молекулярных мишеней.

Полученные нами результаты показали, что мишенями биназы и РНКазы А являются опухоль-ассоциированные миРНК, при изменении уровня которых происходит замедление роста опухоли и распространения метастазов.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-74-30011.

АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ ВИРУЛЕНТНОСТИ У ГИПЕРМУТАБИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ: АДАПТАЦИЯ К ФТОРХИНОЛОНАМ И ПАТОГЕННОСТЬ У МИКОПЛАЗМ

Музыкантов А.А.¹, Костенко В.В.^{1,2}, Баранова Н.Б.¹, Медведева Е.С.¹,
Сабуни Р.Г.¹, Маркелова М.И.^{1,2}, Чернова О.А.¹, Чернов В.М.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН

²Казанский (Приволжский) федеральный университет

Эволюция вирулентности гипермутабельных бактерий в условиях селективного давления стрессоров, в том числе антимикробных препаратов – актуальная проблема, с решением которой связывают открытие новых механизмов трансформации комменсалов в патогены и способов контроля эмерджентных инфекций. Адаптация даже к одному антибиотику может сопровождаться у этих микроорганизмов с разнообразными траекториями эволюции вирулентности. На проверку этой гипотезы были направлены наши исследования адаптации *Acholeplasma laidlawii* – убиквитарной микоплазмы, являющейся основным контаминантом клеточных культур и вакцинных препаратов, к ципрофлоксацину – антимикробному препарату, рекомендуемому для эрадикации микоплазм. Были получены *in vitro* высокорезистентные к ципрофлоксацину штаммы *A. laidlawii*. Для оценки степени вирулентности штаммов *in vivo* в качестве модельного организма использовали *Drosophila melanogaster* (линия *Canton-S*). В результате применения омикс-технологий и микроскопии (трансмиссивной, атомной, сканирующей, флуоресцентной), установлено, что развитие у *A. laidlawii* резистентности к ципрофлоксацину сопровождается множественными изменениями в первичной структуре генома микоплазмы, модуляцией экспрессии и секреции сотен белков, в том числе ассоциированных с бактериальным резистомом и вируломом, но универсальный молекулярный паттерн (сигнатура) у ципрофлоксацин-устойчивых штаммов отсутствует. Антибиотикоустойчивые штаммы микоплазмы проявляют патогенность в отношении *D. melanogaster*, но степень вирулентности у них достоверно различается, в том числе при одинаковом уровне фенотипической резистентности.

Полученные данные свидетельствуют, что адаптация *A. laidlawii* к ципрофлоксацину ассоциирует с разнообразными траекториями эволюции вирулентности микоплазмы, и определяют необходимость коррекции стратегии контроля гипермутабельных микроорганизмов.

ИЗМЕНЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОЦИДА

Надеева Г.В.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Микромицеты, присутствующие в воздухе и на поверхности объектов библиотек и архивов, могут представлять угрозу не только для хранимых материалов, но и оказывать пагубное воздействие на здоровье сотрудников и посетителей. Важно при этом, что не только патогенные грибы, но и виды, известные как сапрофитные (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*), могут индуцировать инфекции.

Факторами потенциальной патогенности микромицетов являются: гидролитические экзогенные ферменты (амилазы, протеазы, желатиназы, липазы), термотолерантность (способность к росту при 37°C) и токсичность за счет гемолизинов. Гемолизины классически определяются как пороформирующие экзотоксины, способные к лизису эритроцитов.

Целью данной работы являлось изучение влияния биоцида Rocima GT на факторы патогенности 20 изолятов микромицетов родов *Aspergillus* и *Penicillium*, выделенных из помещений хранилища рукописей и редких книг библиотеки Казанского федерального университета.

Культивирование на агаризованной среде Чапека в течение 8 суток при температуре 37°C выявило, что 50% изолятов были термотолерантными.

Протеолитическую активность проверяли чашечным методом на среде с казеином и на мясопептонной среде с желатином при температуре 28°C в течение 7 суток. Гемолитическую активность проверяли на кровяном агаре, при температуре 28°C в течение 7 суток. Биоцид добавляли в среды в концентрации 0,01 мг/л. Протеолитическая активность под влиянием биоцида Rocima GT увеличивалась у всех изолятов, желатиназная снижалась более чем у половины исследуемых изолятов. Гемолитическая активность возрастала у всех штаммов родов *Aspergillus* и *Penicillium* под действием биоцида.

Таким образом, использование биоцидов для борьбы с биоповреждениями документов может привести к повышению вирулентности штаммов.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

СЛУЧАЙ ОБНАРУЖЕНИЯ *AEROMONAS SALMONICIDA* SUBSP. *ACHROMOGENES* У МОЛОДИ КЕТЫ НА ЛОСОСЕВОМ РЫБОВОДНОМ ЗАВОДЕ (О. САХАЛИН)

Полтева А.В., Галанина Е.В.

Сахалинский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («СахНИРО»), Южно-Сахалинск

При проведении ихтиопатологических исследований на сахалинских лососевых заводах летом 2017 г. от молоди кеты на рыбноводном заводе, расположенном на р. Лазовая (восточное побережье о. Сахалин) были выделены бактерии *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*. Ранее данный вид бактерий не выделялся от молоди лососевых на заводах Сахалина.

A. salmonicida subsp. *achromogenes* один из четырех, описанных в «Определителе бактерий» (1997) подвидов, входящих в группу неподвижных аэромонад. Наряду с *A. salmonicida* subsp. *masoucida* и subsp. *smithia* относится к «атипичным» и отличается от «типичного» *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* отсутствием способности продуцировать водорастворимый красно-коричневый пигмент при росте на агаровых средах.

Известно, что атипичные штаммы *A. salmonicida* были причиной массовой гибели различных видов лососевых на фермах Канады, Японии, Финляндии и других стран. В Китае с ними связан значительный экономический ущерб в аквакультуре лососевых рыб. Встречаются они и в природных популяциях лососевых рыб в Канаде, США, Корею, Японии. Случаи выделения атипичных подвидов от диких лососей в России не описаны.

В настоящее время *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* остается малоизученным, по сравнению с типичным подвидом. Дискуссионным остается вопрос о его таксономическом положении. Имеется ограниченная информация об экологии, распространении, способах передачи, патогенности, вариабельности биохимических свойств, особенностях культивирования.

При выделении от молоди кеты *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* хорошо росла на ГРМ-агаре, формируя ровные выпуклые непрозрачные колонии кремового цвета диаметром около 1 мм. Культура была оксидазо-положительна, отрицательно окрашивалась по Граму, не сбраживала глюкозу, окисляла мальтозу, маннит, восстанавливала нитраты до нитритов, продуцировала индол на среде с триптофаном, по аргининдигидролазе была отрицательна.

Молодь кеты, от которой был выделен ихтиопатоген, содержалась на заводе в открытых бассейнах с температурой воды около 5°C. Низкая температура, вероятно, сдерживала развитие инфекции. По словам рыбководов массового отхода молоди не происходило, но в каждом бассейне встречались особи с внешними проявлениями заболевания в виде депигментированных участков кожного покрова.

ХАРАКТЕРИСТИКА УРОПАТОГЕННОГО ШТАММА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: АННОТАЦИЯ И АНАЛИЗ ГЕНОМА

Родионова М.С., Баязитова Л.Т.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

150 миллионов человек в мире ежегодно заболевают инфекцией мочевых путей (ИМП). Среди уропатогенных бактерий, ставших причиной осложненного цистита, уросепсиса, пиелонефрита, чаще всего обнаруживают *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. С каждым годом обнаруживается все больше гипервирулентных и мультирезистентных штаммов *K. pneumoniae*. Распространенность возбудителей, сложности в лечении и опасные для здоровья последствия ИМП подчеркивают важность всестороннего изучения уропатогенных бактерий. Биоинформатический анализ аннотированных геномов помогает в понимании патогенеза и выявлении новых мишеней для антибиотиков. Для эффективной борьбы с патогенными бактериями необходим анализ секвенированных геномов изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из различных локусов. Целью настоящей работы являлось секвенирование, аннотация и анализ генома уропатогенного штамма *K. pneumoniae* RSC-2, выделенного с поверхности катетера пациента с камнем мочевого пузыря. Геномная ДНК штамма *K. pneumoniae* RSC-2 была выделена методом фенол-хлороформной экстракции. Сборка генома из обработанных прочтений проведена с использованием программы SPAdes3.10.0. Геном собран в 91 контиг. Размер генома составляет 5491089 п.н. и его GC-состав равен 57.1%. Аннотированный с помощью программы NCBI PGAP геном загружен в базу данных GenBank (JAFRUB000000000.1). В геноме *K. pneumoniae* RSC-2 идентифицировано 5406 генов, из которых 5285 кодируют белки, 22 гена рРНК, 87 генов тРНК и 91 псевдогенов. Функциональная аннотация с использованием сервера RAST позволила отнести 58% генов к определенным функциональным группам. В геноме идентифицировано 156 генов факторов вирулентности. С помощью программы PHASTER в геноме обнаружено 5 фаговых регионов (два интактных и три неполных профага), которые составляют 2.3% генома *K. pneumoniae* RSC-2. Анализ гомологии генома штамма RSC-2 с другими штаммами *K. pneumoniae* выявил различие менее чем 1%. Геном штамма RSC-2 имеет более высокую гомологию с геномами уропатогенных изолятов, чем с геномами штаммов из биоматериалов здоровых людей. Секвенирование и сравнительный анализ геномов уропатогенных изолятов *K. pneumoniae* важны для понимания молекулярных механизмов вирулентности и патогенеза ИМП.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ УТОЧНЕНИЯ СТЕПЕНИ РАДИАЦИОННОГО РИСКА РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Рыжкин С.А.^{1,2,3} Маргулис А.Б.³

¹Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

²ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Казань

³Казанский (Приволжский) Федеральный университет

Разработка модельных систем для уточнения степени радиационной безопасности при выполнении медицинских рентгенологических процедур является актуальной задачей, так как медицинское облучение занимает ведущее место в общей структуре облучения населения. В качестве модельных систем выбраны культуры тестерных штаммов грамотрицательных (*Salmonella typhimurium*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*) бактерий (оценка токсичности и мутагенности ионизирующей радиации по отношению к тестерным микроорганизмам, тест Эймса). Нами исследованы эксплуатационные параметры цифрового флюорографического аппарата ФЦ-01 «Электрон», сер. №05325, а также выполнено моделирование исследования органов грудной полости в прямой проекции пациенту среднего телосложения (возраст 19 лет) на данном аппарате с облучением биологического материала. Значение радиационного выхода при этом составило 0,085 мГр*м²/(мА*с). Оценка токсичности рентгеновского облучения показала, что данный режим не проявил токсигенного и мутагенного действия на биологический образец. Аналогично исследованы эксплуатационные параметры компьютерного рентгеновского томографа «LightSpeedPro32», выполнено моделирование исследования органов брюшной полости. В режиме «Abdomen» выявлено ярко выраженное токсическое действие на биологический образец: число КОЕ снижается в 4 раза по сравнению с необлученным вариантом.

Установлено, что рентгеновская диагностика за исключением процедур, выполняемых на цифровых малодозовых аппаратах, оказывает токсическое и слабое мутагенное воздействие на бактерии. Данный подход позволяет уточнять степень радиационной безопасности используемых методик выполнения рентгенологических процедур и основных типов рентгенодиагностических аппаратов, а также рекомендовать щадящие методики выполнения наиболее дозообразующих процедур.

МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО БЕРЕЗОВОГО СОКА: СОСТАВ И ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Сабанаева А.Г., Исупова А.В., Григорьева Т.В., Яруллина Д.Р.
Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

В составе березового сока содержатся сахара, органические кислоты, минералы, ферменты, белки и антиоксиданты. В народной медицине его рекомендуют как природный иммуностимулятор. Березовый сок обладает мочегонным и противовоспалительным действием. Благодаря своим бродильным свойствам в нем присутствует большое количество микроорганизмов, некоторые из которых обладают пробиотическими свойствами. Целью данной работы является определить состав микробного сообщества сока, полученного из Березы повислой (*Betula pendula*), и пробиотический потенциал его отдельных молочнокислых представителей.

Березовый сок был собран в апреле 2021 г. на территории Государственного природного национального парка «Марий Чодра». Состав микробного сообщества березового сока охарактеризован с помощью секвенирования генов 16S рНК на секвенаторе MiSeq и анализа полученных данных на платформе Basespace (Illumina). В березовом соке преобладали представители фил *Firmicutes* (55%) и *Proteobacteria* (43%), также присутствовали *Bacteroidetes* (1,9%). Микробное сообщество в основном состояло из родов *Leuconostoc* (37%) и *Clostridium* (17%), а также представителей семейства *Enterobacteriaceae* (42,5%). Из березового сока выделили восемь штаммов микроорганизмов и установили их принадлежность к молочнокислым бактериям (МКБ), согласно ГОСТ 10444.11-2013. Методом агаровых блоков определили, что полученные штаммы имели слабую антагонистическую активность в отношении условно-патогенных бактерий, однако изоляты BS 5 и BS 6 более эффективно подавляли рост *Enterococcus faecalis*, чем референсный пробиотический штамм *Lactiplantibacillus plantarum* 8РА3, выделенный из пробиотического препарата «Лактобактерин» (Биомед). Исследуемые изоляты имели гидрофильную и умеренно гидрофобную поверхность и, как следствие, низкую адгезивность. При этом семь полученных штаммов превосходили по этому параметру референсный штамм *L. plantarum* 8РА3.

Работа выполнена в рамках ППК КФУ с использованием оборудования МЦКП КФУ.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ЦЕРВИКАЛЬНОГО КАНАЛА БЕРЕМЕННЫХ АЛЕКСЕЕВСКОГО И КУКМОРСКОГО РАЙОНОВ

Сердюкова А.М.¹, Казимиров П.В.², Котляр Е.Ю.², Захарова О.С.², Сидорова И.В.²

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²ГАУЗ Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и
инфекционными заболеваниями Минздрава РТ, Казань

Исследования микробиоценоза цервикального канала и мочи при беременности актуальны, так как патологическая микрофлора относится к факторам риска, которые влияют на течение беременности и родов.

Работа проводилась совместно с ЦРБ Кукморского и Алексеевского районов. При постановке на учет беременные сдавали мочу и на сроке 35 недель – мазок с цервикального канала. Всего было исследовано 288 анализов мочи и 80 мазков цервикального канала. Работа выполнялась согласно Приказу МЗ РФ от 20.10.2020 № 1130н и Методическим указаниям МУ 4.2.2039-05. Посев мочи и отделяемого цервикального канала осуществлялись на среды: *Uri Select* (Bio-Rad, Франция), *Blood Agar Base* (Oxoid, Великобритания) с добавлением 5% дефибринированной крови барана, *BrillianceTM Candida Agar Base* (Oxoid, Великобритания). Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с использованием тест систем (*Erba Lachema*, Чехия и *AuxacolorTM2* (Bio-Rad, Франция). Из 288 анализов мочи бактериурия не выявилась у 198 пациенток (68,7%). При анализе мочи в положительных случаях среди энтеробактерий лидировала *E. coli* (36,7%) и *Enterobacter cloacae* (11%). У 40 беременных (50%) в цервикальном канале присутствовали: *L.iners*, *L.crispatus*, и другие лактобактерии (10^2 – 10^5). У 19 пациенток (24%) определялся кандидоз (*C.albicans*, *C.dubliniensis* (10^3 – 10^5)). Следующей по частоте выявления микроорганизмов цервикального канала была группа стафилококков 20 случаев (25%) с преобладанием *S.aureus* (10^2 – 10^3). Таким образом к 35 неделе беременности патогенная и условно-патогенная флора цервикального канала составляла 45%, по данным российских авторов в других регионах до 51,4%.

В результате показано, что выделенные энтеробактерии и стафилококки были резистентными к антибиотикам пенициллинового ряда. Так как условно-патогенные микроорганизмы могут вызвать гнойно-воспалительные процессы у родильниц, необходимо знать, являются ли они транзитной микрофлорой или это процесс нарушения микрофлоры влагалища, который может стать причиной серьезных инфекционных осложнений у рожениц. Для этого необходимо проводить бактериологическое исследование регулярно.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДАПТИВНО-ИНТЕГРИРОВАННОЙ ЗАЩИТЫ ЯРОВОЙ ПШЕНЦЫ НА ВЫСОКОМ ИНФЕКЦИОННОМ ФОНЕ

Сираева З.Ю., Мустафина А.И., Кравцова О.Н.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Одной из ведущих проблем зернопроизводства является несоответствие фитосанитарных показателей семенного материала требованиям национальных стандартов. Экологически ориентированным подходом в технологии выращивания зерновых является адаптивно-интегрированная защита (АИЗ), основанная на комплексной защите растений от болезней. Цель – оценка эффективности АИЗ яровой пшеницы от болезней на высоком инфекционном фоне. Исследования проведены в Кукморском районе РТ на сорте Йолдыз. Семена протравливали фунгицидом Стингер Трио[®]; по вегетации проводили обработку посевов препаратом Амистар Экстра[®]. В варианте АИЗ проводили половинными нормами фунгицидов с биопрепаратами Фитоспорин-АС[®] или МОЛ-АБ-1. Интенсивность вегетации оценивали по индексу NDVI. По результатам фитоэкспертизы установлено превышение требований ГОСТ 12044-93 по показателям инфицированности зерна. По данным фитопатологического анализа почвенных образцов установлено, что в группе микромицетов доминируют (~95–98%) представители из родов *Alternaria*, *Fusarium*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, а при анализе пожнивных остатков выявлено высокое (до 10^7 пропагул/г сухих растительных остатков) содержание фитопатогенных микромицетов из родов *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera spp.*, *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Ascochyta hordei*. Показано, что применение АИЗ схемы защиты, в отличие от химической, способствует выравниванию дисбаланса агрономически полезных групп микроорганизмов, что выражается в повышении численности фосфатрастворяющих, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих микроорганизмов на фоне снижения денитрификаторов. Биологическая эффективность АИЗ пшеницы сорта Йолдыз против корневых гнилей, листовых болезней, болезней репродуктивных органов составила 87,5-100,0; 36,8–78,3; 72,6–88,6% соответственно по сравнению с контролем в зависимости от фазы развития растений и схемы обработки, что превышает эффективность традиционной схемы защиты на 18,6–100,0; 26,2–43,7; 19,4–27,1% соответственно.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства КФУ.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЧВЕННОГО СООБЩЕСТВА АКТИНОБАКТЕРИЙ ПРИ NO-TILL ТЕХНОЛОГИИ

Сираева З.Ю., Мустафина А.И., Кравцова О.Н.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Интенсификация сельского хозяйства вызывает широкий спектр экологических проблем, из которых наиболее неблагоприятным является изменение структуры микробных сообществ почв и сокращение обилия ключевых таксонов. Внимание исследователей обращено на альтернативную высокопродуктивную систему земледелия с нулевой обработкой почвы (No-Till). Площадь пашни, возделываемой по No-Till технологии в мире варьирует от 14% (США) до 96% (Аргентина) от общей площади пахотных земель, в России – лишь 1,6%. Почвенные бактериальные сообщества являются важнейшими компонентами агросистем. Особое внимание привлекают актинобактерии, играющие важную роль в обеспечении супрессивности почвы и разложении органики. Однако данных о структуре и роли почвенных сообществ актинобактерий при технологии No-Till недостаточно. Цель: характеристика почвенных сообществ актинобактерий при No-Till технологии. Почвенные образцы отбирали с поля Кукморского района РТ, культивируемого по технологии No-Till с 2011 года. ДНК выделяли экстракционным методом. Подготовку геномной библиотеки осуществляли согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Protocol (Illumina MiSeq). Секвенирование образцов проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) согласно протоколу. Данные секвенирования анализировали с помощью программного обеспечения QIIME pipeline версия 1.9.1. Антибиотическую активность выделенных культур актинобактерий оценивали методом блоков. Установлено, что в прокариотном сообществе доля филума *Actinobacteria* составляет от 6,1 до 52,0% в зависимости от почвенного горизонта и точки отбора. Численность актинобактерий в нижних горизонтах превышает численность в верхних горизонтах: доля *Actinobacteria* в сообществе верхних горизонтов варьирует в диапазоне 6,1–32,1%, в нижних горизонтах – 26,4–52,0%. Доминирующее положение занимают представители порядка *Actinomycetales*, из них – семейство *Micrococcaceae*. Для дальнейшего изучения из почвенных образцов выделено 27 изолятов, отнесенных по фенотипическим характеристикам к актинобактериям. 16 изолятов обладают антибактериальной активностью против возбудителей бактериозов сельскохозяйственных культур. Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства КФУ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ ОСИ КИШЕЧНИК-МОЗГ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Ситдикова Г.Ф.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Взаимодействие между микробиотой кишечника и центральной нервной системой (ЦНС) в так называемой «оси кишечник-мозг» привлекает все больше внимания исследователей. С одной стороны, секреторные, двигательные, сенсорные функции кишечника регулируются энтеральной и центральной нервной системой, а с другой стороны, микробиота и ее метаболиты, гормоны кишечника могут оказывать влияние на проницаемость кишечного эпителия, иммунитет, гематоэнцефалический барьер, взаимодействовать с блуждающим нервом и, таким образом, влиять на функцию мозга. Предполагается, что дисфункции оси кишечник-мозг вовлечены в развитие ряда заболеваний ЦНС, таких как депрессии, множественный склероз, болезнь Альцгеймера и Паркинсона, расстройства аутистического типа, мигрень. Микробиота кишечника производит и выделяет активные метаболиты, которые могут влиять на работу периферической и центральной нервной системы. К ним относятся короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), нейромедиаторы и их предшественники, такие как дофамин, серотонин, гамма-аминомасляная кислота, триптофан, желчные кислоты. КЦЖК (бутират, пропионат и ацетат) производятся бактериями в дистальном отделе толстой кишки и имеют решающее значение для поддержания целостности кишечного и гематоэнцефалического барьеров, воздействуя на плотные контакты между клетками. Кроме того, КЦЖК вызывают высвобождение некоторых гормонов кишечника из энтероэндокринных клеток, таких как лептин, нейропептид Y, лептин, которые могут взаимодействовать с рецепторами блуждающего нерва и мозга. Факторы окружающей среды, такие как диета, стресс, антибиотики, инфекции могут приводить к дисбиозу, повышению кишечной проницаемости, возникновению иммунного ответа и развитию воспалительных реакций, в том числе в нервной системе. Нейровоспаление и окислительный стресс считаются одними из факторов нейродегенерации. Экспериментальные данные указывают, что дисбиоз у мышей в результате введения антибиотиков приводит к развитию окислительного стресса в мозге и нарушениям поведения, уровня тревожности, когнитивных функций, гиперчувствительности, и эти состояния нивелируются одновременным приемом пробиотиков.

ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ T1-1M-R, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕЙ ЭНДОНУКЛЕАЗУ CAS9

Скрипова В.С.¹, Фирсова Д.А.¹, Дунаев П.Д.², Бойчук С.В.², Киямова Р.Г.¹

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²Казанский государственный медицинский университет Минздрава РФ

Технология редактирования генома CRISPR/Cas9, разработанная на основе системы адаптивного иммунитета бактерий и архей, является ярким примером интеграции микробиологии и молекулярной биологии. Технология CRISPR/Cas9 нашла применение в изучении онкомаркеров и поиске новых мишеней для противоопухолевой терапии. Лекарственная устойчивость является одной из основных проблем онкологии. Например, гастроинтестинальные опухоли (ГИСО) при длительном лечении иматинибом формируют к нему устойчивость. Показано, что ингибирование сигнального пути FGF2/FGFR может способствовать увеличению чувствительности опухолевых клеток к иматинибу. Технология CRISPR/Cas9 позволяет получить клеточные линии ГИСО с нокаутом генов FGFR1-4 для изучения их влияния на чувствительность к иматинибу. Целью данной работы является получение клеточной линии ГИСО T1-1M-R, экспрессирующей эндонуклеазу Cas9, которая является одним из основных компонентов системы CRISPR/Cas9.

Перенос гена эндонуклеазы Cas9 в клетки ГИСО T1-1M-R, устойчивые к иматинибу, проводили методом лентивирусной трансдукции. Лентивирусные частицы получали методом трансфекции клеток HEK293T плазмидами pCW-Cas9, psPAX2 и pMD2.g. Успешно трансдуцированные клетки отбирали в присутствии 1 мкг/мл пурамицина и использовали для клональной селекции. Уровень экспрессии Cas9 в полученных клонах проверяли методом Вестерн-блот анализа. После проведения лентивирусной трансдукции, отбора клеток на пурамицине и клональной селекции было получено 30 клональных сублиний клеточной линии ГИСО T1-1M-R, 10 из которых экспрессировали эндонуклеазу Cas9 на высоком уровне. Клоны T1-1M-R/Cas9-p4-E9 и T1-1M-R/Cas9-p4-C10 были отобраны для дальнейшей работы. Получено 10 клональных сублиний клеточной линии T1-1M-R, экспрессирующие эндонуклеазу Cas9 (T1-1M-R/Cas9), которые могут быть использованы для исследования влияния нокаута генов FGFR1-4 на чувствительность к иматинибу.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства КФУ.

ВЛИЯНИЕ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ МЫШИ

Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Ситдикова Г.Ф., Ситдииков Ф.Г.
Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), такие как ацетат, пропионат и бутират, являются ключевыми продуктами бактериальной ферментации неусваиваемых углеводов ЖКТ. Показано, что КЦЖК оказывают как возбуждающее, так и ингибирующее действие на сократительную активность гладкомышечных клеток толстой кишки. Эффекты КЦЖК на сократительную активность гладкомышечных клеток других отделов кишечника исследованы недостаточно. Целью исследования была оценка влияния ацетата натрия, пропионата натрия и бутирата натрия на сократительную активность подвздошной кишки мыши (ПКМ). Сила сокращения полосок ПКМ регистрировалась в изометрических условиях. В течение всего эксперимента препарат омывался аэрированным раствором Кребса. Изолированный препарат ПКМ проявлял спонтанную активность, при анализе которой мы характеризовали частоту, амплитуду и тоническое напряжение. КЦЖК кумулятивно апплицировали в концентрациях 0,5, 1, 5, 10 мМ.

Эффекты ацетата натрия на тонус, амплитуду и частоту спонтанных сокращений проявлялись, начиная с концентрации 5 мМ. В концентрации ацетата натрия 10 мМ тонус уменьшался с $0,93 \pm 0,05$ г до $0,68 \pm 0,06$ г, амплитуда с $0,95 \pm 0,02$ г до $0,67 \pm 0,03$ г, частота – с 40 ± 2 мин⁻¹ до 29 ± 1 мин⁻¹. Ингибиторные эффекты пропионата натрия на амплитуду и частоту спонтанных сокращений проявлялись, начиная с 1 мМ, а на тонус – с 5 мМ. 10 мМ пропионата натрия приводило к снижению тонуса с $0,98 \pm 0,03$ г до $0,82 \pm 0,03$ г, амплитуды – с $1,02 \pm 0,01$ г до $0,76 \pm 0,02$ г, частоты с 40 ± 1 мин⁻¹ до 32 ± 1 мин⁻¹. Аппликация 1 мМ бутирата натрия приводила к достоверному изменению тонуса и амплитуды, а снижение частоты наблюдали начиная с концентрации 5 мМ. Бутират (10 мМ) уменьшал тонус с $0,99 \pm 0,008$ г до $0,65 \pm 0,02$ г, амплитуду – с $1,01 \pm 0,01$ г до $0,52 \pm 0,03$ г, частоту – с 39 ± 2 мин⁻¹ до 18 ± 2 мин⁻¹. Эффекты КЦЖК на сократительную активность полосок ПКМ были обратимы и быстро возвращались к исходным значениям при отмывке препарата. Полуэффективная концентрация (EC₅₀) КЦЖК, вызывающая угнетающий эффект на амплитуду спонтанных сокращений, составила 6,05 мМ для ацетата натрия, 1,50 мМ для пропионата натрия и 2,60 мМ для бутирата натрия.

СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ В ОТДЕЛЕНИЯХ ГАУЗ «РКБ МЗ РТ» В 2018-2020 гг.

Тагирова Т.Р.¹, Валиуллина И.Р.², Марданова А.М.¹

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²Лаборатория клинической бактериологии, ГАУЗ «РКБ МЗ РТ», Казань

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются распространенными заболеваниями мужчин и женщин всех возрастов, а также являются часто встречающимися формами нозокомиальных инфекций, в том числе катетер-ассоциированных. Озабоченность вызывает распространение в госпиталях штаммов с множественной резистентностью к антибиотикам. Целью работы был анализ структуры возбудителей ИМП и их резистентности в разных отделениях ГАУЗ «РКБ МЗ РТ». В лаборатории клинической бактериологии РКБ в период 2018–2020 гг. было проведено 19509 бактериологических посевов мочи: 6649 в 2018 г., 7380 в 2019 г., и 5480 в 2020 г. Наиболее часто из мочи выделялись изоляты *Escherichia coli*, доля которых составляет до 20.94–26.41% в общей структуре возбудителей ИМП. Также урологические инфекции часто вызывались *Enterococcus* (13.49–17.42%) и *Klebsiella* (11.32–12.67%). Так, в 2018-2020 гг. из мочи пациентов ОРИТ и хирургических отделений (Отделение пересадки почки и Урологическое отделение) всего было выделено 266, 295 и 150 изолятов *E. coli* соответственно, 264, 221 и 159 изолятов *Klebsiella pneumoniae*, 238, 248 и 163 изолятов *Enterococcus* sp. Однако частота выделяемости разных видов бактерий варьировала в отделениях больницы. В ОРИТ доминирующим видом возбудителей ИМП была *K. pneumoniae*, (20-26% всех возбудителей ИМП). Затем шли изоляты *Enterococcus* sp. (13–17%), *E.coli* (7–13%) и *P. aeruginosa* (7–11%). От пациентов Урологического отделения чаще всего выделялись *E. coli* (20–23%), *Enterococcus* sp. (16–36%) и *K. pneumoniae* (9–10%). Эти виды бактерий доминировали в структуре возбудителей ИМП у пациентов отделения Пересадки почки: доля *E. coli* составляла 17–24%, *Enterococcus* sp. – 11–17% и *K. pneumoniae* – 11–24%. Также из мочи пациентов этих отделений выделялись с высокой частотой изоляты *Staphylococcus* sp. (12–19% от всех выделенных изолятов). От пациентов с пересаженной почкой часто выделялись изоляты *Corynebacterium* sp. (11.5%). 71–77% всех выделенных в этих отделениях изолятов *Acinetobacter baumannii* были изолированы из мочи пациентов ОРИТ. Среди возбудителей урологических инфекций, наиболее частыми продуцентами β-лактамаз расширенного спектра являются *E. coli* и *K. pneumoniae*.

