24-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных

Биология

Наука XXI века

ТЕЗИСЫ КОНФЕРЕНЦИИ



Пущино, 2020

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Федеральный исследовательский центр "Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук"
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук
Совет молодых ученых и специалистов ИТЭБ РАН

Биология
Наука XXI века

СБОРНИК ТЕЗИСОВ
24-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»

2020, Пущино

УДК 57.08; 573.4; 574.24; 574.6; 577.1; 577.2; 577.3; 578,5; 579,6; 581.1; 591.1; 631.4
БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 24-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 2020, Пущино. Сборник тезисов, 2020. – 385 с.

ISBN 978-5-91874-901-2

Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» - научное мероприятие, проводимое для ознакомления молодых исследователей с перспективами и новейшими достижениями в различных областях биологии и смежных дисциплинах.

Работа школы-конференции проводится в следующих секциях:

- Микробиология и вирусология
- Биофизика и биоинформатика
- Молекулярная биология
- Биохимия
- Почвоведение и агроэкология
- Биотехнология и приборостроение
- Физиология животных и биомедицина
- Биомедицина и биофармацевтика
- Физиология растений и фотобиология
- Экология

На обложке использованы фотографии Екатерины Воробьевой "Природа - великий изобретатель"; Андрея Шутова "Мак", Андрея Мачилина "Кристаллический лес", Екатерины Воробьевой "Леса учат человека понимать прекрасное. А.П. Чехов".

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ "МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ"

РОЛЬ ПОЛИАМИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ

Жгун А.А. 35

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДВУХ КАЗАХСТАНСКИХ ИЗОЛЯТОВ S ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ

Александрова А.М., Рамазанова М.Б., Ерискина Е.А., Карпова О.В., Искаков Б.К. 36

МУТАЦИИ ГЕНА BRAF ПРИ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Артыкбаева Г.М. 37

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИЙ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ С ЭКСПРЕССИЕЙ РЕПОРТЕРНОГО ГЕНА ЛЮЦИФЕРАЗЫ ДЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

Ахмет М.П., Тазетдинова Л.Г., Соловьева В.В., Ризванов А.А. 37

ИНДУЦИРОВАНИЕ ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТИ IGA БУФЕРНЫМИ РАСТВОРАМИ С КИСЛЫМИ ЗНАЧЕНИЯМИ PH

Балыкова М.В., Горшкова Е.Н., Василенко Е.А., Старкина О.В., Астраханцева И.В., Димитрова П., Василев Ч.Л. 38

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ БЕЗ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Бреннер П.К., Капралова М.А., Заварыкина Т.М., Тюляндина А.С., Хохлова С.В., Хабас Г.Н., Асатурова А.В., Носова Ю.А., Аткарская М.В., Ходырев Д.С., Бурденный А.М., Логинов В.И., Стенина М.Б. 39

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРОТКИХ БЕЛКОВ-АРГОНАВТОВ ПРОКАРИОТ

Бутенко С.С., Простова М.А., Есюнина Д.М., Кульбачинский А.В. 40

ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОК ESCHERICHIA COLI MG1655 С ДЕЛЕЦИЕЙ ГЕНА БЕЛКА PROQ ДЛЯ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Буюклян Ю.А., Фандо М.С., Никулин А.Д., Леконцева Н.В. 41

ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА INSRR НА РАЗВИТИЕ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ

Ганцова Е.А., Серова О.В., Деев И.Е., Петренко А.Г. 42

РЕТРОТРАНСПОЗОНЫ ARABIDOPSIS THALIANA

Гварамия С. А., Меркулов П. Ю., Омаров М. Р. 43

ВЛИЯНИЕ КОФАКТОРА НА АКТИВНОСТЬ ДНК ПОЛИМЕРАЗЫ BST EXO- В РЕАКЦИЯХ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Гильванов А.Р., Сахабутдинова А.Р., Купова О.Ю., Гарафутдинов Р.Р. 43

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГЕПАТОЦИТАХ ПРИ ИНФЕКЦИИ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С: ИССЛЕДОВАНИЕ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ СРЕДЕ

Голиков М.В., Смирнова О.А. 44

ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИЙ В N ДОМЕНЕ ДРОЖЖЕВОГО БЕЛКА SUP35 НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНДЕНСАТОВ

Горшенева Н. А., Гризель А. В., Куличихин К. Ю., Рубель А. А., Чернов Ю. О. 45

ВЛИЯНИЕ SIРНК ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SOX9 В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОКЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

Григорьева Е.С., Кондратьева Л.Г. 46

ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННАЯ СБОРКА ГЕНОМА FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LINI С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНАЦИИ ПЛАТФОРМ OXFORD NANOPORE И ILLUMINA

Дворянинова Е.М., Пушкова Е.Н., Краснов Г.С., Новаковский Р.О., Кудрявцева Л.П., Рожмина Т.А., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А. 47

МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ С УЧАСТИЕМ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ

Денисова Д.А. 48

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ АКТИВНОСТЬ PRE -ЭЛЕМЕНТОВ У DROSOPHILA MELANOGASTER

Ерохин М.М., Горбенко Ф.В., Ломаев Д.В., Четверина Д.А. 48

ПОИСК И РАЗМНОЖЕНИЕ «БЕЗКАНАМИЦИНОВЫХ» ГЕНОТИПОВ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

Имамходжаева А.С., Кадырова Ш.Б., Мухаммадов Й.А., Маманазаров Ш. И. 49

АНАЛИЗ ДНК-МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ PTPRD, CLNKB, SLC12A7 В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ФИБРОБЛАСТОВ МОНОЗИГОТНЫХ БЛИЗНЕЦОВ, ДИСКОРДАНТНЫХ ПО БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Калганова Н.А., Рыболовлев И.Н., Власов И.Н., Сломинский П.А., Шадрина М.И. 50

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК XRCC1, ERCC2, ERCC5 С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ БЕЗ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Капралова М.А., Бреннер П.К., Заварыкина Т.М., Тюляндина А.С., Хохлова С.В., Хабас Г.Н., Асатурова А.В., Носова Ю.В., Аткарская М.В., Ходырев Д.С., Бурденный А.М., Логинов В.И., Стенина М.Б. 51

САЙТ-НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ В СУБСТРАТ-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ ОБЛАСТИ ДВУДОМЕННОЙ ЛАККАЗЫ STREPTOMYCES GRISEOFLAVUS

Коляденко И.А, Костарева О.С, Михайлина А.О, Тищенко С.В, Габдулхаков А.Г 52

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ДВУДОМЕННЫХ ЛАККАЗ РОДА STREPTOMYCES

Коляденко И.А., Михайлина А.О., Габдулхаков А.Г., Тищенко С.В. 53

РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО РЕЦЕПТОР IP3R1 ЧЕЛОВЕКА, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRISPR/CAS9 ТЕХНОЛОГИИ

Копылова Е.Е., Соколова Е.А., Рогачевская О.А., Быстрова М.Ф. 54

ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С НУКЛЕОБИНДИНОМ 1 В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Костарева О.С., Михайлина А.О., Мордовкина Д.А., Тищенко С.В. 55

ПОЛИМОРФИЗМ ЛОКУСА VVAGL11 И ПРОЯВЛЕНИЕ СТЕПЕНИ БЕССЕМЯННОСТИ У ВИНОГРАДА

Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Макаркина М.В., Котляр В.К. 55

РОЛЬ ХРОМАТИН-РЕМОДЕЛИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ СТРУКТУРЫ Х-ХРОМОСОМЫ У САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ

Кучинская Я.А., Боровых Е.С., Некрасова М.А., Конев А.Ю. 56

ПОЛУЧЕНИЕ ЭЛОНГАЦИОННОГО КОМПЛЕКСА, ОБРАЗУЮЩЕГОСЯ ПРИ РЕПЛИКАЦИИ РНК QB-РЕПЛИКАЗОЙ

Лободин К.В., Угаров В.И., Четверина Е.В., Четверин А.Б. 57

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ СУПЕРЭНХАНСЕРОВ В ГЕНОМЕ DROSOPHILA

Ломаев Д.В., Четверина Д.А., Ерохин М.М. 58

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА НЕЗРЕЛОЙ 30SСУБЧАСТИЦЫ С ФАКТОРОМ БИОГЕНЕЗА HFQ

Максимова Е.М., Корепанов А.П., Столбоушкина Е.А. 58

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ИЗОФОРМЫ И МУТАНТНЫЕ ВАРИАНТЫ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ PAX4: КЛОНИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ

Мельникова А.И., Краснова Т.С., Рубцов П.М. 59

ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ

Меркулов П.Ю., Киров И.В., Омаров М.Р. 60

ФУНКЦИИ БЕЛКА CROL В POLYCOMB-ЗАВИСИМОЙ РЕПРЕССИИ У DROSOPHILA

Михайлова А.В., Ломаев Д.В., Четверина Д.А., Ерохин М.М. 61

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СИНТЕЗА БРАССИНОСТЕРОИДОВ

Мурган О.К., Казакова А.Д., Филимонов К.П., Ефимова М.В. 61

АНАЛИЗ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК В ГЕНОМАХ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ НА ПРИМЕРЕ THINOPYRUM PONTICUM (PODP.) Z.-W.LIU & R.-C.WANG.

Никитина Е.А. 62

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В ОТВЕТ НА ЗАРАЖЕНИЕ FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LINI В СОРТАХ И ЛИНИЯХ ЛЬНА (LINUM USITATISSIMUM L.)

Новаковский Р.О., Дворянинова Е.М., Рожмина Т.А., Пушкова Е.Н., Большева Н.Л., Дмитриев А.А., Мельникова Н.В. 63

ИЗМЕНЕНИЕ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ПУТРЕСЦИНА У ВЫСОКОАКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С, ШТАММА ACREMONIUM CHRYSOGENUM ВКМ F-4081D

Нураева Г.К., Январев Д.В., Хомутов М.А., Жгун А.А. 64

ПОЛИМОРФИЗМЫ FAD3 ГЕНОВ ЛЬНА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ЖИРНОКИСЛОТНЫМ СОСТАВОМ МАСЛА

Повхова Л.В., Кезимана П., Пушкова Е.Н., Рожмина Т.А., Краснов Г.С., Дмитриев А.А., Мельникова Н.В. 65

ЭКСПРЕССИЯ ЛИГАНДОВ СУПЕРСЕМЕЙСТВА TGF-BETA В РАЗВИТИИ ГУБКИ HALISARCA DUJARDINI

Подлевских А.Л., Борисенко И.Е. 66

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МУЖСКИХ И ЖЕНСКИХ ТОПОЛЕЙ POPULUS X SIBIRICA

Пушкова Е.Н., Краснов Г.С., Новаковский Р.О., Повхова Л.В., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А. 67

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ MI-1 К КОРНЕВОЙ НЕМАТОДЕ У НОВЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ ТОМАТА ВИДА SOLANUM LYCOPERSICUM

Пырсиков А.С., Милюкова Н.А. 68

ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТЬ СЫВОРОТОЧНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А, ИНДУЦИРОВАННАЯ ГЕМОМ

Раззоренова Е. А., Астраханцева И. В., Горшкова Е. Н., Василенко Е. А., Димитрова П., Василев Ч. Л. 69

ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ AL_2O_3 НА КЛЕТОЧНУЮ ЛИНИЮ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЁГКОГО ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА (ФЛЭЧ-104)

Росинский А.Ю., Чернухина С.А., Короткова А.Д. 70

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Садыкова Э.З., Костанова Е.А., Бирюкова М.И., Бычкова А.В., Мурадова А.Г. 71

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ 5'-НЕТРАНСКРИБИРУЕМОГО УЧАСТКА ДНК ИЗ ОБЛАСТИ ГЕНА ФАКТОРА ЭЛОНГАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 1 АЛЬФА (EEF1A1) КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА (CHO) И ФРАГМЕНТА КОНКАТЕМЕРА ДЛИННОГО КОНЦЕВОГО ПОВТОРА ВИРУСА ЭППШТЕЙНА-БАРР (EBVTR) В ВЕКТОРНЫХ ПЛАЗМИДАХ СЕМЕЙСТВА P1.1

Синегубова М.В, Орлова Н.А., Ковнир С.В., Воробьёв И.И. 72

УВЕЛИЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ В CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM С ПОМОЩЬЮ ВНЕСЕНИЯ ДЕЛЕЦИИ В ГЕН PONA ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИСТЕМЫ CRISPR-CPF1

Суворов Д.А., Дербиков Д.Д. 73

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ОДНОЛЕТНЕГО (HELIANTHUS ANNUUS L.) В ОТВЕТ НА ОБРАБОТКУ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТОЙ

Тен А.А., Киров И.В., Меркулов П.Ю. 74

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ У МУТАНТОВ CHD1 DROSPHLA MELANOGASTER

Торощина А.В., Конев А.Ю., Ильина Ю.А. 74

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ И ТРАНСКРИПЦИЯ ЦЕНТРОМЕР-СПЕЦИФИЧНОГО ГИСТОНА (CENH3) РАСТЕНИЙ, КАК МИШЕНИ ДЛЯ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Уварова А.Г., Киров И.В. 75

ВЛИЯЕТ ЛИ ДЕКОДИРУЮЩАЯ ТРАНСПОРТНАЯ РНК НА УСТОЙЧИВОСТЬ ТРАНСЛЯЦИИ К ЭРИТРОМИЦИНУ

Хабибуллин Н.Р., Колб В.А. 76

ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНА GBSS КАРТОФЕЛЯ

Хижная А.В., Тарлачков С.В., Дьяченко О.В., Захарченко Н.С., Шевчук Т.В. 77

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР WHIA ОБЕСПЕЧИВАЕТ ОБРАТНУЮ СВЯЗЬ МЕЖДУ ТРАНСЛЯЦИЕЙ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИМ МЕТАБОЛИЗМОМ

Фисунов Г.Ю., Евсютина Д.В., Цой Е.А 78

ИДЕНТИФИКАЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАБОТУ РЕГУЛЯТОРНЫХ ДНК-ЭЛЕМЕНТОВ МЕТОДОМ IP/MS

Четверина Д.А., Михайлова А.В., Ломаев Д.В., Ерохин М.М. 79

ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ИММУНОГЛОБУЛИН А КИСЛЫМ РН В ПРОЦЕССЕ ОЧИСТКИ СНИЖАЕТ ЕГО СПОСОБНОСТЬ К ИНДУКЦИИ ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТИ В ЩЕЛОЧНОЙ СРЕДЕ

Чурина Т.С., Горшкова Е.Н., Василенко Е.А., Старкина О.В., Астраханцева И.В., Димитрова П., Василев Ч.Л. 80

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ СОРТООБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ГЕНАМ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ (LR12; LR25)

Шингалиев А.С., Мерзляков В.А., Дудников М.С., Рубец В.С., Соловьев А.А. 81

ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У РАБОТНИКОВ АЛЮМИНИЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА И У ЖИТЕЛЕЙ ПРИЛЕГАЮЩИХ К ЗАВОДУ ТЕРРИТОРИЙ

Щетникова Е.А., Вдовина Е.Д., Зыкова Г.С. 82

УВЕЛИЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ВИМЕНТИНА В ОТВЕТ НА ФРАКЦИОНИРОВАННОЕ Г-ОБЛУЧЕНИЕ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИИ MCF-7

Якимова А.О., Матчук О.Н., Замулаева И.А. 83

СЕКЦИЯ "БИОХИМИЯ"

ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-Р IN VITRO

Абаленихина Ю.В., Ерохина П.Д., Черных И.В., Щулькин А.В. 84

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНОГЕНА ИНДУЦИРОВАННАЯ ГИПОХЛОРИТОМ

Азарова Д.Ю., Юрина Л.В., Васильева А.Д., Индейкина М.И., Бугрова А.Е., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Розенфельд М.А. 85

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ВАЛЬПРОАТА НАТРИЯ

Алилова Г. А., Тихонова Л. А., Косенко Е. А. 86

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗ ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНОГО МЕТАНОТРОФА METHYLOTUVIMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z

Андриянов П.А., Мустахимов И.И. 86

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ ZEA MAYS L.