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ ИЗОПРЕНОИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *GORDONIA*

Тарасова Е.В.¹, Гришко В.В.², Ившина И.Б.¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

²Институт технической химии, УрО РАН, Пермь

Микробиологическая трансформация полициклических изопреноидов – эффективный способ одностадийного получения биоактивных соединений с высокой степенью регио- и стереоселективности. Ранее нами был описан процесс биотрансформации пентациклического тритерпеноида бетулина актинобактериями рода *Rhodococcus* с образованием фармакологически значимого бетуллона. В настоящей работе впервые представлены результаты исследований процесса биотрансформации бетулина с использованием близкородственных видов актинобактерий *Dietzia maris* (30 штаммов), *Gordonia alkanivorans* (1 штамм), *G. amicalis* (8 штаммов), *G. rubripertincta* (50 штаммов) и *G. terrae* (35 штаммов). Показано, что большинство штаммов катализируют региоселективное окисление вторичной гидроксильной группы бетулина с образованием бетуллона. Наибольший (80%) выход целевого продукта достигается при использовании штамма *G. terrae* ИЭГМ 143^T в присутствии *n*-гексадекана. Обнаружена прямая зависимость между уровнем образования бетуллона и содержанием *n*-алкана в среде культивирования. Среди продуктов трансформации бетулина с использованием гордоний помимо бетуллона выявлены минорные (2-7%) примеси окисленных производных бетулина, в частности альдегида бетулина, бетулиновой и бетулоновой кислот.

Наряду с изучением бетулинтрансформирующей активности актинобактериальных штаммов исследована возможность окислительной биоконверсии холестерина и β -ситостерола, близких структурных аналогов бетулина, с использованием гордоний. Показано, что отдельные представители гордоний способны к полной деградации холестерина и частичной деградации β -ситостерола. Наибольший уровень конверсии β -ситостерола достигается при использовании штаммов *G. terrae* ИЭГМ 136, ИЭГМ 143^T, ИЭГМ 147 и *G. amicalis* ИЭГМ 768. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение путей биодеградации стеролов представителями рода *Gordonia* и получение биологически активных стероидных производных, в том числе за счет использования специфических ингибиторов.

Исследования выполнены в рамках госзаданий АААА-А19-119112290008-4 и АААА-А19-119112290010-7, а также Соглашения № 075-15-2021-1051.

ОЦЕНКА ПОТРЕБЛЕНИЯ ФТОРХИНОЛОНОВ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

Титаренко А.Ф.¹, Александрова Э.Г.¹, Абакумова Т.Р.¹, Евстигнеев С.В.²,
Хазиахметова В.Н.¹, Зиганшина Л.Е.³

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

² ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко»

³ Казанская государственная медицинская академия, филиал РМАНПО МЗ РФ

Для учреждений здравоохранения РФ характерно увеличение потребления антибактериальных средств, увеличение расходов на них. Фторхинолоны (ФХ) рассматриваются как средства лечения нозокомиальных инфекций различных локализаций. Однако, в российских стационарах их используют очень широко, что способствует риску возникновения инфекций, вызванных метало-бета-лактамаза-продуцирующими штаммами *P.aeruginosa*, и, соответственно, к устойчивости к карбапенемам. Описана также возможная роль предшествующей терапии ципрофлоксацином в развитии MRSA-инфекции. В 2011-2014 г. группа клинических фармакологов КФУ разработала и внедрила программу мониторинга использования антибактериальных средств с использованием методологии АТС/DDD, АВС/VEN-анализа в ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко». Врачи были обучены принципам рационального использования антибиотиков. За 4 года произошли выраженные изменения в использовании ФХ. В целом потребление ФХ снизилось в 2 раза: с 11,4 до 5,6 УСД/100 койко-дней. При этом расходы на приобретение ФХ снизились в 6 раз – с 22% от всех затрат на антибактериальные препараты в 2011г. до 3,5% в 2014г. Наиболее ощутимые результаты получены по ципрофлоксацину: объем потребления уменьшился в 3 раза - с 8,4 до в 2011г. до 2,8 УСД/100 койко-дней в 2014г., при снижении финансовых затрат на него: с 9,1% от затрат на антибактериальные препараты в 2011г. до 1,3% в 2014г. Потребление левофлоксацина и норфлоксацина практически не менялось – 1,2 УСД/100 койко-дней и 1,04 УСД/100 койко-дней соответственно в 2011г. и 1,4 УСД/100 койко-дней и 0,92 УСД/100 койко-дней соответственно в 2014г. Потребление пефлоксацина снизилось более чем в 3 раза – с 0,77 до 0,2 УСД/100 койко-дней. Моксифлоксацин был использован только в 2013 и 2014 гг., со снижением показателя потребления от 0,19 до 0,02 УСД /100 койко-дней. За 4 года произошло снижение потребления ФХ в 2 раза, расходов на закупку ФХ в 6 раз, что доказывает эффективность программы мониторинга использования антибактериальных средств

ХАРАКТЕРИСТИКА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК И ОЦЕНКА ЕГО ПРОНИЦАЕМОСТИ ДЛЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Тризна Е.Ю., Миронова А.В., Каримова А.В., Федорова М.С.,
Байдамшина Д.Р., Каюмов А.Р.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

В настоящее время показано, что большинство заболеваний имеет полимикробную природу. Зачастую бактерии образуют клеточные агрегаты в виде полимикробных биопленок, где происходит интенсивный обмен генами устойчивости к антибиотикам, изменяется метаболизм клеток, в результате чего микроорганизмы приобретают устойчивость к антимикробным агентам (АА). Однако, в случае антагонистического характера взаимодействия бактерий внутри сложного сообщества может произойти и повышение чувствительности бактерий к негативным факторам окружающей среды. Показано, что в составе смешанных сообществ золотистого стафилококка с некоторыми клинически-значимыми грамотрицательными бактериями происходит повышение чувствительности последних к антибиотикам широкого спектра действия. Это может быть связано как с изменением состава внеклеточного матрикса, и как следствие повышение его проницаемости для АА, так и с синтезом факторов антагонизма клетками золотистого стафилококка. При анализе биохимического состава матрикса моно- и поливидовых биопленок *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumonia* было показано, что в составе биопленки *S. aureus* – *K. pneumonia* происходит изменение биохимического профиля внеклеточного матрикса. Так, в смешанной биопленке наблюдалось значительное увеличение β -полисахаридов и снижение белкового компонента, по сравнению с мономикробными биопленками обоих видов. При анализе матрикса биопленки *S. aureus* – *P. aeruginosa* было установлено значительное снижение α -полисахаридов и белкового компонента по сравнению с биопленкой *P. aeruginosa*. Вероятно, это связано с изменениями метаболизма бактерий в ответ на межклеточные взаимодействия в составе полимикробного сообщества. Подобное изменение состава матрикса может способствовать появлению пористых структур в матриксе биопленки, что в свою очередь может приводить к повышению проницаемости матрикса для антибиотиков.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для молодых российских ученых – кандидатов наук (№ МК-3052.2021.1.4) и РФФИ (проект № 20-04-00247).

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ КАРТОФЕЛЯ

Туама А.А.¹, Хайбуллина Л.И.¹, Карамова Н.С.¹, Сташевски З.²

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

²ТатНИИСХ – структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Создание биопрепаратов на основе микроорганизмов является одним из актуальных направлений сельскохозяйственной биотехнологии, открывающим новые возможности в повышении урожайности культурных растений, повышения их устойчивости к различным стрессовым факторам окружающей среды, получения экологически безопасной продукции, а также сохранения баланса в агробиоценозах. Эндوفитные микроорганизмы, оказывающие благоприятное воздействие на жизнедеятельность растений, представляют собой перспективный объект исследований, направленных на разработку микробных биопрепаратов для применения в растениеводстве.

Целью настоящей работы явилась оценка стрессоустойчивости изолятов эндوفитных бактерий растений картофеля.

Объектом исследования служили 6 изолятов эндوفитных бактерий, выделенные из клубней и проростков семенного картофеля из коллекции ТатНИИСХ (Республика Татарстан). Исследуемые бактерии подвергались воздействию следующих абиотических факторов: УФ-излучение, высокая и низкая температуры, высокая концентрация хлорида натрия, окислительный, кислотный стрессоры.

Установлено, что все шесть изолятов эндوفитных бактерий картофеля сохраняют жизнеспособность при температуре +75°C. При понижении температуры до +4°C наблюдается отсутствие роста изолята 4.1, слабый рост изолятов: 7.3, 10.2, 17.1, 18.1 и активный рост изолята 22. Два изолята (10.2, 7.3) сохраняли жизнеспособность после УФ-излучения в течение 30 мин. Окислительный стресс, вызванный присутствием в среде перекиси водорода (3%), изменение кислотности питательной среды (рН 3.5) и осмотический шок, обусловленный 3М NaCl, вызывают значительное угнетение роста исследуемых изолятов эндوفитных бактерий. Некоторую устойчивость к окислительному стрессу демонстрировал изолят 22, осмотическому шоку – изолят 18.1.

Дальнейшее изучение физиолого-биохимических свойств изолятов эндوفитных бактерий картофеля позволит разработать микробные биопрепараты для стимуляции роста культурных растений в стрессовых условиях.

СКРИНИНГ АКТИНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ – БИОДЕСТРУКТОРОВ МЕЛОКСИКАМА

Тян С.М.¹, Тюмина Е.А.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

Мелоксикам (C₁₄H₁₃N₃O₄S₂; CAS: 71125-38-7; 4-гидрокси-2-метил-*N*-(5-метил-2-тиазолил)-2*H*-1,2-бензотиазин-3-карбоксамид 1,1-диоксид) – нестероидный противовоспалительный препарат из группы оксикамов, широко детектируемый в экологических матрицах. В настоящее время отсутствуют сведения о микробной деградации данного фармполлутанта. Среди микроорганизмов, перспективных для биоконверсии и детоксикации широкого спектра контаминантов, выделяют актинобактерии.

В работе использовали 102 штамма актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ; WDCM # 768; УНУ/ЦКП 73559/480868; www.iegmc01.ru), принадлежащие следующим видам *Gordonia alkanivorans* (2 штамма), *G. amarae* (1 штамм), *G. amicalis* (2 штамма), *G. sputi* (1 штамм), *G. rubripertincta* (14 штаммов), *Rhodococcus aetherivorans* (3 штамма), *R. cerastii* (3 штамма), *R. cercidiphylli* (1 штамм), *R. corynebacterioides* (2 штамма), *R. erythropolis* (16 штаммов), *R. fascians* (10 штаммов), *R. globerulus* (2 штамма), *R. jostii* (3 штамма), *R. maanshanensis* (2 штамма), *R. pyridinivorans* (2 штамма), *R. qingshengii* (5 штамма), *R. rhodochrous* (10 штамма), *R. ruber* (19 штаммов), *R. wratislaviensis* (1 штамм), *R. yunnanensis* (2 штамма). Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) производили с помощью микролуночного метода со специфическим окрашиванием 2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолием (INT-тест).

По нашим данным, показатели МПК мелоксикама в отношении исследованных культур варьировали от 625 до ≥ 5000 мг/л. Среди наиболее чувствительных к мелоксикаму (МПК = 625 мг/л) выявили штаммы видов *R. cerastii*, *R. fascians*, *R. yunnanensis*. К наиболее устойчивым (МПК ≥ 5000 мг/л) отнесены представители видов *G. amarae*, *R. aetherivorans*, *R. globerulus*, *R. erythropolis*, *R. jostii*, *R. pyridinivorans*. Прямой корреляции между таксономической принадлежностью актинобактерий и устойчивостью к мелоксикаму не выявлено.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-14-00132

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И МОРФОЛОГИИ БИОПЛЕНКИ *BACILLUS SUBTILIS*

Файзуллин Д.А.¹, Макшакова О.Н.¹, Зуев Ю.Ф.¹, Кобелев А.В.²,
Клементьев С.В.², Сироткин А.С.²

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН

²Казанский национальный исследовательский технологический университет

В настоящее время чрезвычайно актуальными являются процессы, связанные как с медицинскими, так и биотехнологическими исследованиями, посвященные изучению активности микробных сообществ, в частности, образованию и функционированию микробных биопленок, представляющих собой клетки микроорганизмов, иммобилизованных в полисахаридном матриксе на поверхности носителя. Для понимания этих процессов используются аналитические методы, позволяющие сохранить интактную структуру биопленок и получать оперативную информацию на протяжении всего цикла жизнедеятельности микробного сообщества.

В работе проведено сопоставительное изучение кинетики роста микробной культуры *Bacillus subtilis*, выделенной из микробного сообщества очистных сооружений, в течение 24 часов культивирования на твердом субстрате с использованием комплекса методов классической микробиологии и биохимии, ИК-Фурье спектроскопии и конфокальной микроскопии с целью получения взаимодополняющей информации о структуре и химическом составе биопленки на разных стадиях роста. Показано, что морфология биопленки изменяется от равномерного заселения поверхности носителя планктонными клетками на начальной стадии роста (6 часов) до накопления внеклеточного матрикса и образования микроколоний в экспоненциальной и стационарной фазе (12–18 часы) и постепенного истощения матрикса в фазе отмирания клеток (24 час). Суммарное накопление белков, полисахаридов и нуклеиновых кислот в биопленке в процессе культивирования меняется симбатно и коррелирует с увеличением толщины биопленки на носителе.

Массивность биопленки сопровождается накоплением во внеклеточном матриксе альфа-спирального белка, нуклеиновых кислот и полисахаридов.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что использование взаимодополняющих микробиологических, биохимических, физико-химических методов исследования позволяет получить детализированную и наиболее достоверную информацию о структуре бактериальных биопленок.

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Федорова М.С., Миронова А.В., Трizza Е.Ю., Каюмов А.Р.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

В настоящее время быстрое развитие антибиотикорезистентности связано с активным использованием антимикробных препаратов во всем мире особенно в связи с распространением коронавирусной инфекции. Одним из механизмов устойчивости бактерий к антибиотикам служит их способность к образованию биопленок. *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* – одни из самых распространенных патогенов, способные проявлять взаимодействия как синергического, так и антагонистического характера при образовании смешанных биопленок. Ранее нами было показано, что внесение культуральной жидкости *S. aureus* подавляет жизнеспособность *P. aeruginosa*. Поэтому целью данной работы было выделить фракцию внеклеточных метаболитов *S. aureus*, активных в отношении клеток *P. aeruginosa*.

Нами показано, что внесение культуральной жидкости *S. aureus* приводило к гибели открепившихся клеток *P. aeruginosa* при разбавлении культуральной жидкости в 2 раза, а клеток в биопленке - при разбавлении КЖ в 4 раза. Так как у грамположительных бактерий чаще всего секретируются антимикробные пептиды, подбирали оптимальные условия pH и температур для их выделения. В условиях повышенных температур (60°) наблюдалось снижение антибактериальной активности, а закисление среды (pH3) повышало антимикробные свойства. Так как бактериоцины часто сорбируются на поверхности клеток, проводили их десорбцию с клеток *S. aureus* в глициновом буфере (25мМ pH 2.5). Для извлечения целевых метаболитов из полученных проб отмытых клеток и культуральной жидкости, проводили ступенчатую твердофазную экстракцию с дальнейшей лиофильной сушкой. В результате наибольшая антимикробная активность наблюдалась при элюции 40%-ным раствором ацетонитрила. Ультрафильтрация проб на PES-мембранах с отсечкой 3 и 10 кДа показала, что метаболиты находятся в диапазоне до 10 кДа.

Дальнейшие исследования будут направлены на идентификацию данных метаболитов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (№20-64-47014).

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ПИЛЛАРАРЕНОВ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО А549

Хабибрахманова А.О., Назарова А.А., Зеленихин П.В.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Системы доставки лекарств (DDS), построенные на наноносителях, привлекают огромное внимание из-за их высокой биосовместимости и меньшего количества побочных эффектов по сравнению с традиционными лекарствами. Особый интерес вызывают функционализируемые пиллар[п]арены, способные эффективно связывать различные типы молекул в своих полостях, создавая серию реагирующих на стимулы супрамолекулярных амфифилов. Пилларарены также могут быть собраны в наночастицы, обладающие управляемой стабильностью.

Целью исследования являлась оценка цитотоксичности пиллараренов AsN – 294, AsN – 298, AsN – 300, AsN – 302, AIG – 205, содержащих аминокислотные и бетаиновые фрагменты, в отношении клеток аденокарциномы легкого человека А549.

Клетки А549 культивировали в 96-луночных планшетах в среде DMEM с добавлением 10% фетальной сыворотки телят, 4 мМ глутамин и по 100 ед/мл пенициллина, стрептомицина и канамицина в атмосфере 5% CO₂ при 37С. В каждую лунку планшетов вносили в суспензии 10⁴ клеток/лунку. Через сутки после посева заменяли среду в лунках на свежую с добавлением пиллараренов (AsN – 294, AsN – 298, AsN – 300, AsN – 302, AIG – 205) в концентрациях 2 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 25 мкг/мл и 50 мкг/мл. Изменение показателей жизнеспособности оценивали после 24 ч инкубирования в МТТ-тесте.

Установлено, что во всем диапазоне исследованных концентрация (2 - 50 мкг/мл) пилларарены AsN – 298, AsN – 300, AsN – 302 не обладали способностью снижать жизнеспособность клеток А549. Также было показано, что пилларарены AsN – 294 и AIG – 205 были цитотоксичны для клеток А549 в концентрациях ≥ 25 мкг/мл.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-723.2021.1.3).

ОЦЕНКА *RAD50* В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МАРКЕРА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РАКА ЯИЧНИКА К ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

Халитова И.Р., Нургалиева А.К., Киямова Р.Г.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Рак яичника (РЯ) является одним из наиболее распространенных и смертельных онкогинекологических заболеваний. Пятилетняя выживаемость пациентов составляет менее 45%. Стандартная схема лечения РЯ включает циторедуктивную хирургию в сочетании с химиотерапией на основе платины. Устойчивость опухолевых клеток к препаратам платины ограничивает их использование при запущенных стадиях РЯ. Резистентность опухолевых клеток к препаратам платины может быть вызвана повышенной способностью к репарации ДНК в клетках, в том числе за счет комплекса репарации MRN, играющего важную роль в ответе на повреждение ДНК. Нокаун гена *RAD50*, входящего в состав комплекса MRN, в клеточных линиях РЯ увеличивает чувствительность клеток РЯ к цисплатину, что делает его потенциальной мишенью для таргетной терапии и потенциальным предиктивным маркером чувствительности опухолевых клеток к препаратам платины и, возможно, другим противоопухолевым препаратам. Для работы определяли уровень экспрессии гена *RAD50* в 6-ти клеточных линиях РЯ с помощью цифровой капельной ПЦР и Вестерн-блот анализа, а также IC50 цисплатина и доксорубицина для этих клеточных линий. Корреляцию между уровнем экспрессии гена *RAD50* в клеточных линиях РЯ и их чувствительностью к цисплатину и доксорубицину анализировали по коэффициенту корреляции Спирмена (R_s) в программе GraphPad Prism. Значения абсолютной экспрессии гена *RAD50* на уровне транскрипции были определены в пределах от 19 до 67 копий транскриптов на нг РНК, а на уровне трансляции от 0,74 до 2,63 отн. ед. Значения IC50 доксорубицина и цисплатина составляли для клеточных линий OVCAR3 – 1,284мкМ и 12,47мкМ, OVCAR4 – 1,22мкМ и 8,73мкМ, OVCAR8 – 1,16мкМ и 4,72мкМ, SAOV3 – 0,57мкМ и 2,44мкМ, SKOV3 – 1,14мкМ и 5,3мкМ и A1847 – 1,41мкМ и 6,86мкМ соответственно. Корреляции между уровнем экспрессии гена *RAD50* на уровне транскрипции и трансляции и чувствительностью клеток рака яичника к препаратам цисплатин и доксорубицин не выявлено.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

ГАЛОТОЛЕРАНТНЫЙ ШТАММ *DIETZIA MARIS*,

ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ МЕСТОРОЖДЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ СОЛЕЙ

Харитонов М.А.¹, Куприянова-Ашина Ф.Г.¹, Терегулова Д.Р.¹, Шакиров Т.Р.²,
Вафина М.С.², Ильинская О.Н.¹

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ

² АО "Центральный Научно-Исследовательский Институт геологии нерудных
полезных ископаемых"

Среды обитания галофильных и галотолерантных бактерий разнообразны и многочисленны, к ним относятся моря, океаны, соляные озера, солончаки. Гиперсалиновые среды обитания формируются и в результате таких антропогенных воздействий как промышленные разработки месторождений калийно-магниевых и натриевых солей.

В скважинном рассоле Якшинского месторождения минеральных солей в результате прямого микроскопирования окрашенных методом Грама препаратов были обнаружены объекты в форме кокков или эллипсов (коротких палочек) сине-фиолетового цвета. Анализ минерального состава проб показал, что основным компонентом рассола является NaCl, присутствующий в доле 71,5% (галит). Содержание MgCl₂ (MgCl₂·6H₂O, бишофит) и KCl (сильвин) примерно одинаково, около 12%, CaSO₄ (ангидрит) содержится в меньших количествах (3,8%). Через 48 часов после посева образцов на солевой агар (концентрация NaCl 6%) фиксировали однородные мелкие колонии бежевого цвета диаметром до 2 мм. К 72 часу роста колонии приобретали оранжевый оттенок. Затем пигментация становилась более интенсивной, образовывались выпуклые, блестящие, кораллово-красного цвета колонии с ровными краями, состоящие из грамположительных не споровых кокковых и эллипсоидных клеток, редко образующих V-образные формы. Для MALDI-ToF MS анализа было отобрано 8 отдельных колоний. В результате идентификации было установлено, что исследуемый микроорганизм является представителем актинобактерий – *D. maris* (показатель достоверности результата 99,9). Для определения диапазона галотолерантности полученный изолят выращивали в минимальной среде в пределах интервала изменений солёности от 1 до 10%. Установлено, что выделенный штамм *D. maris* способен к росту при высоких концентрациях солей, приближающихся к насыщению скважинного рассола (11%), хотя интенсивность роста при концентрациях соли выше 7% снижается втрое.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда No 22-24-00036

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ДЕТЕКЦИЯ ПЛАЗМИД ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ПРОДУЦИРУЮЩИЕ КАРБАПЕНЕМАЗЫ ОХА-48, ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Шайдуллина Э.Р.^{1,2}, Марданова А.М.¹, Эйдельштейн М.В.²

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

² Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск

Klebsiella pneumoniae, продуцирующие карбапенемазы (КП), являются серьезной проблемой. В России КП группы ОХА-48 составляют более 70% от всех типов КП *K. pneumoniae*. Нами представлены результаты исследования генетического разнообразия ОХА-48-продуцирующих изолятов *K. pneumoniae* в России, а также распространенность различных типов плазмид, несущих ОХА-48-подобные КП, внутри вида. Проведено полногеномное секвенирование 131 неповторяющегося изолята *K. pneumoniae* из 22 стационаров 16 городов России, собранных с 2013 по 2017 гг. Геномную ДНК выделяли с помощью DNeasy Blood and Tissue kit. Секвенирование и сборку генома проводили на платформе NGS MiSeq и в программе SPAdes v3.14.1. Наличие генов КП определяли с помощью веб-платформы amrseq (<https://amrseq.net/ru/>). Типирование изолятов проводили с использованием (<https://bigsdbs.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>). Плазмиды определяли с помощью программы mob-suite v3.0.3 с обработкой в CLC Genomics Workbench v8.0. Среди изученных изолятов *K. pneumoniae* у 128 обнаружен ген *bla*ОХА-48, у 3 изолятов – *bla*ОХА-244, из группы ОХА-48-подобных КП. По данным генотипирования изоляты ОХА-48-СРКР отнесены к 21 сиквенс-типу, из которых 69,5% составляют два сиквенс-типа: ST395 – 58,8% и ST307 – 10,7%. Три изолята, несущих ген *bla*ОХА-48, принадлежали к гипервирулентному клону CG23 (2 изолята ST23 и один – ST218). У 71 изолята ген *bla*ОХА-48 или *bla*ОХА-244 располагался на плазмиде группы IncL, у 54 – на плазмиде группы IncM2. Плазмиды группы IncL или IncM2 обнаружены у изолятов 20 различных сиквенс-типов, в том числе у трех гипервирулентных изолятов. У двух изолятов ST395 и ST307 ген *bla*ОХА-48, расположен на рLAU-ОХА-48-подобной плазмиде. У одного изолята ST3228 ген *bla*ОХА-48 расположен на плазмиде группы IncR. В России среди изолятов ОХА-48-СРКР преобладающим генотипом является ST395. Распространение ОХА-48-подобных КП происходит за счет их передачи в составе плазмид группы IncL или IncM2 (ранее объединенных в группу IncL/M) как внутри одной клональной линии, так и между разными клонами внутри вида *K. pneumoniae*.

ВЛИЯНИЕ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА МОТОРИКУ ТОЛСТОЙ КИШКИ МЫШИ ПРИ ДИСБИОЗЕ, ВЫЗВАННОМ ВВЕДЕНИЕМ АНТИБИОТИКОВ

Шайдуллов И.Ф., Тарасова А.С., Ситдикова Г.Ф.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) – (ацетат, пропионат и бутират) – ключевые микробные продукты, находятся в толстой кишке в миллимолярных концентрациях в соотношении 3:1:1. Наиболее распространенные продуценты КЦЖК относятся к *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Clostridium* и *Eubacterium*. Показано, что в толстой кишке человека концентрации КЦЖК могут достигать до 150 мМ, играя важную роль в регуляции перистальтики. Нарушение микробиоты, вызванное приемом антибиотиков (АБ), приводит к созданию аэробной среды и размножению аэробных бактерий, таких как *Salmonella typhimurium*, способствуя нарушению проницаемости, барьерных функций и моторики кишечника. Целью работы было изучение влияния КЦЖК на спонтанную активность толстой кишки мыши в условиях дисбиоза, вызванного введением АБ. Исследовали две группы мышей: контрольную и АБ-группу, получавшую коктейль АБ (неомицин, ванкомицин, амфотерицин В, ампициллин и метронидазол). Сегменты толстой кишки обладали спонтанной сократительной активностью, интенсивность которой была повышена в группе АБ. В контроле средняя частота сокращений составила $2.34 \pm 0.1 \text{ мин}^{-1}$, а в группе АБ – $3.21 \pm 0.11 \text{ мин}^{-1}$, средняя амплитуда $0.77 \pm 0.03 \text{ г}$ и $0.89 \pm 0.04 \text{ г}$ соответственно ($p < 0.05$). Кумулятивная аппликация ацетата, пропионата или бутирата натрия в концентрациях от 0.5 до 10 мМ вызывала дозозависимое снижение частоты и амплитуды сокращений в обеих группах, при этом ингибирующие эффекты бутирата натрия были наиболее выраженными. В контрольной группе бутират натрия (10 мМ) снижал амплитуду сокращений с $0.77 \pm 0.03 \text{ г}$ до $0.13 \pm 0.01 \text{ г}$ ($p < 0.05$). В группе АБ сегменты толстой кишки были менее чувствительными к ингибирующему эффекту КЦЖК, амплитуда сокращений при действии бутирата снижалась с $0.89 \pm 0.04 \text{ г}$ до $0.49 \pm 0.01 \text{ г}$ ($p > 0.05$), а угнетающий эффект на частоту сохранялся ($p < 0.05$). АБ приводили к повышению частоты и амплитуды спонтанной сократительной активности сегментов толстой кишки, КЦЖК проявляли ингибирующие эффекты.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект №19-315-90084.

МИКРОФЛОРА АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК БРАХИЦЕФАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ

Шарифуллина Д.М.¹, Поздеев О.К.², Хайруллин Р.Н.¹

¹ГАУЗ «Межрегиональный клиничко-диагностический центр», Казань

²Казанская государственная медицинская академия, филиал ФГБОУ ДПО
РМАНПО Минздрава России, Казань

Несмотря на очевидные успехи в профилактике, диагностике и лечении атеросклероза, его клинические проявления представляют собой наиболее частую причину смерти и являются одним из важнейших источников заболеваемости, инвалидности и госпитализации. К настоящему времени разработано несколько теорий атерогенеза, ставящих во главу угла накопление липидов и дисфункции эндотелия. На рубеже тысячелетий должным образом была осознана важность воспаления в патогенезе атеросклероза и в последующие десятилетия они стали основной темой исследований. Тем не менее, инфекционная природа атеросклероза, предположение о которой еще в XIX в. высказал Р. Вирхов, до настоящего времени роль остается предметом дискуссий. С этой целью нами было предпринято изучение микробной обсемененности атеросклеротических бляшек пациентов с атеросклеротическим поражением сонных артерий. Цель – оценить частоту обнаружения микрофлоры в атеросклеротических бляшках.