Анохина Г.Б., Оя П.С., Дедов Я.И. 87

ИЗМЕНЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В АДИПОЦИТЫ

Вадим И.Ч., Иванова А.М., Тюрин-Кузьмин П.А. 88

ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАТИВНО-ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА И ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ СТАРЕНИЯ

Войнова Е.С. 89

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ КОРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА

Воронина О.А., Савина А.А., Боголюбова Н.В., Зайцев С.Ю. 90

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ N-АЦИЛДОФАМИНОВ НА СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЭУТОПИЧЕСКОГО И ЭКТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ

Гамисония А.М., Бобров М.Ю., Акимов М.Г., Грецкая Н.М., Безуглов В.В. 91

ТЕСТИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВАРИАНТОВ СТРЕПТОЛИЗИНА О МЕТОДОМ ЛАТЕКС-УСИЛЕННОЙ ИММУНОТУРБИДИМЕТРИИ

Головина В.Ю., Лаштабова С.В., Мирзабеков Т.А., Штанчаев Р.Ш., Гудкова О.Ю., Фунтикова Т.В. 92

ИНГИБИРОВАНИЕ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ 4/5 ПРЕДОТВРАЩАЕТ СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТИТИНА ПРИ РАЗВИТИИ АТРОФИИ В M. SOLEUS КРЫСЫ ПОСЛЕ СЕМИСУТОЧНОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Грицына Ю.В., Уланова А.Д., Бобылёв А.Г., Якупова Э.И., Жалимов В.К ., Немировская Т.Л., Шенкман Б.С., Вихлянцев И.М. 93

КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ СУСЛИКОВ ПРИ СПЯЧКЕ И ПРОБУЖДЕНИИ

Джараева М.М., Чалабов Ш.И. 94

ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТНЫХ ШТАММОВ МЕТАНОТРОФА METHYLOTUVIMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z, ДЕФЕКТНЫХ ПО КЛЮЧЕВЫМ ГЕНАМ СЕРИНОВОГО ЦИКЛА АССИМИЛЯЦИИ С1-СОЕДИНЕНИЙ

Егорова С.В., Бут С.Ю. 94

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К С-ТЕРМИНАЛЬНОМУ ДОМЕНУ ГЕМОЛИЗИНА II BACILLUS CEREUS

Замятина А. В., Руденко Н. В., Каратовская А. П., Нагель А.С., Андреева-Ковалевская Ж.И., Сиунов А.В., Бровко Ф.А., Солонин А.С. 95

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ИШЕМИИ НА ФОНЕ МНОГОКРАТНОЙ УМЕРЕННОЙ ГИРОТЕРМИИ

Исабекова П. Ш., Сулейманова М. Н. 96

АКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ ЕГО ФРАГМЕНТОМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 60-76 СТИМУЛИРУЕТ КАЛЬЦИЕВЫЙ СИГНАЛ В НЕЙРОНАХ

Камынина А., Эстерас Н., Короев Д., Ангелова П., Охрименко И., Вольпина О., Абрамов А. 97

ХРОНИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ АСТАКСАНТИНА ВОЗДЕЙСТВУЕТ НА БИОЭНЕРГЕТИКУ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА КРЫС ПРИ ОСТРОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Крестинин Р.Р., Бабурина Ю.Л., Одинокова И.В., Сотникова Л.Д., Крестинина О.В. 98

РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНЫХ ВАРИАНТОВ СТРЕПТОЛИЗИНА О ДЛЯ ИСПОЛЬЗУЕМОГО В ДИАГНОСТИКЕ СТРЕПТОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ АНАЛИЗА АНТИСТРЕПТОЛИЗИНА О

Лаштабова С.В., Головина В.Ю., Михайлов Р.В., Фунтикова Т.В. 99

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕКОВЕРИНА И КАВЕОЛИНА-1 В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Лебедева А.Ю., Владимиров В.И., Авдюшкин А.С., Михайлова И.В., Пермяков С.Е., Казаков А.С., Зерний Е.Ю., Зинченко Д.В. 100

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА (AGNP) С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ IN VIVO И IN VITRO

Магазенкова Д.Н., Скоморохова Е.А. 101

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУМАРАЗЫ А ИЗ ОБЛИГАТНОГО МЕТАНОТРОФА METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z

Мельников О.И., Розова О.Н. *102*

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДИМЕРИЗАЦИИ БЕЛКА АКТИВАТОРА ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ 1 В ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ СИСТЕМЕ

Михайлова И.В., Владимиров В.И., Авдюшкин А.С., Лебедева А.Ю., Зерний Е.Ю., Зинченко Д.В. *103*

ОСОБЕННОСТИ МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИСТОВЫХ, ЧЕРЕШКОВЫХ И КОРНЕВЫХ ФОРМ СЕЛЬДЕРЕЯ (APIUM GRAVEOLENS L.) В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕЙ ПОЛОСЫ РОССИИ

Молдован А.И., Харченко А.В., Голубкина Н.А., Кошеваров А.А., Молчанова А.В. *104*

СТРЕССПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ГЛИЦИНАТА КОБАЛЬТА

Монстакова Т.В., Кочиш И.И., Азарнова Т.О. *105*

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ ГЛЮКОНАТКИНАЗ У ОБЛИГАТНЫХ МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Мустахимов И.И, Решетников А.С, Бекен М.М, Екимова Г.А *106*

КОНЦЕНТРАЦИЯ ЛАКТОПЕРОКСИДАЗЫ В МОЛОКЕ КОРОВ В ДИНАМИКЕ ЛАКТАЦИИ

Садовская Т.А., Азарнова Т.О., Орлова Е.С. *106*

АДСОРБЦИЯ ОНКОМАРКЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АСМ-МИКРОСКОПИИ

Пискарев Д.И., Садовская Т.А., Азарнова Т.О. *107*

ВЫБОР КАНДИДАТНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПРОРОСТКОВ ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ И ПОИСКА ДЕТЕРМИНАНТ ЭФФЕКТА ГОРМЕЗИСА

Пишенин И.А., Волкова П.Ю. *108*

IN VITRO ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ГИАЛУРОНИДАЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА НА ФИЛЛЕРЫ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Пономарева Т.И., Слядовский Д.А., Тимченко М.А., Молчанов М.А., Тимченко А.А., Лапаев С., Поздняков Н.В., Бочарова К.А., Филиппов М.В., Согорин Е.А. *109*

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ХЛОРОФИЛЛА

Прокофьева А.А., Ромодин Л.А., Зарудная Е.Н., Лысенко Н.П. *109*

РОЛЬ ЭНДОЦИТОЗА В МЕХАНИЗМЕ LPS- ИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВАЦИИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ ДОНОРОВ СЕРОВОДОРОДА И БТШ70

Сабитова Н.Р., Юринская М.М., Винокуров М.Г. *110*

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ГЕКСАДЕКАНОВОЙ, Ω-ГИДРОКСИГЕКСАДЕКАНОВОЙ И А,Ω-ГЕКСАДЕКАНДИКАРБОНОВОЙ КИСЛОТ КАК ИНГИБИТОРОВ ГЕНЕРАЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ

Семенова А.А., Самарцев В.Н., Дубинин М.В. *111*

СОДЕРЖАНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ЧЕСНОКЕ ОЗИМОМ (ALLIUM SATIVUM L.)

Середин Т.М., Марчева М.М., Кривенков Л.В., Шумилина В.В. *112*

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ СЕПТИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ У СОБАК

Смирнова Е.Ю., Садовская Т.А., Пискарев Д.И. *113*

ВЛИЯНИЕ ЛИГАНДОВ ТРАНСЛОКАТОРНОГО БЕЛКА (TSPO) НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Сотникова Л.Д., Крестинина О.В., Одинокова И.В., Бабурина Ю.Л. *113*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГИПОТЕРМИИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ В УСЛОВИЯХ НА ФОНЕ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЭКСТРАКТА АСТРАГАЛА ПЕРЕПОНЧАТОГО

Сулейманова М.Н., Бейбалаева А.К., Бабирова Х.Б. *114*

ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ФЕРРИТИНА ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЛАТЕКС-УСИЛЕННОЙ ИММУНОТУРБИДИМЕТРИИ

Туркменова Д.И., Михайлов Р.А., Мирзебеков Т.А., Штанчаев Р.Ш. *115*

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ CYP19A1 (АРОМАТАЗЫ) ДЛЯ СКРИНИНГА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Филиппова Т.А., Гавриченко Я.И., Масамрех Р.А., Кузиков А.В. *116*

ИЗМЕНЕНИЯ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ

Хизриева С.И., Халилов Р.А., Джафарова А.М. *116*

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ КЛЕТОК BACILLUS SUBTILIS С ПОМОЩЬЮ ФАГОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПЕПТИДАЗ

Цветкова Д.В., Чернышов С.В., Микулинская Г.В. *117*

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН СИНАПТОСОМ СУСЛИКОВ В ДИНАМИКЕ ИСКУССТВЕННОГО ПРОБУЖДЕНИЯ

Бейбалаева А.К., Чалабов Ш.И. *118*

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ СОЛЕНОГО ОЗЕРА ГУДЖИРГАНСКОЕ (РЕСПУБЛИКА БУРЯТИЯ): ЭКОФИЗИОЛОГИЯ И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ

Эрдынеева Е.Б., Лаврентьева Е.В., Дунаевский Я.Е. *119*

СЕКЦИЯ "ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ"

ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОГО ПРАЙМИНГА С МОЛИБДАТОМ НА СЕМЯНА РАСТЕНИЙ

Айтлесов К.К., Аликулов З.А. *120*

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ У *BRASSICA OLERACEAVAR. SABELLICA* (L.), ВЫРАЩЕННЫЙ В ПОЧВЕ, ОБОГАЩЕННЫЙ РАЗЛИЧНЫМ МИНЕРАЛЬНЫМИ ПИТАТЕЛЬНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Антех Д. Д. *121*

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МУТАНТНЫХ ФОРМ ФОТОРЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА *RHODOBACTER SPHAEROIDES*

Атамас А.А., Селиханов Г.К., Васильева Л.Г., Фуфина Т.Ю., Габдулхаков А.Г. *121*

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ФИТОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ *BUPLEURUM AUREUM* ПРОИЗРАСТАЮЩИЙ В РАЗЛИЧНЫХ БОТАНИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ РАЙОНАХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Аттобрах Н.К. *122*

ВЛИЯНИЕ КАРОТИНОИДОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ МЕЖДУ КЛАСТЕРАМИ ПИГМЕНТОВ В АНТЕННЕ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Ашихмин А.А. *123*

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ В ОТВЕТ НА ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЕ ЗАВИСИТ ОТ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ГЕНОТИПА К АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЕ

Бабина Д.Д., Подобед М.Ю., Бондаренко Е.В., Празян А.А., Шестерикова Е.М., Волкова П.Ю. *124*

ГИДРОПЕРОКСИДЛИАЗА NTHPL ТАБАКА ОБЫКНОВЕННОГО (NICOTIANA TABACUM): ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЕРМЕНТА И АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ КАТАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Воробьева М.Е., Смирнова Е.О., Горина С.С., Аскарова Е.К., Топоркова Я.Ю., Гречкин А.Н. *125*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ СИНТЕЗА МЕЛАНИНА И ДРУГИХ ПИГМЕНТОВ В КОЛОСЕ ЯЧМЕНЯ

Глаголева А.Ю., Шмаков Н.А., Мурсалимов С.Р., Грачева Н.В., Кукоева Т.В., Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К. *126*

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА В ПРОРОСТКАХ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ С РАЗНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Горбатова И.В., Волкова П.Ю. *127*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КАДМИЯ НА РАСТЕНИЯ ЯРОВОГО ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ ПО ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИМ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ В УСЛОВИЯХ ВЕГЕТАЦИОННОГО ОПЫТА

Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. *128*

ПЕРИОД ПОКОЯ КАК АДАПТИВНО-ЗНАЧИМЫЙ ПРИЗНАК В СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Зарецкая М.В., Федоренко О.М. *129*

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ, ВЫЗВАННЫЙ ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО СВЕТА

Ишембитова К.Р., Смирнова Ю.В. *130*

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ

Казакова А.Д., Мухаматдинова Е.А. *131*

ВЛИЯНИЕ КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ НА ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА У *SOLANUM TUBEROSUM* В УСЛОВИЯХ ДЕСТРУКЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК

Кованов Д.В. *132*

ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ АУКСИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ГЕНА MAKR4 В КОРНЕ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

Коростелёва А.Л., Новикова Д.Д., Миронова В.В. *133*

CLE-ПЕПТИДЫ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ У MEDICAGO TRUNCATULA

Кудряшов А.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А. *134*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СУЩЕСТВОВАНИЯ СУБПОВРЕЖДЕНИЙ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ СИНЕРГИЗМ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ УФ СВЕТА И ГИПЕРТЕРМИИ

Купцова П.С., Переклад О.В., Жураковская Г.П. *134*

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА И 24-ЭПИКАСТАСТЕРОНА НА МОРФОГЕНЕЗ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ АРАБИДОПСИСА

Кухаренко Н.Е., Ковтун И.С., Ефимова М.В. *135*

ВЛИЯНИЕ ПРАЙМИНГА МИКРООРГАНИЗМАМИ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ВИНОГРАДА С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К МИЛДЬЮ