Образцы атеросклеротических бляшек (АБ) сонных артерий были отобраны у 1315 пациентов (400 женщин и 915 мужчин) в возрасте 31-90 лет (средний возраст 64,4 лет), перенесших каротидную эндартерэктомию. Образцы забирали в асептических условиях в операционных Межрегионального клиничко-диагностического центра (Казань, Россия). Отрицательным контролем на этапе забора биоптата служил «манекен бляшки» (стерильная марлевая салфетка, шарик), устанавливаемый на стол в операционной комнате на весь период извлечения АБ. Фрагмент АБ размером 2-3 см. и фрагменты «манекена бляшки» погружали в стерильную пробирку с 9 мл. жидкой тиогликолевой среды (Himedia, Индия) и немедленно доставляли в лабораторию, где помещали в термостат при 35 °С. Посевы просматривали ежедневно в течение 60 суток. При появлении в пробирках видимых признаков роста проводили высеивание на твердую питательную среду – основу кровяного агара (Pronadisa, Испания) с добавлением 5% крови дефибринированной барана (КА) и агар Шедлера (Pronadisa, Испания) с 5% дефибринированной крови барана. Посевы культивировали 48 часов при 35 °С в аэробных и анаэробных

условиях соответственно. При наличии роста на плотных средах проводили идентификацию аэробных и анаэробных культур с помощью наборов МИКРО-ЛА-тест СТАФтест и АНАЭРОтест (Lachema, Чехия) соответственно. При обнаружении пророста в «манекене бляшки», все результаты посева АБ выбраковывали.

Частота обнаружения микроорганизмов в биоптатах атеросклеротических бляшек больных с атеросклерозом брахицефальных артерий у мужчин в 2,6 раза чаще ($78,6 \pm 1,4$ %), чем у женщин ($29,8 \pm 2,3$ %), что достигало границ статистической достоверности. Всего было выделено 911 изолятов микроорганизмов: *Propionibacterium acnes* – 368 изолятов, *Propionibacterium avidum* – 1, *Staphylococcus spp.* – 467, *Staphylococcus epidermidis* – 67, *S.aureus* – 2, *S.capitis* – 2, *S.warneri* – 1, *Enterococcus faecalis* – 2, *Enterobacter kobei* – 1. Наиболее часто обнаруживали *P. acnes* и виды *Staphylococcus*, частота обнаружения этих микроорганизмов составила у мужчин $33,8 \pm 1,6$ % и $51,8 \pm 1,7$ %; у женщин $14,8 \pm 1,8$ % и $16,3 \pm 1,8$ %; ассоциаций двух микроорганизмов у мужчин $7,3 \pm 0,9$ %, и у женщин $1,5 \pm 0,6$ %.

Наше исследование выявило присутствие жизнеспособных микроорганизмов в образцах биоптатов атеросклеротических бляшек и вполне возможно, что они вносят свой вклад в патогенез атерогенеза. Более детальное изучение их этиологической значимости в формировании атеросклеротических бляшек требует проведения дальнейших исследований.

МИКРОФЛОРА КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ БРАХИЦЕФАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ

Шарифуллина Д.М.¹, Поздеев О.К.², Хайруллин Р.Н.¹

¹ГАУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр», Казань

²Казанская государственная медицинская академия, филиал ФГБОУ ДПО
РМАНПО Минздрава России, Казань

Атеросклероз, клинические манифестации которого связаны с ишемией органов кровоснабжаемых пораженными артериями, представляет мультисистемную глобальную проблему современного здравоохранения. Участие в патогенезе атеросклероза воспалительного процесса позволяло предположить, что в иницировании атерогенеза важную роль могут играть инфекционные агенты. Многие микробные продукты способны вызывать альтерацию и пролиферацию клеток эндотелия и гладких мышц, активировать макрофаги интимы артерий, индуцируя их трансформацию в пенистые клетки, насыщенные эфирами холестерина. Пролиферация клеток эндотелия и гладких мышц и активация макрофагов с образованием пенистых клеток приводят, в конечном итоге, к формированию атеросклеротических бляшек. Можно полагать, что проникновение микроорганизмов в очаги изменений в сосудистой стенке происходит гематогенным путем. Для этого нами было предпринято изучение микробной обсемененности периферической крови пациентов с атеросклеротическим поражением сонных артерий.

Для выделения гемокультур была отобрана кровь 151 пациентов (118 мужчин и 33 женщины) в возрасте 31-70 лет. Все участники исследования подписывали информированное согласие, протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ГАУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр», протокол № 46 от 03.07.2013г. Все обследуемые имели нормальную температуру тела накануне и в день обследования, а также не принимали антибактериальные препараты.

Образцы крови отбирали перед операцией в асептических условиях в объеме 8 мл во флаконы для анаэробного выращивания гемокультур Bactec (Becton Dickinson, США) и помещали в автоматический бактериологический анализатор Bactec 9050 (Becton Dickinson, США) на 5–7 суток. В последующем флаконы продолжали инкубировать в течение 6 месяцев при 35° С. Высевы из флаконов на кровяной агар (КА) и агар Шедлера (BioRad, Франция) с 5% дефибринированной кровью барана проводили на 7, 14, 28 сутки культивирования и далее не реже 1 раза в месяц. В аэробных условиях чашки

инкубировали 2-4 дня при 35 °С, в анаэробных – 48 часов. При наличии роста на плотных средах идентификацию аэробных и анаэробных культур проводили с помощью наборов МИКРО-ЛА-тест, СТАФтест и АНАЭРОтест (Lachema, Чехия). В качестве методов анализа межгрупповых различий результатов использовали методы, основанные на определении t-критерия Стьюдента и U критерия Манна-Уитни.

Частота обнаружения микроорганизмов в периферической крови больных с атеросклерозом составила $11,3 \pm 2,6\%$. Рост микроорганизмов обнаружен в 17 образцах, у 16 мужчин ($13,6 \pm 3,2\%$) и 1 женщины ($3,0 \pm 3,0\%$), ($p > 0,05$). Выросшие бактерии были идентифицированы как *P. acnes*, *Staphylococcus epidermidis* и *Stenotrophomonas maltophilia*. *P. acnes* обнаружен у 14 мужчин ($11,9 \pm 3,0\%$) и у одной женщины ($3,0 \pm 3,0\%$). Среди пациентов мужчин в возрасте 51-60 лет в 7 ($18,4 \pm 6,3\%$) из 38 проб периферической крови были обнаружены *P. acnes*, в одной пробе – *S. epidermidis* ($2,6 \pm 2,6\%$) и в другой пробе *S. maltophilia* ($2,6 \pm 2,6\%$). Эти данные коррелируют с данными, полученными ранее другими авторами. В частности, С. Dagmadgaar с соавт. (2015) при посевах крови доноров 50-летнего возраста обнаружил жизнеспособные *P. acnes* (23%), *S. epidermidis* (38%), *S. caprae* (8%), *Micrococcus luteus* (5%) и *Acinetobacter lwoffii* (3%). Можно полагать, что факт существования потенциально жизнеспособных микроорганизмов в крови здоровых людей может иметь значение в патогенезе атеросклероза, например, в качестве пускового фактора формирования бляшек.

В крови больных атеросклерозом лиц обнаруживаются культуры *P. acnes*, *Staphylococcus epidermidis* и *Stenotrophomonas maltophilia*. Можно полагать, что факт существования потенциально жизнеспособных микроорганизмов в крови людей может иметь значение в патогенезе атеросклероза, например, в качестве пускового фактора формирования бляшек. Более детальное изучение этиологической значимости микробного фактора в формировании атеросклеротических бляшек требует проведения дальнейших исследований.

ДИЗАЙН ПРАЙМЕРОВ К ГЕНАМ БИОМАРКЕРОВ НПВС-ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У РОДОКОККОВ

Ширяева Е.Н.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

В процессе бактериального разложения ксенобиотиков, в том числе фармполлютантов, генерируются активные формы кислорода. Для изучения уровня окислительного стресса родококков под воздействием фармпрепаратов группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) необходимо произвести биоинформационный поиск генов, запускающих антиоксидантные защитные механизмы. Использовали штамм-биодеструктор моноциклического НПВС ибупрофена *Rhodococcus cerastii* ИЭГМ 1278 (GenBank MZ234149). В базе данных NCBI представлены исключительно частично секвенированные последовательности 16S рРНК штаммов *Rhodococcus cerastii*, как необходимый минимум для видового определения прокариотов. В программе BLAST обнаружено, что последовательности 16S рРНК штаммов, принадлежащих к видам *R. cerastii* и *R. fascians*, совпадают на 98% и более, что позволяет считать данные таксоны близкими. Среди всех представленных в базе данных NCBI штаммов *R. fascians*, D188 (GenBank CP015235.1) – единственный штамм, имеющий аннотированную полногеномную последовательность. Для данного штамма произведен поиск генов, отвечающих за синтез супероксиддисмутазы (*sodA*) и рекомбиназы А (*recA*). Супероксиддисмутаза (СОД) катализирует процесс дисмутации супероксидного радикала в H_2O_2 и O_2 . H_2O_2 далее под действием каталазы и глутатионпероксидазы превращается в воду и кислород. Наличие в клетках СОД является показателем окислительного стресса и работы антиоксидантных систем. В геноме *R. fascians* D188 была обнаружена одна последовательность, отвечающая за синтез СОД – NZ_CP015235.1. Для нее подобраны праймеры (размер продукта 400 п.н.): прямой CCAGTTGACGACGTTCCAGA, обратный CATCACCGGTCATCAGGGTC. Присутствие рекомбиназы, ответственной за репарацию ДНК, может свидетельствовать о наличии различных видов стресса. В геноме *R. fascians* D188 была обнаружена одна последовательность, отвечающая за синтез рекомбиназы А – NZ_JMFB0100029.1. Для представленной последовательности подобраны следующие праймеры (размер продукта 350 п.н.): прямой CAACCAGTTGCGCGAAAAGA, обратный TGAACCTTACGGGCGTTCTCC.

Исследование выполнено в рамках госзадания АААА-А19-119112290008-4.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ В ОТНОШЕНИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА

Эркинова Д.Э.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань

Масштабы распространения устойчивости бактерий к антибиотикам по всему миру увеличивается до угрожающих уровней. С каждым днём появляются все новые механизмы уклонения патогенных микроорганизмов от специфической терапии. Эта глобальная проблема влечёт за собой тяжелые течения заболеваний и летальные исходы. Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) – это один из главных представителей антибиотикорезистентных бактерий. Его обнаруживают на слизистых оболочках и кожи у трети населения Земли. Эта бактерия обладает быстрыми и сильными механизмами приспособления к избирательному действию антибиотиков. На сегодняшний день более половины всех заболеваний, вызываемых *S. aureus*, связана со штаммами, устойчивыми к пенициллину, метициллину, тетрациклину, эритромицину. Такое положение заставляет врачей назначать комбинированные антибиотики широкого спектра действия, что в свою очередь приводит к антибиотикорезистентности условно-патогенной микробиоты человека. Следовательно, возникает необходимость внедрения новых форм лекарственной терапии, а именно препаратов на основе микроорганизмов, которые будут губительны для устойчивых штаммов *S. aureus*. В качестве такой формы может быть использован бактериофаг, избирательно поражающий и активный только в отношении определенного вида патогена, но нейтральный в отношении других видов, составляющих микробиоту человека. В основе нашей работы лежит применение препарата, который представляет собой стерильную суспензию фаговых частиц в физиологическом растворе и вспомогательных веществ. Методом дисков, основанном на способности бактериофагов диффундировать из пропитанных ими бумажных дисков в питательную среду, на которой были выращены резистентные бактерии, показан зоны лизиса (0,8–10мм), что свидетельствует об эффективности антистафилококкового бактериофага.

Таким образом, незаслуженно недооцененные препараты бактериофагов, являются перспективными представителями лекарственных форм в существующем терапевтическом классе.

ENGLISH ABSTRACTS

GENES OLI2, OLI5 AND OLI7 IN *ARABIDOPSIS THALIANA* HAS TWO FUNCTIONS IN COMMON: TELOMERE FUNCTION AND RIBOSOME FUNCTION

Abdulkina L.R.¹, Valeeva L.R.¹, Shakirov E.V.^{1,2}

¹Kazan (Volga region) Federal University

²Marshall University, Huntington, WV, USA

Telomeres are specialized, complexly organized nucleoprotein structures located at the ends of the chromosomes of most eukaryotic cells. Telomeres are involved in protecting the genetic material, maintaining its structure, fixing it in the nuclear matrix, regulating genes and ensuring the course of cell aging processes with an increase in the number of replications passed. In view of the multiplicity of conservative processes concerning the biology of telomeres, it seems important to study them in the greatest possible variety. In addition, different biological research objects have limitations in carrying out certain experiments. The variety of research objects in this topic allows obtaining previously unknown details not about only the biology of telomeres. For example, our studies of the genetic architecture of telomere length control in a model plant *A. thaliana* identify the OLI2 / NOP2A gene as an important factor in the control of intraspecific polymorphism in plant telomere length. The homologue of the OLI2 / NOP2A gene in the human genome is the NOP2 gene (> 60% protein identity at the amino acid level). NOP2 possesses S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase activity, specifically methylating the C5 position in cytosine 4447 in 28S ribosomal RNA. Our studies using the *A. thaliana* model system allowed us to obtain data that OLI2 / NOP2A, as well as its ribosomal partner proteins OLI5 (RPL5A) and OLI7 (RPL5B), are master regulators that control the establishment of the minimum required telomere length. The RPL5A and RPL5B genes encode highly conserved variants of ribosomal protein 5, the main structural component of the 60S large ribosome subunit. In the future, we plan to study the molecular and genetic basis of the relationship between two functions performed by the same genes.

This work was supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program and Russian Science Foundation project 21-14-00147.

THE ROLE OF OLIGOCELLULA PATHWAY IN TELOMERE LENGTH REGULATION OF *ARABIDOPSIS THALIANA*

Agabekian I.A.,¹ Shakirov E.V.^{1,2}

¹Kazan (Volga-region) Federal University

²Marshall University, Huntington, WV, USA

Telomeres are important nucleoprotein structures at the ends of eukaryotic chromosomes. Telomeres are required for proper genome maintenance and regulation of cellular life span. Telomeres in plants consist of repetitive DNA tracts with hundreds of TTTAGGG repeats. Few genes involved in telomere length control are currently known. We previously analyzed telomere length in 19 natural populations and 480 recombinant inbred MAGIC lines of *Arabidopsis thaliana* and through QTL mapping identified OLI2/NOP2A gene as a master regulator of telomere length. Several genes of the same genetic OLIGOCELLULA pathway are also involved in the regulation of plant telomere length, in particular genes OLI5 / RPL5A and OLI7 / RPL5B. However, there are more genes from this pathway, but their role in the regulation of cell proliferation and telomere biology is less understood. The goal of this research is to characterize the role of *Arabidopsis* OLI1/HOS15 gene in telomere length regulation. OLI1/HOS15 in *Arabidopsis* encodes a transcriptional corepressor and substrate receptor in an E3 ubiquitin ligase complex, and it regulates plant immunity. We analyzed three consecutive generations of the *Arabidopsis* mutant line of OLI1/HOS15 gene from the GABI-KAT collection (GABI_785B10). Plants were genotyped for the presence of T-DNA insertion in the OLI1/HOS15 gene, and telomere length was measured by telomere restriction fragment assay that utilizes DNA hybridization with digoxigenin (DIG) probe. Our results indicate that later generations of the homozygous oli1/hos15 mutants display longer telomeres as compared to wild type plants. Overall, our work indicates that OLIGOCELLULA pathway play an important role in the natural control of telomere length regulation in *Arabidopsis thaliana*.

This work was supported by the Russian Science Foundation (project number 21-14-00147).

MONITORING OF CELLULAR VIABILITY AND SPORULATION PROFICIENCY OF MUTANT SPO0A STRAIN OF *BACILLUS SUBTILIS*

Arefyeva D.V., Nadyrova A.I., Ulyanova V.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Nucleic acids provide sources of carbon, nitrogen and phosphate and consequently, bacteria often secrete nucleases to facilitate the recovery of these essential nutrients from environmental DNA and RNA. Several representatives of *Bacillus* genus, including *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. altitudinis* and *B. licheniformis* secrete low-molecular weight guanyl-preferring ribonucleases. Generally, ribonucleases secreted by *Bacillus* species are induced at low phosphate concentrations and repressed at high concentrations. The adaptation of *B. subtilis* to phosphate-starvation conditions involves the activation of PhoP regulon. Genes of the *B. subtilis* Pho regulon are controlled by at least three two-component signal transduction systems, including PhoP-PhoR, ResD-ResE and Spo0A, the initiator of sporulation. The Spo0A protein regulates the production of RNase, realizing negative control of PhoP regulon. It was shown, that RNase production level in recombinant *B. subtilis* strains with defective Spo0A protein, was 6-fold higher than that of native strain. Earlier, on the basis of microbiology department of Kazan Federal University several mutant spo0A-defective strains of *B. subtilis* were obtained. However, during long-term storage, cells could lose their viability. The aim of this work is to monitor the viability and sporulation proficiency of mutant spo0A-defective strains of *B. subtilis*. *B. subtilis* TMB 205 Spo0A::tet, *B. subtilis* (1S53) Δ 667 Spo0A, *B. subtilis* SWV215 Spo0A::km, *B. subtilis* 168 strains were used. Cells were stained using Gram staining technique, spores were coloured with malachite green using the Schaeffer-Fulton method. Culture growth characteristics of *B. subtilis* strains were observed on LB medium. Cells formed a typical film on the surface of the turbid medium. On the agar plates bacilli formed rough and viscous colonies. Large elongated gram-positive rods with rounded ends were observed in *B. subtilis* 168 smears. In the *B. subtilis* SWV215 smear, thin and long gram-positive rods were found, which are untypical of this species. At the same time, *B. subtilis* TMB205 cells much smaller than the wild strain. After staining with malachite green, it was found that *B. subtilis* 1S53 cells contained a large amount of spores, which indicates a possible mutation reversion. The viability of all three studied Spo0A defective strains was confirmed. However, during microscopy it was shown that only *B. subtilis* TMB 205 cells are viable and don't form spores, that make it suitable for further research.

BUTIRIC ACID, MICROBIOTA METABOLITE, PREVENTS BEHAVIORAL IMPAIRMENTS AND OXIDATIVE STRESS IN MICE WITH DISBIOSIS

Arslanova A., Tarasova A., Yarullina D., Yakovleva O., Sitdikova G.

Kazan (Volga Region) Federal University

Gut microbiota is a community of bacteria in the intestine that helps to maintain a dynamic and metabolic balance in the body. The microbiota offers many benefits to the host such as strengthening gut integrity or shaping the intestinal epithelium, harvesting energy, protecting against pathogens, and regulating host immunity, produces hormones and vitamin K. This bilateral communication system forms the axis "microbiota-gut-brain". Therefore, changes in the intestinal microbiota can affect the functions of the gastrointestinal system and the central nervous system. Changes in microbiota contribute to various diseases including depression, anxiety-phobic states. In our study we analyzed the motor and emotional behavior and the level of oxidative stress of mice with altered microbiota.

Experiments were performed on mice divided into 3 groups: 1) a control group (i.p. injections of saline, n=15); 2) mice receiving injections of antibiotics (cocktail of Neomycinum, Vancomycinum, Amphotericin B, Ampicillinum, Metronidazolium), AB group, n=15); 3) mice receiving injections of antibiotics together with supplementation of butyric acid (0,7 g/ml in saline per os, AB+BA, n=15). Behavior of mice was assessed in the Open Field, Rotarod, Power Grid, Light-Dark Box, Integral Anxiety Test, Hot Plate and Von Frey Test.

In the control group of animals, no changes were observed in all tests. AB group demonstrated a significant increase in horizontal activity compared to the control and AB+BA groups which may indicate the elevation of the anxiety. Vertical activity in the AB group did not change significantly. The shorter time spent on the rotating cylinder in Rotarod test was shown for AB group ($p < 0.05$) compared to the control and AB+BA groups. The level of malone dialdehyde (MDA) was increased and the activity of glutathione peroxidases was decreased in muscle and brain of AB group compared to the control and AB+BA groups. Concentration of glutathione decreased in the AB group animals and butyrate treatment restored its concentration to control values.

Thus, disturbance of the gut microbiota in mice leads to impaired motor coordination and increased anxiety accompanied by higher production of the reactive oxygen species. Supplementation with butyrate prevented the observed changes, which indicates on a positive effect of metabolites of normal microflora on the mice behavior which is partially mediated by the reduction of the level of oxidative stress.

THE CYTOTOXICITY OF BINASE TOWARDS EGFR-OVEREXPRESSING SKIN CANCER CELL LINE A431

Asmandiyarova V.A., Dudkina E.V.
Kazan (Volga Region) Federal University

The development of new methods of antitumor therapy is one of the most promising areas of modern medicine. To date, cancer treatment methods have a positive trend only at the early stages of the disease, but with the development of progressive cancer, which has metastatic activity, therapy becomes only supportive. Despite the great achievements made in cancer therapy, currently the treatment of metastatic cancer types does not have the proper therapeutic effect, and the chemotherapy is characterized by the high systemic toxicity.

Ribonucleases (RNases) represent a new class of antitumor drugs due to their selective cytotoxic action against tumor cells. Among microbial RNases the most known is RNase from *Bacillus pumilus* (binase). The ability of binase to induce the death of tumor cells is due to a number of molecular determinants. Among them, the ability of the enzyme to penetrate into tumor cells and interact with oncogenes, its catalytic activity and structural organization play a special role. Binase has selectivity against cancer cells that express specific oncogenes: ras, kit, AML/ETO, FLT3, E6, E7 and does not act on normal cells. In addition, the enzyme does not induce a polyclonal T-cell response, which indicates its low immunogenicity. It has been shown that the apoptosis-inducing effect of binase is mediated by its direct interaction with RAS protein, which leads to the inhibition of the MAPK/ERK signaling pathway and, as a result, cell death. We have obtained preliminary data on the ability of binase to interact with the EGF receptor, which probably determines the sensitivity of tumor cell lines overexpressing EGFR to binase.

Here, we first estimated the cytotoxic potential of binase against EGFR-overexpressing human squamous carcinoma cell line A431. Cell viability was appreciated by the degree of MTT transformation into formazan by mitochondrial reductases. The high sensitivity of A431 cells to binase was revealed. It was shown that binase at the concentration of 300 µg/ml decreased the cell viability of A431 cells by 50 % at 48 h of cultivation. Thus, in this work we have demonstrated that binase has a high degree of toxicity against human squamous carcinoma cell line A431 which is probably due to the overexpression of EGFR in these cells. The obtained results confirm that EFGR is one of the targets of binase antitumor action, which opens up new possibilities for binase application in antitumor therapy.

The study was supported by the Russian Science Foundation (project 21-74-10036).

ANALYZING MICROARRAY OF THE EFFECT OF CIPRO ON WT AND LEXA MUTANT *S. AUREUS* CELLS USING DEEP LEARNING

Ataei A., Rizvanov A.A.

Kazan (Volga-region) Federal University

Infections caused by *Staphylococcus aureus* can be difficult to treat due to both its multidrug resistance and its capacity to persist in the host. Persistence and evolution of resistance may be influenced by several complex regulatory networks, including the SOS response, which modifies transcription in response to environmental stress. Infections caused by *S. aureus* can range from food poisoning and skin abscesses to more serious diseases such as pneumonia, meningitis, endocarditis, septicemia, and toxic shock syndrome. Despite the ability to adapt and persist, *S. aureus* infections are often difficult to treat, even with antibiotics. The transcriptional regulation of stress response genes is thought to be associated with adaptability and virulence.

We evaluated the global transcriptional response of *S. aureus* that used in to ciprofloxacin and understand how it persists during antibiotic therapy and becomes resistant. Earlier the global transcriptional responses of *S. aureus* 8325 30 and 120 min after exposure to ciprofloxacin was reported. In this study Deep Learning is used for further analysis of this data. The deep learning method is one of a family of machine learning methods based on artificial neural networks and representational learning. Deep learning uses multiple layers to progressively extract higher-level features from the raw input. Using deep learning-based analysis, we found that ciprofloxacin induces prophage mobilization and significant metabolic changes including an increase in the tricarboxylic acid cycle. Due to several complex regulatory networks that respond to environmental stress, staphylococcus aureus is a leading cause of human disease and can be challenging to treat because it is multi-drug resistant as well as remarkable for its ability to persist in the host.

For each of the cultures, OD600 and viable cfu per ml were measure. After the sample collection period, total RNA was extracted with the RNeasy Mini kit (Qiagen) and deep learning analysis. To obtain 3 samples for each strain, this procedure was repeated three times independently. Additionally, we examined induced mutations and found that either the inability to derepress the SOS response or the absence of the LexA-regulated polymerase renders *Staphylococcus aureus* incapable of accumulating antibiotic resistance in vitro in response to UV damage. Studies suggest that increased tricarboxylic acid cycle activity and induced mutations aid *Staphylococcus aureus* to persist during antibiotic therapy and develop resistance.

MORE ACCURATE AND FASTER ONE-WAY AND TWO-WAY ANOVA USING THE POSSIBILITY OF BIOINFORMATIC

Balandina A.V., Lopukhov V.L.

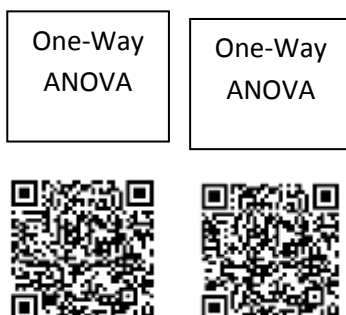
Kazan (Volga Region) Federal University

One-way and Two-way analysis of variance (or One/Two – Way ANOVA) are methods which allow to compare affected by different types and complex of factors. These methods are based on t-test and can be used for analysis any number of groups and are most efficient method available for the analysis of experimental data. To analysis our experimental data was chosen One-way and Two-way ANOVA. In process of analysis we faced a number of problems. Online services and programs require specific data preprocessing, including manual data transfer or special format of data for ANOVA. These additional manipulations could be a source of mistakes and spend a lot of researchers time. At last we could not confide these results.

Because of we decided to create a convenient and reliable way for One-way and Two-way ANOVA which we could use for our data. For this we used Python 3.6 by making script which used fundamental packages like “Numpy”, “Pandas”, “Matplotlib” and a special statistic packages like “Scipy.Stat”, “Statmodels”. In this script researchers can load data in format of excel, csv or other. First, loaded data can be presented as a table and in the form of a boxplot. After these we analyze our data first One-way ANOVA, second if we have extra parameter Two-way ANOVA we also analyze it. Results can download in excel format or image.

Results was verify using program “Statistica 13”. Our analysis applying script in Python 3.6 we consider reliable. Our script is freely available and you can find it on a GitHub platform using QR-code bellow.

In this way, we have achieved more accurate and faster method analysis of experimental data with One-way and Two-way ANOVA with use Python 3 programming language.



CELL SURFACE CHARACTERISTICS OF *LACTOBACILLUS SPP.* AND THEIR ABILITY TO FORM BIOFILMS

Bruslik N.L.^{1,2}, Konnova S.A.¹, Fakhrullin R.F.¹, Yarullina D.R.¹

¹Kazan (Volga Region) Federal University

² Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology

For probiotic strains, including *Lactobacilli*, the ability to form biofilms is considered as essential factor for the long-term persistence in host organism. Bacterial adhesion to host cells, which strongly depends on the physicochemical properties of the bacterial cell surface, is the initial step that determines subsequent biofilm formation. The aim of this work was to characterize biofilm formation by 19 *Lactobacillus* strains and to investigate the role of physicochemical properties of lactobacilli cell surface in their colonization ability.

Our results showed that the cell surface physicochemical characteristics such as hydrophobicity, electron donor properties, and zeta potential differed significantly among investigated *Lactobacillus* strains. Hydrophobicity varied in a wide range from 0.7 % (*L. plantarum* 8PA3) to 89.5 % (*L. fermentum* 3-3, *L. fermentum* 5-1). Based on adhesion to n-hexadecane, seven of 19 strains were considered strongly hydrophilic (< 10%), six strains were strongly hydrophobic (> 55%), two strains were moderately hydrophilic (10–29%), and four strains were moderately hydrophobic (30–54%). When compared to the hydrophobicity, the affinities with chloroform were significantly increased in almost all strains, indicating they all possess electron donor properties. The least affinities with chloroform were observed in *L. fermentum* 7-1 (3.8±2.4 %) and *L. plantarum* 8PA3 (11.4±1.4 %), while the greatest affinity was observed in *L. fermentum* 5-1 (98.1±1.3 %). The surface charge of lactobacilli was negative for all strains and ranged from – 1.13 mV (*L. fermentum* 3-1, *L. plantarum* Ga) to – 30.5 mV (*L. fermentum* 1-1). All tested *Lactobacillus* strains were able to form biofilms with most intensive biofilm formation typical for *L. rhamnosus* BB. It is notable that no relevant relationship was found between biofilm formation and cell surface physicochemical properties: hydrophobicity ($r = 0.075$), acid-base interactions ($r = - 0.112$), and cell surface charge ($r = - 0.119$), that indicates no significant role of these factors in colonization ability of *Lactobacillus*.