Луцкий Е.О., Сундырева М.А. *136*

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОПУЛЯЦИЙ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Манухина Я.А., Казакова Е.А., Волкова П.Ю. *137*

РАЗНООБРАЗИЕ РОСТОВЫХ РЕАКЦИЙ ARABIDOPSIS В ОТВЕТ НА СЛАБЫЙ СОЛЕВОЙ СТРЕСС

Крытынская Е.Н., Нагай М.Я., Черкас О.М. *138*

ВЛИЯНИЕ ГАММА–ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ARABIDOPSIS THALIANA ДИКОГО ТИПА И ЛИНИИ, ДЕФЕКТНОЙ ПО СИНТЕЗУ АБК

Подобед М.Ю., Бабина Д.Д., Бондаренко Е.В., Подлуцкий М.С., Горбатова И.В., Волкова П.Ю. *139*

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ФИТОГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ЯПОНСКОЙ КРАСНОЙ СОСНЫ

Битаришвили С.В., Празян А.А., Гераськин С.А., Пишенин И.А. *140*

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА *RHODOBACTER SPHAEROIDES* МЕТОДОМ СЕРИЙНО-ПОТОЧНОЙ КРИСТАЛЛОГРАФИИ

Селиханов Г.К., Фуфина Т.Ю., Васильева Л.Г., Габдулхаков А.Г. *141*

ИССЛЕДОВАНИЕ H^+/OH^--ПРОВОДИМОСТИ НА КЛЕТКАХ NITELLA FLEXILIS МЕТОДОМ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОТВЕДЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ

Крытынская Е.Н., Скипор И.А., Ян Х. *141*

РОЛЬ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В РАЗВИТИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Мудрилов М.А., Гришина А.И., Агеева М.Н., Гринберг М.А., Воденеев В.А. *142*

СВОЙСТВА МУТАНТНЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ *RHODOBACTER SPHAEROIDES* С ТРЕМЯ АМИНОКИСЛОТНЫМИ ЗАМЕЩЕНИЯМИ H(L173)L+I(L177)H+F(M197)H

Третчикова О.А., Фуфина Т.Ю., Васильева Л.Г. *143*

ИЗМЕНЕНИЕ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ВИНОГРАДА ПРИ ВЫХОДЕ ИЗ СОСТОЯНИЯ ПОКОЯ

Федорович С.В., Сундырева М.А. *144*

ВЛИЯНИЕ ФИТОХРОМОВ НА ДЕЙСТВИЕ УФ-Б РАДИАЦИИ НА ФА В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ

Шмарев А.Н. *145*

УЧАСТИЕ БЕЛКА CAH3 В СТАБИЛИЗАЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ВОДООКИСЛЯЮЩЕГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ 2

Шукшина А.К., Терентьев В.В. *146*

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗДОРОВЛЕННЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ SOLANUM TUBEROSUM L. СОРТА ЛУГОВСКОЙ В УСЛОВИЯХ ГИДРОПОНИКИ

Сатканов М.Ж., Кадырбаев М.К., Головацкая И.Ф......147

СЕКЦИЯ "ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ"

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ СУПРОДИТ М И ГУМИТОН НА ПОСТУПЛЕНИЕ ТМ И 137CS В РАСТЕНИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕНЕЗА

Баланова О.Ю., Ратников А.Н., Свириденко Д.Г., Арышева С.П., Петров А.Н. *148*

УСТОЙЧИВОСТЬ ПУСТЫННО-СТЕПНЫХ КАШТАНОВЫХ ПОЧВ И СОЛОНЦОВ К АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЛИТОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ

Дубовик Е.В., Каширская Н.Н. *149*

БИОМАССА И КАТАБОЛИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ЗАПОВЕДНОГО УЧАСТКА И ПАШНИ (ЗАПОВЕДНИК «БЕЛОГОРЬЕ»)

Дущанова К.С., Лисецкий Ф.Н., Украинский П.А., Хомутова Т.Э. *149*

ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПРИБРЕЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ БАРЕНЦЕВА МОРЯ

Исакова Е.А., Корнейкова М.В. *150*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА МИКРОБИОМА ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ СМЕСЕЙ И ИХ КОМПОНЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТАВОМ ГАЗОННЫХ ТРАВ

Ковалева Ю.Н., Ворошихина Т.В. *151*

ФОСФОР И ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНОГО СЛОЯ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА ЭПОХИ БРОНЗЫ КСИЗОВО-1 (XXII-XXIV В.В. ДО Н.Э.) (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ)

Кожемякина Ю.Н., Потапова А.В. *152*

ВЛИЯНИЕ ПРМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА СТРУКТУРУ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ Г. СЕРПУХОВА

Лоза А.Д., Каширская Н.Н. *153*

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВ СТЕПНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ВЫПАСА СКОТА

Лягузина Е.А., Каширская Н.Н. *154*

АНАЛИЗ СОСТАВА ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ МЕТОДОМ ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПЦР РВ

Нечаева А.И., Бояршин К.С., Клюева В.В., Батлуцкая И.В...... *154*

СТРУКТУРА БИОМАССЫ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЧВ СЕВЕРА НОВОЙ ЗЕМЛИ

Никитин Д.А., Лысак Л.В., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Горячкин С.В. *155*

ОСОБЕННОСТИ ПОЧВООБРАЗОВАНИЯ НА АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКАХ ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

Овчинников А.Ю...... *156*

ЗАПАСЫ УГЛЕРОДА В ПОДЗОЛАХ НА СЕВЕРО-ВОСТОКЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ (РЕСПУБЛИКА КОМИ)

Осипов А.Ф., Машков П.Ф., Дымов А.А. *157*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПИРОКСЕНОВОГО ОБОГАЩЕНИЯ ОТХОДОВ ДОБЫЧИ ФЛОГОПИТА ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ТЕХНОГЕННОЙ ПУСТОШИ В СУБАРКТИКЕ

Петрова А.Г., Слуковская М.В., Марковская Е.Ф., Корнейкова М.В., Кременецкая И.П. *158*

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВОГРУНТОВ КРЕМИРОВАННЫХ ЗАХОРОНЕНИЙ В ЗОНЕ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ

Петросян А.А., Плеханова Л.Н. *159*

ОЦЕНКА КОЭФФИЦИЕНТОВ ДИФФУЗИИ 90SR НА ТЕРРИТОРИИ, ПРИЛЕГАЮЩЕЙ К БЫВШЕМУ ХРАНИЛИЩУ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

Подлуцкий М.С., Удалова А.А. *160*

ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПАХОТНЫХ И ЗАЛЕЖНЫХ ПОЧВ ЛЕВОБЕРЕЖЬЯ ДОНА

Распопова К.А., Каширская Н.Н. *161*

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВ ВДОЛЬ ВЫСОТНОГО ГРАДИЕНТА (СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ КАВКАЗ)

Селезнёва А.Е., Иващенко К.В., Сушко С.В., Журавлева А.И., Овсепян Л.А. *162*

ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА КУРИЛОВКА

Слюсарева Н.В., Плеханова Л.Н. *163*

РОЛЬ ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ В ДЕСТРУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОПАДА ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ КОЛЬСКОГО СЕВЕРА

Сошина А.С., Корнейкова М.В., Зенкова И.В. *163*

ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ НА СВОЙСТВА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ГЛЕЕВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ АРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА

Узорина М.И., Михедова Е.Е., Васильева Г.К. *164*

МИКРОБНЫЕ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВ В ЛЕСОПАРКАХ ГОРОДОВ РАЗНЫХ БИОМОВ

Хатит Р.Ю., Сушко С.В., Селезнева А.Е. *165*

СЛЕДЫ ДРЕВНЕГО АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В ПОЧВО-ГРУНТАХ ПОСЕЛЕНИЯ ЭПОХИ БРОНЗЫ В ТАЕЖНО-ЛЕСНОЙ ЗОНЕ

Хундерякова С.А., Плеханова Л.Н. *166*

ВЛИЯНИЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА НА ФОРМИРОВАНИЕ ГРИБНОЙ МИКРОБИОТЫ КОРНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

Цыганова Н.Ф., Акосах Й.А., Гритчина Т.Е., Марданова А.М. *167*

СТОК УГЛЕРОДА И ЭМИССИЯ CO2 ИЗ РАЗНЫХ ПОЧВЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ В УСЛОВИЯХ МОСКОВСКОГО МЕГАПОЛИСА

Чупятов Е.А., Кириленко В.К., Гавричкова О., Ярославцев А.М., Васенёв В.И. *168*

СЕКЦИЯ "БИОФАРМАЦЕВТИКА И БИОМЕДИЦИНА"

СЕКЦИЯ "БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ"

ONE-POT BIOCATALYTIC TRANSFORMATION OF ADIPIC ACID TO 6-AMINOCAPROIC ACID AND 1,6-HEXAMETHYLENEDIAMINE USING CARBOXYLIC ACID REDUCTASES AND TRANSAMINASES

Fedorchuk T.P. *169*

ПРОДУКЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА Е2 ВИРУСА ДИАРЕИ КРС В СОСТАВЕ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Адамонис Я.В., Сауткина Н.В., Кудин К.В., Прокулевич В.А. *169*

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА СПОСОБНОСТЬ ПЕРСПЕКТИВНОГО ШТАММА BACILLUS SUBTILIS BZR 336G СИНТЕЗИРОВАТЬ АНТИГРИБНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Аллахвердян В.В., Сидорова Т.М., Гырнец Е.А., Асатурова А.М. *170*

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССА БИОМИМЕТРИЧЕСКОГО ОСАЖДЕНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ КАЛЬЦИЙФОСФАТНОГО СЛОЯ НА ТРЁХМЕРНЫХ ОБРАЗЦАХ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ

Баранов О.В., Тетерина А.Ю., Радькова Е.А., Комлев В.С. *171*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫРАБОТКИ БИОГАЗА ПРИ СБРАЖИВАНИИ СУБСТРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШЕСТИРЕАКТОРНОЙ УСТАНОВКИ

Беспалова О.С., Бояршин К.С., Клюева В.В., Батлуцкая И.В. *172*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТРАНСМЕМБРАННОГО РЕГУЛЯТОРА ПРОВОДИМОСТИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ПАЦИЕНТА С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ДИАГНОЗОМ F508DEL / C.1735G> T (P.ASP579TYR)

Булатенко Н.В., Ефремова А.С., Бухарова Т.Б., Петрова Н.В., Каширская Н.Ю., Кондратьева Е.И., Мельяновская Ю.Л., Гольдштейн Д.В. *173*

МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КОВАЛЕНТНО СШИТЫМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ: ДИЗАЙН И СИНТЕЗ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕНОСИМОСТИ, СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И КОНТРАСТНЫХ СВОЙСТВ

Бычкова А.В., Якунина М.Н., Лопухова М.В., Абдуллина М.И., Покровский В.С.,Мотякин М.В., Дегтярев Е.Н., Коварский А.Л., Хачатрян Д.С. *174*

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ УФ- В НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ПЕРЕМЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А И ПРОГРАММНАЯ ОЦЕНКА СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Васильева А.Г., Сивашева Т.Н., Креславский В.Д. *175*

АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 СЛИТОГО С ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ FCIGG1

Васильева О.О., Евдокимовская Ю.В., Кононов А.В., Агеев С.А, Евдокимов С.Р., Соловьев В.В. *176*

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА КОК-САГЫЗА (TARAXACUM KOK-SAGHYZ)

Вербицкая А.А., Иванова А.С., Гапоненко А.К. *177*

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ АБИРАТЕРОНА И ГАЛЕТЕРОНА СО СТЕРОИД 21-МОНООКСИГЕНАЗОЙ (CYP21A2)

Гавриченко Я.И., Филиппова Т.А., Масамрех Р.А., Кузиков А.В., Щербаков К.А. *178*

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ РИМАНТАДИНА ИНГИБИРУЮТ ИНФЕКЦИЮ, ВЫЗВАННУЮ ВИРУСОМ ГРИППА H1N1 НА МОДЕЛИ ГРИППОЗНОЙ ПНЕВМОНИИ МЫШЕЙ

Глубокова Е.А., Махмудова Н.Р., Фалынскова И.Н., Кузнецов Н.Ю., Ленева И.А. *179*

СКАФФОЛД НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНОВОГО ГИДРОГЕЛЯ ДЛЯ 3D КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ РОГОВИЦЫ

Гречаная Ю.С., Машель Т.В., Журенков К.Э., Хорольская Ю.И., Александрова О.И. *180*

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ IN VITRO КУЛЬТУРЫ TARAXACUM KOK-SAGHYZ RODIN

Гумерова Г.Р., Кулуев Б.Р., Князев А.В. *181*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ КРЕМНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Дуденкова А.С. *181*

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КОНДИЦИОНИРОВАННЫХ СРЕД, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ И ГЛИАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МОЗГА У КРЫС

Дьяконов А.С., Салихова Д.И., Мокроусова В.О., Петухова А.В., Леонов Г.Е., Бухарова Т.Б., Наместникова Д.Д., Черкашева Э.А., Фатхудинов Т.Х., Ярыгин К.Н., Гольдштейн Д.В. *182*

ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИЯ ЦЕЛОЙ ПОЧКИ КРЫСЫ КАК ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Евстратова Е.С., Филимонова А.Н., Шегай П.В. *183*

РАЗРАБОТКА НОВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА, ВЫСТУПАЮЩЕГО В РОЛИ ОНКОМАРКЕРА

Еремеева Е.А., Грузнова О.А., Сологуб В.К., Яббаров Н.Г., Фомичева М.В., Фаустова М.Р., Сокол М.Б., Никольская Е.Д. *184*

ВЛИЯНИЕ ЭСТРАДИОЛА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P IN VITRO

Ерохина П.Д., Абаленихина Ю.В., Черных И.В., Щулькин А.В. *185*

СОЗДАНИЕ ПАНЕЛИ CIS-РЕГУЛЯТОНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ РАЗЛИЧНОЙ СИЛЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕСТОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ

Загоскин А.А., Евдокимовская Ю.В., Басовский Ю.И. *186*

ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТВОРИМОЙ ФОРМЕ ПРИ ПОМОЩИ ХЕЛПЕРНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ В E.COLI

Звездова Д.С., Евдокимов С.Р., Нагорных М.О. *187*

РОЛЬ ГЕНА D174_24070 В ДЕГРАДАЦИИ БОКОВОЙ ЦЕПИ СТЕРИНОВ У MYCOLICIBACTERIUM NEOAURUM NRRL B-3805

Ивашина Т.В., Зобнина Д.С., Довбня Д.В., Шутов А.А., Донова М.В. *188*

ВАКЦИНАЦИЯ ГЕМАГГЛЮТИНИН-СОДЕРЖАЩИМИ ВИРУСОПОДОБНЫМИ ЧАСТИЦАМИ (НА- ВПЧ) ЗАЩИЩАЕТ ЛЕГКИЕ МЫШЕЙ ОТ ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СУПЕРИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ: ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Карташова Н.П., Глубокова Е.А., Фалынскова И.Н., Джалилова Д.Ш., Ленёва И.А. *189*

ОПТИМИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ ИНФЕКЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СКРИНИНГЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Карташова Н.П., Глубокова Е.А., Яровенко С.Ю., Потемкин И.А., Карлсен А.А., Ленева И.А., Кюрегян К.К., Ряховский А.А. *190*

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ ФЕТАЛЬНОГО ТИМУСА НА АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ И НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ

Кахоров Б.А., Бобоқулова Н.Н. қизи, Мажидова К.А. қизи *190*

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ

Козицын А.Е., Сидорова Т.М., Асатурова А.М. *191*

РАЗРАБОТКА НАНОРАЗМЕРНЫХ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ОКСИДА ГАФНИЯ

Колманович Д.Д., Попова Н.Р., Таран Г.О., Попов А.Л., Иванов В.К. *192*

ОПТИМИЗАЦИЯ МОДЕЛИ ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС SD

Кондрахина А.Е. *193*

ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ ИБУПРОФЕН И ЛАКТОФЕРРИН СНИЖАЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кочеткова О.Ю., Кобякова М.И., Антонова О.Ю. *194*

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ S-15176 НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ КРОВИ МЫШЕЙ С ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Лебедева Е.А., Старинец В.С., Дробот Г.П., Белослудцева Н.В., Белослудцев К.Н. *195*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИИ H828Q В МЕДЬ-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕЙ АТФАЗЕ C. ELEGANS CUA-1 НА ИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ИОНАМ МЕДИ

Мехова А.А., Catalano F., Орлов Ю.А. *196*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ САХАРНОГО ДИАБЕТА ТИПА 2, ИНДУЦИРОВАННАЯ У МЫШЕЙ C57BL ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТОЙ

Михайлов Е.С. *197*

ПРИРОДНАЯ СТРУКТУРА КАРДИОМАРКЕРА SST2 ЯВЛЯЕТСЯ ОПРЕДЕЛЯЮЩИМ УСЛОВИЕМ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Михеева О.О., Домогатский С.П., Ефремов Е.Е., Есипов Р.С. *198*

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ADAMTS1, RBFOX2, THBS1 И WHSC1 КАК МАРКЕР ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Мурашкина А.А., Савченко Р.Р., Васильев С.А. *199*

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТОК ЯИЧНИКОВ И ГЕПАТОПАНКРЕАСА ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД IN VITRO

Назарова А.А., Гурков А.Н., Верещагина К.П., Щапова Е.П., Тимофеев М.А. *200*

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА ФИЦИНА С НАНОЧАСТИЦАМИ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНОГО И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНОВ

Ольшанникова С.С., Щербатых М.С., Коньшина Ю.И., Редько Ю.А., Панкова С.М., Нехаев И.С., Сакибаев Ф.А., Королева В.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. *201*

О РЕГЕНЕРАЦИИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР КЛЕЩЕВИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ РАЗНЫХ СОРТОВ ЗАНЗИБАР ГРИН И ИМПАЛА БРОНЗОВАЯ

Петров Н.Р. *202*

МЕТАБОЛИЗМ ТОКСИЧНЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ РОДОКОККАМИ

Поливцева В.П., Иминова Л.Р., Анохина Т.О., Есикова Т.З., Пунтус И.Ф., Соляникова И.П. *203*

ТЕРАНОСТИКИ НА ОСНОВЕ РЕДОКС-АКТИВНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ С СИНЕРГЕТИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ ДЕЙСТВИЯ

Попов А.Л. , Колманович Д.Д., Попова Н.Р., Ермаков А.М., Иванов В.К. *204*

КОМПЛЕКС C115H МГЛ С ДАЙДЗЕИНОМ ДЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ IN SITU

Ревтович С.В., Лебедева Л.А., Коваль В.С., Коваль В.С. *204*

ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНОГО ШТАММА M. NEOAURUM N 3-15, ОБЛАДАЮЩЕГО ВЫСОКОЙ СТЕРОИДТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Рожков А. Я., Карпова Н.В., Стыценко Т.С., Ядерец В.В. *205*

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ШЕФЕРИНА II В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ

Сауткина Н.В., Кабышко Е.С., Прокулевич В.А. *206*

ПЕРСПЕКТИВА ПОЛУЧЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПУТЕМ

Сенченков В.Ю., Ляховченко Н.С., Мягков Д.А., Сиротин А.А., Батлуцкая И.В., Староверов В.М., Соляникова И.П. *207*

СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЛИГНИН-ПОДОБНЫХ ПОЛИМЕРОВ

Смирнов И.В., Лисов А.В., Казаков А.С., Звонарев А.Н., Земскова М.Ю. *208*

ВЛИЯНИЕ S-15176 НА РАЗВИТИЕ ДИСФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ С ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

Старинец В.С., Белослудцева Н.В., Таланов Е.Ю., Теньков К.С., Дубинин М.В., Белослудцев К.Н. *209*

ТКАНЕВЫЕ ЭКВИВАЛЕНТЫ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Фетисова В.Э., Тетерина А.Ю., Соловьёва Е.А., Михеева П.В., Комлев В.С. *210*

МЕТОД ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИ ДИАФРАГМЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Филимонова А.Н., Евстратова Е.С., Шегай П.В. *211*

МИГРАЦИЯ КЛЕТОК ИЗ ТЕЛА ТРЕХМЕРНЫХ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ НА РАЗЛИЧНЫХ ПОДЛОЖКАХ

Шабалина Е.Ю., Петерсен Е.В., Скорова Е.Ю. *212*

ВЛИЯНИЕ БЕТУЛИНА И БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Шарапов В.А., Ильзоркина А.И., Хорошавина Е.И., Выдрина В.А., Яковлева М.П., Белослудцев К.Н., Пеньков Н.В., Дубинин М.В. *213*

РОЛЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МИЕЛОИДНЫХ СУПРЕССОРНЫХ КЛЕТОК

Шардина К.Ю, Заморина С.А., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Ужвиюк С.В. *213*

ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ В ТЕРАПИИ РЕДКИХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОЖИ

Широкова А.А., Гершович П.М., Ломунова М.А., Тютюнник А., Григорьева А.А. *214*

СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ДЕТЕКЦИИ СИГНАЛА В ИММУНОАНАЛИЗЕ

Шляпников Ю.М., Канев И.Л., Шляпникова Е.А. *215*

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРОИДОВ У NOCARDIOIDES SIMPLEX ВКМ АС-2033Д ПРИ ИНДУКЦИИ ХОЛЕСТЕРИНОМ

Штратникова В.Ю., Фокина В.В., Щелкунов М.И., Брагин Е.Ю., Донова М.В *216*

СЕКЦИЯ "ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОМЕДИЦИНА"

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС

Абрамова О.В., Зубков Е.А., Зоркина Я.А., Морозова А.Ю., Чехонин В.П. *218*

ВЛИЯНИЕ ГАЗОМЕДИАТОРОВ НА РЕЦИРКУЛЯЦИЮ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ ПРИ АЛЛОКСАНОВОЙ МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Альбова П.Е., Ярмиев И.З., Яковлева О.В. *219*

МОРФО-КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПЕРЕСТРОЙКИ РУБЦОВОЙ ТКАНИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ КОЖИ

Андреева А.А., Жданова А.В., Петрова И.М., Хацко С.Л., Жданов А.В., Глухарева Т.В. *220*

ГАЛЛОПРОИЗВОДНЫЕ КАТЕХИНОВ ЗЕЛЁНОГО ЧАЯ УВЕЛИЧИВАЮТ АКТИВНОСТЬ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В АОРТЕ КРЫС

Аникина В.А., Корыстов Ю.Н. *221*

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА SALMONELLA TYPHIMURIUM MDC1759

Арутюнян А.А., Тимотина М.И., Габриелян Л.С., Трчунян А.А *221*

ИНТЕРФЕРОНИНДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ СОЧЕТАНИЯ ПРЕПАРАТОВ САНОГЕНА И БЕТАЛЕЙКИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ

Кахоров Б.А., Ахмедова Ш.А., Сафарова Н.К. *222*

ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕПАРАЦИЮ ДНК В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ IN VITRO

Балакин Г.Ю., Синельникова В.А., Щербатюк Т.Г., Гапеев А.Б. *223*

ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Болобан А.М., Боровкова Л.В., Щербатюк Т.Г. *224*

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ В ЭНДОТЕЛИНОВОЙ МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ КОРЫ МОЗГА

Бурханова Г.Ф., Чернова К.А., Шерозия М.Г., Захаров А.В., Хазипов Р.Н. *225*

ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ КОСТНОГО МОЗГА В КУЛЬТУРЕ

Бурханова С.Д., Улитко М.В. *226*

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ УДАЛЕНИЯ CA2+ НА СИНХРОНИЗАЦИЮ ВЫБРОСА МЕДИАТОРА

Ваземдинова А.А., Рахматуллина Ф.Ф., Розов А.В. 226

ЗНАЧЕНИЕ КАППА-ТРОПОМИОЗИНА ДЛЯ АКТИН-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ

Васильева Д., Берг В.Ю., Кочурова А.М., Матюшенко А.М., Копылова Г.В., Щепкин Д.В. 227

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ И СПЕРМАТОГЕНЕЗ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Власова А.А., Храмцова Ю.С. 228

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ БИОМАССЫ S.FRADIAE CNMN-AC-11 И S. MASSASPOREUS CNMN-AC-06 НА ВЫРАБОТКУ ОБОРОНИТЕЛЬНЫХ УСЛОВНЫХ РЕФЛЕКСОВ У БЕЛЫХ КРЫС

Гарбузняк А.А., Шептицкий В.А. 229

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРОВ СЛЕДОВЫХ АМИНОВ В ЛОКОМОТОРНОЙ И ВЕСТИБУЛЯРНОЙ ФУНКЦИЯХ

Горяинова А.В., Калинина Д.С. 230

ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО КОМПОНЕНТА СЕМЕННИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ

Гребенкина П.В., Храмцова Ю.С. 231

ГАЗООБМЕН КЛЕЩЕЙ ОТРЯДА IXODIDA В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВНЕШНЕЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И МАЛОПОДВИЖНОГО ОБРАЗА ЖИЗНИ

Саидова Д.Э., Маликов И. Р., Умркулова С.Х. 232

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДА ДЕФЛАЗАКОРТА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ ДЮШЕННА

Дубинин М.В., Старинец В.С., Теньков К.С., Белослудцева Н.В., Белослудцев К.Н. 233

ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАКРИННОЙ АКТИВНОСТИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОТ СТЕПЕНИ КОНТАКТНОЙ КОММУНИКАЦИИ

Ездакова М.И., Андреева Е.Р. 234

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ КОРКОВОЙ ДЕПРЕССИИ В УСЛОВИЯХ IN VIVO У КРЫС С ВРОЖДЕННОЙ И ПРИОБРЕТЕННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

Еникеев Д.Р., Герасимова Е.В., Чернопольская Д.В. 235

РОЛЬ ЭНДОГЕННОГО АЦЕТИЛХОЛИНА В РЕАЛИЗАЦИИ АДГЕЗИВНОЙ ФУНКЦИИ ГРАНУЛОЦИТАМИ КОСТНОГО МОЗГА МЫШИ

Жирова Э. А., Сафронова В. Г., Тихонова И. В., Серов Д. А. 236

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ УСЕЧЁННОЙ ФОРМЫ ТРОПОМИОЗИН-СВЯЗАННОГО КИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА B (TRKB.T1) В ГИППОКАМПЕ МЫШЕЙ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЁННЫХ В ПРОЦЕССЫ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

Золотенкова Е.А., Еремин Д.В., Цыбко А.С., Ильчибаева Т.В. 236

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Иркаева А.М., Жукова Е.С., Ляхова А.А., Пятойкина А.С., Жиляева Т.В., Цвет А.Л., Щербатюк Т.Г. 237

РОЛЬ LX РЕЦЕПТОРОВ В ЭФФЕКТАХ 24-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА НА ИНОТРОПНУЮ РЕАКЦИЮ ПРЕДСЕРДИЙ НА ИЗОПРОТЕРЕНОЛ

Исмагилова Д.А., Трусов Н.А., Хакимов И.Р,, Одношивкина Ю.Г., Петров А.М. *238*

ОСОБЕННОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМ ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ РАКОМ РС-1

Кашина А.Ю., Потапов А.Л., Жукова Е.С., Щербатюк Т.Г. *239*

ДИНАМИКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДЕТЕЙ 10-12 ЛЕТ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМПЛЕКСА КОНТРАСТНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Колыванова С.С., Елифанов А.В. *240*

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ДОЗЫ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА ЛИНИИ МЫШЕЙ НИЗКОРАКОВОЙ И ВЫСОКОРАКОВОЙ ЛИНИЙ

Комизерко Л.А., Аронов Д.А., Семушина С.Г., Моисеева Е.В. *241*

КОНЦЕНТРАЦИЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ КОРОВ ПОСЛЕ ОСЕМЕНЕНИЯ ПРИ РАЗНОМ ИСХОДЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Коновалова О.В., Соломахин А.А., Митяшова О.С., Лебедева И.Ю. *242*

КОНЦЕНТРАЦИЯ РТУТИ В ВОЛОСАХ ЖИТЕЛЬНИЦ ГОРОДА ЧЕРЕПОВЦА ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Корнилова А.И., Шувалова О.П. *243*

МИКРОСТРУКТУРА КОМПЛЕКСА ГАМКЭРГИЧЕСКОГО СИНАПСА С ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНОЙ СЕТЬЮ

Кочнева А.А., Мельникова А.А., Липачев Н.С., Арнст Н.И., Кузнецова С.В., Расческов А.А., Леунг А.-С., Двоеглазова А.С., Аганов А.В., Мавликеев М.О., Осин Ю.Н., Киясов А.П., Павельев М.Н. *244*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ТРОПОМИОЗИНА С КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ

Кочурова А.М., Кочина Е.А., Берг В., Матюшенко А.М., Копылова Г.В., Щепкин Д.В. *245*

ДИНАМИКА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ ЦНС САМЦОВ КРЫС, МАТЕРИ КОТОРЫХ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПОЛУЧАЛИ А-ТОКОФЕРОЛ

Семенова А.С., Кулешова О.Н. *246*

ВЛИЯНИЕ НА ИММУНУЮ СИСТЕМУ СУБСТАНЦИИ ИЗ ПЕПТИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНЕМИИ

Алламурадов М., Курбанов Д.Б., Самандарова Г.Э., Бердиев Ў.Т. *247*

СПОНТАННОЕ И МЕТАЛ-КАТАЛИЗИРУЕМОЕ ОКИСЛЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Ляхова А.А., Жукова Е.С., Пятойкина А.С., Семеннов И.В., Щербатюк Т.Г. *248*

УЧАСТИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЗАЖИВЛЕНИИ ОЖОГОВОЙ РАНЫ КОЖИ

Макарихина М.Д., Жданова А.В., Петрова И.М., Хацко С.Л., Жданов А.В., Глухарева Т.В. *249*

СТИМУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Макаров М.С. *250*

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОН-АСТРОЦИТАРНОЙ СЕТИ У НОВОЙ МУТАНТНОЙ ЛИНИИ МЫШЕЙ, ПРОЯВЛЯЮЩЕЙ ЭПИЛЕПТИФОРМНУЮ АКТИВНОСТЬ

Матвеева М.В., Федулина А.А., Жидкова Н.М., Рыбакова В.П., Борисова Е.В., Епифанова Е.А., Бабаев А.А., Лебедева А.В., Тарабыкин В.С., Кастальский И.А. *251*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФТОРХИНОЛОНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ КРОВИ ЦЫПЛЯТ

Моисеева А.А. *252*

ПРЕДРОДОВОЙ И ПОСЛЕРОДОВОЙ ТИРЕОИДНЫЙ ПРОФИЛЬ У КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК С РАЗНЫМ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ СОСТОЯНИЕМ ЯИЧНИКОВ

Монтвила Е.К., Митяшова О.С., Соломахин А.А., Лебедева И.Ю. *253*

ЦЕНТРАЛЬНАЯ ГЕМОДИНАМИКА И КОЖНАЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕИНФУЗИЕЙ

Неокина М. А., Рыжков И. А. *254*

PRODISTOMUM ALASKENSE (DIGENEA: LEPOCREADIIDAE): СЕРОТОНИН И НЕЙРОПЕПТИД FMRFAMИД В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Нефёдова Д.А., Мочалова Н.В., Гордеев И.И., Яшин В.А., Кучин А.В., Крещенко Н.Д. *255*

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИН-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ ПРИ ДИАБЕТЕ ВТОРОГО ТИПА

Политова Е.А., Берг В.Ю., Кочурова А.М., Копылова Г.В., Щепкин Д.В., Хохлова А.Д. *256*

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕПОПУЛЯЦИИ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ОРГАННЫХ МАТРИКСОВ

Поспелов А.Д., Черкасова Е.И., Балалаева И.В., Тимофеева Л.Б. *257*

РЕТРОГРАДНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ ЧЕРЕЗ PAR1 И TRKB РЕЦЕПТОРЫ РЕГУЛИРУЕТ РАЗМЕР КВАНТА В НОВООБРАЗОВАННЫХ НЕРВНОМЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ

Правдивцева Е.С., Богачева П.О. *258*

ВЛИЯНИЕ "БУРСАНАТАЛА" НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МАКРОФАГОВ

Рахманова Т.А., Улитко М.В., Кольберг Н.А. *259*

МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНАЯ РЕГИСТРАЦИЯ ВНУТРЕННЕГО ОПТИЧЕСКОГО СИГНАЛА В РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ

Сабаева Т.С., Сучков Д.С., Минлебаев М.Г. *259*

ЗАБОЛЕВАНИЕ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ГЕЛЬМИНТАМИ У ДЕТЕЙ НАЧАЛЬНЫХ КЛАССОВ И МЕРОПРИЯТИЯ ПО ИХ ПРОФИЛАКТИКЕ

Сагдуллаева Д.С., Саидова Д.Э. *260*

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Сеидкулиева А.А. *261*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОМЕКАМТИВ МЕКАРБИЛА НА МЕХАНИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ И СОКРАТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ПРЕДСЕРДИЙ И ЖЕЛУДОЧКОВ КРЫС

Симонова Р.А., Бутова К.А., Мячина Т.А., Берг В.Ю., Кочурова А.М., Щепкин Д.В., Хохлова А.Д., Копылова Г.В. *262*

СТЕРОИДОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ГРАНУЛЕЗНОГО И ТЕКАЛЬНОГО СЛОЯ ПРЕОВУЛЯТОРНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ КУР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПАРАКРИННОЙ КОММУНИКАЦИИ И ВОЗРАСТА ПТИЦ

Смекалова А.А., Монтвила Е.К., Коновалова О.В., Митяшова О.С., Лебедева И.Ю. *263*

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ CA2+-АКТИВИРУЕМЫХ И ПОТЕНЦИАЛ ЗАВИСИМЫХ K+ - КАНАЛОВ В ЭФФЕКТЕ СЕРОВОДОРОДА

Сорокина Д.М., Ситдиков Ф.Г. *264*

НАРУШЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА КРЫС В РЕЗУЛЬТАТЕ СТРЕССОРНОГО ОТВЕТА МАТЕРИ НА ГИПОКСИЮ, КАК МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ РАННЕГО СТАРЕНИЯ

Ветровой О.В., Стратилов В.А. *265*

РОЛЬ GI БЕЛКА В ЭФФЕКТАХ 25-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА НА СОКРАТИМОСТЬ ПРЕДСЕРДИЙ ПРИ АКТИВАЦИИ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Трусов Н.А., Исмагилова Д.А., Хакимов И.Р., Одношивкина Ю.Г., Петров А.М. *266*

ЭФФЕКТЫ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ СТИМУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ДЕПРЕССИИ

Ушакова В.М., Зубков Е.А., Морозова А.Ю., Зоркина Я.А., Павлов К.А., Иноземцев А.Н., Чехонин В.П. *267*

ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТА CYP46A1 НА БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКУЮ РЕГУЛЯЦИЮ СОКРАТИМОСТИ ПРЕДСЕРДИЙ

Хакимов И.Р., Трусов Н.А., Исмагилова Д.А., Одношивкина Ю.Г., Петров А.М. *268*

ДЕЙСТВИЕ АНАНДАМИДА НА СПОНТАННЫЙ ВЫБРОС МЕДИАТОРА В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Хоткина Н. А., Тарасова Е. О., Гайдуков А. Е., Балезина О. П. *269*

РОЛЬ АКТИНОВОГО И ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ПРОЦЕССАХ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ МЫШИ

Хузина А.Р., Григорьев П.Н. *270*

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРОПОСТРОЕНИЯ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ЛЮДЕЙ В НОРМЕ И ПРИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ

Цыганова Е.В., Жукова Е.С., Щербатюк Т.Г., Голованова М.А. *271*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ МРНК МИОГЕННЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ФАКТОРОВ У МОЛОДИ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ SALMO SALAR L., ВЫРАЩЕННОГО ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА

Шульгина Н.С., Чурова М.В., Крупнова М.Ю., Немова Н.Н. *272*

ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ПОДКОЖНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОГО МАТРИКСА ПИЩЕВОДА

Накохов Р.З., Русинова Т.В., Юцкевич Я.А. *273*

СЕКЦИЯ "БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА"

ОТБОР ИНГИБИТОРОВ ТУБУЛИНА С КОЛХИЦИНО-ПОДОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Анисимов М.Н. *274*

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ТРАЕКТОРИЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ В СЕТИ

Веригин В.А., Лихачев И.В., Балабаев Н.К. *275*

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПТОМА КОРНЕЙ АЛЛОГЕСКАПЛОИДНОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПОМОЩИ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ РНК (RNA-SEQ)

Вихорев А.В., Шмаков Н.А., Глаголева А.Ю., Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю. *276*

АКТИВАЦИЯ АЛЬФА-2 АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ СТИМУЛИРУЕТ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ГАМК АСТРОЦИТАМИ

Гайдин С.Г., Зинченко В.П., Теплов И.Ю., Косенков А.М. *277*

СЕРОТОНИН УСКРОРЯЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ В ХОДЕ ИХ РЕГЕНЕРАЦИИИ У ПЛАНАРИЙ SCHMIDTEA MEDITERRANEA

Гребенщиков Н.И., Митьковский Д.Е., Карпов А.Н., Гребенщикова Е.В., Крещенко Н.Д. *278*

РЕГЕНЕРАЦИЯ ГОЛОВНОГО КОНЦА ТЕЛА У ПЛАНАРИЙ SCHMIDTEA MEDITERRANEA

Гребенщикова А.И., Выкиданец Г.Н., Гребенщиков Н.И., Крещенко Н.Д. *279*

СЕРОТОНИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ 5 ТИПА В БАЗАХ ДАННЫХ ВИДОВ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ С АННОТИРОВАННЫМ ГЕНОМОМ

Гуляев А.В., Теренина Н.Б., Нефёдова Д.А., Бондаренко С.М., Крещенко Н.Д. *280*

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА ПРИ ОКИСЛЕНИИ ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПОХЛОРИТОМ

Гаврилина Е.С., Васильева А.Д., Юрина Л.В., Щеголихин А.Н., Леонова В.Б., Бирюкова М.И., Константинова Т.С., Индейкина М.И., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Розенфельд М.А. *281*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОБСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МОЗГА КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Ибрагимова З.К., Халилов Р.А., Джафарова А.М., Абдуллаев В.Р. *282*

ФРАКТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАРУЖНОЙ ТЕРАПИИ ДЕРМАТОЗОВ

Русанова И.А. *283*

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ НАТРИЙ ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NAPI2B

Козлова А.С., Акберова Н.И., Киямова Р.Г., Богданов М.В. *284*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕПИТОМОВ 4 АЛЛОПОЛИПЛОИДНЫХ ВИДОВ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

Колганова Е.И., Киров И.В., Дивашук М.Г. *284*

СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ ГАМКЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ КАИНАТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Косенков А.М., Гайдин С.Г., Теплов И.Ю., Зинченко В.П. *285*

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МСК К ПУРИНЕРГИЧЕСКИМ АГОНИСТАМ МОДУЛИРУЕТСЯ ПРОТЕИНКИНАЗОЙ G

Котова П.Д. *286*

АНАЛИЗ РОЛИ ИЗОФОРМ IP3 РЕЦЕПТОРОВ В ГЕНЕРАЦИИ CA2+ ОТВЕТОВ НА АГОНИСТЫ

Кочкина Е.Н., Кабанова Н.В., Коваленко Н.П. *287*

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНЪЮГАТА ХЛОРИНА Е6 С ТАРГЕТНЫМ АГЕНТОМ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ С КОМБИНИРОВАННЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Крылова Л.В., Пескова Н.Н., Воловецкий А.Б., Пронина С.Ю., Отвагин В.Ф., Кузьмина Н.С., Федоров А.Ю., Балалаева И.В. *288*

ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИХ ПРОНИКНОВЕНИЯ В ТОЛЩУ ОПУХОЛЕВОГО СФЕРОИДА IN VITRO

Кутова О.М., Соколова Е.А., Гурьев Е.Л., Балалаева И.В. *289*

ПРОДУКТЫ ФОТОХИМИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ ДНК ПРОИЗВОДНЫМИ ПОРФИРИНА

Лукьянова А.В., Калюжный Д.Н., Бениаминов А.Д. *290*

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СЛИЯНИЯ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ НАНОХИРУРГИИ

Мартиросян Д.Ю., Залесский А.Д., Осыченко А.А., Точило У.А., Надточенко В.А. *291*

ИЗУЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ COUMARIN-525 В СРЕДЕ ФОСФАТНОГО БУФЕРА

Мартынова А.В., Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П. *292*

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА (HELIANTHUS ANNUUS L.)

Омаров М.Р., Меркулов П.Ю., Киров И.В. *292*

ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ГЕНА PTEN В КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Павлов В.А., Серебрийский И.Г., Власенкова Р.А., Андрианов Г.В., Mitchell Parker *293*

ВТОРИЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И ИЗМЕНЕНИЕ ВЯЗКОСТИ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ В ОТВЕТ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Пескова Н.Н., Горохова А.А., Шилягина Н.Ю., Костюк А.Б., Лермонтова С.А., Клапшина Л.Г., Брилкина А.А., Балалаева И.В. *294*

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОСЕНСА И ФОТОДИТАЗИНА В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Альзеибак Р., Пескова Н.Н., Горохова А.А., Турубанова В.Д., Мищенко Т.А., Ведунова М.В., Балалаева И.В., Крысько Д.В. *295*

ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ СВЧ-ПЛАЗМЫ НА ВСХОЖЕСТЬ И ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕМЯН ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Помясова М.Г., Петрухина Д.И., Карпенко Е.И., Шишко В.И., Тхорик О.В. *296*

УЧАСТИЕ ИЗОХИНОЛИЗИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КУМАРИНА, С-314, В КВАЗИЛИПОКСИГЕНАЗНОЙ И ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИЯХ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ КОМПЛЕКСОМ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ

Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П. *297*

ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТА ОПУХОЛЕВЫХ СФЕРОИДОВ В 3D МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНОВОГО ГЕЛЯ

Сенча Л.М., Соколова Е.А., Добрынина О.Е., Брилкина А.А., Черкасова Е.И., Балалаева И.В. *297*

ВЛИЯНИЕ ПЕНТАМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА С60 НА МИШЕНИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Солдатова Ю.В., Жиленков А.В., Арешидзе Д.А., Трошин П.А., Файнгольд И.И., Полетаева Д.А., Котельникова Р.А. *298*

НАНОКАПСУЛА ЦЕОЛИТА

Степанова Т.А., Панаит А.И., ГулинА.А., Погорелова М.А. *299*

АНАЛИЗ КЛАСТЕРОВ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА МЕТАБОЛИТОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ

Тотиков А.А., Томаровский А.А. *300*

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ НАНОХИРУРГИИ ДЛЯ ЭНУКЛЕАЦИИ ООЦИТОВ

Точило У.А., Мартиросян Д.Ю., Осыченко А.А., Залесский А.Д., Надточенко В.А. *301*

ОБЗОР МИРОВОГО ОПЫТА ПО ОЦЕНКЕ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ОХЛАЖДЕННОЙ МЯСНОЙ И РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРОШЕДШЕЙ ОБРАБОТКУ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ, МЕТОДОМ ЭПР-СПЕКТРОМЕТРИИ

Тхорик О.В., Помясова М.Г., Карпенко Е.И. *302*

ГЕНЕРАЦИЯ ОТВЕТОВ ВКУСОВЫМИ КЛЕТКАМИ ТИПА II

Фадеев П.Ю., Рогачевская О.А. *303*

ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ДИСТАНЦИОННОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА СОСТОЯНИЕМ ПЛОДА ВО ВТОРОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Черкашина Л.А., Минаев И.С., Минаев Н.С., Казанцев А.П. *303*

ВЛИЯНИЕ ПОКРЫТИЯ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ АЛЬБУМИНОМ НА ФОРМИРОВАНИЕ БЕЛКОВОЙ КОРОНЫ

Шанвар С., Лианг Л., Гурьев Е.Л., Аксёнова Д., Звягин А.В. *304*

РАЗРУШЕНИЕ ЦИТОХРОМА С В ХОДЕ КАТАЛИЗИРУЕМОЙ ИМ РЕАКЦИИ ПЕРОКСИДАЦИИ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ

Шангин С.В., Ромодин Л.А., Байматов В.Н., Храмов А.П. *305*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕТЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ МИКОТОКСИНОВ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ

Шишко В.И., Помясова М.Г. *306*

СЕКЦИЯ "ЭКОЛОГИЯ"

АНАЛИЗ АЛЛОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ *HELICHRYSUM ARENARIUM* В УСЛОВИЯХ ПРЕДГОРНОЙ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ КРЫМА

Абдуллина Р.Х., Тимофеева О.А. *308*

ПОИСК НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С АНТИМИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ В ГЕМОЛИМФЕ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД ВИДА *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS*

Аксенов-Грибанов Д.В., Золотовская Е.Д., Дроздова П.Б., Назарова А.А., Переляева Е.В., Тимофеев М.А. *309*

БИОИНДИКАЦИЯ УРБАНОЗЕМОВ Г. УЖГОРОДА ПРИ ИНТЕНСИВНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА

Боднарюк Р.Н., Вакерич М.М., Гасинец Я.С. *310*

ОЦЕНКА ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА АЗОВСКОЙ ТЮЛЬКИ *CLUPEONELLA CULTRIVENTRIS* (NORDMANN, 1840) ИЗ АЗОВСКОГО МОРЯ И ТАГАНРОГСКОГО ЗАЛИВА В 2017 Г.