EFFECT OF *PANTOEA SP. 3.5.1* PHYTASE ON THE CECUM MICROBIOME IN BROILER CHICKENS

Bulmakova D.S.

Kazan (Volga Region) Federal University

Modern industrial poultry farming plays a leading role in providing mankind with complete animal protein. One of the most important factors on which the development of the industry depends is a balanced diet and the digestibility of feed for poultry. Enzyme preparations based on phytase enzymes have a high potential for practical use in fodder production. Phytases hydrolyze indigestible in the body of monogastric animals phytate-containing complexes, which constitute the predominant proportion of organic phosphorus compounds in plant feed. The introduction of enzyme preparations into the diet of animals and poultry has a huge impact on the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiome. The aim of this work was to conduct a metagenomic analysis of the intestinal microflora of broilers using *Pantoea sp. 3.5.1* phytase as a feed additive.

Bacterial phytase was obtained on the basis of the recombinant strain of the yeast *Pichia pastoris* pPINK-HC(agpP), obtained using a commercial yeast expression system and optimization of the secretion of heterologous proteins PichiaPink (Invitrogen). By ultrafiltration of the yeast culture liquid, a 3.5-fold phytase concentrate with a total activity of about 150,000 units was obtained. The enzyme at a concentration of 1000 U/kg feed was used in the diet of broiler chickens as a feed additive. The 16S rRNA gene sequencing method was used to analyze the microflora of the contents of the cecum of the intestines of broilers. The number of operating taxonomic units (OTUs), Shannon and Chao-1 indexes were calculated. The values of these parameters in the experimental group (with phytase) were higher than in the control (without phytase). The principal coordinate analysis plot identified five distinct clusters, indicating gradual changes in the gut microbial community. The microflora was dominated by the phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* and the classes *Bacteroidia*, *Clostridia*, *Negativicutes*. The use of phytase has led to an increase in the proportion of the Rikenellaceae family (*Alistipes spp.*) and the *Prevotellaceae* family (*Prevotella spp.*). It was concluded that the use of phytase did not have a negative effect on the broilers' caecum microbiota and contributed to a change in its quantitative and qualitative composition. As a result, the total number of microorganisms and the diversity of the bacterial community increased.

This work was done in accordance with the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program and supported by the Russian Science Foundation grant (No.16-16-04062).

GROWTH EFFICIENCY OF GREEN MICROALGAE IN ANAEROBIC DIGESTER EFFLUENT

Bulynina S.S., Ziganshina E.E., Ziganshin A.M.
Kazan (Volga Region) Federal University

Microalgae are a large and diverse group of photosynthetic microorganisms, which have significant potential to produce valuable products, including bioactive compounds for human health and nutrition. In the last decade, interest in these objects has sharply increased for the full sustainability of wastewater treatment. Research on the use of green microalgae (*Chlorophyta*) in wastewater treatment is becoming more relevant.

This work evaluated the use of anaerobically digested agricultural waste as a growth medium for the green microalga *Chlorella sorokiniana*. The effluent from the anaerobic digester was centrifuged and the liquid phase was diluted with deionized water to various concentrations. The resulting medium was used for the cultivation of microalgae. *C. sorokiniana* AM-02 was isolated from a local freshwater lake, and the characteristics of its growth and productivity were described by us previously.

Microalga was cultivated in a photobioreactor (Infors HT, Switzerland) at 28°C, under illumination at 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, and with the addition of carbon dioxide. Samples were taken from the photobioreactor to calculate the specific growth rate, biomass productivity, the concentration of pigments in cells, and to evaluate the efficiency of utilization of phosphates, sulfates, and ammonium.

The results of the study showed that microalgae actively utilized high concentrations of ammonium, phosphates, and sulfates. Overall, *C. sorokiniana* AM-02 was considered a promising strain for wastewater treatment, utilizing major contaminants with the efficient production of pigment-rich biomass.

Funding: The Russian Foundation for Basic Research funded this research, grant number Grant No. 18-29-25058.

THE VECTORS CREATION FOR SUBSEQUENT GENES DELETION FROM *B. PUMILUS* 3-19 STRAIN GENOME

Danilova I.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Bacillary proteinases have high potential for practical use in various industries. Strains with truncated genomes are used both in basic research and are used as cell factories for the production of enzymes. For example, *B. licheniformis* strain was designed for heterologous protein expression by removing six extracellular protease genes (*epr*, *wprA*, *mpr*, *aprE*, *vpr*, and *bprA*) by CRISPR-Cas9. As a result of cloning the *aprN* gene encoding *B. subtilis* nattokinase, the enzyme activity was increased by 25.7%. An obstacle to purification of the target product is the release of a large number of extracellular enzymes by *B. subtilis* bacteria during the post-exponential growth phase, including α -amylase. Removal of the alpha-amylase (*amyE*) gene increases the purification efficiency of the target enzyme.

Removing the *sigF* gene from the *B. pumilus* 3-19 genome will disrupt the early stage of prespore development, and it can be assumed that the secretion of proteinases will be increased. The *Bacillus* group includes species known for their ability to produce a wide range of antimicrobial peptides, including bacilysin (*bac*) and bacteriocin (*bact*). We assumed that, after inactivation of the *bact* and *bac* genes, the resources of *B. pumilus* 3-19 cells will be maximally spent on the expression of proteinase genes. Thereby, the aim of this work was to develop biotechnology to increase the expression of extracellular proteinases genes from *B. pumilus* 3-19 by inactivation the *sigF*, *bact* and *bac* genes using the CRISPR / Cas9 method.

For this, the plasmid pJOE9282.1 was cut at the *BsaI* restriction site and the integration of spacer fragments obtained by hybridization of primers corresponding to each gene was performed. Further, PCR fragments obtained from *B. pumilus* genomic DNA (*sigF*-L (500 bp) and *sigF*-R (716 bp); *bact*-L (501 bp) and *bact*-R (503 bp); *bac*-L (404 bp) and *bac*-R (402 bp)) were cloned at the *SfiI* site. Thus, on the basis of the pJOE9282.1 plasmid, vectors pGAs11.21, pVYb11.21, and pDIb11.21 were created, respectively. The spacer nucleotide sequence and the sequences of -L and -R fragments of the studied genes were confirmed by PCR. Next, we will carry out procedures for transformation of *B. pumilus* 3-19 strain with the obtained vectors, as well as for inactivation of target genes using the CRISPR / Cas9 method.

This work was supported by the RFBR grant №19-08-00853 and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

CONSTRUCTION A VECTOR FOR TARGET BACILYSIN GENE INACTIVATION IN THE GENOME OF *BACILLUS PUMILUS* 3-19 STRAIN

Diadkina I.V., Danilova I.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

The genus *Bacillus* is important industrial bacteria due to their ability to secrete large amounts of proteases, which are widely used in industrial processes. Increasing of *Bacillus* proteinases gene expression remains one of the main tasks of genetic engineering. The yield of target proteinases in the cell can be increased by removing genes from the genome, the work of which can interfere with the expression of proteinase genes. In this work, the bacilysin gene (*bac*) in the genome of *Bacillus pumilus* strain 3-19 was chosen as a target for inactivation. Bacilysin is a peptide antibiotic that has antimicrobial and antifungal activity. We assume that deletion of the *bac* gene will allow *B. pumilus* cells to secrete proteinases with greater efficiency, without spending their resources on the expression and secretion of bacilysin.

The aim of this work was to construct a vector containing fragments of the bacilysin gene based on the pJOE9282.1 shuttle vector, which includes the CRISPR-Cas9 system for target gene knockout.

Plasmid pJOE9282.1 was cut with *Bsa*I restrictase, and a spacer fragment obtained by hybridization of primers 5'-ctcgATTTCAAGAACAAATGC-3' and 5'-aaacGCATTTGTTCTTGAAAT-3' was inserted in this plasmid. Further, two DNA fragments (*bac*-L (404 bp) and *bac*-R (402 bp)) were amplified by PCR from genomic DNA of *B. pumilus* and cloned at the *Sfi*I site. As a result of cloning, the plasmid pDIb11.21 was obtained.

In the future, we plan to transform *B. pumilus* 3-19 with the pDIb11.21 vector and inactivate the *bac* gene using the CRISPR-Cas9 system for targeted genome editing.

This work has been supported by the RFBR grant №19-08-00853 and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

THE ROLE OF GERANYLGERANYLTRANSFERASE I IN THE REGULATION OF *MARCHANTIA POLYMORPHA* THALLUS DEVELOPMENT

Dzhabrailova S.M., Valeeva L.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

One of the most significant events in the evolution of eukaryotes is the multicellularity transition. However, the molecular mechanisms of this transition are still poorly understood. In turn, protein prenylation (farnesylation and geranylgeranylation) is one of the key posttranslational protein modifications, and it provides many essential processes in the formation of multicellular structures, including signal transduction, membrane proteins anchoring, cell proliferation, differentiation, and apoptosis. The aim of this work was to determine the role of geranylgeranyltransferase I (GGT I) prenyltransferase in the development of the multicellular structure of *Marchantia polymorpha* plants.

To analyze the role of GGT I in the multicellular thallus formation of *M. polymorpha* we developed knockout plant lines for the β -subunit (GGT I) gene GGB. Mutations of the GGB gene sequence were performed using CRISPR/Cas9 genome editing technique. Knockout plants were shown to remain their viability but were not able to form typical dorsoventral thallus. Especially, Δ ggb plants had unusual, rounded cells which formed callus-like tissue. To confirm the observed phenotypes and to analyze the expression pattern of GGT I in plant cells we performed a complementation of the knockout lines with the same gene sequence. It was shown that after the complementation plants revived WT phenotype. The expression of the fusion fluorescent proteins allowed us to determine a localization of GGB protein in the cell. It was shown that the β -subunit GGB localized in the cytoplasm of plants' cells, therefore we suggested that the whole GGT I protein also had the same localization. We also identified the differences between mutant and WT plants by proteome analysis of Δ ggb knockout plants. We identified proteins responsible for protein biosynthesis, which were specifically expressed in knockout plant cells but not in WT. We also found differences in the biosynthesis of lectin-like, fascyclin-like, and germ-like proteins involved in plant development regulation and stress response. Therefore, prenyltransferase GGT I was shown to play a crucial role in development of the normal multicellular *M. polymorpha* plants thallus. These data will allow us to get closer to understanding the evolution of plant multicellularity.

The work was supported by the scholarship of the President of the Russian Federation SP(CII)-3391.2021.4.

TRICALCIUM PHOSPHATE AND ROCK PHOSPHATE MOBILIZATION BY *PANTOEA BRENNERI* STRAINS

Egorova E.A., Suleimanova A.D.

Kazan (Volga Region) Federal University

Phosphorus is an essential nutrient for plant growth. Nowadays, inorganic phosphorus fertilizers are widely used in agriculture to increase yields. Environmental problems associated with the use of mineral fertilizers are forcing scientists to introduce science-intensive technologies in agricultural production. One of these technologies is considered the addition of microbial inoculums as biological control agents and biofertilizers. The presence of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in the soil significantly contributes to the rapid absorption of free phosphorus by plants. PSBs break down insoluble phosphates into available phosphorus by dissolving and adsorbing. The introduction of such microorganisms into the soil lowers the pH of the soil and increases the amount of available phosphorus in the rhizosphere. Earlier, we showed that isolated soil bacteria *Pantoea brenneri* are capable of hydrolyzing main soil organic insoluble phosphate – phytate and biofilm formation. Thus, the aim of this work was to study the ability of *P. brenneri* strains to mobilize a wide range of inorganic soil phosphates.

The ability to mobilize inorganic soil phosphates was studied in several strains: *P. brenneri* 3.1, *P. brenneri* 3.2, *P. brenneri* 3.5.2, *P. brenneri* 3.6.1. NBRIP culture medium, containing tricalcium phosphate or rock phosphate as a sole source of phosphorus was used in this study. Phosphate solubilization index measured as the diameter of the transparent zone (D) to colony (d) ratio was established. It was found that all studied bacterial strains of the *Pantoea* genus were capable of mobilizing tricalcium phosphates with the following solubilization indexes: *P. brenneri* 3.1–2.192, *P. brenneri* 3.2–.122, *P. brenneri* 3.5.2–3.338, *P. brenneri* 3.6.1–2.434. Rock phosphate is mined from clay deposits that contain phosphorus and is used to make organic phosphate fertilizers. The ratio of D/d on rock phosphate plating media for *Pantoea* strains was the following: *P. brenneri* 3.1–2.192, *P. brenneri* 3.2–3.122, *P. brenneri* 3.5.2–2.199, *P. brenneri* 3.6.1–2.187. Thereby, *P. brenneri* 3.2 strain displayed the highest D/d ratio both on the medium with tricalcium phosphate and rock phosphate. In the next stage of research it is planned to study the effect of nitrogen source, as well as cultivation conditions, on *P. brenneri* bacteria phosphates mobilization.

This work has been supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program and the Russian Science Foundation grant № 21-76-00017.

THE ROLE OF DUF1471-CONTAINING PROTEIN SRFN IN THE PHYSIOLOGY OF *SERRATIA MARCESCENS* SM6

Elistratova A.A., Shirshikova T.V., Bogomolnaya L.M.

Kazan (Volga Region) Federal University

Bacteria of *Enterobacteriales* order possess genes encoding small proteins containing DUF1471 domain with unknown function. The existence of a family of low molecular weight secreted proteins with a conserved domain DUF1471 has been known more than twenty years. Low molecular weight proteins with unknown function may be associated with various key and unknown functions. The studies carried out to date show that proteins with the DUF1471 domain are often synthesized under stress conditions, as well as during colonization of various surfaces. *Serratia marcescens*, whose clinical significance is growing due to its resistance to several classes of antibiotics, causes many infections in immunocompromised individuals. Therefore, it is very important to identify additional targets for the suppression of bacteria. These targets may include the DUF1471-containing proteins. Bioinformatic analysis showed that the genome of *S. marcescens* contains 14 genes encoding DUF1471 proteins. When analyzing the *S. marcescens* SM6 bacteria present in the culture liquid, grown under oxidative stress, we found a low molecular weight protein encoded by the EG355_19345 gene. Comparative analysis of the amino acid sequence with the corresponding *S. typhimurium* proteins using the BLASTp program showed that the closest homologues of this protein in the *S. typhimurium* LT2 genome are SrfN (STM0082) and YahO (STM0366) proteins with 47 and 42 percent identity, respectively. Thus, we assigned the name SrfN to the discovered DUF1471-containing protein (GenBank ID TBU67220). To establish the exact function of the SrfN protein, we created a Δ srfN deletion mutant as well as a complementing mutant strain Δ srfN pBAD-srfN and carried out a series of experiments using these strains and the wild type *S. marcescens* SM6. We found that the loss of the srfN gene does not affect the production of extracellular enzymes but decreases the ability to swim in semi-liquid agar (0.3%). In addition, the deletion mutant is significantly more sensitive to growth in a minimal medium with low pH (5.0) and in a rich medium containing hydrogen peroxide (10 mM). Both defects were completely restored by complementation. The results obtained allowed us to conclude that the low-molecular-weight DUF1471-containing protein SrfN is involved in the adaptation of *S. marcescens* SM6 to unfavorable environmental conditions.

The reported study was funded by RFBR, project number 20-34-90049.

SCREENING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BACTERIAL ENDOPHYTES FROM MEDICINAL PLANTS

Fattakhova A.R.¹, Gilyazeeva R.E.¹, Sabirova Z.R.¹, Hassan G.O.²,
Tuama A.A.^{1,3}, Karamova N.S.¹

¹Kazan (Volga Region) Federal University

²Desert Research Center, Cairo, Egypt

³University of Diyala, Baquba, Iraq

Reactive oxygen species (ROS) are produced during normal endogenous metabolic processes. Imbalance between the generation of ROS and the antioxidant defense induces oxidative stress. Excessive accumulation of ROS contributes to the occurrence of many pathological processes and diseases, including cancer, neurological disorders, atherosclerosis, hypertension, ischemia, diabetes, idiopathic pulmonary fibrosis, chronic obstructive pulmonary disease, asthma, etc. To reduce the pathological consequences of oxidative stress caused by ROS, both synthetic and natural antioxidants are used. Endophytic microorganisms produce a large number of biologically active metabolites with antimicrobial, antioxidant, anticancer activity.

The aim of this work was to evaluate the antioxidant potential of endophytic microorganisms from medicinal plants growing in Republic of Tatarstan, Russia.

Isolates of actinobacteria from six species of plants (*Calendula officinalis*, *Mentha piperita*, *Hypericum perforatum*, *Artemisia absinthium*, *Achillea millefolium*, and *Cichorium intybus*) were used. All isolates were incubated in a liquid Gause's medium at 30°C for 7 days. The antioxidant potential of the culture liquid separated from the cells was assessed using colorimetric 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) stable free radical scavenging activity method.

Comparative analysis of the data obtained demonstrates that isolates 10L4 and 7L14 from *Cichorium intybus* leaves have the highest antioxidant potential. The culture fluid of these actinobacteria inhibited the DPPH free radical by 76% and 73%, respectively.

Thus, the results obtained indicate that endophytic actinobacteria of medicinal plants synthesize metabolites with an antiradical effect and can be considered as a promising source of natural antioxidants.

MICROBIOME ANALYSIS OF THERAPEUTIC MUDS USED IN TATARSTAN

Gafarova L.F.^{1,2}, Ilinskaya O.N.¹

¹ Kazan (Volga Region) Federal University

² Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan

The therapeutic use of mud (peloid therapy), despite weak evidence of efficacy, is widely used due to the fact that it generally reduces stress levels, improves metabolism, and has antibacterial, anti-inflammatory and analgesic effects. The composition of therapeutic mud – the so-called peloids – includes gases, trace elements, biologically active substances similar in structure to some hormones and metabolites of microbial origin. Among the requirements for therapeutic mud, the most important are microbiological indicators, regulated by methodological instructions (No. 143-9 / 316-17 approved by the State Chief Sanitary Physician of the USSR on September 11, 1989). The mud per gram should contain no more than 5×10^5 aerobic bacteria. Coli-titer of *E. coli* bacteria (the smallest amount of a sample in which viable bacteria are found) – 10 g or more, perfringens titer – 0.1 g. Pathogenic coccal flora and *Pseudomonas aeruginosa* in 1 g and the virulent form of *Clostridium perfringens* should be absent. In this work, the task was set to identify cultivated microorganisms in therapeutic muds used for peloid therapy on the territory of Tatarstan.

Almost all samples are dominated by non-pathogenic bacillary forms of bacteria, in particular, *Bacillus megaterium*, *B. simplex*, *B. firmus*, *B. pumilus*, *B. altitudinis*. *Rhodococcus erythropolis* was also a common microorganism of the phylum *Actinobacteria*. *Pseudomonas stutzeri*, *Micrococcus luteus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Paracoccus yeei* and a number of other bacteria were found in minor amounts. The therapeutic mud of the Bakirovo sanatorium was distinguished by the highest biodiversity in terms of microbial composition, however, when sowing on citrate and cetrimide agar, out of the 20 samples studied, single colonies of *Pseudomonas aeruginosa*, which is conditionally pathogenic for humans and is the causative agent of nosocomial infections, were found in two samples. In one case, *P. aeruginosa* was detected in a sample of therapeutic mud from the Balkysh sanatorium. However, due to the fact that *P. aeruginosa* does not form spores, thermal treatment of the therapeutic mud allows its further use.

Thus, the microbiological analysis of therapeutic muds in Tatarstan confirms the safety of peloid therapy and contributes to the regulations for the processing of some mud samples.

ANTIVIRAL ACTIVITY OF BACTERIAL RIBONUCLEASE (BINASE) AGAINST BOVINE ADENOVIRUS

Galeeva A.G.^{1,2}, Shah Mahmud R.², Efimova M.A.^{1,3}, Ilinskaya O.N.²

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

²Kazan (Volga Region) Federal University

³Kazan State Academy of Veterinary Medicine

Bovine respiratory disease complex (BRDC) is a major problem in livestock production worldwide. Currently there is no registered vaccine against adenovirus in Russian Federation. In this case, a promising agent is the secreted guanyl-specific bacterial ribonuclease (RNase) of *Bacillus pumilus* – binase. The aim of this work was to study the antiviral activity of binase against bovine adenovirus (BAdV).

The reproduction of adenovirus serotype 3 (BAdV-3, reference strain «Weybridge», 4.5 lg TCID₅₀/ml) was carried out on continuous MDBK cell culture. The cytotoxicity of binase was assessed via MTT assay. MDBK cells were infected with BAdV-3 (MOI 0.01) in the presence of binase at concentrations of 50-150 µg/ml according to the following schemes: a) prophylactic treatment; b) therapeutic treatment; c) preincubation with binase. Detection and quantification of BAdV-3 DNA in culture medium samples and cell lysate samples were performed by real-time PCR.

It was registered that the half-maximal inhibitory concentration (CC₅₀) of binase was 378.9 µg/ml with daily exposure, and the half-maximal effective concentration (EC₅₀) upon infection with BAdV-3 (MOI 0.01) was 35.23 µg/ml. Based on the selected doses (50-150 µg/ml), we found that the most effective treatment regimen is preincubation of the virus with binase for 60 minutes, which led to a decrease in the virus titer by an average of 87.8±1.65% (p<0.001). A pronounced antiviral effect of binase was also observed during therapeutic treatment: a decrease in the titer of the virus in infected cells reached 86.5±7.4% (p<0.05), which led to more than 90% survival of the cell monolayer. A decrease in the amount of viral DNA in the samples was also recorded: with prophylactic treatment with binase, the number of DNA copies decreased to 2.6±0.3 times, with therapeutic treatment – to 8.39±0.7 times (p<0.05). Thus, the secreted ribonuclease of *B. pumilus* (binase) is non-toxic to the bovine kidney cells in the range of concentrations exhibiting antiviral activity. A single preliminary treatment of viral particles with binase led to a significant dose-dependent decrease in the infectious activity of the virus (up to 9 times) and suppressed the development of a virus-induced cytopathic effect on MDBK cells during multi-cycle virus replication.

RNASE A CATALYTIC ACTIVITY CHANGES IN THE GASTROINTESTINAL TRACT ENVIRONMENT

Galeeva A.G., Egorov A.A.

Kazan (Volga Region) Federal University

One of the promising directions in the development of drug delivery systems is the design of antitumor ribonucleases complexes for malignant neoplasms, including colorectal cancer. However, the use of therapeutic proteins in the gastrointestinal tract can be difficult due to its degradation under the influence of digestive enzymes with a subsequent loss of therapeutic efficacy. Maintaining the level of catalytic activity of an enzyme largely determines its stability and reactivity. The aim of this study was to analyze the dynamics of changes in the catalytic activity of ribonucleases (using the example of pancreatic ribonuclease (RNase A)) in buffer solutions simulating the gastrointestinal tract environment.

The object of the study was a purified RNase A («Vector», Russia), initial ribonucleolytic activity $0.97 \pm 0.013 \times 10^6$ units/mg. A buffer that mimics the contents of the large intestine (g/l: KCl – .2, NaCl – 8.0, KH_2PO_4 – 0.24, Na_2HPO_4 – 1.44, pH 7.0) and simulated gastric juice (g/l: peptone – 8.3, glucose – 3.5, NaCl – 2.05, KH_2PO_4 – 0.6, CaCl_2 – 0.11, KCl – 0.37, medical canned bile – 0.05, lysozyme – 0.1, pepsin – 0.0133, pH 2.5) were used as the gastrointestinal tract environment. RNase A was dissolved in the solutions to final concentrations of 25–1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and incubated for 18 hours at 37°C. The ribonucleolytic activity of the enzyme was determined by the Anfinsen method, with a frequency of 30 min; the indicators of RNase activity dissolved in deionized water were used as controls.

It was found that the enzyme is stable in the colonic medium during 18-hour incubation period: no statistically significant differences in the values of ribonucleolytic activity in comparison with the control samples were found. In simulated gastric juice, RNase A turned out to be less stable: activity losses averaged $11.6 \pm 0.52\%$ ($p \leq 0.05$) after 3.5 hours of incubation, $17.9 \pm 1.23\%$ ($p < 0.001$) after 8 hours of incubation, and $28.2 \pm 4.1\%$ ($p \leq 0.05$) by the end of the experiment.

Thus, it can be assumed that ribonucleases have potential stability in the gastrointestinal tract, taking into account the length of stay in its different parts. The problem of a moderate decrease in the activity of enzymes in simulated gastric juice at an early stage of incubation can later be solved by selecting specific carriers that provide a prolonged release of therapeutic agents.

THE RESISTANCE OF TUBERS OF DIFFERENT POTATO CULTIVARS TO *FUSARIUM OXYSPORUM*

Galimov M.A.¹, Akosah Y.A.¹, Vologin S.G.².

¹Kazan (Volga Region) Federal University

²Tatar Research Institute of Agriculture, Kazan

Fungi of the genus *Fusarium* cause harvest loss of many staple crops, including potatoes, wheat, bananas, etc. According to some reports, up to 70% of fields are contaminated with *Fusarium*, among which the dominant species remains *Fusarium oxysporum*. Our work aimed to assess the resistance of tubers of 26 potato cultivars, grown in Tatarstan, to dry rot caused by *F. oxysporum* strains.

To assess the resistance of cultivars (Dachnitsa, Dachnij, Debyut, Dogoda, Zumba, Kazachok, Caliber, Korchma, Krasa Meshera, Krasavchik, Varyag, Brusnichka, Baltic Rose, Kumach, Kupets, Legenda, Narymskaya Nochka, Nevskij, Orlan, Avgustin, Arosa, Alaska, Grand, Gala, Barin, and Vinetta), we isolated and identified (by sequencing the ITS region of the 5.8S rRNA gene) 7 strains of *F. oxysporum*: DR9, DR10, DR40, DR44, DR45, DR47 (isolated from tubers with dry rot), and LT3 (isolated from a visually healthy tuber). Briefly, 5 tubers of each variety were injected with 20 µl of fungal spore suspension (105 spores). The tubers were left at room temperature and after 21 days, measurements of the affected areas (diameter, depth of rot, and linear dimensions of the tuber) were carried out. The resistance of the varieties was assessed based on the size of the affected areas of potato tubers. The data obtained were statistically processed using the Kruskal – Wallis test.

The test results $H = 65.114 (25)$, $p < 0.001$ indicate significant differences in the resistance of cultivars. Tubers of the cultivars Zumba, Korchma, Nevskij, and Narymskaya Nochka showed the highest resistance to all strains of *F. oxysporum*. Avgustin, Dachnitsa, Varyag, and Kalibr showed moderate resistance. However, it was interesting to note that the LT3 strain isolated from a visually healthy tuber caused lesions (dry rot) in the tubers of the Kazachok, Krasa Meshera, and Debyut cultivars (0.545041, 1.2258, and 0.6104 cm³, respectively), which showed resistance to all other *F. oxysporum* isolates. In general, the strain LT3 caused extensive lesions in tubers of 12 out of the 26 cultivars (in most cultivars, high and medium lesions were observed ($M_{tot} = 0.3798$, $M_{LT3} = 0.65228$). At the same time, the cultivars Avgustin and Arosa showed high resistance to LT3 but were susceptible to all other strains of *F. oxysporum*. The strain DR45 caused the greatest damage in tubers of 7 out of the 26 cultivars, $M = 0.4129$, which also indicates its high virulent potential. Thus, potato cultivars resistant to dry rot have been selected for further analysis.

STAPHYLOCOCCI BUT NOT ENTEROBACTERIA PROMOTE GROWTH AND BIOFILM FORMATION OF *KLEBSIELLA OXYTOCA*

Giliazeva A.G.

Kazan (Volga Region) Federal University

Klebsiella oxytoca is a gramnegative bacteria that causes urinary and respiratory tract infections (UTIs and RTIs, respectively) as well as antibiotic-associated hemorrhagic colitis. To note, *K. oxytoca* presents in the gut of 8-10% of healthy population. In all these human body compartments – urinary, respiratory and intestinal tracts – *K. oxytoca* may encounter other bacterial species belonging to commensal or pathogenic microbiota. We analyzed the growth and the biofilm formation of urinary isolate *K. oxytoca* 3416 in the presence of other enterobacteria (*K. pneumoniae*, *K. variicola*, *probiotic and uropathogenic E. coli*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*) and staphylococci (*Staphylococcus aureus* and *S. saprophyticus*).

To assay the growth in mixed cultures, *K. oxytoca* was transformed with the empty plasmid pET-24d(+) encoding the gene of kanamycin resistance. Overnight cultures were mixed at ratios 1:1 or 10:1 (in relation to kanamycin-resistant *K. oxytoca*) and co-cultured for 16 h at 37°C with shaking followed by plating of serial dilutions on agar plates with kanamycin. At both ratios, the growth of kanamycin-resistant *K. oxytoca* was inhibited by enterobacteria to different levels, as well as by wild type of *K. oxytoca*. Surprisingly, in the presence of both *Staphylococcus* strains, the amount of living *K. oxytoca* cells was at the same level as that in pure culture that was taken as control. For mixed biofilm assay, *K. oxytoca* was transformed with GFP-expressing plasmid while the other enterobacteria were transformed with tdTomato-expressing plasmid and staphylococci were intact. After inoculation of overnight cultures at a ratio 1:1 in 96-well polystyrene plate and incubation for 48 h at 37°C, fluorescence intensities were measured at different channels (FITC for GFP- and Cy3 for tdTomato-expressing bacteria) using the Aklides system. Enterobacteria inhibited biofilm production of *K. oxytoca*, but their biofilms were promoted by *K. oxytoca*. Conversely, staphylococci increased biofilm formation of *K. oxytoca*, what is in accordance with the result observed in growth assay.