Бортников Е.С., Мосесян Г.В., Хорошельцева В.Н. 311

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЭПИКУТИКУЛЯРНОГО СЛОЯ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*) НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ МЕЖЛИНОЧНОГО ПЕРИОДА

Ганина М.Д. 312

ЧАСТОТА КАРИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ У РАБОТНИКОВ ЦЕМЕНТНОГО ЗАВОДА

Доднаева Л.Р., Джамбетова П.М. 313

ПРИВЛЕЧЕНИЕ ГИДРОБИОНТОВ ИСКУССТВЕННЫМ ОСВЕЩЕНИЕМ НА ТЕРРИТОРИЯХ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ВЫСОКОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ

Ермолаева Я.К., Карнаухов Д.Ю., Бирицкая С.А., Теплых М.А., Долинская Е.М., Силенко Н.Н., Зилов Е.А. 313

ПТИЦЫ ГОРИСТЫХ РАЙОНОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Зацаринный И.В., Шаврина У.Ю. 314

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕПТОМИЦИНА НА БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД ВИДА *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS*

Золотовская Е.Д., Аксенов-Грибанов Д.В., Васильева У.А., Краснова М.Е., Тимофеев М.А. 315

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ ГИДРОБИОНТОВ В ПЕТРОЗАВОДСКОЙ ГУБЕ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА С ПОМОЩЬЮ КАМЕРНОЙ МОДЕЛИ

Исакова К.В. 316

ТРАНСФОРМАЦИЮ ЛИГНИНА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СООТНОШЕНИЯ УГЛЕРОДА К АЗОТУ (C/N) ОТ 300 ДО 6

Квиткина А.К. 317

ВЛИЯНИЕ СОЛЕНОСНОГО СТРЕССА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ГЕМОЦИТОВ *ANADARA KAGOSHIMENSIS* (TOKUNAGA, 1906)

Кладченко Е.С., Головина И.В., Андреева А. Ю. 317

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ ЭКОСИСТЕМЫ АЗОВСКОГО МОРЯ В 2019 Г.

Котов С.В., Зубцова И.А. 318

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ХВОИ У ЯПОНСКОЙ КРАСНОЙ СОСНЫ В РАЙОНЕ АВАРИИ НА АЭС ФУКУСИМА

Лыченкова М.А., Макаренко Е.С., Гераськин С.А. 319

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Мельникова А.А,, Комарова Л.Н. 320

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЖУЖЕЛИЦ (COLEOPTERA, CARABIDAE) ГОРОДА РЯЗАНИ

Минаева О.В., Трушицына О.С. 321

ЗАРАЖЕННОСТЬ ХАМСЫ РАЗНЫХ РАЗМЕРНЫХ ГРУПП, ЗИМУЮЩЕЙ У БЕРЕГОВ РЕСПУБЛИКИ АБХАЗИЯ, НЕМАТОДОЙ *HYSTEROTHYLACIUM ADUNCUM* RUDOLPHI, 1802

Мосесян Г.В., Бортников Е.С., Хорошельцева В.Н. 322

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ АККЛИМАЦИИ ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ГОЛАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД

Мутин А.Д., Верещагина К.П., Гурков А.Н., Тимофеев М.А. 323

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕРОДА В ТОРФЕ

Нагайцев А.И., Зайцев М.Г. 324

ОЦЕНКА ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НОВЫХ КОНЪЮГАТОВ КСИМЕДОНА И БИОГЕННЫХ КИСЛОТ НА ВОДОРОСЛЯХ CHLORELLA VULGARIS

Назаров Н.Г. 324

МОДЕЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ (SDM) ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПИСАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ НИШИ: ПРИМЕР БОЯРЫШНИКОВ (*CRATAEGUS SP.*) П-ОВА КРЫМ

Орлов М.А., Шелудков А.В. 325

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДИАПАЗОНА СРЕДСТВ МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ НА БЕРЕМЕННОСТЬ И ПОТОМСТВО

Панфилова В.В., Колганова О.И., Чибисова О.Ф. 326

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ГОЛАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПЕРОКСИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ

Ржечицкий Я.А., Гурков А.Н., Ларина О.А., Емшанова В.А., Шатилина Ж.М., Тимофеев М.А. 327

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОРМИРОВАНИЯ ОКРАСА ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД ОЗЕРА *БАЙКАЛ EULIMNOGAMMARUS CYANEUS* И *E. VITTATUS*

Саранчина А Е., Дроздова П.Б., Моргунова М.М., Бадуев Б.К., Тимофеев М.А. 328

СИНЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА С РАЗЛИЧНЫМИ ФИЗИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Толкаева М.С., Евстратова Е.С. 328

ФАУНА КЛЕЩЕЙ НАДСЕМЕЙСТВА IXODOIDEA (ACARI: PARASITIFORMES)—ПАРАЗИТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ

Умркулова С.Х., Саидова Д.Э., Режаббаева Н.Л. 329

ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛОДЫХ ЛУГОВЫХ ЧЕКАНОВ *SAXICOLA RUBETRA* В ПОСЛЕГНЕЗДОВОЙ ПЕРИОД

Утвенко Г.А. 330

АССОЦИАТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ РАБОТНИКОВ АЗС

Хасаева А.И., Джамбетова П.М. 331

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУННОЙ РЕАКЦИИ АМФИПОД *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS* НА МИКРОФЛОРУ, ВЫДЕЛЕННУЮ ИЗ ИХ ГЕМОЛИМФЫ

Щапова Е.П., Васильева У.А., Назарова А.А., Остяк А.С., Гурков А.Н., Тимофеев М.А. 332

ОЦЕНКА ТРОФИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕКИ ТЕМЕРНИК ПО РАСТИТЕЛЬНЫМ ПИГМЕНТАМ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

Экилик В.С., Павленко Л.Ф., Денисова Т.В. *333*

ВЛИЯНИЕ ДРОЖЖЕВОГО СИМБИОТИЧЕСКОГО СООБЩЕСТВА НА ПАРАМЕТРЫ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА ДРОЗОФИЛ

Яковлева Е.Ю. *334*

СЕКЦИЯ "МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ"

СКРИНИНГ КОДИРУЮЩЕГО РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ТЕТРАЦИКЛИНУ ГЕНА TETM У БАКТЕРИЙ ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОТОПОВ РОДА BACILLUS

Адельгареева А.М., Чижкова А.П., Галяутдинова Ю.А., Петрова Д.Д., Гатауллина А.И., Стариков С.Н. *335*

БИОДЕГРАДАЦИЯ РЯДА СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА КУЛЬТУРОЙ ASPERGILLUS NIGER AM1

Акосах Й.А., Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К. *336*

ГАЛОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ РОДА SALINISPHAERA, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ СОЛЯНОЙ ШАХТЫ (ВЕРХНЕКАМСКОЕ МЕСТОРОЖДЕНИЕ)

Алеев В.С., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. *337*

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НОВЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ-СИМБИОНТОВ ЛЮЦЕРНЫ

Альсаед Н.Н. *338*

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА БИОПРЕПАРАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ И КИСЛОТНОСТИ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

Астахов М.М., Козицын А.Е., Асатурова А.М. *338*

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ЭСПАРЦЕТА ПЕСЧАНОГО, КОЗЛЯТНИКА ВОСТОЧНОГО И ЛЕВЗЕИ САФЛОРОВИДНОЙ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ У БАКТЕРИЙ ESCHERICHIA COLI

Безматерных К.В., Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н., Матолинец Н.Н., Волошин В.А. *339*

ЦИРКУЛЯЦИЯ ГРИППА И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ КАЗАХСТАНА В 2018-2019 ГГ.

Баймухаметова А.М., Онгарбаева Н.С., Сактаганов Н.Т., Шаменова М.Г., Глебова Т.И., Лукманова Г.В., Кливлеева Н.Г. *340*

МИКРОФЛОРА НЕФТЯНЫХ ШЛАМОВ КАК ИСТОЧНИК ПЕРСПЕКТИВНЫХ БАКТЕРИЙ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ

Белкина Д.Д., Худокормов А.А., Карасёва Э.В. *341*

ЧЕЛОВЕК И СОПУТСТВУЮЩЕЕ ЕМУ МИКРОБНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ В ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ

Берестина А.В., Бахвалов А.В. *342*

ПРОДУКТИВНОСТЬ БИОМАССЫ И ОБРАЗОВАНИЕ ЛИПИДОВ У СТРЕПТОМИЦЕТОВ НА СРЕДАХ СЛОЖНОГО СОСТАВА

Васильчук А.В., Бырса М.Н., Березюк Ю.Н., Гарбузняк А.А., Караман М.А. *343*

АНАЛИЗ ЗАРАЖЕННОСТИ КЛЕЩЕЙ DERMACENTER RETICULATUS (PARASITIFORMES, IXODIDAE) ПИРОПЛАЗМАМИ (БАБЕЗИЯМИ) НА ТЕРРИТОРИИ КУЗНЕЦКОЙ КОТЛОВИНЫ

Вдовина Е.Д., Щетникова Е.А., Носков М.А. *344*

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР ВОДЫ И СЕДИМЕНТОВ ФИНСКОГО ЗАЛИВА НА АЛИФАТИЧЕСКИХ И АРОМАТИЧЕСКИХ СУБСТРАТАХ

Винникова К.С., Сазонова О.И., Гафаров А.Б., Делеган Я.А., Соколов С.Л. *345*

НОВЫЕ ШТАММЫ LACTOBACILLUS С ПРОБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ

Гаврилова Е.А., Каюмов А.Р., Анисимова Е.А., Никитина Е.В., Ефлова Д.С. *346*

АМИЛОИДОГЕННЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДОВ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОСНОВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ БЕЛКА BS1 ИЗ THERMUS THERMOPHILUS

Курпе С.Р., Гришин С.Ю., Джус У.Ф., Селиванова О.М., Глякина А.В., Сурин А.К., Галзитская О.В. *347*

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА РОСТ МОНОВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК КОММЕНСАЛЬНОГО MICROCOCCUS LUTEUS C01 И ПАТОГЕННОГО CUTIBACTERIUM ACNES RT5

Данилова Н.Д., Соловьева Т.В., Ганнесен А.В. *348*

ВИРУС КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА: ВОЗНИКАЮЩИЙ ДРЕВНИЙ ЗООНОЗ?

Девяткин А.А., Холодилов И.С., Вакуленко Ю.А., Карганова Г.Г., Лукашев А.Н. *349*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММА «ВНИИЗЖ» С ПРОИЗВОДСТВЕННЫМИ ШТАММАМИ ВИРУСА БЕШЕНСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ RABV

Доронин М.И, Михалишин Д.В., Стариков В.А., Шишков А.В. *349*

АНАЛИЗ ШТАММОВ PSEUDOMONAS SPP., ИЗОЛИРОВАННЫХ С ПОКРЫТИЯ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК Г. ПУЩИНО, НА ПРИСУТСТВИЕ ДЕТЕРМИНАНТ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Дымова Е.А., Сазонова О.И., Измалкова Т.Ю. *350*

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS 5AP

Иванова Е.В., Позднякова-Филатова И.Ю. *351*

СКРИНИНГ ГЕНОВ АРОМАТИЧЕСКИХ ДЕОКСИГЕНАЗ У ШТАММОВ ИЗ АССОЦИАЦИИ ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОБИФЕНИЛОВ

Кирьянова Т.Д., Пьянкова А.А., Егорова Д.О. *352*

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ УСЛОВИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Колупаева Н.В., Фурсов М.В., Потапов В.Д. *353*

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ С ДЕЛЕЦИЕЙ ГЕНА A224L

Кольцова Г.С., Кольцов А.Ю., Колбасов Д.В. *354*

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КИСЛОРОДА И ОЗОНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Краснова М.Е., Васильева У.А., Лубяга Ю.А., Аксенов-Грибанов Д.В. *355*

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГОВ S. AUREUS, ОТНОСЯЩИХСЯ К СЕМЕЙСТВАМ MYOVIRIDAE И PODOVIRIDAE

Купцов И.О., Корниенко М.А., Городничев Р.Б., Веселовский В.А., Шитиков Е.А. *356*

БАКТЕРИИ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM ПРОДУЦЕНТЫ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ

Лобанов А.Н., Алёшин М.А., Полюдова Т.В. *356*

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ B. AVIUM И B. TREMATUM НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Ломакин А.А., Мастиленко А.В., Васильев Д.А. *357*

ПОИСК МИКРООРГАНИЗМОВ – ПЕРСПЕКТИВНЫХ АНТАГОНИСТОВ ФИТОПАТОГЕНОВ

Ляховченко Н.С., Абашина Т.Н., Селиверстов Е.С., Сенченков В.Ю., Сиротин А.А., Сузина Н.Е., Соляникова И.П. *358*

ПРОТИВОФАГОВОЕ ДЕЙСТВИЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ НА БАКТЕРИОФАГ MSRT01F

Мадумаров С.А., Аетдинова С.Э., Шах Махмуд Р.З. *359*

МЕТОДЫ ХРАНЕНИЯ И КОНСЕРВАЦИИ СПОР ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ (ВОЗБУДИТЕЛЬ PUCCINIA STRIIFORMIS WEST.)

Матвеева И.П., Волкова Г.В. *360*

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ И КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭНДОЛИТНЫХ И ГИПОЛИТНЫХ СООБЩЕСТВ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ

Миронова А.С., Сауткина Н.В., Мямин В.Е. *360*

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА КУЛЬТИВИРУЕМОЙ МИКРОБИОТЫ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ГОРОДА КРАСНОДАРА ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ЛИПИДАМИ **361**

Моисеева Е.В., Бобрикова Л.С., Карасева Э.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н. *361*

ПРОТЕОМНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ESCHERICHIA COLI В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕЁ МУКОЗАЛЬНОЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ХОЗЯИНА

Мусарова В.А., Матюшкина Д.С., Бутенко И.О., Говорун В.М. *362*

СКРИНИНГ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ СВОЙСТВ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ БИОСУРФАКТАНТОВ

Оловянникова А.П., Попова М.Н., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А. *363*

АНАЛИЗ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ ПРИ РОСТЕ НА ОТХОДАХ ЛЕСОПИЛЕНИЯ

Переляева Е.В., Моргунова М.М., Васильева У.А., Аксенов-Грибанов Д.В. *364*

ИЗУЧЕНИЕ СТАРЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (PISUM SATIVUM L.), ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ

Петрова Д.А., Китаева А.Б., Серова Т.А., Цыганов В.Е. *364*

РОСТОВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ ТРИПТОФАНА

Попова М.Н., Оловянникова А.П., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Самков А.А. *365*

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ, ОТОБРАННОЙ В ЗАЛАХ ЖИВОПИСИ ДРЕВНЕЙ РУСИ, ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ

Потапов М.П., Авданина Д.А., Климкина К.М., Веселовский В.А., Федоров Д.Е., Жгун А.А. *366*

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ РОДА HALOMONAS РАЙОНА ПРОМЫШЛЕННЫХ РАЗРАБОТОК ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ СОЛЕЙ

Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. *367*

ПОДБОР РЕФЕРЕНСНЫХ ГЕНОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ PSEUDOMONAS PUTIDA BS3701, КУЛЬТИВИРУЕМОГО В УСЛОВИЯХ ПРОФИЦИТА/ДЕФИЦИТА АЗОТА

Розыева Н.Р., Ветрова А.А., Петриков К.В., Позднякова-Филатова И.Ю. *368*

ОРГАНИЗАЦИЯ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ КЛУБЕНЬКАХ СОИ КУЛЬТУРНОЙ (GLYCINE MAX L.) И ЛЯДВЕНЦА ЯПОНСКОГО (LOTUS JAPONICUS L.)

Садовская А.Р., Китаева А.Б., Цыганов Е.В. *369*

СКРИНИНГ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ В ОТНОШЕНИИ MELOIDOGYNE INCOGNITA

Саенко К.Ю., Хомяк А.И., Асатурова А.М. *370*

КОНСЕРВАЦИЯ КУЛЬТУР УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА РАСПЫЛИТЕЛЬНОГО ВЫСУШИВАНИЯ

Щербакова П.А., Салова В.Д., Гавирова Л.А., Сережкин И.Н. *371*

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЧИСТОТЫ ЗАТОПЛЕННОЙ ЛАМИНАРНОЙ СТРУИ, ФОРМИРУЕМОЙ НОВОЙ КОМПАКТНОЙ УСТАНОВКОЙ

Салова В.Д., Гавирова Л.А. *371*

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА ИЗ ПОЧВЕННЫХ ПРОБ

Сапегина Д.Е., Бояршин К.С., Батлуцкая И.В. *372*

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ БАКТЕРИЙ РОДОВ ARTHROBACTER И GORDONIA

Селимов Р.Ю., Карасева Э.В. *373*

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ БИФЕНИЛА/ХЛОРБИФЕНИЛОВ ИЗ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Семерикова Д.С., Егорова Д.О. *374*

ВЫЯВЛЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ВИРУСОВ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ В ВИРОМАХ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Старикова Е.В., Ульянов Д.С., Ульянова А.А. *374*

ВЛИЯНИЕ СТАБИЛИЗАТОРА НА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА

Тимотина М.И., Арутюнян А.А., Габриелян Л.С., Трчунян А.А. *375*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИИ ESCHERICHIA COLI В СКРИНИНГЕ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Триандафилова Г.А., Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В., Ботева А.А. *376*

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЕЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ТИОЛОВ И СУЛЬФИДА ВОДОРОДА У ESHERICHIA COLI ПРИ ГОЛОДАНИИ ПО ФОСФАТУ

Тюленев А.В., Безматерных К.В., Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. *377*

ПЛЕНОЧНЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В. *378*

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ В ГЛИНИСТЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РАССОЛОСБОРНИКА СОЛЯНОЙ ШАХТЫ (Г. СОЛИКАМСК)

Усанина Д.И., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. *379*

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ PSEUDOMONAS SYRINGAE И ЕЁ ПРИМЕНЕНИЕ

Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Беккалиева А.К. *380*

СОСТАВ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Фокина Н.А., Урядова Г.Т., Карпунина Л.В. *380*

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА GORDONIA SP. 135 – ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЕСТРУКТОРА УГЛЕВОДОРОДОВ И ДИБЕНЗОТИОФЕНА

Французова Е.Э. , Делеган Я.А. *381*

ИЗМЕНЕНИЕ ФИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ И ИМИДАЗОЛИНОНОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ БИОТРАНСФОРМАЦИИ БАКТЕРИЯМИ РОДА RHODOCOCCUS

Чугунова Ю.А., Круглова М.Н., Самков А.А., Волченко Н.Н., Худокормов А.А. *382*

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ В ПОЧВЕ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПОЛЛЮТАНТАМИ

Шумиловских В.В., Егорова Д.О., Пьянкова А.А. *382*

ШТАММЫ-ДЕСТРУКТОРЫ ТЕРЕФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Юдин Д.С. , Ястребова О.В. , Плотникова Е.Г. *383*

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ-ГИПОЛИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ

Яроцкая М.А. *384*



РОЛЬ ПОЛИАМИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ

Жгун А.А.
ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биоинженерии, Москва, Россия

zzhgun@mail.ru

Вторичные метаболиты (ВМ) – гетерогенная группа низкомолекулярных соединений, продуцирующаяся в результате функционирования вторичных путей метаболизма. Некоторые ВМ из грибов имеют важное фармакологическое значение, например, антибиотики, статины, иммунодепрессанты. Для их промышленного производства используют улучшенные грибные штаммы, полученные на основе природных изолятов в результате многораундового случайного мутагенеза и селекции. Выход целевых ВМ у таких продуцентов повышен в 100 раз и более. Однако данная технология имеет свой технологический предел. Оказалось, что для того или иного продуцента существует этап, когда очередное мутагенное воздействие больше не приводит к повышению продукции целевого метаболита. Наряду с этим, в недавних работах показали, что экзогенное введение полиаминов (ПА), таких как, спермидин или 1,3-диаминопропан, способно дополнительно повышать продукцию у грибных штаммов, достигших своего технологического предела классическими методами улучшения. Есть основания предполагать, что воздействия полиаминов на продукцию ВМ у мицелиальных грибов носит некий универсальных характер. 10-20% прирост продемонстрировали для продуцентов бета-лактамных антибиотиков (пенициллина Gy *Penicillium chrysogenum* и цефалоспорина С у *Acremonium chrysogenum*); 20-45% прирост показали для продуцента статина (ловастатина у *Aspergillusterreus*). Молекулярным основанием увеличения продукции ВМ при добавлении ПА к грибным штаммам может служить изменение в контроле биосинтетических кластеров генов ВМ. Добавление экзогенных ПА в процессе ферментации грибных штаммов приводит к апрегуляции как биосинтетических генов, так и *laeA*, глобального регулятора ВМ грибов. LaeA – S-аденозинметионин-зависимая метилаза гистонов, действует эпигенитически, ремоделируя хроматин, в том числе, в локусах кластеров генов ВМ. Также показали изменение эндогенного метаболизма полиаминов на примере высокоактивного продуцента цеф С *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D. Общее содержание ПА увеличено в 2-5 раз по сравнению с исходным штаммом дикого типа *A. chrysogenum* ATCC 11550. Такое изменение могло быть побочным эффектом при создании улучшенного штамма в результате мутагенеза, поскольку ПА защищают организм как от свободных радикалов путем непосредственного взаимодействия с активными формами кислорода, так и от двунитевых разрывов в результате совместной работой с RAD51. В связи с этим изучение молекулярных основ взаимосвязи между метаболизмами ПА и ВМ важное звено для понимания повышения продукции ВМ у мицелиальных грибов.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-01173.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДВУХ КАЗАХСТАНСКИХ ИЗОЛЯТОВ S ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ

Александрова А.М., Рамазанова М.Б., Ерискина Е.А., Карпова О.В., Искаков Б.К.
РГП на ПХВ "Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина", Алматы, Казахстан

alena_pisarenko@inbox.ru

S вирус картофеля (*Potatovirus S*, PVS) является вторым по распространению вирусом в Казахстане, относится к роду *Carlavirus* семейства *Betaflexiviridae*. Несмотря на то, что PVS является латентным вирусом, симптомы заражения которым фенотипически отсутствуют, потеря урожая в результате заражения может быть значительной (до 25% в случае одиночной инфекции и до 70% в составе комплексной инфекции с другими вирусами).

Из клубней двух сортов картофеля Фортуна и Ушконыр, инфицированных вирусом PVS, были выделены тотальные РНК, которые использовали для получения кДНК (с участием oligo$(dT)_{18}$) и последующего секвенирования. Полные нуклеотидные последовательности двух казахстанских изолятов вируса KZ.Fortune (GenBank acc. no. MK442089) и KZ.Ushkonyr (GenBank acc. no. MN095414) были секвенированы по Сэнгеру с использованием перекрывающихся ДНК фрагментов размером 1,0-3,0 тпн и аннотированы в международную базу данных NCBI GenBank. Оба изолята анализировали с использованием программы BLAST для поиска гомологичных вариантов PVS из базы данных GenBank.

Вариант Fortune имел наибольшую гомологию с изолятами Qld-1 (MF375506, Австралия) – 96%, H95 (LC375227, Япония) – 95,5% и S-1 (MF418033, Шотландия) – 95,3%, которые относятся к штамму ordinary (PVS^O). Штамм PVS^O характеризуется отсутствием симптомов заражения у картофеля и локальным распространением у индикаторных растений лебеды (Chenopodium ammaranticolor).

Изолят Ushkonyr был гомологичен на 98,7% варианту PVS BY (MF033144, Китай), на 98,6% варианту HB7 (KU896946, Китай) и на 98,5% варианту NZ-A ab030 Lincoln (KU058657, Новая Зеландия). Все эти варианты относятся к штамму Andean (PVS^A), который характеризуется явным подавляющим действием на рост и развитие растения-хозяина и распространяется системно при заражении индикаторных растений лебеды.

С использованием программы для поиска рекомбинационных событий RDP4 (версия 4.83.0) казахстанские изоляты сравнили с 35-ю различными вариантами PVS со степенью гомологии 80-99%, а также с вирусом картофеля M (*Potatovirus* M, NC_001361), который также относится к роду *Carlavirus*. Уровень гомологии между двумя близкородственными видами составил 67,9 и 68,9 % для изолятов Fortune и Ushkonyr, соответственно, а нуклеотидная гомология между последовательностями Fortune и Ushkonyr – только 79,9%. В результате филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей Fortune и Ushkonyr, рекомбинационных событий в геномах казахстанских изолятов вируса PVS не было обнаружено.

Таким образом доказано, что оба казахстанских варианта PVS являются уникальными и имеют различное происхождение.

МУТАЦИИ ГЕНА BRAF ПРИ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Артыкбаева Г.М.
Институт биофизики и биохимии при НУУз им.М.Улугбека, Ташкент,Узбекистан

gulnoraar@rambler.ru

Рак щитовидной железы является наиболее часто встречающимся новообразованием среди опухолей эндокринной системы. Молекулярные изменения, найденные при папиллярной карциноме рака щитовидной железы, включают ген, кодирующий эффектор сигнального пути MAPK – серин-треонин киназу BRAF. Мутации этого гена встречаются в 70% случаев папиллярной карциномы, предполагается, что активация этого сигнального пути является существенной для инициации опухоли.

Цель работы: изучение мутаций BRAF при папиллярной карциноме щитовидной железы и установление корреляции с различными клиническими показателями.

Материалы и методы. Мутации в экзоне 15 гена BRAF были изучены в образцах парафиновых срезов тканей щитовидной железы. 2 клеточные линии, экспрессирующие мутантный и дикий типы гена, были использованы как положительный и отрицательный контроль для секвенирования. ДНК, выделенную из клеточной культуры и тканей щитовидной железы, использовали как матрицу в ПЦР, специфичной для экзона 15. ПЦР-продукты были затем подвергнуты автоматическому секвенированию (BMR-CRIBI Sequencing Service).

Результаты и обсуждение. В наших экспериментах специфичный ПЦР-продукт размером 215 п.н. был получен во всех образцах. Мутации гена BRAF T1799A (V600E) были найдены в 38% случаев. Мы обнаружили достоверную корреляцию между мутациями гена и клинико-патологическими характеристиками. Пациенты с папиллярной микрокарциномой (<1 см) демонстрировали 24% мутаций (5 из 21 случая), но эти данные не достигли статистической достоверности, в то время как у пациентов с макрокарциномой (>1см) было обнаружено 45% мутаций (13 из 29 случаев, <0.001). Среди 20 пациентов с экстратиреоидной инвазией у 17 были обнаружены мутации гена BRAF, что составляло 83% (<0.0001). Среди 16 пациентов с метастазами в лимфоузлах мутации были найдены в 11 случаях (73%, <0.0001). Больные были распределены по стадии рака. Среди пациентов с III-IV стадией рака мутации обнаружены у 73% (<0.001).