Thus, in mixed infections with different bacteria, *K. oxytoca* would have an increased infectivity provided by staphylococci or cause increased infectivity of co-infecting enterobacteria.

The work is performed in accordance with the Russian Government Program of Competitive Growth of Kazan Federal University and was funded by Russian Foundation for Basic Research according to the research project no. 18-34-00837.

DEVELOPMENT OF A VECTOR (pGAs11.21) FOR INACTIVATION OF THE SIGF *BACILLUS PUMILUS* 3-19 GENE USING CRISPR-CAS9 TECHNOLOGY

Gilmutdinova A.I., Danilova I.V.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia.

Bacillus pumilus bacteria are known for their ability to produce hydrolytic enzymes. Proteases are widely used in various industries – pharmaceuticals and medicine, agriculture, food and textile industries. To obtain the target enzyme, bacterial strains with deleted proteinase genes are often used, that is, conditions are reached when the expression of proteinase genes does not affect the production of target enzymes. The regulation of gene expression in bacteria at the level of transcription is carried out in the presence of a key enzyme, DNA-dependent RNA polymerase. Its interaction with specific regions of DNA - promoters is carried out due to an additional polypeptide - σ -transcription factor, which specifically binds to conserved nucleotide sequences. In circumstances where sporulation is undesirable, such as in industrial fermentation, evolutionary experiments, and specific experiments with a chemostat, the use of strains lacking sporulation may be a solution. In *B. pumilus*, sigF disruption prevents the continuation of sporulation at stage II. Therefore, it is relevant to assess the effect of sigF gene inactivation on the expression of proteinase genes in *B. pumilus*. Thus, for editing the *B. pumilus* genome, the sporulation sigma factor gene sigF was selected as a target for inactivation.

In this work, we used the pJOE9282.1 shuttle vector based on the *Streptococcus pyogenes* type CRISPR-Cas9 II system. For genome editing, it carried the cas9 gene under the control of a xylose-inducible promoter (Pxyl). To create a vector excluding the sigF chromosomal region, plasmid pJOE9282.1 is first was cut with BsaI, and the lacZ α fragment was replaced with sgRNA obtained by hybridization of primers. This sgRNA directed the Cas9 nuclease to its target. Further, two PCR fragments (sigF-L (500 bp) and sigF-R (716 bp)) obtained from *B. pumilus* 3-19 genomic DNA were cut with SfiI and inserted between two sites SfiI.

Thus, we have constructed a plasmid pGAs11.21 for inactivation of the sigF gene in the *B. pumilus* 3-19 genome. In the future, this plasmid will be transformed into bacilli cells by the electroporation method described in to obtain deletion mutants with an inactivated sporulation sigma factor gene (sigF).

This work has been supported by the RFBR grant No. 19-08-00853 and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

CYTOTOXIC EFFECT OF A PULSED ULTRAVIOLET LASER TOWARD HUMAN SKIN FIBROBLASTS

Hamdan Y.¹, Shamsutdinov N.I.^{1,2}, Marisov M.A.¹, Zelenikhin P.V.², Semashko V.V.¹, Telegina T.A.³, Buglak A.A.⁴, Nizamutdinov A.S.¹

¹Institute of physics, Kazan Federal University

²Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University

³Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of RAS

⁴Faculty of Physics, Saint Petersburg State University

Ultraviolet laser radiation has a wide range of biological effects. This can be used to implement therapeutic approaches for the treatment of a variety of pathologies, including skin diseases such as psoriasis and vitiligo. Skin fibroblasts (HSF) play one of the key roles in the development of skin disease processes, they have a multifaceted effect on the keratinocytes and melanocytes vital functions. Therefore, the characterization of the biological effects of laser radiation toward HSF is of great importance.

HSFs were irradiated using a pulsed 310 nm LiLu_{0,7}Y_{0,3}F₄:Ce⁺³+Yb³⁺ based UV laser with different pulse duration (1 and 10 ns), using 5- and 15-minutes treatment (100 mJ/cm²). HSFs viability was measured based on conversion of yellow tetrazolium salt 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, (Sigma-Aldrich, USA)) to dark blue formazan by viable cells. 104 cells/well were seeded into 96-well plates for 24h (37⁰C, DMEM with 10% fetal bovine serum, humidified atmosphere, 5% CO₂), then treated with laser.

An increase in the treatment time led to a decrease in the viability of fibroblasts: with a pulse duration of 10 ns, cell viability was 92.2±1.5% and 89.5±0.5% for a treatment time of 5 and 15 minutes, respectively. A decrease in the pulse duration to 1 ns led to a further significant decrease in the viability. Cell viability was 80.3 ± 1,5% after 15 min of treatment. 24 h incubation after laser treatment resulted in the restoration of HSFs viability. In all studied exposure options, no significant differences from the variant without treatment were found. Nevertheless, the early effects we characterized deserve close attention, since the spectrum of signaling molecules released by fibroblasts after irradiation can act on other skin cells during and after therapeutic laser exposure.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 20-73-10029).

DESIGNING A REPORTER CONSTRUCT FOR ANALYZING THE ACTIVITY OF TISSUE-SPECIFIC PROMOTERS IN LUNG CANCER CELL LINES

Ikonnikova V.A., Shipulina E.A., Ulyanova V.V., Dudkina E.V.
Kazan (Volga Region) Federal University

Lung cancer is one of the most common causes of cancer death. Despite advances in chemotherapy, surgery, and radiation therapy, traditional cancer treatments are losing their effectiveness due to the high toxicity and low effectiveness of the anticancer drugs. Gene therapy is one of the most promising strategies for the treatment of cancer. The main approaches in gene therapy include: blocking the expression of certain genes using antisense oligonucleotides or interfering RNA, editing the genome using ZFNs, TALENs or CRISPR/Cas nucleases, tumor cell suicide under the influence of cytotoxic proteins. The potential of *Bacillus pumilus* ribonuclease (RNase) binase as an antitumor agent has been studied in a number of in vitro and in vivo studies, but has not yet been tested in suicidal gene therapy for cancer. One of the binase advantages is its selectivity towards tumor cells. The specificity of genetic construction can be achieved by using the tumor-specific regulatory regions, the expression of which is reduced or impaired in normal cells. We plan to create the genetic system for the binase expression in lung tumor cells under the control of tumor-specific promoter and evaluate its therapeutic potential.

The aim of this work was to create a genetic construct based on the pCS2+ vector for the expression of the reporter green fluorescent protein (GFP) gene.

To evaluate the activity of tumor-specific promoters in lung cancer cell lines we have constructed the GFP reporter system by Gibson assembly where GFP gene was cloned under the control of the human cytomegalovirus (CMV) promoter. To improve the initiation of GFP translation the consensus Kozak sequence was introduced by inverse PCR using the Q5 site-directed mutagenesis kit. The success of the cloning was confirmed by PCR, restriction analysis and sequencing. Designed expression systems were transfected with Lipofectamine 3000 in A549 lung cancer cell line. The transfection efficiency and the level of GFP gene expression were analyzed by the intensity of GFP fluorescence using fluorescence microscopy.

Thus, we have obtained the reporter construct carrying the GFP gene, in which the human CMV promoter will be further replaced by a number of tumor-specific promoters to assess their specificity in human lung cancer tumor cells. Later, the gene of cytotoxic binase will be cloned under their control.

The study was supported by the Russian Science Foundation (project 21-74-10036).

CHARACTERIZATION OF CLINPTIOLITE AS A PROTEIN SORBENT

Islamova R.R.¹, Yakovleva G.Y.², Lopatin O.N.¹, Yarullin R.S.³, Ilinskaya O.N.²

¹Institute of Geology and Petroleum Technologies, Kazan Federal university

²Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal university

³«Tatneftekhinvest-Holding», Kazan

Due to its properties, zeolite can absorb therapeutically active proteins and release them under physiological conditions. Earlier, we characterized the sorption of the cationic antitumor protein from *Bacillus pumilus*, binase, on clinoptilolite. In this study we tested the clinoptilolite ability to be loaded by negatively charged protein. Bovine blood plasma albumin with a molecular weight of 69 kDa, single-chain, consisting of 607 amino acid residues was chosen as a model protein, which isoelectric point (pI) is in the range of 4.7–5. The secondary structure of the protein contains about 67% helical structures next to 33% of turn and extended chain configurations without any β -sheets. As a sorbent, we used clinoptilolite samples from Tatar-Shatrashan deposit of zeolite-bearing rocks, Russia. Clinoptilolite [(Na, K, Ca)_{2–3}Al₃(Al, Si)₂Si₁₃O₃₆×12H₂O] forms as white to reddish tabular monoclinic tectosilicate crystals. This mineral of the monoclinic syngony exists on the specified deposit in a fine-dispersed state, which is part of a polymineral aggregate consisting of a clayey and siliceous phase (the so-called zeolite-bearing rock). The maximum amount of zeolite in this unit can reach 50%. The test samples taken from the most productive unit of the field, including three wells (R-37, R-42 and A-1), were used in the form of powder and granules.

Sample P-42 showed the best adsorption properties in a minimal time, and also showed the most prolonged protein release, which is especially important for the practical use of therapeutic proteins. This sample differed in properties from the other two samples – it had the highest porosity in comparison with other samples and therefore we consider it as a promising carrier of therapeutic proteins. A gradual slow release of the protein can provide its biological effect in the body for a long time without losing its target functional properties due to cleavage by proteases.

Our results contribute to the perspective development of zeolite-based complexes for therapy of colorectal cancer for or the treatment of malignant skin neoplasms where the complexes can be used in pasty form. However, the number of clinical studies with clinoptilolite materials on humans is still low, and the previously described immunomodulatory, anticancer, and antioxidant effects of clinoptilolite in vivo should be studied in more detail.

STUDY OF STRAINS FOR PATHOGENIC PROPERTIES IN EXPERIMENTS IN MICE

Itkina D.L.

Kazan (Volga Region) Federal University

To study the virulence, toxicity and toxicity of *P. brenneri* strains 3.1, 3.2, 3.5.2, 3.6.1 and *B. ginsengihumi* M2.11, we used ICR (CD-1) mice of both sexes, kindly provided by the laboratory for chemical and biological research of the Institute of Physical Chemistry named after A.E. Arbusov KazSC RAS. All experiments were performed in compliance with bioethical standards. The maintenance, nutrition, care of the animals and their removal from the experiment were carried out in accordance with the requirements of the Ministry of Secondary Special Education of the USSR, Order No. 742 dated 11/13/1984, which approved the “Rules for conducting work with the use of experimental animals”, which are in force to this day. The mice were kept under standard vivarium conditions; standard pelleted combined feed was used for feeding. For each experimental group, 6 mice of the same age weighing 20 ± 0.5 g were selected.

The virulence of the strains was studied after a single oral administration of a daily culture of bacteria in physiological saline to mice at doses of 108 CFU / ml per animal. The control group of animals was injected with sterile saline. The mice consumed food and water in the usual amount. The mass of the mice in the experimental groups did not differ from the mass of the mice in the control group, there were no signs of the development of pathologies.

The toxicity of the strains was studied by intraperitoneal administration to mice of a suspension of a culture of microorganisms in a sterile saline solution, inactivated by heating at 70 °C for 90 minutes. With intraperitoneal administration of drugs in a two-fold volume relative to body weight, all animals in all groups survived.

Toxicity of the strains was studied in mice by intragastric administration of filtrates of three-day-old cultures of the studied strains. Control animals were injected with sterile liquid nutrient medium. Biomaterials were taken from the animals 30 days after infection for further research. Autopsy of the mice did not reveal any injuries or pathological changes in the internal organs. Microbiological cultures of blood, liver, bladder and stomach were negative. Thus, studies on the virulence, toxicity, and toxicity of isolates in white mice showed that *P. brenneri* strains 3.1, 3.2, 3.5.2, 3.6.1 and *B. ginsengihumi* M2.11 are safe for model animals.

This work was done in frame of the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program, supported by the Russian Science Foundation grant 19-76-00020.

CHARACTERISTIC OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF MODIFIED PILLARS[5]ARENES

Kalinina K.I., Aleksandrova Y.I., Sokolova E.A.
Kazan (Volga Region) Federal University

Antibiotic resistance of pathogenic microorganisms is a serious problem in modern biomedicine. The search for new means of combating pathogenic microflora, as well as modification of classical methods are relevant. Macrocyclic compounds (calix[n]arenes and pillar[n]arenes), capable of providing a wide range of guest-host interactions, may be the basis for a new approach to antimicrobial therapy due to their ability to functionalize and interact with a wide range of antibacterial drugs. Antimicrobial agents associated with macrocycles can exhibit significantly more pronounced target properties and prolonged action.

The aim of our work was to evaluate the antimicrobial properties of pillar[5]arene modified with sulfanilamide in comparison with the basic pillar[5]arene containing trimethylammonium fragments and a commercially available antimicrobial drug, sulfanilamide.

Antimicrobial properties were assessed in resazurin test using the following cultures of microorganisms: *Salmonella typhimurium* TA 98, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Pillar[5]arene containing trimethylammonium fragments did not exhibit antimicrobial properties to all the above microorganisms at all investigated concentrations ($MIC > 0.3 \times 10^{-3}M$).

Sulfanilamide did not exhibit antimicrobial properties at all investigated concentrations ($MIC > 0.48 \times 10^{-2}M$) to *S. typhimurium* TA 98, *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, while *P. aeruginosa* growth was inhibited at a concentration of $0.24 \times 10^{-2}M$.

The MIC pillar[5]arene modified with streptocide was $3.75 \times 10^{-5}M$, $1.5 \times 10^{-4}M$, $7.5 \times 10^{-5}M$, $7.5 \times 10^{-5}M$, $0.3 \times 10^{-3}M$ towards *S. typhimurium* TA 98, *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, respectively.

Thus, the antimicrobial effect of streptocide for pillar[5]arene as a carrier increased in 4 times for *P. aeruginosa*, in 8 times for *S. typhimurium* TA 98, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, in 32 times for *S. epidermidis*.

This work was supported by the Russian Science Foundation No. 20-73-00161.

EVALUATION OF ANTI-MIGRATION ACTIVITY OF *POLIANTHES TUBEROSA* TUBERS EXTRACT

Kamalova Y.N., Ivankova O.V., Zalilova Y.M., Karamova N.S.
Kazan (Volga Region) Federal University

The migration of tumor cells is the most important condition for their spread to other organs. In this regard, it becomes urgent to search for agents with antimetastatic potential that can inhibit cell migration. The aim of the study was to evaluate the antimigration effect of *Polianthes tuberosa* tuber extract on human duodenal adenocarcinoma cells HuTu80.

We used a DMEM medium containing 10% fetal serum of calves (USA), 2 mm of glutamine and 100 units/ml of penicillin and streptomycin to cultivate the HuTu80 cell line. The cells were cultured at 37°C in a humid atmosphere with 5% CO₂.

The method of scratch analysis with phase contrast microscopy was used to evaluate the migration of tumor cells under the action of plant extracts. Cell line was grown in a 6-well plate. When monolayer of cells was reached 90-95% confluence at the bottom of each well, several lines were drawn using a 1000 µl pipette tip. We used PBS to remove fragments of cells and introduced a complete medium with 10, 50, 70 mkg/ml of extract into the wells and cultured at 37 °C. Cells in wells without the addition of extract were used as a negative control. Cell migration was monitored at time points 0 hours and 24 hours, images were obtained using a 5x lens on a phase contrast microscope (Axio observer, Austria).

When assessing changes in the migration of HuTu80 tumor cells under the action of binase by scratch analysis using phase contrast microscopy, it was found that after 24 hours there was a significant decrease in the migration of tumor cells, compared with negative control (cells without treatment with extract).

Thus, the studied extract can be used for the development of drugs as antimetastatic agents.

SUSTAINABILITY ASSESSMENT OF POLYSILOXANE COATINGS TO THE INFLUENCE OF MICROSCOPIC FUNGI

Karandashev S.A.¹, Mironskaya E.A.³, Kudri U.³, Le Hong Kuan², Yakovleva G.Y.³,
Danilaev M.P.¹, Ilyinskaya O.N.³

¹KNRTU-KAI, Interuniversity interdisciplinary laboratory

²Russian-Vietnamese Tropical Center, Vietnam

³Kazan (Volga region) Federal University

Polysiloxane coatings are widely used to protect organic glasses (polycarbonate, polymethyl methacrylate) from abrasion. However, the destructive effect of microorganisms (primarily microscopic fungi) can lead to a decrease in the mechanical characteristics of polysiloxanes, in particular, wear resistance, adhesion to a substrate, and rigidity. As a result, damages appear on the surface of organic glasses, which lead to a significant decrease in optical characteristics.

The aim of this work is to determine the resistance of the hydrophobic polysiloxane coating of organic glasses to the influence of molds. The study of the resistance of the hydrophobic polysiloxane coating was carried out on 3 samples of organic glass. Pure cultures of microscopic fungi (micromycetes) used in the work; *Aspergillus niger*; *Aspergillus sp.*; *Penicillium sp.* and *Trichoderma sp.* were taken from the museum of the department of microbiology and grown on the Czapek-Dox medium.

On the 21st day of cultivation, septate, intertwined and branched hyphae of micromycetes were found on all investigated experimental samples during microscopy. On the basis of morphological characters (structure of conidiophores), they were assigned to the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. When studying the resistance of samples to the influence of micromycetes under conditions simulating mineral and organic pollution, the growth of fungi was already observed on the 7th day of incubation and continued until the end of the experiment. The growth of micromycetes was not observed on control samples untreated with fungal spores. Fungal resistance of the studied samples based on the extent of molds growth on a six-point scaling system, according to GOST 9.048-89, can be estimated at 2 points. No significant changes in the optical characteristics of the coating after the exposure to microscopic fungi were found. However, it should be noted that a longer contact of hydrophobic polysiloxane coatings with micromycetes might lead to a significant decrease in optical characteristics due to the growth of fungi on their surface.

This work was done in frame of the KFU Strategic Academic Leadership Program

WHOLE GENOME SEQUENCE DATA OF *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* FCA3L, A NEW PROBIOTIC CANDIDATE STRAIN

Karaseva O.S., Ozhegov G.D., Akhatova F.S., Anisimova E.A.,
Fakhrullin R.F., Yarullina D.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

Lactobacilli are widely used in food industry and probiotic therapy because of their preservative properties, antagonistic activity against pathogens and beneficial effects on human health. The aim was to establish probiotic status of *Lactiplantibacillus plantarum* strain FCa3L by whole-genome sequence analysis and in vitro experimental studies.

L. plantarum FCa3L was isolated from sauerkraut in 2014. Taxonomic identification was performed using MALDI Biotyper (Bruker, Germany) and 16S rRNA gene sequencing on ABI Prism 3730 (Applied Biosystems). Genomic DNA was sequenced by Illumina MiSeq (Illumina, USA). Genome assembly by the Unicycler v. 0.4.8 gave coliphage phi-X174 and 61 contigs corresponding to a 3.3 million bp scaffold. EggNOG and RAST annotation uncovered multidrug resistance genes and genes encoding synthesis of biotin, thiamine, riboflavin, and vitamin B. Antagonistic activity of *L. plantarum* FCa3L examined by the agar block test exceeded that of the reference strain *L. plantarum* 8PA3 isolated from the probiotic preparation "Lactobacterin dry" (Biomed, Russia). *L. plantarum* FCa3L was able to inhibit the growth of *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The inhibitory effect of *L. plantarum* FCa3L was associated with the acidification of the medium (total titrated acidity was 1.46 ± 0.24 mM/g) and production of hydrogen peroxide.

According to the results of the MATS (microbial adhesion to solvent) method, *L. plantarum* FCa3L had hydrophilic cell surface with basic and electron-donor properties, which corresponded to the low adhesive ability. Yet, FCa3L was significantly more adhesive to the buccal epithelial cells and showed higher cell autoaggregation when compared to the reference strain 8PA3. Using disc-diffusion method we demonstrated that *L. plantarum* FCa3L bacteria exhibited resistance to vancomycin, ciprofloxacin and aminoglycosides and were sensitive to ampicillin, rifampicin, clindamycin, chloramphenicol, erythromycin, and tetracycline.

The work was performed using the equipment of Interdisciplinary Center of Shared Facilities of Kazan Federal University for cellular, genomic and post-genomic research in Volga region and in frames of Russian Government Program of Competitive Development of Kazan Federal University.

ENHANCEMENT OF THE CYTOTOXIC EFFECT OF RIBONUCLEASE BINASE USING AFFIBODY

Kechko O.I.¹, Schulga A.A.², Petrushanko A.A.¹, Deyev S.M.², Mitkevich V.A.¹

¹ Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow

² Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow

The development of targeted anticancer drugs is the leading trend in the treatment of cancer. Ribonucleases (RNases) are able to selectively eliminate tumor cells, slow down the growth of malignant neoplasms and the development of metastases. The stage that limits the cytotoxic effect of most RNases is their penetration into the cell. To enhance the uptake of RNases by cells and direct their action on specific cells containing tumor targets, we proposed to use RNases coupled with affibody, which are able to effectively recognize certain tumor markers on malignant cells. The affibody molecule is based on the target-recognizing Z-domain - a modified peptide domain with a size of 58 amino acid residues. (6.5 kDa), *Staphylococcus aureus* protein A. Approaches have been developed for the conjugation of binase (RNase from *Bacillus pumilus*) and affibody molecules through a disulfide bond and using a sortase that recognizes a specific amino acid sequence and covalently links proteins. The toxic effect of the obtained affinity binases on a number of malignant cells carrying and not carrying a molecular marker (HER2) was tested to recognize the targeting molecule affibody. It has been shown that the “weaponization” of binase with affibody, which specifically binds to HER2, enhances the toxic effect of RNase on cells carrying this target. The effectiveness of the combined action of interferon $\alpha 2b$ and affinity binase for the elimination of malignant cells was determined. It has been shown that the cytotoxic effects of interferon and affinity binase are summarized, which is most likely achieved due to different mechanisms of inhibition of proliferation pathways and triggering apoptosis of tumor cells by these toxicants. The data obtained indicate that binase with a targeting affibody alone and in combination with other chemotherapeutics is a promising agent for the treatment of malignant neoplasms.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project #18-29-08024).

***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* URINARY TRACT INFECTIONS**

Khabipova N.N., Sharipova M.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen that affects immunocompromised patients. It is one of the main causes of morbidity and mortality in patients with cystic fibrosis and one of the main causes of the development of nosocomial infections. And urinary tract infections caused by *P. aeruginosa* strains are the most difficult to treat. Among the numerous factors, the type III secretion system (T3SS) is the main determinant of virulence, including a complex of effector proteins. ExoY is the most recent exozyme described from the entire system. There are studies that indicate clear toxic effects of the ExoY factor, in particular, it promotes the formation of interendothelial cell breaks and increases macromolecular permeability, thereby complicating the course of infection.

The aim of this work is to analyze the pathogenic potential of clinical *P. aeruginosa* strains obtained from patients with urinary tract infections, as well as to search for genes and determine the role of the ExoY protein during urinary tract infections.

In the course of the work, a comparative phenotypic analysis of 22 strains isolated from patients with urinary tract infections was carried out. It was shown that all studied strains have urease activity. For all tested strains, proteolytic activity is observed, however, in 5 strains, the proteolysis zones are less pronounced. It has been shown that almost all studied strains have the ability to synthesize siderophores.

Using the disk-diffusion method, it was determined that most of the studied strains are resistant to beta-lactam antibiotics, in particular carbopenems and cephalosporins. However, 4 strains of *P. aeruginosa* have the highest antibiotic resistance, for which no zones of growth inhibition were found. Real-time PCR revealed that 30% of *P. aeruginosa* strains have the VIM-type metallo- β -lactamase gene. Analysis of biofilm formation in vitro showed that 3 out of 22 studied strains form the most dense biofilms by 72 hours of cultivation on the surface of polystyrene plates. The results of PCR analysis aimed at finding genes encoding type 3 secretion system proteins in the studied strains showed that the gene encoding the expression of the ExoY effector protein was found in 40% of all studied strains. The data obtained make it possible to reveal the pathogenic potential of *P. aeruginosa*, indicating its enormous role in UTI.

This work was supported by grants from the Russian Foundation for Basic Research No.20-315-90093.

**CHEMICAL STRUCTURE AND ISOLATION TECHNIQUES
FOR FORMYLATED PHLOROGLUCINOL COMPOUNDS
OF *EUCALYPTUS VIMINALIS* LABILL**

Khaliullina A.S.¹, Shakirova D.K.¹, Aliullina L.A.¹, Salamatin A.A.²

¹Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University

²Institute of Computational Mathematics and Information Technologies,
Kazan (Volga Region) Federal University

Treatment of infectious inflammatory processes of various etiology remains one of the main problems of antimicrobial therapy due to a rapidly increasing number of antibiotic-resistant microorganism strains. In this race against the nature an effort has been making to produce / synthesize new compounds with antimicrobial activity. Extraction of a group or individual biologically active compounds from the plant material is an approach to this challenge.

Formylated phloroglucinol compounds (FPCs) constitute an important class of specialized metabolites widely distributed in plants of genus *Eucalyptus* Labill. These compounds demonstrate a wide range of antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, antiparasitic and other biological activities as shown in vitro. The majority of FPCs of *Eucalyptus viminalis* belong to macrocarpals, mono- and sesquiterpene euglobals and sideroxilonals. Single individual compound isolated from leaves of *Eucalyptus viminalis* – «eucalypton» (macrocarpal am-1) – belongs to macrocarpals with two specialized groups in the chemical structure: one group is phloroglucinol dialdehyde moiety and another is a terpenoid domain.

Extraction of FPCs using lipophilic solvents (hexan, petroleum ether, benzol and etc.) is one of the most widely used approach to isolation of compounds of interest. However, there no commercially available drugs and other pharmaceutical substances based on FPCs.

HPLC with UV-detection at 275 ± 3 nm was described for quantitative determination of FPCs with using commercial samples of FPCs obtained in research laboratories. However, there are no commercially available standard samples of FPCs that meet the pharmaceutical standards.

In this context, further study is needed on chemical profiling and pharmacognosic analysis of *Eucalyptus viminalis*. Also antimicrobial effects of extract from this plant material should be studied on representative microorganism strains, including antibiotic-resistance samples.

**ANALYSIS OF *BACILLUS PUMILUS* METALLOPROTEINASE GENE
EXPRESSION AS PART OF PROTEASE-DEFICIENT
B. SUBTILIS STRAINS**

Khasanov D.I., Koryagina A.O.

Kazan (Volga Region) Federal University

B. pumilus MprBp metalloproteinase was firstly isolated and characterized by Kazan Federal University scientists. Primary structure analysis showed that MprBp has no analogs among prokaryotic enzymes and occupies an intermediate position between two large families of the metzincin clan – adamalysins and astacins. The aim of this work was to evaluate the efficiency of expression systems based on protease-deficient *B. subtilis* strains carrying the *B. pumilus* metalloproteinase gene.

The study of the growth dynamics showed that all recombinant strains have a similar growth curve. The culture grows exponentially up to 12-14 hours, then the stationary phase sets and after the 30th hour, the cell death stage is observed. However, the process of cell death in BRB-strains is more extended in time. It is possible that some of the extracellular proteinases removed from these strains are involved in the cell lysis processes. In BRB14 strain, metalloproteinase activity is observed only at the stage of culture death. This may indicate that BRB14 strain express metalloproteinase, but it is not secreted and accumulating in cells enters the medium only because of culture lysis. It can be assumed that the extracellular proteinases deleted in BRB14 strain are directly or indirectly involved in the MprBp secretion processes. The *B. subtilis* BG2036 and BRB08 demonstrate a characteristic peak of activity at the 36th and 44th hour respectively, which corresponds to the growth retardation stage. The BRB08 strain has a different growth curve. It grows exponentially up to 12–14 hours, just as previous strains, but retardation stage without having a characteristic “plateau” pattern gradually decreases throughout the experiment and reaches OD₆₀₀=0.5 by 72 hour. In comparison, *B. subtilis* BG2036 and *B. subtilis* BRB14 strains reached this value of optical density by 48th hour of growth. As a result, it was found that *B. subtilis* BG2036 is the most efficient strain in terms of target protein expression. Despite the fact that this strain has only two extracellular proteinases removed, it has maximum of MprBp proteolytic activity. BRB-strains, with more extracellular proteinases deleted and theoretically having more potential for target protein expression, were less effective.

This work has been supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

GENOMIC AND METABOLOMIC INSIGHTS OF NON PHYTOPATHOGENICITY OF *RHODOCOCCUS FASCIANS* S11

Khilyas I.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Rhodococcus fascians is well known a phytopathogenic Actinomycete. Virulence of *R. fascians* is attributed with presence of a linear plasmid encoding *fas* and *att* genes responsible for cytokinins production and their regulation, respectively. The *fas*-deficient strains of *R. fascians* were classified as weakly virulent or nonpathogenic due to virulence variation leading to plant disease suppression. Plasmid-free *R. fascians* strain D188-5 clearly demonstrated its avirulence and plant-growth promotion (PGP) activity in *Arabidopsis thaliana* via secretion of phytohormones, biofilm formation and siderophores production.

Strain S11 was isolated from weathered serpentine rock sampled from the Khalilovsky massif, Russia (Latitude: N 51°30' Longitude: E 58° 11'). Cells of strain 11 were rod-shaped (0.6–0.7 μm wide, 2–5 μm long), gram-positive, non-sporulating and non-motile and formed small (0.5–1.0 mm), round and orange-colored colonies with a smooth shape and glistening surface after 48–72 h of cultivation on LB agar at 30°C. We found that S11 strain is lacking virulence plasmid and genes coding genes that enable bacteria to damage higher plants. Also examined are phenotypic profile which revealed a high pH tolerance, phytase activity and siderophores production promoting beneficial plant growth. Fifteen biosynthetic gene clusters were predicted to be present in the genome of strain S11. Among those, one putative PKS, seven putative NRPSs gene clusters and one RiPP-like (ribosomally synthesised and post-translationally modified peptide product) cluster were identified. One NRPS cluster has sequence homology to cluster known to encode for siderophore production. We also showed that *R. fascians* S11 can produce siderophores in chrome azurol S (CAS) agar and in liquid M9 medium under iron-limiting conditions. Finally, plant infection and plant growing stimulation studies were performed. No occurrence of symptoms in the aerial and root parts of the plants was observed.

The natural variation of secondary metabolites produced by S11 might provide a practical basis for revealing antibacterial, fungicide or insecticidal activities. Thus, despite a number of known phytopathogenic strains of *R. fascians* strains we isolated a plant friendly, virulence plasmid free *R. fascians* S11 that might be promising for agricultural practice.

This work was supported by the scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists and graduate students.

STUDY OF ISOLATED RAT HEART AFTER ASISTOLIA

Kobzarev R.S., Khabibrakhmanov I.I., Mosolov L.T., Fashutdinov L.I., Zefirov T.L.
Kazan (Volga Region) Federal University

Cardioplegic cardiac arrest is the most popular method of providing open-heart surgery. Strategies of cardioplegic protection that allow to neutralize negative effects of ischemia during asistolia and reperfusion allow to achieve the best clinical results. The attachment of various infectious microflora, both in the preparatory and postoperative periods of cardioplegia, is very dangerous. Studies of cardioplegic solutions are often carried out on different experimental models with different types of cardioplegic solutions, which makes it difficult to directly compare them with each other. The aim of our study was to evaluate the efficacy and safety of a new extracellular crystalloid CPR developed at Kazan Federal University in an experiment on an isolated rat heart model.

Isolated hearts were perfused on a Langendorff apparatus (ADInstruments) with an oxygenated Krebs-Henseleit solution (KH) (37°C, pH=7.3-7.4) at a constant pressure of 80–82 mmHg. After stabilization of the heart activity, the initial values were recorded. The work was performed according to the following protocol: new solution was administered for 3 minutes, then ischemia was prolonged for 20 minutes, after which time the heart perfusion was resumed with a solution of KH. The heart rate was recorded during 40 minutes of reperfusion. The assessment of the contractility of the myocardium was carried out according to the indicator of left ventricular developed pressure (LVDP). The signals were recorded on the PowerLab 8/35 setup using the "LabChart Pro" program. Statistical processing of the obtained results was carried out using the Student's t-test.

Asystole was achieved within 1 minute of CPR administration. Recovery of spontaneous cardiac activity after myocardial ischemia induced by the new CPR occurred within the first minute of reperfusion in 100% of cases. Decrease in myocardial contractility compared to the initial values was not observed during the entire reperfusion period ($LVD P_{initial}=52\pm 5.2$ mmHg and $LVD P_{reperfusion}=58\pm 5.8$ mmHg), what allows us to conclude about the effectiveness of myocardial protection by the new CPR. In our experiment on a model of an isolated rat heart, which is widely used for the study of various CPR, we showed that the new solution is able to quickly and effectively cause myocardial plegia, and also does not interfere with the rapid and full recovery of its function after the start of reperfusion.

The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 21-15-00121, <https://rscf.ru/project/21-15-00121/>.

OPTIMIZATION OF PURIFICATION OF RECOMBINANT MUTANT *BACILLUS PUMILUS* RIBONUCLEASE

Kosnyrev A.S., Ulyanova V.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Binase is a secreted ribonuclease (RNase) of *Bacillus pumilus* that displays selective cytotoxicity towards tumor cells. Originally, this property was attributed to the enzyme's catalytic activity; however, other factors were discovered. To clarify the contribution of RNA cleavage to biological effects of binase, mutant forms are engineered. Bacteria are the most efficient systems for recombinant protein expression in terms of technology and costs. Recently, there was an attempt to purify catalytically inactive mutant of binase from *Escherichia coli* transformed with the pET15b vector allowing expression of recombinant proteins with polyhistidine affinity tag under strong IPTG-inducible promoter. Upon purification binase was found to form aggregates. Here, we aimed at the optimization of mutant binase purification strategy from the recombinant strain.

The His101Glu mutant binase without N-terminal affinity tag was expressed in the *E. coli* BL21 λ DE3 transformed with pET15b-BinH101E plasmid. Post-induction SDS-PAGE analysis of sonicated cells showed that binase was still in the insoluble protein fraction. It is known that in some cases sonication can induce formation of protein aggregates. Therefore, we applied several cell disruption methods to increase the concentration of binase in the soluble protein fraction. Cells were lysed by sonication in the buffer containing surfactants (glycerol, Triton X-100), by strong (liquid nitrogen-warm water) or mild (liquid nitrogen-ice-cold water) modes of freezing-thawing and by incubation with lysozyme and one of the surfactants (SDS, Triton X-100, Tween-20). Among all these methods, the most efficient one was the incubation with lysozyme and SDS. However, attempts to get rid of SDS for further protein purification using ion-exchange chromatography were not successful. Other methods have not allowed solubilizing binase efficiently. Thus, the refolding of binase from inclusion bodies under denaturation conditions should be performed.

We propose that secreted toxic proteins cannot be expressed without forming aggregates in the cytosolic compartment of bacterial cells due to certain features of the cell and the protein itself. That is, there might be some cell stress proteins that prevent the toxic agent from folding correctly. Alternatively, the enzyme's amino acid sequence may be specifically designed to remain unfolded inside the cell, which facilitates further secretion and inhibits protein's toxic properties.

THE DRY ROT CAUSING POTENTIAL OF *FUSARIUM SAMBUCINUM* AND *FUSARIUM SOLANI* IN POTATO TUBERS

Kostennikova Z.S.¹, Akosah Y.A.¹, Nikolaeva A.A.¹, Vologin S.G.²

¹Kazan (Volga Region) Federal University

²Tatar Research Institute of Agriculture, Kazan

Potato growers suffer great losses as a result of infections caused by various phytopathogens, including fungi of the genus *Fusarium*, various types of which can cause wilting and dry rot of tubers. The aim of this work was to characterize the *Fusarium* strains DR36 and AM9, as well as assess their ability to induce dry rot in tubers of different potato varieties.

The *Fusarium* strain DR36 strain was isolated from a potato tuber with dry rot, while the AM9 strain was obtained from the root neck of potato plants with signs of fusarium wilt. Fungi were grown on Czapek-Dox and Potato Dextrose Agar. The strains were identified based on the homology of the ITS regions of their 5.8S rRNA gene. The extracellular cellulase, endoglucanase and amylase activities, as well as the hemolytic activity of the strains, were characterized. SIX genes were identified in the DR36 genome by qPCR using specific primers. The pathogenicity of the isolates was assessed by their ability to induce dry rot in tubers of 25 potato cultivars when artificially infected with spore suspensions (20 µl, 10⁵ / ml) by injection. For each cultivar, 5 tubers were inoculated. The tubers were examined for 21 days for signs of dry rot and the proportion of affected tissue was assessed. Statistical processing was performed using the Kruskal – Wallis test.

Based on molecular analysis, strains DR36 and AM9 were identified as *Fusarium sambucinum*, and *Fusarium solani*, respectively. It was observed that, both strains show a moderate ability to produce an extracellular cellulolytic complex of enzymes, and the DR36 strain exhibits a high hemolytic activity. Seven SIX genes were identified in the genome of strain DR36: SIX-1, SIX-2, SIX-9, SIX-10, SIX-11, SIX-13, SIX-15. Both strains exhibited high virulent properties, causing dry rot in tubers of most of the studied cultivars: strain DR36 caused dry rot in 15, whereas AM9 damaged 11 of the 25 studied cultivars. *F. sambucinum* DR36 showed the highest virulent properties against Reggi, Salsa, Udacha, Yubilyar and cultivar 12-32 / 33: the damage volume ranged from 2.8 to 3.7 cm³. *F. solani* AM9 showed high virulence against the cultivars Plamyá, Sokur and Tango (damage volume of 2.6–2.8 cm³). The cultivars Prizyor 3–4.2, Red Scarlett and Signal were resistant to both pathogens. Thus, *Fusarium* strains show different virulence against tubers of different potato cultivars. *Fusarium* resistant cultivars will be used for further analysis.

BASED ON *BACILLUS PUMILUS* 7P PROTEASE FEED ADDITIVE RAISE MUC2 EXPRESSION IN CHICKENS ILEUM ENTEROCYTES

Kovalenko D.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Profitability of poultry is one of the main modern biotechnology problems. For a solution to this difficulty there are many researches of the rise poultry feed nutritional value. It has been shown that used like feed additive proteases raise digestibility of proteins by chickens and let to reduce the feed protein content. However, the decrease of protein consumption may influence badly on health and immune of chickens. Mucoprotein mucin, secreted by goblet enterocytes, is the main component of mucous guts layer. It is important for guts defense from pathogens, digestive enzymes, it promotes regeneration of guts and was admitted as marker of chickens' health. In this research, we estimate feed additive based on subtilisine-like protease of *B. pumilus* 7P weight for MUC2 expression in chickens ileum.

For exploration of *B. pumilus* 7P protease influence on expression of MUC2 we use real-time OT-PCR method. For 14 days of growth three chickens was selected from control and experimental group for picking ileum samples. With real-time PCR we test differential expression of Mucin 2 mRNA in ileum. Beta-actin (ActB) was chosen as control housekeeping gene. Result of PCR we analyzed by $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method based on cycle threshold (Ct). We show that group of chickens with protease including diet have higher MUC2 expression (2.04 times, $p < 0.0321$) than control group.

Thus, including protease-based feed additive in diet of broiler chicken influence positively on mucin expression, that improve digestive process and mean higher protection of organism.

This work has been supported by the Russian Science Foundation No. 16-16-04062 (with continuation) and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

INFLUENCE OF PROTEASE *BACILLUS PUMILIS* 7P ON IMMUNE STATUS GENES DIFFERENTIAL EXPRESSION IN ILEUM TISSUE OF CHICKENS

Kovalenko D.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Reduction of chickens feeding price is very important for agricultural economics. One way to solve this problem is usage of feed additives. It was shown that including proteases feed additives potentially raise digestibility of aminoacides by broiler chickens that let to reduce protein content in feed. Application of diet with lower protein content not only decline feed cost, but decrease the nitrogen compounds pollution too. However, cutback of protein consumption can affect health and immunity of chickens. In this research, we estimate feed additive based on subtilisine-like protease of *B. pumilus* 7P weight for chickens immune status genes differential expression.

The main method to estimate expression degree was real-time OT-PCR. We estimated differential expression of cytokines (IL8, IL17F, TNFSF15) and endothelial junction-associated proteins (JAM2, occludine, ZO1) transcripts in cDNA sample of control and experimental groups chickens ileum tissue. Housekeeping gene of beta-actin was chose as control gene. PCR results was analyzed with $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method based on cycle threshold (Ct). Experimental group of chickens, that had proteinase-based diet, did not have any pro-inflammatory gene (IL8, IL17F, TNFSF) expression differ with control group chickens ($p < 0.0001$). For all tested in research endothelial junction-associated proteins (JAM2, occludine, ZO1) significant raise of expression was observed (1.42 times for JAM2($p < 0.0019$), 2.97 times for occludine ($p < 0.0001$), 1.28 times for ZO1($p = 0.058$)) compared with control group chickens. This elevated expression of JAM2, occludine and ZO1 may promote improvement of guts barrier function.

Thus, we show that usage of diet with protease feed additive don't induce inflammatory reaction in chickens ileum and positively influence on endothelial-associated proteins expression that point about immunomodulatory activity of this enzyme.

This work has been supported by the Russian Science Foundation No. 16-16-04062 (with continuation) and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

CREATION OF GENETIC CONSTRUCTIONS FOR OBTAINING KNOCKOUTS FOR RAB-GERANYLGERANYLTRANSFERASE GENES IN *MARCHANTIA POLYMORPHA* PLANTS

Kulazhenko M.S., Valeeva L.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

Prenylation is one of the most important post-translational protein modifications in all kingdoms of living organisms. During the prenylation lipid moiety is specifically added to the proteins determining their new properties. There are three types of prenyltransferases in eukaryotes, and the most specific one is Rab-geranylgeranyltransferase (Rab-GGT). Prenylated proteins are involved in variety of inter- and intracellular processes, including signal transduction, polar cell growth, membrane and cell wall modification. All of them are crucial for the functioning of multicellular organisms. The study of prenyltransferases and prenylated proteins of plants opens up new knowledge about plant multicellularity evolution. Bryophytes are one of the most ancient multicellular terrestrial plants that means their uniqueness as the model organisms in the studies of plant development.

The objective of this work was a development of plasmids for CRISPR / Cas9 editing of Rab-GGT genes in bryophyte *Marchantia polymorpha*. In order to identify the homologs of Rab-GGT in the genome of *M. polymorpha* we aligned *Arabidopsis thaliana* and *Physcomitrella patens* sequences against *M. polymorpha* genome using Phytozome and marchantia.info databases. We determined the presence of one copy of the α -subunit gene and one copy of the β -subunit gene of Rab-GGT in the genome of *M. polymorpha*. Phylogenetic analysis of the Rab-GGT genes of *M. polymorpha* was spent. We developed plasmids for CRISPR/Cas9 editing of Rab-GGT genes for obtaining loss-of-function mutant lines of *M. polymorpha*. Different sgRNA sequences were cloned into pMpGE011 backbone binary plasmid. Further, pMpGE011::sgRNA plasmid were transformed into *Agrobacterium tumefaciens* GV2260 strain. One strain of *A. tumefaciens* was developed for α -subunit of Rab-GGT editing, and two agrobacterial strains were obtained for editing of β -subunit.

Therefore, we developed plasmids for CRISPR/Cas9 editing of Rab-GGT genes in *M. polymorpha*. Further plant transformation and generation of loss-of-function plant lines will allow us to find out the role of Rab-GGT in thallus development of *M. polymorpha*.

The work is supported by the Russian Federation Presidential Scholarship №CII-3391.2021.4.

CHARACTERISTIC OF THE MICROBIAL COMMUNITY OF THE SHULGAN-TASH CAVE (REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN)

Kurdy W., Yakovleva G.Yu., Ilyinskaya O.N.
Kazan (Volga Region) Federal University

Caves have special ecosystems with their own microclimatic and physicochemical conditions, which leads to the formation of specific associations of living organisms. Interest in the microbial diversity of caves is associated not only with the study and preservation of these objects, but also with the search for new producers of biologically active substances that can be used in industry, agriculture and medicine. The aim of this work was to characterize the community of microorganisms isolated from biofilm samples and water samples from the Blue lake of the Shulgan-Tash cave. For the study, 7 samples of biofilms were taken from different areas of the cave, and 2 samples of water from the Blue lake, located at the entrance to the cave. 127 isolates were obtained, of which 45 were isolated on Luria-Bertani (LB) medium, 65 – on R2A medium, and 17 – on Gause medium. 53 isolates were fully identified. All of them were assigned to the domain Bacteria, phyla Proteobacteria (83%), Firmicute (9%), and Actinobacteria (8%). The phylum Proteobacteria is represented by 6 families: *Pseudomonadaceae*, *Burkholderiaceae*, *Moraxellaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Caulobacteraceae*, and *Xanthomonadaceae*. Phylum *Actinobacteria* – 3 families: *Micrococcaceae*; *Microbacteriaceae* and *Streptomycetaceae*. Phylum *Firmicutes* – 2 families: *Planococcaceae* and *Bacillaceae*. Bacteria were screened for their ability to secrete enzymes on synthetic media containing the appropriate substrates: 1) casein (to assess protease activity); 2) RNA (ribonuclease); 3) starch (amylase). Most identified isolates capable of secreting enzymes were isolated from water samples from the Blue lake. Bacteria of the genus *Pseudomonas*, as well as the species *Stenotrophomonas rhizophila*, *Bacillus litoralis*, *Acinetobacter lwoffii* and *Yersinia enterocolitica*, had the highest protease activity. The highest RNase activity – *P. umsongensis*, *P. frederiksbergensis*, *B. litoralis*, *Y. enterocolitica*, *A. lwoffii*, *L. fusiformis*, *Polaromonas naphthalenivorans* and *Caulobacter rhizosphaerae*. The highest amylase activity – *P. stutzeri*, *P. frederiksbergensi*, *Serratia fonticola*, *Y. enterocolitica* and *A. lwoffii*.

The study of individual types of microorganisms in caves not only makes a great contribution to the biological characteristics of this type of ecosystem, but also contributes to the search for new producers of biologically active substances.

The work was supported by Russian Science Foundation grant No 22-24-00036

ASSESSMENT OF ORAL HEALTH IN WORKERS WITH HERPETIC STOMATITIS

Kuznetsova O.Yu., Mosolov L.T., Shakirov R.R., Zefirov T.L.
Kazan (Volga Region) Federal University

Currently, the human immune system plays an important role, it has a significant impact on the pathogenesis of cardiovascular diseases. A chronic focus of oral infection negatively affects the immune system in humans. Therefore, we decided to look at the immunological indicators of industrial workers with recurrent herpetic stomatitis (RHS).

The aim of the study was to study the immunological status of industrial workers with RHS before and after treatment.

To achieve this goal, we examined 76 workers aged 23 to 47 years with recurrent herpetic stomatitis. The immunological status of these patients was assessed before and after treatment according to the indicators of local oral immunity (secretory immunoglobulin A, saliva lysozyme), cellular immunity (staging of the reaction of blasttransformation of lymphocytes with phytohemagglutinin), humoral immunity (determination of immunoglobulins of class G, M, A). Immunological parameters were also studied in a control group of patients, which consisted of healthy workers.

Prior to treatment, workers with recurrent herpetic stomatitis showed a significant ($p<0,05$) decrease in the indicators of SIgA and saliva lysozyme, as well as a decrease in the reaction of lymphocyte blast transformation with phytohemagglutinin; a decrease in IgG and IgA, and IgM data remained normal.

After treatment, there was a significant ($p<0,05$) increase in the indicators of SIgA, saliva lysozyme; an increase in the indicators of the reaction of blast transformation of lymphocytes with phytohemagglutinin; an increase in IgG and IgA. In workers of industrial enterprises with RHS, these immunological indicators returned to normal, that is, they approached the control group of healthy patients.

Evaluation of the oral cavity showed that the results obtained should be taken into account in the treatment of RHS in these patients. Timely treatment of RHS is one of the links of pathogenetic therapy in industrial workers, and also allows you to generalize the results and predict the development of the disease.

GENERATION OF A GENETIC CONSTRUCT FOR GENE KNOCKOUT OF BACTERIAL RIBONUCLEASE

Luginskaya S.A., Ulyanova V.V.
Kazan (Volga Region) Federal University

Binase is the guanyl-preferring ribonucleases secreted by *Bacillus pumilus*. It evokes great interest of scientists due to such biological actions as antitumor and antiviral effects. However, there is still no common opinion on the role of binase in the *Bacillus* population. Previously, it was believed that binase performs only a “digestive” function by hydrolyzing extracellular RNA. Recent studies indicate the possible presence of other functions. Thus, more detailed research of binase natural function is needed. The aim of the present work was to obtain a genetic construct for further binase gene knockout in genome of *B. pumilus* 7P.

In the course of the work, single DNA fragments flanking the binase gene from the 5' end (up fragment) and 3' end (down fragment) in the genome of *B. pumilus* 7P as well as spec fragment containing structural and regulatory parts of the spectinomycin antibiotic resistance gene were obtained. Amplification was carried out using a three-stage polymerase chain reaction employing specific primers. To obtain a unified genetic construct up, down and spec fragments were combined, and the resultant fragment was PCR amplified by two-stage PCR with the help of primers complementary to its ends. The obtained chimeric product was further purified by DNA extraction from agarose gel.

Thus, a genetic construct composed of spectinomycin resistance gene surrounded by nucleotide regions flanking binase gene in bacterial genome was obtained. It will be used for transformation into *B. pumilus* 7P bacteria in order to inactivate the binase gene. Inactivation of the binase gene will help to characterize the changes occurring in bacteria due to the absence of the ribonuclease and get information about its physiological role in bacterial population.

THE RESISTANCE OF PHYTOPATHOGENIC *FUSARIUM SPP.* TO DIFFERENT CLASSES OF FUNGICIDES

Makhin N., Kostennikova Z.S., Akosah Y.A.
Kazan (Volga Region) Federal University

Phytopathogenic fungi of the genus *Fusarium* cause significant crop losses in agricultural products. Various fungicides are widely used to control fungal infections. However, their large-scale use is unsafe from an environmental point of view and facilitates the emergence of resistant phytopathogenic strains. This work aimed to compare the resistance of *Fusarium spp.* to fungicides of different classes using the poisoned food method.

The isolates *Fusarium solani* AM9, obtained from the root neck of a potato plant with signs of Fusarium wilt and *Fusarium oxysporum* DR40, isolated from a dry-rotted potato tuber were used as objects of the study. The fungicides: 1) Penconazole, 2) Fludioxonil, and 3) CuSO₄ were used. Fungicide solutions were added to a PDA culture medium to final concentrations ranging from 0.005-0.04 mg/ml for fludioxonil, 1–8 mg/ml for penconazole, and 2–16 mg/ml for CuSO₄. Agar blocks of agar of diameter 5 mm were cut out from 7-day fungal cultures placed in the center of Petri dishes with PDA and fungicides. The cultures were incubated for 8 days in dark at room temperature, and the diameters of the colonies were measured daily for 8 days. The inhibition of mycelium growth by the fungicide [I (%)], expressed in percents, was determined for the cultures by the formula: $I (\%) = [(dc - dt) / (dc - 5)] \times 100$, where dc is the average colony diameter in the control sample (growth without fungicide), and dt is the average colony diameter in the test sample.

At all concentrations, penconazole, and CuSO₄ completely suppressed the growth of *F. oxysporum* DR40. *F. solani* AM9 retained the ability to grow in the presence of these fungicides. Penconazole at a concentration of 2–8 mg/ml inhibited the growth of fungi by 70–76% on the 2nd day of growth. However, at a later date, at low concentrations of the fungicide, the growth of fungi was partially restored. On days 3–7, growth inhibition was 45–47% at a concentration of 2 mg / ml and 61–58% at a concentration of 4 mg / ml. With an increase in the concentration of the fungicide to 8 mg/ml, inhibition of colony growth at a high level (68–76%) persisted up to 7 days. Copper sulfate effectively suppressed the growth of AM9 only at concentrations of 16 mg/ml. Fludioxonil at the concentrations used partially inhibited only the DR40 strain and practically did not suppress the growth of AM9. Thus, *F. solani* AM9 is highly resistant to all fungicides used and is able to adapt to higher fungicide concentrations that completely inhibit the growth in *F. oxysporum* DR40.

IDENTIFICATION OF FIMBRIAL OPERONS IN THE GENOMES OF UROPATHOGENIC *MORGANELLA MORGANII* STRAINS

Minnullina L.F., Mardanova A.M.

Kazan (Volga Region) Federal University

The opportunistic pathogen *Morganella morganii* is one of the causative agents of urinary tract infections (UTIs). It is known that uropathogenic bacteria have different type of fimbriae, which allow them to colonize the urinary tract. The majority of uropathogens express type I fimbriae (mannose-sensitive, MS) and P-fimbriae (mannose-resistant, MR). In this study we used the genome sequences of three *M. morganii* strains MM 1, MM 4, and MM 190, which were isolated from the urine of patients with community-acquired UTIs. The draft genome sequences were previously deposited in the DDBJ/EMBL/GenBank by us under the accession numbers QUOO00000000 (MM 1), QPLM00000000 (MM 4), and QMKL00000000 (MM 190). BLAST tools were used for multiple sequence alignment.

It was found that MM 190 strain, which is characterized by the highest adhesion capacity, expresses MR-fimbriae. At the same time, MM 1 and MM 4 strains showed poor adhesiveness, which was associated with MS-fimbriae in case of MM 1. We determined 73, 75, and 77 genes necessary for fimbrial biogenesis and adhesion in the genomes of MM 1, MM 4, and MM 190, respectively. All strains had a *sfm*-cluster responsible for the expression of *sfm*-fimbriae (Salmonella-like fimbriae), which are the mannose-resistant derivatives of type I fimbriae. It is located in loci DYH52_RS11290–11315 (MM 1), DVJ80_RS10225–10250 (MM 4), and DQ401_RS05555–05580 (MM 190), and contains 6 genes. The *sfm*-cluster of *M. morganii* strains had a 66% sequence homology with *E. coli* ecoli019 (LR130532.1). *fim*-cluster encoding type I fimbriae was identified only in genome of MM 1. It contains 8 genes (DYH52_RS11250–11285) which have a 65.4% identity with genome sequence of uropathogenic *E. coli* CFT073 (AE014075.1). The *mrp* gene cluster responsible for MR/P-fimbriae (Proteus-like fimbria) synthesis was detected in all strains. The cluster containing 11 genes is located in following loci: DYH52_RS03860–03910 for MM 1, DVJ80_RS06295–06345 for MM 4, and DQ401_RS08490–08540 for MM 190. These sequences showed a 99–100% homology with each other and 68.3% with *mrp*-cluster of uropathogenic *P. mirabilis* HI4320.

The work was supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

NOBLE MOLD: ISOLATION AND COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PROTEOLYTIC AND ANTAGONISTIC ACTIVITIES

Mironskaya E.A., Yakovleva G.Yu.
Kazan (Volga Region) Federal University

Micromycetes of the genus *Penicillium* have long been used to make cheeses with mold: Roquefort cheese and Gorgonzola – *Penicillium roqueforti* blue mold; Camembert and Brie – white mold growing on the surface, *Penicillium camemberti* (*Penicillium candidum*). Proteolysis is the most important process in the development of the correct flavor and aroma of cheese. Currently, not only a variety of cheeses, but also sausages covered with an edible covering, which includes varieties of white or green mold (*Penicillium nalgiovens*, *P. chrysogenum* and *P. salamiip*) are gaining popularity.

The aim of this work is to isolate and evaluate the proteolytic and antagonistic activities of micromycetes of the genus *Penicillium* isolated from cheeses and dry-cured sausages.

We used microscopic fungi of the genus *Penicillium*, isolated from: 1) Roquefort cheese (manufacturer – Societe, France); 2) Brie cheese (producer – Casino, France); 3) White Moon Aromatic cheese (producer – Milbona, Denmark); 4) dry-cured semi-dry sausages "Fuet Extra" (manufacturer – Casademont, Spain).

On the basis of morphological and microscopic data, all the micromycetes isolated by us were assigned to the genus *Penicillium*. The ability of micromycetes to synthesize proteolytic enzymes was determined by the plate method according to the zones of protein (casein) hydrolysis around fungal. All mycomycetes isolated by us had proteolytic activity. The maximum proteolytic activity was observed in micromycetes *Penicillium sp.* R and *Penicillium sp.* B isolated from Roquefort and Brie cheeses, the proteolytic activity coefficient of which were 4.0 ± 0.5 and 3.9 ± 0.6 , respectively. The antagonistic activity of micromycetes was determined by the block method according to the zones of growth inhibition of *Staphylococcus aureus* 29213. The greatest antagonistic activity was observed in micromycetes isolated from Roquefort cheese and from the surface of White Moon Aromatic cheese, the zones of inhibition of growth of *S. aureus* 29213 were 2.35 ± 0.05 for both micromycetes. *Penicillium sp.* FE isolated from the sausage surface slightly suppressed the growth of *S. aureus* 29213 (suppression zone 1.25 ± 0.02).

Consequently, the microscopic fungi studied by us not only participate in the creation of a special taste and aroma of cheese and sausage, but also prevent the growth of pathogenic microflora.

INTRACELLULAR METALLOPROTEINASE *KLEBSIELLA OXYTOCA*

Misheeva P.S., Mardanova A.M.

Kazan (Volga Region) Federal University

Virulence of bacteria *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* may be associated with the formation of biofilms, the production of proteolytic enzymes, and the invasion of bacteria into urothelial cells. Earlier, the metalloproteinase grimelisin, which cleaves actin at a single site with the formation of two fragments of 36 and 8 kDa, was found in *Serratia grimesii* cells. Presumably, the production of grimelysin contributes to the invasion of bacteria into eukaryotic cells. Using BLAST, NCBI and ASAP online resources, we found a 1029 bp gene in the genomes of different strains of *K. oxytoca*, which is homologous to the *S. grimesii* grimelysin gene. The homology of the products of these genes was 71%. The aim of this research was to inactivate the hypothetical metalloproteinase gene of the pathogenic strain *K. oxytoca* NK-1. The ability of the *K. oxytoca* NK-1 strain cell extract to cause limited proteolysis of musculoskeletal actin with the production of a stable 36 kDa fragment was in the focus of this study. The activity of grimelisin-like proteinase was detected by electrophoresis in 12.5% SDS-PAGE according to the Laemmli method. The maximum accumulation of specific intracellular proteinase was observed on the 48th hour of growth during cultivation at 37°C. Lowering the temperature to 30°C inhibited the accumulation of grimelisin-like proteinase.

The gene for the hypothetical metalloproteinase was inactivated using the Datsenko method with modifications. Using PCR amplification, a 1500 bp insert was obtained, containing a kanamycin resistance gene, as well as regions homologous to the ends of the metalloproteinase gene. Recombinant NK-1 cells carrying the helper plasmid pKD46:GcR with genes of λ Red recombinases were obtained as well. Then, via electroporation, competent *K. oxytoca* cells that accumulated the optimal amount of recombinase were transformed with PCR amplification product, transformants were selected on a medium with kanamycin. Colonies of recombinants with an inactivated metalloproteinase gene were checked by PCR and agarose gel electrophoresis for the presence of a specific 1500 bp long product.

Thus, in the genome of *K. oxytoca* NK-1 a gene of grimelysin-like proteinase was identified, while a specific actinolytic activity was observed in the cell extract. Using λ Red-mediated recombination, an *K. oxytoca* NK-1 mutant with an inactivated gene of a hypothetical metalloproteinase was obtained.

This paper has been supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

BACTERIA OF THE GENUS *PROTEUS* AS AN INDICATOR OF WATER POLLUTION

Nazarov J.-S.E.

Bukhara State Medical Institute, Uzbekistan

The presence of bacteria of the genus *Proteus* in water and soil may indicate faecal contamination of the environment in which these proteolytic bacteria are considered allochthonous. The detection of the bacteria *Proteus mirabilis* in water sources is considered as an indicator of fecal contamination, and *Proteus vulgaris* is considered as an indicator of organic matter contamination of the object. According to these data, *Proteus* bacteria are classified as sanitary indicative microorganisms. In July 2021, a water sample was taken from the Samanids' Lake, located in the western part of the city of Bukhara, in order to identify *Salmonella* bacteria. For differentiation, suspicious colonies were isolated on Olkenitsky's medium (the triple sugar iron medium with carbamide). The culture was inoculated by piercing the medium with a microstreaker in the center of the agar column to the very bottom of the tube. The samples were placed in a thermostat at 37 °C for 24 hours. After that, an assessment was given to the change in the appearance of the environment. Initially, the medium was red, the column showed a blackening of the medium upon injection, while the beveled part of the nutrient medium was bright crimson. In Olkenitsky's medium, during the growth of a culture that hydrolyzes carbamide, the medium acquires a diffuse bright red-crimson color. These facts indicated the absence of *Salmonella* bacteria and the presence of *Proteus vulgaris*. Bacteria of the genus *Proteus* are conditionally pathogenic microorganisms. Like *Proteus*, a character in ancient Greek mythology who had a unique ability to reincarnate (metamorphosis), bacteria of this genus often show pleomorphism on a dense nutrient medium. Foods contaminated with *Proteus spp.* are usually discarded, and water containing *Proteus spp.* should not be drunk. The detection of these bacteria in the water of open reservoirs and in the study of therapeutic muds is officially called "Proteus meter". In the Russian Federation, *Proteus* meter is recommended in the study of water in open reservoirs, therapeutic muds. *Salmonella* bacteria break down glucose in Olkenitsky's medium. Fermentation of glucose is manifested by a change in the color of the column of the medium to yellow, while maintaining the red color of the "tongue" of the medium. Although the presence of *Proteus vulgaris* indicated the pollution of this water body with organic substances, it was nevertheless proved that there were no pathogenic enterobacteria in the Samanids' Lake.

BIOMONITORING OF THE ECOLOGICAL STATE OF WATER BODIES OF THE BUKHARA REGION WITH THE HELP OF PERIPHYTON

Nazarov J.-S.E.

Bukhara State Medical Institute, Uzbekistan

In the spring, summer and autumn of 2020, on the territory of the Bukhara region, studies were carried out with the aim of biomonitoring water bodies. These water bodies were selected: the Tudakul reservoir, lake in the city park of the Samanids and the Nometan treatment plant. On the example of periphytic microorganisms, an assessment of the ecological state of the above-mentioned water bodies was given. It has been established that hydrobiological indicators can determine the ecological state of a reservoir for a long period of time, while bacteriological indicators characterize the state of water or bottom sediments at the present time. The necessary material was taken from neutral substrates of the studied water bodies (stones, concrete structures, etc.). The selected material was placed in a sterile glassware with a capacity of 0.5 l. and preserved at the sampling site with 40% formalin. After that, the samples were delivered to the laboratory, where the analysis (identification of microorganisms) was performed using an optical microscope according to generally accepted methods. For the study of aquatic fouling, the biotic periphyton index (BPI) was used, which is necessary for assessing the ecological state and quality of water bodies. Anthropogenic pollution causes changes in the composition and structure of aquatic communities, expressed in a change in the dominant complexes of organisms, a simplification of the ecological structure, and the appearance of highly saprobic species in the dominants. In terms of taxonomic diversity, diatoms (*Bacillariophyta*) occupy a dominant position in the periphyton of the studied water bodies of the Bukhara region, 111 species (58.42%). Based on the results of the study, the following could be noted. As the level of water mineralization increases, the specific ratio of species - bioindicators, characteristic of biotopes with an accumulation of plant organic matter in the presence of increased water salinity in freshwater reservoirs, increases, which gives grounds to classify water quality in the surveyed water bodies as class III (moderately polluted waters). The increase in the intensity of anthropogenic impact on surface water bodies makes the task of finding indicators characterizing the safety of water bodies used for household, drinking and recreational purposes of the population urgent. Periphyton is an extremely suitable object for research in the field of ecology, and is also of paramount importance as an indicator for the sanitary-biological assessment of waters.

CYANOBACTERIA AS A FACTOR OF INCREASING THE SPECIES OF *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* IN FRESHWATER RESERVOIRS

Nazarov J.-S.E.

Bukhara State Medical Institute, Uzbekistan

L. pneumophila is an inhabitant of freshwater reservoirs. It is a genus of pathogenic gram-negative bacteria from the class *Gammaproteobacteria*. The ideal temperature range for *Legionella* growth is 32–42 °C. As a rule, the number of *Legionella* in natural aquatic ecosystems is extremely small and does not exceed 10³ CFU/L. The possibility of human infection with *Legionella* at such a concentration in water bodies is uncommon. *Legionella* can parasitize the body of amoebas, which are widespread in freshwater bodies of water. One amoebic cell can contain up to 1000 *L. pneumophila* cells, which can infect 14 species of amoeba and two species of ciliates from the genus *Tetrahymena*. For *L. pneumophila*, two ecological niches are possible. The first is natural freshwater reservoirs, and the second is water in man-made systems. If amoebae for *Legionella* serve as victims, then blue-green algae act as allies of symbionts. It has been experimentally proved that cyanobacteria induce the reproduction of *Legionella* due to the products of their metabolism, being a supplier of energy and carbon for the latter. Under these conditions, the interaction of *Legionella* with blue-green algae may well become one of the reasons for the increase in the amount of the pathogen in the water and pose potential risks to humans. The likelihood of contracting legionellosis increases with the level of contamination of the water by the pathogen. There is evidence of sporadic cases of legionellosis infection when swimming in warm fresh water bodies with a large number of cyanobacteria.

In July 2021, during ad hoc reconnaissance water sampling to study the species and quantitative composition of phytoplankton on the western coast of the Tudakul reservoir, 10 species of blue-green algae (*Cyanophyta*) were found. This amount was 23.25% of the total number of all detected algae species. In the studied reservoir, representatives of the genus *Microcystis* dominated in comparison with representatives of other genera of algae. With mass reproduction, species of the genus *Microcystis* are capable of causing water bloom and can produce neurotoxins and hepatotoxins, making the water unsuitable for further use for drinking and recreational purposes. Blooming water is a direct result of anthropogenic impact on the natural environment. Most often, this phenomenon occurs due to the excessive use of mineral fertilizers, mainly phosphate fertilizers. These substances, together with sewage and groundwater entering water bodies, make it unusable and increase the risk of infection with various pathogens, including *L. pneumophila*.

GIARDIA OOCYSTS AS AN INDICATOR OF THE SAFETY OF WATER SOURCES FOR RECREATIONAL USE

Nazarov J.-S.E., Suleimanov S.F.

Bukhara State Medical Institute, Uzbekistan

In June 2021, a water sample was taken in the Tudakul reservoir (west bank) in order to identify parasitic agents. Several water samples were taken at a distance of one and a half meters from the shore from different depths. Coagulant ammonium sulfate $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ was added to the water sample at the sampling site at a dose of 0.1–0.3 g/l. The sediment obtained during this process was transferred to another sterile container. This water sample was delivered to the laboratory on the same day, where an analysis was made to identify the number of parasitic agents (cysts) of *Giardia spp.* A characteristic feature of these cysts was that the well-defined membrane lagged behind the protoplasm for the most part. Also, inside the cyst, along the front line, there were two supporting threads - axostyles inherent in representatives of the genus *Giardia*. Cysts were found containing both 2 nuclei (immature cysts) and cysts with 4 nuclei (mature cysts), the second was quantitatively higher. In addition, when the preparation was stained with a 1% aqueous solution of eosin, viable lamblia cysts did not immediately perceive the color during the first 5 minutes, which indicated the viability of the cysts, since the dead cysts immediately turned pink. All this was evidence that viable cysts of lamblia are present in this reservoir. In total, on average, up to 37 lamblia cysts in 25 dm³ of water were found in the studied water of the Tudakul reservoir. The state standard of the Republic of Uzbekistan O'zDSt 950:2011 "Drinking water" provides for the absence of lamblia cysts in 25 dm³ of drinking water. The infectious dose for giardiasis is about 10-100 cysts, and there is a risk of getting sick after swimming in open reservoirs containing viable lamblia cysts. The Tudakul reservoir in the summer is actively used by the townspeople as a recreation area. Consequently, the above indicator indicates the epidemiological disadvantage of the reservoir in terms of the parasitological situation, for recreational use. For the prevention of giardiasis, in order to avoid contamination of water reservoirs with lamblia, it must be borne in mind that an important role is played by the protection of surface water sources from pollution by sewage. As studies show, the highest percentage of detection of cysts of *Giardia spp.* in the Bukhara region falls on the hottest season, June and July months. Thus, in order to prevent parasitic diseases transmitted by water, constant monitoring of surface water sources is needed in the summer season, during the period of mass visits by vacationers to various water areas.

PLASTISPHERE – A NEW ANTHROPOGENIC ECOSYSTEM FOR MICROORGANISMS OF THE WATER ENVIRONMENT

Nazarov J.-S.E., Annas M.

Bukhara State Medical Institute, Uzbekistan

Plastisphere is a term that arose to refer to organisms living in sea waters in an artificial plastic environment. The hydrophobic nature of plastic surfaces stimulates the rapid biofilm formation of many types of microorganisms. Some organisms accelerate the biodegradation of plastic materials to potentially hazardous chemicals. For example, the type of fungus *Aspergillus tubingensis* is a causative agent of opportunistic infections that decomposes polyurethane. As the plastic breaks down into smaller pieces and eventually microplastics, there is a higher likelihood that it will be consumed by plankton and end up in the food chain. As plankton is eaten by larger organisms, plastic may eventually accumulate in fish eaten by humans. There are giant gyres in the world's oceans, and these currents have formed several huge accumulations of plastic debris, the so-called garbage spots. In these regions, for every square kilometer of water area, there are hundreds of thousands or even millions of pieces of plastic waste. A recent study has identified over 1000 species of bacteria and algae attached to microplastic debris. At the same time, it is known that many regions of the world ocean far from the coast are characterized by a very modest species diversity of microorganisms. The ability of *Vibrio cholerae* to form biofilms on various abiotic substrates, including plastic, increases their survival in the environment by overcoming the antagonistic effect of representatives of aquatic ecosystems. Thus, there is a wider spread of cholera's vibrios with the waters of the World Ocean to new regions with the likelihood of the formation of endemic foci of cholera. Microorganisms of the genus *Vibrio* pose a danger not only to humans. Among the representatives of this genus there are species that are pathogenic for fish, for crustaceans, for cephalopods, thus, it is possible that plastic debris contributes to the spread of infectious diseases in the sea for many marine inhabitants. Fish very often ingest pieces of plastic, and it becomes possible for pathogenic bacteria and organic pollutants to enter the food chain, at the end of which there is a person. Do not forget that, in freshwater bodies of water and rivers, an unfavorable ecological situation can also develop, due to pollution with plastic waste. The Yangtze River alone, as of 2019, dumped approximately 1.5 million metric tons of plastic waste into the Yellow Sea per year. The above facts testify to the importance of studying a new ecosystem created by man and posing a threat, both to the human population and to nature as a whole.

EFFECT OF *BACILLUS SUBTILIS* GM5 PROBIOTIC ON THE GROWTH PARAMETERS OF BROILER CHICKENS

Nikolaeva A.A., Mardanova A.M.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

The gastrointestinal microbiome influences metabolism, growth, digestion processes and maintaining poultry state of health. Broiler farming productivity can be increased by modulating gut microbiote. The main purpose of the work was to characterize the ability of strain of *B. subtilis* to stimulate the growth of Ross-308 cross broiler chickens.

B. subtilis GM5 strains with high antagonistic activity isolated from potato rhizosphere were used as probiotics. The in vivo experiment was performed in the conditions of the "Lachyn" Agricultural Enterprise (AE). Sixty 1-day-old Ross-308 cross chickens were selected with an average live weight of 54.5 ± 0.7 g, from which a control group and experimental group of 30 chickens were formed. The chickens were fed with a standard compounds "Starter", "Grower", "Finisher" (LLC Algorithm Investitsiy). The experimental groups received compound feed with the addition of a suspension of *B. subtilis* GM5 spores at a concentration of 1×10^7 CFU/g of feed. The probiotic was added to the dry food by spraying with a spray gun with constant manual stirring. The chickens were kept in ventilated cell batteries at a temperature of 35-36°C with artificial lighting for 24 hours a day. Daily determining growth parameters of control and experimental broiler groups was carried out, including determining live weight, average daily body weight gains and livestock safety. The feed amount was determined by measuring the remaining feed. The feed conversion rate was calculated by dividing the feed consumed by the body weight gain. The effect of a probiotic supplement on the growth dynamics of Ross-308 cross broiler chickens was studied. The safety of livestock over the entire period of scientific and practical experience was 100%. On day 35, the average weight gain of control chickens was 1309.0 ± 62.9 g, and experimental chickens – 1564.0 ± 67.0 g ($P < 0.05$), which is 19.4% higher than the control. The average daily weight gain of control chickens was 35.85 ± 1.78 g, and experimental chickens – 43.13 ± 1.92 g. The use of a probiotic increased feed digestibility. Feed conversion in chickens of the experimental group was lower by 11.9% and amounted to 2.065 units, while in the control group it was 2.344 units.

Thus, it was found that the feed additive based on the spores *B. subtilis* GM5 is promising for use as a probiotic in poultry farming. Spores of the GM5 strain had a positive effect on poultry body weight gain and improved feed intake.

SULFITE-REDUCING BACTERIA AS AN ASSESSMENT OF THE QUALITY OF WATER DISINFECTION

Nuraliev N.A., Nazarov J.-S.E.

Bukhara State Medical Institute, Uzbekistan

Sulfite-reducing clostridia are large gram-positive spore-forming rods. Microorganisms of this group are distinguished by their ability to reduce sulfites to sulfides. This property is actively used in their determination in laboratory conditions. Considering that only spore anaerobes of intestinal origin differ in the ability to reduce sulfites, this feature made it possible to classify the presented group of microorganisms as sanitary indicative. The most common representative of sulfite-reducing clostridia is *Clostridium perfringens*. This microorganism belongs to the permanent consorbents of the intestinal tract, but at the same time it has a smaller number than the more common genus *E. coli*. SRC spores are highly resistant to environmental influences. Taking into account this feature, when bacteria are detected, it is possible to judge about long-standing fecal contamination of water. The high resistance of spores to aggressive environmental influences and, in particular, to disinfecting and sterilizing techniques, makes SRC spores an important technological indicator that makes it possible to assess the quality of water disinfection. In the presence of defects in the technology of water disinfection, spore-forming Clostridia will be the first bacteria to overcome this barrier. SRC are indicator microorganisms, since their presence indicates the possible presence in water of similar in resistance protozoan cysts and oocysts, as well as viable helminth eggs.

To assess the quality of the water treatment systems, microbiological analysis can be carried out for the presence of this type of spore. The study uses a special method aimed at growing inoculations in sulfite-iron agar (Wilson-Blair medium). For this, conditions close to anaerobic are created – as well as counting the number of black-pigmented colonies. When carrying out the analysis, a water sample placed in test tubes is warmed up in a water bath at a temperature of 75 degrees with an error of ± 5 degrees. The procedure takes 15 minutes. If chlorinated water is examined, heating is not necessary. Determination of bacteria in water can be carried out by one of three methods – filtration in test tubes, in Petri dishes or direct inoculation.

Profitability analysis is carried out on the basis of quantitative calculation. At the same time, only inoculations that produce isolated black-pigmented colonies are taken into account. The test result is determined by the number of colony-forming units (CFU) in 20 ml of water. The normal indicator will be the absence of microorganisms in a given amount of liquid.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF SERINE PROTEINASES FROM BACILLUS UNDER THE CONTROL OF A CONSTITUTIVE PROMOTOR

Osmanova F.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

Due to the widespread use of antimicrobial drugs for the prevention of diseases in poultry and the improvement of production indicators, antibiotics accumulate in milk, eggs and poultry meat, which contributes to the emergence of resistant forms of microorganisms. An alternative to the use of antimicrobial drugs is the use of bacterial enzymes, such as bacillus serine proteinases. To improve the production of recombinant proteins, the development of efficient expression systems is an urgent solution. In this work, to obtain subtilisin-like proteinase and glutamyl endopeptidase from *Bacillus pumilus*, we used an expression system under the control of the constitutive promoter PdegQ36 of *Bacillus subtilis*, and also tested recipient protease-deficient strains of *B. subtilis* for the production of recombinant proteins. To assess the efficiency of recombinant constructs, we applied chromatography-mass spectrometric analysis in the mode of monitoring multiple reactions (LC-MC-MC).

Vectors containing the gene of *B. pumilus* serine proteinase (subtilisin-like proteinase and glutamyl endopeptidase) under the control of the constitutive promoter PdegQ36 were transformed into *B. subtilis* strains: 20–36, in the genome of which inactivated the genes of two extracellular proteinases aprE and nprE, and the strain 27–31 in the genome of which genes for sporulation, antimicrobial metabolites, biofilm formation and extracellular proteinases are inactivated, and the comK / comS cassette is built in to increase the efficiency of transformation. The subtilisin-like proteinase activity was 2 times higher in the strain of *B. subtilis* 27–31. The max activity of the enzyme occurred at 24 hours of growth, with a value of 1 conv/unit. The glutamyl endopeptidase activity in the strain of *B. subtilis* 27–31 with a reduced genome was 1.5 times higher, the max enzyme activity was 0.36 conv/unit.

According to the results of mass spectrometric analysis, it was shown that the most efficient producer of subtilisin-like proteinase and glutamyl endopeptidase is the strain of *B. subtilis* 20–36, the amount of protein was 0.08 µg / µl and 0.034 µg / µl, respectively.

Based on the data obtained, in the present study, it was shown that the combination of an effective expression system and the selection of the optimal producer strain allowed us to obtain an increased yield of the target protein.

This work was supported by grant from the Russian Foundation for Basic Research No. 19-08-00853a.

IDENTIFICATION AND RELEASE OF A SNOW MOLD RESISTANCE WINTER CEREAL

Ponomareva M.^{1,2}, Ponomarev S.¹, Mannapova G.¹, Gilmullina L.¹, Ilalova L.¹,
Fomin S.¹, Garaeva N.¹, Sayfutdinova D.¹, Ivanova I.^{1,2}, Pavlova S.^{1,2}

¹Tatar Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center of RAS

²Kazan (Volga Region) Federal University

Snow mold (SM) is one of the most serious diseases of numerous species winter cereals, forage, and turf grasses in temperate and cold climatic areas. The causal agents of SM are low-temperature fungi belonging to distant taxa: an ascomycetes *Microdochium nivale*, *M. majus*, and necrotrophic species *Sclerotinia borealis*, and basidiomycetes *Typhula ishikariensis*, *T. incarnata*. In the Russian Federation, cases of snow mold occurrence and damage of snow mold in winter have been observed with a frequency of 8 times in 10 years. There is no efficient strategy of protection against this pathogens and the understanding of plant resistance mechanisms is rather poor. The success of disease resistance breeding is determined by many factors, among which genetic resources are crucial. The evaluation of plant genetic resources for resistance to diseases of natural and artificial epiphytotics allows us to identify a significant number of plant forms and varieties with a high level of resistance and genetic diversity on this trait.

The main aims of our study were (1) to screen winter rye and winter triticale panel of 120 cultivars and breeding lines, chosen to identify resistance genotypes, (2) to analyze the resistance expression in those samples using inoculation detached leaves at BBCH 10–12 (seedling). For this purpose genetic resources stored in the Russian gene bank (VIR) assessed for SM resistance in the field under natural infection background and in the field under artificial increased infection background, and under controlled laboratory conditions in 2019–2021. As a result of the assessment we have identified 9 rye samples and 7 triticale genotypes from Russia, Belarus and Uruguay recommended for breeding. The identified favorable genotypes will be used as parents in rye and triticale intercrosses when creating new populations and hybrid varieties. It has been determined that both, the infection level and the dynamic of the process varied for tested genotypes confirming the field and laboratory data of their different resistance to this pathogen.

To create resistant varieties in the future, preferably with broad spectrum resistance, it is important to identify both loci and alleles of snow mold resistance currently exploited in the best resistant genotypes and new resistance loci for future breeding work.

GENOME ANALYSIS OF TWO *BACILLUS PUMILUS* STRAINS – PRODUCERS OF EXTRACELLULAR PROTEASES

Pudova D.S.

Kazan (Volga Region) Federal University

Members of the genus *Bacillus* play a huge role in the field of biotechnology due to their ability to synthesize a wide range of extracellular enzymes. Unlike expression systems based on *E. coli*, gram-positive bacteria do not synthesize endotoxins, have a well-developed secretion system, which greatly facilitates the production of commercial enzymes. *B. pumilus* is a GRAS-designated *Bacillus* species capable of secreting various industrially important enzymes. In this study, we used the genomes of *B. pumilus* strains 7P and 3–19 to study genomic features unique to these strains. *B. pumilus* 7P is a wild strain that has been isolated as a producer of extracellular hydrolytic enzymes. Strain 3–19 was obtained by inoculating the 7P strain on a nutrient medium supplemented with streptomycin and showed increased activity of extracellular proteases. The aim of this work was a comparative description of the complete genomes of two *B. pumilus* strains 7P and 3–19.

Whole genome sequencing of both strains yielded genomes 3,609,117 bp in length and 3,609,444 bp for strains 7P and 3–19, respectively. The complete genomes were deposited with GenBank under accession numbers CP058911.1 for strain 7P and CP054310.1 for strain 3–19. Comparative analysis in BLASTn (NCBI) identified plasmid pDA7 (CP076555.1) with a size of 6.019 bp in the 7P strain, which is absent in 3-19 strain. Pan-genomic analysis of five phylogenetically close strains of *B. pumilus*, including strains 7P and 3–19, showed a core of 3,268 CDSs and identified 72 unique CDSs for the strains under study. Among the unique proteins, prophage proteins associated with transposition and horizontal gene transfer have been identified. The PHASTER program identified prophage regions Bp1 and Bp2 in the genomes of the strains. More than 50 % of the proteins of the Bp1 prophage were similar to those of the phi105 prophage of *B. subtilis*. Analysis of the degradome using the MEROPS database identified 148 proteases of various classes. The environment of the genes of extracellular proteases, the secretion of which in the two strains is different, showed the absence of any structural rearrangements. The genomic information presented in this study reveals the structural features of the genomes of *B. pumilus* 7P and 3–19 strains and can help to more efficiently use these strains for the production of biotechnologically important enzymes.

This work has been supported by the RFBR grant №19-08-00853 (A) and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

EFFECT OF THE FEED ADDITIVE BASED ON PROTEASE *BACILLUS PUMILUS* ON MICROBIOTA OF BROILER CHICKEN

Pudova D.S., Koryagina A.O.

Kazan (Volga Region) Federal University

The actual problem of modern agriculture is the lack of fodder protein. The use of proteases contributes to solving this problem, these enzymes have the potential to improve the growth performance of poultry. It was found that exogenous enzymes affect the microbiome of the gastrointestinal tract of birds, the composition of which affects the health and growth performance of the bird. In the work, subtilisin-like proteinase from *Bacillus pumilus* was used as a feed additive for broiler chickens. We investigated the effect of adding protease obtained by us from the *B. pumilus* strain to the diet of Hubbard broilers on the composition of the cecum microbiota. Conducted metagenomic analysis based on the sequence of 16S rRNA genes of the contents of the cecum of chickens; analysis of alpha diversity showed an increase in species diversity in the group of chickens receiving protease as a feed additive. Taxonomic analysis of the microbiome revealed representatives of 8 phyla, 13 classes, 13 orders, 19 families, and 27 genera. The highest relative abundance was observed in representatives of 3 phyla: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, and *Proteobacteria*. In the group of chickens receiving protease as a feed additive, the *Firmicutes* / *Bacteroidetes* ratio increased significantly (from 0.3 to 1.3), which leads to active fermentation of volatile fatty acids and promotes fat deposition, stimulating the growth of the chickens. The addition of protease to feed has led to an increase in the proportion of *Streptococcus* influencing immune functions in the intestine and *Enterococcus* involved in the reduction of pathogens. Thus, the addition of *B. pumilus* subtilisin-like proteinase as a feed additive for broiler chickens has a beneficial effect on the intestinal microflora of birds.

This work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 16-16-04062.

BACILLUS PUMILUS ADAMALISINE-LIKE PROTEINASE EXPRESSION UNDER CONTROL OF DEGS-DEGU SIGNAL TRANSDUCTION SYSTEM

Rudakova N.L., Khasanov D.I.

Kazan (Volga Region) Federal University

The extracellular metalloendopeptidase MprBp of *Bacillus pumilus* 3–19 is a minor protein with an unclear function. Based on its primary structure, the enzyme is classified as a first prokaryotic homologue of the eukaryotic adamalysin family. Elucidation of the regulatory networks governing gene expression will make it possible to assess the contribution of this enzyme to the integrated cellular response.

Gene promoter region analysis showed the presence of four potential binding sites for the phosphorylated form of the DegU~P protein. This suggested the involvement of the DegS-DegU regulatory pair in the control of *mprBp* gene expression.

To further study the role of the DegS-DegU system in the regulation of metalloproteinase expression, the *mprBp* gene in the pSA1 plasmid under its own promoter was cloned into recombinant strains defective in the genes of the DegS-DegU regulatory system. Cloning of the *mprBp* gene into the *B. subtilis* 8G5 Δ degS-degU strain, defective in the *degS* and *degU* genes, showed a 3-fold decrease in the productivity of metalloproteinase. This suggested that the DegS – DegU system has a positive effect on the expression of the *mprBp* gene.

We also studied the expression of *mprBp* in the *B. subtilis* strain 8g5 DegU32 (Hy), in which a mutation in the *degU* gene leads to stabilization of the DegU~P protein. It is known that this mutation leads to a manifold increase in the level of positively regulated by the DegS-DegU system genes expression. Our data showed a 10-fold increase in the metalloproteinase productivity of the recombinant *B. subtilis* 8G5 degU32 (Hy) strain and allowed us to conclude that the DegU protein phosphorylated form activates the expression of the *mprBp* gene.

Thus, the regulatory pair DegS-DegU positively regulates the metalloproteinase gene expression, which is involved in the adaptation processes of the cell during the stationary growth phase transition period, when many signal transduction systems are activated.

This work has been supported by the Kazan Federal University strategic academic leadership program.

THE SPO- SIGNAL TRANSDUCTION SYSTEM ROLE IN THE REGULATION OF THE *BACILLUS PUMILUS* ADAMALISINE-LIKE PROTEINASE EXPRESSION

Rudakova N.L., Khasanov D.I.

Kazan (Volga Region) Federal University

The *B. pumilus* 3–19 minor secreted metalloproteinase MprBp is classified as an adamalysin-like metalloproteinase of the metzincin clan and is the first prokaryotic homologue of the eukaryotic adamalysin family. The functional role of the bacillary homologue with its extremely low content in the medium remains unclear. Knowledge of the regulatory pathways that control the expression of the metalloproteinase gene will help to understand the spectrum of cell tasks in the solution of which this enzyme is involved. Alignment of the mprBp promoter region relatively to the canonical sequences for interaction with regulatory proteins revealed binding sites for the Spo0A transcription factor. The regulatory protein Spo0A plays a key role in the signal transduction network during the transition of cells to sporulation. In this regard, we hypothesized that the function of metalloproteinase may be associated with the sporulation process.

For further work, the metalloproteinase gene under its own promoter was cloned using the pSA1 vector into a series of *B. subtilis* 2036 strains mutants for regulatory sporulation proteins: Δ Spo0A, Δ Spo0B, Δ Spo0F, Δ Spo0K, Δ Spo0J, Δ SigF, Δ SigH, Δ SigK. In all *spo*-regulatory mutants used in this work, the level of *mprBp* gene expression was maintained at the level of the control strain with the complete corresponding proteins. These data indicate the independence of *mprBp* gene expression from Spo-regulatory proteins. On this basis, we concluded that the expression of the metalloproteinase gene does not correlate with sporulation.

This work has been supported by the Kazan Federal University strategic academic leadership program.

CLONING PUTATIVE RIBONUCLEASE INHIBITOR GENES FROM *BACILLUS LICHENIFORMIS* AND *BACILLUS PUMILUS*

Rudich M., Dering R., Ulyanova V.

Kazan (Volga Region) Federal University

Ribonuclease (RNase) inhibitors function to protect cells from toxic action of endogenous and exogenous RNases. They have also found an application in the treatment of acute allergic reactions and in the suppression of RNases that promote angiogenesis in mammalian tumor tissues. Only a few naturally occurring ribonuclease (RNase) inhibitors are known. For bacterial RNases of N1/T1/U2 family two inhibitors were described – barstar, isolated from *Bacillus amyloliquefaciens*, and its homologue from *Saccharopolyspora erythraea*. A mammalian cytosolic ribonuclease inhibitor is not able to inhibit activity of bacterial RNases which gives them an advantage in application as promising antitumor and antiviral drugs due to cytotoxicity. The aim of this work was to clone *yrdF* genes from *B. licheniformis* and *B. pumilus* in order to confirm their roles in inhibiting of N1/T1/U2 family RNases.

We have isolated genomic DNA from *B. licheniformis* ATCC 14580 and *B. pumilus* 7P and used it as a DNA template for polymerase chain reaction (PCR) amplification of *yrdF* genes. For PCR gene-specific oligonucleotides were designed. After PCR optimization, the generated amplification products were found to be of good quality and correct size. A Gibson assembly strategy was used to clone them into expression vector pET15b. The resultant plasmids were transformed into *Escherichia coli* NEB5alpha and checked for insert correctness.

Thus, the genes encoding putative inhibitors of N1/T1/U2 family RNases from *B. licheniformis* and *B. pumilus* were cloned in pET15b plasmid allowing their expression and protein purification from recombinant *E. coli* cells. The comparative characterization of barstar and YrdF proteins will shed light on the natural role of YrdF in bacterial population and intracellular functioning of N1/T1/U2 family RNases.

THE INFLUENCE OF PHYTOPATHOGENIC INFECTION ON THE TELOMERE LENGTH ALTERATIONS IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

Sannikova A.V.¹, Valeeva L.R.¹, Shakirov E.V.²

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

²Marshall University, Huntington, West Virginia, USA

Telomeres form the terminal structures of eukaryotic linear chromosomes which play the crucial role in the DNA protection from damage, and determine the lifespan of the cell. There are many factors in nature that can directly or indirectly affect the change in telomere length. In particular, it was previously shown that some abiotic factors can cause shortening of telomere length in animals, whereas the influence of biotic factors on telomere length is currently poorly understood in all eukaryotes. Plant-phytopathogene interactions are characterized by various regulatory pathways. Plant cells response to the infection characterized by many different mechanisms, which assemble the immune system of plants. However, the question of the influence of biotic factors, especially phytopathogens, on the regulation of telomere length in plants is still understudied. The aim of the work was to determine the effect of phytopathogenic bacteria *P. syringae* DC3000 on the alterations in telomere length in *A. thaliana* plants.

To study the influence of phytopathogene invasion on the telomere length regulation in plants *A. thaliana* plants were infected by *P. syringae* DC3000 strain (Pt DC3000). Two *A. thaliana* lines of plants were analyzed (WT and knockout Δ NOP2C Col-0 ecotype plants). Plant leaves infection was performed using the inoculation method. The intra- and intercellular localization of Pt DC3000 were confirmed by inoculation of a homogenate of the surface-sterilized plant leaves. Plant tissue for telomeric DNA analysis was taken on the 3rd, 6th and 14th day after infection. Telomere length was measured using the highly sensitive telomere repeat amplification (PETRA) method, which allows to identify the telomere length on individual chromosomal arms. We found out that the telomere length of the right arm of the fourth chromosome of *A. thaliana*, both in mutant and in WT infected plants decreased. The normal telomere length in WT Col-0 plants varies in the range between 4 and 5.5 kb, whereas in infected plants the length was 3.5 and 4 kb. Therefore, we have shown that biotic factors, in particular, phytopathogenic bacteria infection, influenced on the telomere length regulation in *A. thaliana* plants.

The work was supported by RSCF grant No. 21-14-00147.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTI-VIRAL EFFECTS OF BINASE AGAINST SEASONAL AND PANDEMIC INFLUENZA A (H1N1) VIRUS STRAINS

Shah Mahmud R.¹, Mostafa A.^{2,3}, Pleschka S.²

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

²Institute of Medical Virology, Justus-Liebig University, Giessen, Germany

³National Research Center, Cairo, Egypt

Influenza A virus strains seasonal epidemics and periodic pandemics, which bring about a great damage to human society and veterinary. There is a constant need to create new vaccines against the newly emerging strains due to the high mutation frequency in the genome of the influenza A virus. In this sense, the bacterial ribonuclease binase exhibiting antiviral effect against different viral strains can be useful. In this work we have established the dynamics of the antiviral action of binase against seasonal and pandemic influenza A viruses during multiple viral replication cycles.

In the study we used a cocker spaniel kidney epithelial cell line (MDCK), pandemic influenza virus strain A/Giessen/06/09 (H1N1pdm09) and seasonal influenza virus strain A/Giessen/03/18 (H1N1). To establish the cytotoxic effect of binase towards MDCK cells and the effect of binase against the influenza virus, the MTT assay and a focus formation assay were used respectively.

In the course of the study, it was found that binase exhibits antiviral effect against seasonal and pandemic influenza A (H1N1) strains. It was shown that after two days binase reduces the titer of both strains by 50 %. This effect of binase against the H1N1pdm09 strain was registered as early as 12 hours after infection corresponding to the first cycle of virus replication. However, the antiviral effect of binase against seasonal influenza was detected only after 36 hours with reduction of the viral titer by 40 % followed by further reduction to 50 % during next 12 hours. Thus, we have shown that binase is a universal antiviral agent against both seasonal and pandemic influenza A virus strains. The antiviral action of binase against pandemic influenza A virus is manifested faster than against the seasonal one and is already detected after the first replicative cycle of the virus. The antiviral action of binase against seasonal influenza A virus occurs slowly with the increasing dynamic over the time.

GENE TECHNOLOGIES AS A PLATFORM FOR THE DEVELOPMENT OF NEW BIOTECHNOLOGIES

Sharipova M.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

According to global trends, the most dynamic and rapidly developing branch of agriculture is poultry farming, which is characterized by high productivity, the lowest labor and material costs, which is attractive for investment and the development of new technologies in order to increase the quantity and quality of products, as well as reduce the cost of feed. An urgent solution is the development of new dietary supplements that are safe for animals and the environment, for which we have used enzymes and polyenzyme compositions, including bacterial phytase and proteinase. One of the approaches was the development of efficient systems for the expression of genes of bacterial enzymes for secretion in the recombinant yeast *Pichia pastoris*, including an inducible yeast promoter and an optimal signal peptide based on a commercial yeast expression system and optimization of the secretion of heterologous proteins PichiaPink (Invitrogen), as well as optimization of cultivation conditions. The obtained constructs allowed to increase the yield of phytase by 100, and proteinase by 2.5 times. Another approach to increase the enzyme yield was the method of obtaining recombinant genes by selecting promoters and signal peptides based on the LIKE-system (Lia-Kontrollierte Expression) of *Bacillus subtilis* expression for expression in various recipient strains, including strains with reduced genomes. For the production of subtilisin-like proteinase, the most effective is the inducible promoter pLiaI, which is activated in the presence of a stress factor (antibiotic) in the medium, in combination with a heterologous modeled signal peptide SPAsp. The construct containing the heterologous signal peptide of the *Bacillus megaterium* glycoside hydrolase gene (SPYngk) and the inducible promoter pLiaI turned out to be the most efficient for the production of glutamyl endopeptidase. Optimal concentrations of phytase and proteinase were selected for addition to feed and it was found that at the given concentrations the preparations are safe and not toxic to broiler chickens. Based on the data obtained, a conclusion was made about the high biotechnological potential of heterologous hydrolases as feed additives.

This work was supported by grants from the Russian Science Foundation No. 16-16-04062 (with continuation) and the Russian Foundation for Basic Research No. 19-08-00853a

PARALOGS OF THE MACAB EFFLUX PUMP IN *SERRATIA MARCESCENS* SM6

Shirshikova T.V., Bogomolnaya L.M.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

The rapidly growing antibiotic resistance of bacteria is one of the most pressing public health problems worldwide. Treatment of such infections is difficult due to the lack of effective antimicrobial drugs, which leads to a more severe course of the disease, the development of complications leading to hospitalizations, and to the longer hospital stays. One of the mechanisms that provides bacterial cells with increased resistance to a wide range of antibiotics is their active removal from cells using efflux pumps.

The genome of *Serratia marcescens* SM6, an opportunistic pathogen with growing clinical importance due to intrinsic resistance to many antibiotics, was sequenced by our group and deposited to the GenBank (Khilyas et al., 2019). The analysis of the *S. marcescens* SM6 genome led to identification of several loci encoding components of the ABC type MacAB efflux pump. The first locus, EG355_04710-EG355_04715, closely resembles the macAB loci present in *E. coli* and *Salmonella Typhimurium* genomes (Shirshikova et al, 2021). The second locus, EG355_23545-23550, contains genes with high similarity to the macAB genes and was therefore named macAB-2. The products of these genes share 68 to 70 percent identity to the corresponding periplasmic protein MacA and to the inner membrane protein MacB, respectively.

It has been shown that the efflux pump encoded by the macAB genes is involved in protection of *S. marcescens* from aminoglycoside antibiotics and polymyxins. In addition, this locus is critical for *S. marcescens* survival in the presence of hydrogen peroxide. However, the role of the second locus encoding the MacAB-2 pump in *S. marcescens* survival has not been fully characterized. Unexpectedly, the loss of macAB-2 genes resulted in increased *S. marcescens* resistance to several classes of antibiotics, including fluoroquinolones, carbapenems, and cephalosporins compared to the wild type strain.

Understanding the reasons for the duplication of the MacAB efflux pump in *S. marcescens* genome and the analysis of functions of the additional MacAB-2 pump are necessary for the development of effective new generation antimicrobial drugs, which will make it possible to approach the solution of the problem of antibiotic resistance.

This work was supported by the Russian Science Foundation (project number 21-74-00032).

SALMONELLA INFECTION IN DIABETIC MICE

Sierra-Bakhshi C.G., Smith M.E., Bogomolnaya L.M.

Marshall University, Huntington, West Virginia, USA

Type 2 diabetes mellitus (T2D) is recognized as a global epidemic fueled by population growth, aging, urbanization, and increasing obesity. T2D is a risk factor for bacterial infections including those caused by nontyphoidal *Salmonella*. Individuals with uncontrolled T2D often experience the unusual extraintestinal spread of *Salmonella* which can lead to life-threatening disorders. The precise underlying mechanism of this predisposition is not clearly understood.

We utilized 8-week-old male TALLYHO (TH) mice to establish a model of salmonellosis in a diabetic host. Animals were maintained on the regular chow, or on the high fat (HF) diet (45% fat) for additional 8 weeks to promote diabetes development. As expected, mice on the HF diet gained more weight compared to the animals on a regular chow. In addition, by 16 weeks of age, most mice from the HF diet group, have developed diabetes. At that time, TH mice from each diet groups were separated based on the blood glucose level, and orally infected with 10⁶ CFU (colony forming units) of a fully virulent bioluminescent *Salmonella Typhimurium* strain to follow the pathogen spread in individual animals using in vivo imaging. Mice in both groups have progressively developed clinical signs of salmonellosis in agreement with a signal intensity detected by the IVIS Lumina XRMS system (Perkin Elmer). However, *Salmonella* spread in mice with diabetes had an unusual pattern compared to the healthy animals.

This model will form a foundation for the future experiments aimed to define options for preventing extraintestinal spread of *Salmonella* in a diabetic host.

This work is supported by NIH Grant P20GM103434 to the West Virginia IDeA Network for Biomedical Research Excellence.

THE ABILITY OF *PANTOEA BRENNERI* STRAINS TO BREAK DOWN INORGANIC SOIL PHOSPHATES, UNAVAILABLE FOR PLANTS NUTRITION

Sokolnikova L.V., Suleimanova A.D.
Kazan (Volga Region) Federal University

Phosphate-solubilizing bacteria (PSB) play significant role in phosphorus cycle in soil. Such microorganisms are capable of decomposing both organic and inorganic phosphorus compounds that are unavailable for plants. In previous work, we found out that bacteria of the *Pantoea* genus show multiple PGP-effect: they were able to increase plant growth by producing indole-3-acetic acid, hydrolyse organic phosphates and produce siderophores. The aim of this work was to study the ability of *Pantoea brenneri* strains to break down inorganic phosphorus compounds, such as tricalciphosphate and aluminum phosphate.

The study was carried out on four strains: *P. brenneri* 3.1, *P. brenneri* 3.2, *P. brenneri* 3.5.2, *P. brenneri* 3.6.1. The microorganisms were cultivated on NBRIP culture medium with tricalcium phosphate or aluminum phosphate as a sole source of phosphorus in sterile Petri dishes at a temperature of 30 ° C for 5 days. After 5 days, the phosphorus solubilization index was measured by dividing the diameter of the phosphate lysis zone by the diameter of the bacterial colony. All studied *P. brenneri* strains were capable of hydrolyzing tricalcium phosphate, but not aluminum phosphate. This effect can be explained by the fact that during the solubilization of phosphorus-containing aluminum compounds, chelation processes involving anions are important, while during the cleavage of tricalcium phosphate, a significant role is played by a decrease in the pH of the medium. *P. brenneri* strain 3.5.2 had the highest phosphorus solubilization index – 2.732 among others. Phosphorus solubilization index of *P. brenneri* 3.2 was 2.706, *P. brenneri* 3.6.1 – 2.418, *P. brenneri* 3.1 – 2.198.

Thus, the studied strains of *P. brenneri* were able to solubilize tricalcium phosphate, but are not aluminum phosphate. Among all the studied microorganisms, *P. brenneri* strain 3.5.2 showed the greatest phosphate-solubilizing activity during the cleavage of tricalcium phosphate.

The work was carried out at the expense of the Strategic Academic Leadership Program of the Kazan (Volga Region) Federal University and the Russian Science Foundation grant № 21-76-00017.

COMPARATIVE ANALYSIS OF RECOMBINANT CONSTRUCTIONS IN *BACILLUS SUBTILIS* STRAIN 20–36

Solodkaya A.V; Koryagina A.O.

Kazan (Volga Region) Federal University

Microbial enzymes are widely used in modern biotechnology, in particular serine bacilli proteinases. These enzymes have wide substrate specificity, stability at high pH values, activity in a wide range of temperatures. All these properties allow to use proteinases as feed additives for agriculture. To obtain enzymes on an industrial scale, various expression systems are used, in the present work, an integrative vector carrying a LIKE optimized expression system (from ger. "Lia-Kontrollierte Expression") was used to obtain subtilisin-like proteinase *Bacillus pumilus*. Previously, the system was optimized with recombinant signal peptides. To evaluate the effectiveness of recombinant constructs, the vectors were transformed into *Bacillus subtilis* 20–36 strain, in which the genes of two extracellular proteinases (aprE, nprE) were deleted, growth dynamics and proteolytic activity of transformants on azocasein were studied.

The study of the growth dynamics of recombinant strains was carried out in parallel on two LB medium: without addition and with the addition of an inductor (bacitracin, 50 mg/ml). The inductor was added when the cells reached the optical density $OD_{600} = 0.4-0.5$. By 18–20 h of growth, recombinant strains reached maximum optical density and passed into stationary phase. The most effective strain for the production of subtilisin-like proteinase was a strain containing a LIKE expression system and a synthesized signal peptide SPAsp, the proteolytic activity was 2 n. units, which is 3 times more than in the strain under the control of its own signal peptide.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON MACROCYCLIC COMPOUNDS

Subakaeva E.V., Zelenikhin P.V.

Kazan (Volga Region) Federal University

The development of new water-soluble molecular delivery systems capable of increasing the bioavailability and reducing the toxicity of antitumor drugs is one of the priorities of modern medicine and biology today. Among platforms for controlled delivery of drugs, macrocyclic compounds have attracted a lot of interest in recent years. Most derivatives of calixarenes and pillararenes showed low toxicity in animal models or did not show it at all, which further increased their demand in the field of biopharmaceutical applications, but subsequently compounds with selectively toxic properties were synthesized. There is a need to study the biological properties of newly synthesized compounds, because the substances planned for use for the above purposes must meet the requirements of biocompatibility and biosafety. Therefore, the purpose of this work was to evaluate the cytotoxic effect of a number of calixarenes and pillararenes and their ability to penetrate cells, such as, duodenal adenocarcinoma HuTu-80.

In our research samples of pillararen AUI-156 and calixarenes SA-720a, SA-721c, SA-760, SA-761, similar in composition, but differing in spatial molecular structure and functional groups were used. These samples were synthesized and kindly provided by the group of professor, D.Sc. in Chemistry Stoikov I.I. (Alexander Butlerov Institute of Chemistry, KFU).

The cytotoxicity of pillararen AUI-156 and calixarenes SA-720a, SA-721c, SA-760, SA-761 was characterized. Calixarenes SA-720a, SA-760 (1,3-alternate configuration) did not have a strong toxic effect. The IC₅₀ values of SA-721c and SA-761 («cone» configuration) were 49.11 µg/ml and 65.33 µg/ml, respectively. Pillararen AUI-156 slightly reduced the viability of HuTu-80 cells at the highest concentration studied (100 µg/ml). It was found that the investigated calixarenes penetrated into both living and dead cells of HuTu-80, while pillararen AUI-156 penetrated only into dead cells. Thus, the results demonstrate that the penetrating ability of calixarenes was noticeably higher than that of pillararen.

**IMPROVING THE EFFICIENCY OF CONVENTIONAL ANTIMICROBIALS
AGAINST *CANDIDA ALBICANS* – *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* MIXED
INFECTIONS BY NOVEL 2(5H)-FURANONE DERIVATIVES**

Sulaiman R., Trizna E.Y., Gatina A.E., Khabibrakhmanova A.M.,

Kurbangalieva A.R., Kayumov A.R.

Kazan (Volga Region) Federal University

Mixed *Candida albicans* – *Staphylococcus aureus* biofilms exhibit increased tolerance to conventional antimicrobials and are strongly implicated in persistent infections with high morbidity and mortality. Here we show that newly synthesized 2(5H)-furanone derivative carrying 1-borneol (F131) can be used to increase the treatment efficiency of *S. aureus* – *C. albicans* mixed biofilms.

F131 was synthesized at Kazan Federal University (Kazan, Russia). The viability of fungal and bacterial strains was evaluated by differential CFUs count. MIC were determined by serial microdilution approach. The synergy of antimicrobials was evaluated in checkerboard assay.

F131 exhibited comparable MIC values 8-64 µg/mL and was capable of suppressing the formation of biofilms. In addition, F131 exhibited synergetic effect in combination with benzalkonium chloride, fluconazole, terbinafine and gentamicin with a FICI value lower than 0.5. Of note that both antimicrobial and synergetic activity of F131 activity were observed for fluconazole-resistant and fluconazole-sensitive strains of *C. albicans*.

The new furanone derivatives F131 increase the efficiency of antimicrobials against mixed species biofilms in vitro and appear to be an attractive starting point for the development of alternative drugs for the treatment of skin infections caused by candida mixed biofilms.

This research was funded by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 20-04-00247)

IDENTIFICATION OF FUNGICIDAL COMPOUND PRODUCED BY *BACILLUS GINSENGIHUMI* M2.11 AGAINST FUSARIUM

Suleimanova A.D.

Kazan (Volga Region) Federal University

Biological fertilizers and biopesticides occupy a separate unique place in the market of agricultural products all over the world. A significant improvement in the growth and yield of crops in response to the processing of beneficial microorganisms is noted by many authors. However, insufficient knowledge of the molecular mechanisms of this interaction hinder their widespread commercial use. This work was aimed to purify and identify the fungicidal compounds produced by the *Bacillus ginsengihumi* strain M2.11, isolated from the soil sample of the Republic of Tatarstan.

Earlier, the biocontrol properties of *B. ginsengihumi* M2.11 were studied and the ability of the strain to synthesize ammonia and cyanides, the presence of proteolytic enzymes, chitinase and cellulase activities were shown. *B. ginsengihumi* M2.11 had the maximum inhibitory activity against all studied *Fusarium species* - the growth of micromycetes in the presence of bacterial isolate was inhibited by 80–97%.

The fungicidal compounds produced by the *B. ginsengihumi* M2.11 were identified using a Maxxis impact mass spectrometer (Bruker). following signals were observed: 155; 211; 245; 360; 385; 429; 475; 530; 583; 758; 1079; 1124; 1151; 473_NEG; 630_NEG. Substances were identified using the Sirius Version 4.6.1 software and the PubChem website. The most likely compound with fungicidal activity was a compound with m/z 1079, which was a lipopeptide - disodium surfactin with the molecular formula $C_{53}H_{91}N_7Na_2O_{13}$. Possessing a hydrophilic peptide moiety and a lipophilic fatty acid chain, surfactin is characterized by a variety of biological activities, including fungicidal ones.

This work has been supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program and the Russian Science Foundation grant № 19-76-00020.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACELLULAR METABOLITES OF THE MODEL MOSS *PHYSCOMITRIUM PATENS*

Valeeva L.R.¹, Shakirov E.V.^{1,2}

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

²Marshall University, Huntington, WV, USA

Plant-derived secondary metabolites and secreted components are of high interest both in fundamental research and applied sciences. In turn, Bryophytes (green mosses, hornworts, liverworts) are known for production of many unique compounds which are considered as the promising natural antibacterial agents.

The aim of this research is to analyze the antibacterial activity of secreted metabolites produced by model moss *Physcomitrium patens*.

P. patens (Gransden ecotype) exudates were prepared for the extracellular metabolites' antibacterial activity analysis. Moss protonema was grown in liquid BCD medium for 1, 2, and 4 weeks in the standard growth conditions. After incubation period the cultural medium was collected, freeze-dried in lyophilizer and dissolved in sterile N-free deionized H₂O in the final concentration 100 mg/ml. The antibacterial activity against gram-positive bacteria was detected in *P. patens* (Gransden) exudates. The highest antibacterial activity was shown against gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC25923 in the 2 and 4-week old fractions of secreted metabolites (the average inhibition zones were 13,17±1,27 mm and 12,97±1,27 mm, respectively). MICs against *S. aureus* ATCC25923 were 25 mg/ml for 2-week old exudates and 12,5 mg/ml for 4-week old exudates. MICs of 4-week old exudates were 12,5 mg/ml against *Streptococcus pyogenes* and 50 mg/ml against *Enterococcus faecalis*. Exudates in concentration 12,5 mg/ml lost the growth inhibitory activity against *S. aureus* after treatment with Proteinase K but maintained activity in concentration 25 mg/ml. Boiling for 10 min caused the lost of the antibacterial activity in any concentrations of exudates. No activity against Gram-negative bacteria was detected for *P. patens* exudates.

Thus, our data confirm the presence of a significant antimicrobial potential of *Physcomitrium patens* extracellular metabolites against Gram-positive bacteria. Further experiments will focus on the identification of the individual active components of exudates and characterization of metabolites also basing on their stability properties.

CHITOSAN DERIVATIVES AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY

Varlamov V.P., Il'ina A.V., Shagdarova B.Ts., Lunkov A.P., Mysyakina I.S.

FRC Fundamentals of Biotechnology of the RAS, Moscow

Currently, research on natural polymers of chitin and chitosan is focused not only on fundamental aspects, but also aimed at solving applied problems aimed at using their derivatives in biotechnology, medicine, and other areas of human activity. The presence of a primary amino group in the polymer molecule allows a wide range of chemical modifications to be carried out. An important point is knowledge of the main characteristics of chitosan derivatives, such as molecular weight, degree of deacetylation, polydispersity index, which determine fungicidal, bactericidal and antioxidant activities. The antifungal activity of chitosan derivatives with certain characteristics (Mw 13 kDa, DD 98%) is significantly enhanced by a complex with copper ions. Of the water-soluble derivatives of chitosan, quaternized derivatives with a large positive charge, which interacts with negatively charged cell walls of bacteria, have a pronounced antibacterial activity. The highest activity was exhibited by N-[(2-hydroxy-3-trimethylammonium) propyl] chitosan chloride, maximally substituted (98%). Antioxidant activity is associated with the presence of a protonated amino group, as well as chelation of metal ions that induce the formation of free radicals in cells, and the triggering of mediated cellular defense mechanisms against oxidative stress. GTMH-HA, a derivative containing a quaternary ammonium group and covalently bound gallic acid, has an increased chelating and antioxidant activity and can be used as a matrix for the synthesis of stable Ag nanoparticles exhibiting low cytotoxic properties.

The work was carried out within the framework of the NCMU "Agrotechnology of the future"

HETEROLOGOUS EXPRESSION OF MODIFIED *BACILLUS PUMILUS* 7P PROTEINASE GENES IN A REDUCED *BACILLUS SUBTILIS* IIG-BS27-28 STRAIN

Vasilyeva Y.A.

Kazan (Volga Region) Federal University

Protease enzymes from *Bacillus species* have a considerable practical value and application in different areas like agriculture, food production, and medicine. Proteinases from *Bacillus pumilus* 7P are candidates of current interest for use as a feed additive for animals and birds. Nowadays, there are two relevant goals for biotechnology - simplification of production and cost reduction.

The aim of this study was to investigate the heterologous expression of modified *B. pumilus* 7P proteinase genes in a reduced *Bacillus subtilis* IIG-Bs27-28 strain. From the original *B. subtilis* 168 strain the following genes were removed – extracellular proteinases (bpr, wprA, nprB, vpr, nprE, epr, mpr, aprX), prophages, secondary metabolites (bacillisin, bacillin, subtylostin), genes whose products are responsible for motility, sporulation (spoIIIGA, sigE, sigG, sigF, etc.) and biofilm formation. In order to increase the efficiency of transformation, the comK / comS cassette under the control of the PmtIA promoter was integrated into the genome of strain IIG-Bs27-28. Overexpression of comK and comS increase efficiency of the *B.subtilis* plasmid DNA transformation 6–7 times in comparison to the wild-type *B.subtilis* 168 strain. Transformation of two vectors MRE035 (with subtilisin-like proteinase (aprBp) gene) and MRE050 (with glutamyl endopeptidase (gseBp) gene) of *B. pumilus* 7P into *B. subtilis* IIG-Bs27-28 cells was carried out for efficient protein expression. Induction of the competence state was done by addition of 0.5% mannitol during the exponential phase of cell growth. The selection of colonies with transformants was done on a medium containing erythromycin (20 mg/ml). Confirmation of the presence of *B. pumilus* 7P proteinase genes in the reduced *B. subtilis* IIG-Bs27-28 strain was done by PCR. Induction of the expression of heterologous genes was done by adding the bacitracin to the culture medium. After 12 hours of culture growth the proteolytic activity of extracellular recombinant enzymes was checked by hydrolysis of azocasein. The activity of recombinant enzymes - glutamyl endopeptidase and subtilisin-like proteinase were 0.425 and 0.589 U/ml, respectively but in the control *B. subtilis* IIG-Bs27-28 strain, extracellular proteolytic activity was absent.

This work was supported by grant from the Russian Foundation for Basic Research No. 19-08-00853a

INFLUENCE OF GRANULAR ACTIVATED CARBON ON ANAEROBIC DIGESTION PROCESS

Ziganshina E.E., Ziganshin A.M.

Kazan (Volga Region) Federal University

The technology of anaerobic digestion, as an economically viable and environmentally friendly process, allows the use of biomass for energy (biogas) production through a series of biochemical reactions carried out by distinct anaerobic microorganisms. Optimization of the anaerobic process should be based on determining the potential of biogas synthesis from substrates, analyzing the pretreatment processes, and optimizing the interactions within microbial communities. The direct interspecies electron transfer includes the transfer of electrons between microbial partners including through conductive materials and offers an opportunity to improve the anaerobic digestion process.

This work examined the efficiency of the anaerobic digestion of agricultural wastes with the addition of granular activated carbon. Experiments were carried out using the AMPTS II Light systems (Bioprocess control, Sweden). The yield of the target product, methane, was estimated by using a gas analyzer of the systems. Samples from anaerobic reactors were taken to measure the main parameters of the anaerobic process, including the analysis of the level of volatile organic acids.

The results of the work demonstrated that the addition of granular activated carbon had a positive effect on the production of methane from the beet pulp and distillers grains due to the special conditions for electron exchange and large attachment surfaces for microorganisms. Moreover, it was found that the addition of granular activated carbon to reactors processing poultry waste also promoted the active involvement of organic acids in the microbial stage of methane formation.

Funding: The Russian Foundation for Basic Research funded this research, grant number Grant No. 18-29-25058.

*Электронное научное издание
сетевого распространения*

**MICROBIOLOGY
YESTERDAY, TODAY, TOMORROW**

**ABSTRACT BOOK
of International conference devoted to the 100th anniversary
of Microbiology Department at Kazan University**

Kazan, December 20–21, 2021

**МИКРОБИОЛОГИЯ
ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА**

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
Международной юбилейной конференции, посвященной 100-летию
основания кафедры микробиологии в Казанском университете**

Казань, 20–21 декабря 2021 г.

Подписано к использованию **17.12.2021**
Формат 60×84 1/16. Гарнитура «Times New Roman». Усл. печ. л. 9,7
Заказ

Издательство Казанского университета

420008, г. Казань, ул. Профессора Нужина, 1/37
тел. (843) 233-73-59, 233-73-28