Рак щитовидной железы, скрывающий мутации BRAF, характеризуется как прогрессирующий рак с метастазами. Наши исследования показали, что соматические мутации BRAF – частое явление при папиллярной карциноме – и коррелируют с прогрессирующими стадиями рака щитовидной железы.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИЙ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ С ЭКСПРЕССИЕЙ РЕПОРТЕРНОГО ГЕНА ЛЮЦИФЕРАЗЫ ДЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

Ахмет М.П., Тазетдинова Л.Г., Соловьева В.В., Ризванов А.А.
ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

mainan.kz@gmail.com

В настоящее время проводятся множество исследований по разработке технологий использования мезенхимных стволовых клеток (МСК) для клеточной терапии различных заболеваний, в том числе и онкологических. МСК являются основным компонентом опухолевого микроокружения и играют ключевую роль в развитии опухолевой

прогрессии. МСК можно считать перспективным «инструментом» для целевой доставки противоопухолевых агентов, в частности химиопрепаратов. Биолюминесцентный репортерный белок ffLuc, полученный из светлячка *Photinus pytalis*, является наиболее изученным и часто используется для витального имиджинга в экспериментах in vivo. В этом исследовании были получены МСК из жировой ткани мыши (мМСК-ЖТ), которые экпрессируют репортерный белок люциферазы светлячка (мМСК-ЖТ-ffLuc).

мМСК-ЖТ выделяли путем ферментативного расщепления жировой ткани мыши с использованием коллагеназы. Полученные МСК секретировали поверхностные маркеры характерные мезенхимной стволовой клетки: CD44, CD90, CD29, CD105, CD73 и Sca-1. Рекомбинантный лентивирус LV-ffLuc был получен путем ко-трасфекции пакующей клеточной линии HEK 293 T. мМСК-ЖТ трансдуцировали рекомбинантным лентивирусным вектором, кодирующим ген ffLuc (LV-ffLuc). Трансдуцированную клеточную линию мМСК-ЖТ-ffLuc отбирали с помощью селективного антибиотика пуромицина (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 1 мкг/мл в течение 10 дней. Относительную интенсивность и стабильность сигнала люциферазы светлячка в мМСК-ЖТ-ffLuc были проанализированы с помощью ONE-GLO™.

Полученная линия клеток мМСК-ЖТ-ffLuc со стабильным люминесцентным сигналом будет дополнительно изучена различными химиотерапевтическими препаратами и ее противоопухолевые свойства будут проанализированы *in vitro* и *in vivo*.

ИНДУЦИРОВАНИЕ ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТИ IgA БУФЕРНЫМИ РАСТВОРАМИ С КИСЛЫМИ ЗНАЧЕНИЯМИ РН

Балыкова М.В.[1], Горшкова Е.Н.[1], Василенко Е.А.[1], Старкина О.В.[1], Астраханцева И.В.[1,2], Димитрова П.[3], Василев Ч.Л.[1]

[1]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; [2]Университет Сириус, Сочи, Россия; [3]Институт микробиологии им. Стефана Ангелова, София, Болгария

mary.balikova12@gmail.com

Ранее нами было показано, что под воздействием свободного гема, буферов с кислым и щелочным значением pH и ионов Fe(III) можно усиливать способность иммуноглобулина А (IgA) связывать разные антигены на примере препарата IgA, очищенного с использованием буферов с нейтральными значениями pH. При этом известно, что в процессе выделения IgA методом иммуноаффинной хроматографии на стадии элюции они подвергаются воздействию кислой среды, что может изменять их свойства. В связи с этим, целью данной работы было выявление возможности индуцирования полиспецифичности IgA, полученного методом иммуноаффинной хроматографии, с помощью буфера с кислыми значениями pH.

В работе использовали IgA, выделенный из сыворотки (ООО «Имтек», Россия), который подвергался кратковременному воздействию глицинового буфера с pH 2.5. В качестве антигенов использовали лизаты бактерий (*Escherichia coli* (штамм BL21), *Lactobacillus sp.* и *Mycobacterium tuberculosis*) и опухолевых клеток человека Colo205. IgA обрабатывали растворами с кислыми значением pH (глициновые буферы - pH 2.6, pH 4.0) в течение 10 минут. Способность IgA связываться с антигенами оценивали методом Вестерн-блот. Для этого проводили электрофорез антигенных белков в ПААГ, а затем осуществляли их перенос на нитроцеллюлозную мембрану. Далее проводили инкубацию мембраны с IgA, который затем детектировали с помощью HRP-антител (Invitrogen, США). Также способность IgA связываться с антигенами *M. tuberculosis, E. coli,* HDV,

HIV-1 и HIV-2 оценивали методом иммуноферментного анализа. Детекцию осуществляли на спектрофотометре при длине волны 450/620 нм с помощью HRP-антител и ТМБ.

Было показано, что обработка антител буфером с сильнокислой реакцией среды (pH 2.6) приводит к существенному усилению их полиспецифичности в отношении антигена HDV по данным ИФА (увеличение оптической плотности) и в отношении антигенов *E. coli, M. tuberculosis* и Colo205 по результатам Вестерн-блота (увеличение числа полос, изменение их спектра). Для антигенов *Lactobacillus sp.*, а также HIV-1 и HIV-2 никаких изменений отмечено не было. После обработки буфером с pH 4.0 было замечено лишь незначительное усиление полиспецифичности к онкогенным антигенам.

Таким образом, нами было показано, что буферный раствор со значением pH 2.6 способен индуцировать усиление и возникновение дополнительных специфичностей в отношении определенных антигенов у IgA, предварительно подвергавшегося воздействию кислого pH в процессе очистки методом иммуноаффинной хроматографии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-54-18018 Болг_а.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ БЕЗ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Бреннер П.К.[1,2], Капралова М.А.[1,3], Заварыкина Т.М.[1], Тюляндина А.С.[4], Хохлова С.В.[5], Хабас Г.Н.[5], Асатурова А.В.[5], Носова Ю.А.[5], Аткарская М.В.[1], Ходырев Д.С.[6], Бурденный А.М.[1,7], Логинов В.И.[7], Стенина М.Б.[4]

[1]ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва; [2]ФГБОУ ВО Московский педагогический государственный университет, Москва; [3]ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва; [4]ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва; [5]ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, Москва; [6]ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва; [7]ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

brenner123@mail.ru

Рак яичника (РЯ) – одно из наиболее распространенных заболеваний в онкогинекологии. Основным методом лечения РЯ является хирургическое вмешательство в сочетании с химиотерапией (ХТ) на основе производных платины. Однако у части пациентов имеется исходная резистентность опухоли к платиносодержащей ХТ, а у ряда пациентов резистентность развивается в процессе лечения. В связи с этим, поиск маркеров чувствительности к производным платины является важной задачей. Целью данной работы было изучение связи полиморфных маркеров генов контроля клеточного цикла (Arg72Pro гена TP53, T(-410)G гена MDM2 и Ser31Arg гена CDKN1A) при РЯ с длительностью времени без прогрессирования (ВБП) после платиносодержащей ХТ.

Были изучены образцы опухолевой ткани 49 больных РЯ, полученные до начала ХТ. Больные получили стандартную платиносодержащую ХТ и наблюдались до прогрессирования заболевания. Анализ генотипов исследованных полиморфных маркеров генов проводился с помощью метода ПЦР-ПДРФ. Для верификации исследования была использована ПЦР в реальном времени на термоциклере “ABI StepOnePlus” (Applied Biosystems) с использованием флуоресцентных зондов для маркеров Arg72Pro гена TP53 и Ser31Arg гена CDKN1A. Результаты определения маркеров были сопоставлены с клиническими данными (ВБП) для выявления связи данных маркеров с длительностью

ремиссии РЯ после платиносодержащей химиотерапии с помощью метода Каплана-Мейера с использованием log-rank теста. Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Обнаружена тенденция к уменьшению медианы ВБП при носительстве аллеля G маркера T(-410)G MDM2. Выявлено увеличение медианы ВБП для носителей аллеля Pro гена TP53 ($p = 0.045$), что было более выражено у носителей минорной гомозиготы Pro/Pro относительно генотипа Arg/Arg ($p = 0.007$). В подгруппе больных, которым была проведена оптимальная или полная циторедуктивная операция, носительство минорного аллеля Arg маркера Ser31Arg CDKN1A ассоциировалось с уменьшением медианы ВБП ($p = 0.004$).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-08-01258.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРОТКИХ БЕЛКОВ-АРГОНАВТОВ ПРОКАРИОТ

Бутенко С.С.[1,2], Простова М.А.[1], Есюнина Д.М.[1], Кульбачинский А.В.[1]
[1]ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, Россия;
[2]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия

butenkonew@gmail.com

Белки-аргонавты эукариот играют ключевую роль в процессе РНК-интерференции. В комплексе с некодирующими РНК они регулируют экспрессию генов, а также способны подавлять активность мобильных генетических элементов. В отличие от белков-аргонавтов эукариот, о прокариотических белках-аргонавтах известно очень мало.

Белки-аргонавты прокариот значительно более разнообразны, чем белки-аргонавты эукариот по строению и функциям. Так называемые короткие белки-аргонавты не содержат N- и PAZ- доменов. PAZ–домен ответственен за взаимодействие с 3’ концом направляющей нуклеиновой кислоты, а N-домен облегчает разматывание РНК-дуплекса во время загрузки гида в эукариотичесие аргонавты. Также, короткие аргонавты каталитически неактивны, так как не содержат ключевых каталитических остатков в PIWI-домене. Исследования геномов прокариот показали, что такие белки-аргонавты могут быть ассоциированы с белками с предсказанной нуклеазной активностью, которая может компенсировать отсутствие нуклеазной активности самого аргонавта. До сих пор нет ни одного исследования коротких белков-аргонавтов вместе с ассоциированной нуклеазой.

В нашей работе впервые были начаты исследования бактериального белка-аргонавта и ассоциированной с ним нуклеазы из мезофильной азотфиксирующей бактерии. Мы установили природу нуклеиновых кислот (НК), связанных с аргонавтом в случае его экспрессии в *E. coli* совместно с нуклеазой или без нее. Методом глубокого секвенирования были определены их нуклеотидные последовательности, что в дальнейшем поможет понять, каким образом осуществляется загрузка аргонавта направляющими НК и какую роль этот аргонавт может играть в клетке. Для того чтобы выяснить, какой активностью обладает аргонавт, мы исследовали, какую нуклеиновую кислоту в качестве гида или мишени он способен связывать в экспериментах EMSA, и как на это влияет ассоциированная с ним нуклеаза.

Наши исследования позволят ответить на фундаментальный вопрос: какова же на самом деле функция короткого белка-аргонавта и ассоциированной с ним нуклеазы в клетке хозяина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-07086-мк.

ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОК ESCHERICHIA COLI MG1655 С ДЕЛЕЦИЕЙ ГЕНА БЕЛКА PROQ ДЛЯ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Буюклян Ю.А.[1,2], Фандо М.С.[1], Никулин А.Д.[1], Леконцева Н.В.[1]
[1]ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия; [2]ФГАОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

buyuklyan20@mail.ru

Роль белков семейства ProQ/FinO, как РНК-шаперонов малых регуляторных РНК, была открыта совсем недавно. В *Escherichia coli* белок ProQ первоначально был идентифицирован как фактор осморегуляции, необходимый для оптимальной экспрессии гена белка пролинового канала ProP. Биоинформатический анализ первичной структуры ProQ предсказал наличие двух доменов, предположительно гомологичных белкам FinO (N-концевой домен) и Hfq (C-концевой домен). В 2017 году с помощью метода ЯМР была определена структура белка ProQ из E. coli. Результаты подтвердили предложенную ранее FinO-подобную структуру N-концевого домена, но показали, что C-концевой домен содержит лишь часть предполагаемой Hfq-подобной структуры, так называемым Тюдор-доменом, состоящим только из пяти коротких β-тяжей. Ранее мы показали, что N-концевой домен белка, как и полноразмерный белок ProQ, связывает мрРНК с высоким сродством, а C-концевой домен с мрРНК не взаимодействует. Однако известно, что домен Тюдор в белках часто задействован в связывании белков-партнеров, поэтому можно предположить аналогичную роль для C-концевого домена ProQ.

Цель данной работы – путем создания штамма с делецией гена белка определить, как отсутствие белка ProQ в клетках скажется на протеоме бактерии *Escherichia coli* MG1655.

С помощью метода полимеразной цепной реакции был наработан линейный фрагмент с геном устойчивости к канамицину и окаймляющими последовательностями в 40 пар оснований для осуществления гомологичной рекомбинации в клетках E. coli NM300 методом «recombineering». В основе метода «recombineering» лежит использование специального штамма *E. coli*, который содержит в хромосоме дефектный профаг λ, обеспечивающий термоиндуцибельный синтез трех фаговых белков: Exo, Beta и Gam. Данные белки необходимы для осуществления гомологичной рекомбинации. В ходе рекомбинации открытая рамка считывания (ОРС) маркерного гена (ген устойчивости к канамицину) заменяется на ОРС гена-мишени (ген белка ProQ). На основе клеток *E. coli* NM300 был получен фаголизат с использованием умеренного бактериофага P1vir, в жизненном цикле которого отсутствует литическая стадия. Полученным фаголизатом трансдуцировали клетки *E. coli* MG1655 для осуществления замены целевого гена белка ProQ на ген устойчивости к канамицину. Получены клетки *E. coli* MG1655 с делецией гена белка ProQ. В настоящее врем ведется работа по получению протеомных карт клеток дикого типа и с делецией proQ.

ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА INSRR НА РАЗВИТИЕ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ

Ганцова Е.А.[1,2], Серова О.В.[1,2], Деев И.Е[1,2], Петренко А.Г.[1]
[1]ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва, Россия; [2]Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia

gantsova@mail.ru

Рецепторная тирозинкиназа подобная инсулиновому рецептору (IRR) является сенсором щелочного pH и вовлечена в секрецию бикарбоната почками, что свидетельствует о том, что рецепторные тирозинкиназы могут напрямую участвовать в регуляции кислотно-щелочного равновесия в организме. Экспрессия мРНК IRR обнаруживается на эмбриональной стадии развития организма и максимальна на эмбриональной стадии развития TS21, где он обнаруживается в ганглиях спинного мозга, поджелудочной железе и почках. С использованием метода ПЦР с обратной транскриптазой была показана экспрессия рецептора IRR, а также других членов семейства IR и IGF-IR, в одноклеточных эмбрионах мыши и бластоцистах, что также предполагает роль рецептора в развитии организма.

Нами получена уникальная линия мышей на основе линии C57BL/6, в которой отсутствует ген insrr, кодирующий рецепторную тирозинкиназу IRR. В эксперименте по оценке развития эмбрионов использовали мышей дикого типа и нокаутных по гену insrr. В качестве метода исследования использовали Mouse Embryo Assay (MEA-тест). Самкам мышей в возрасте 2,5-3 месяца стимулировали суперовуляцию. В эксперимент брали оплодотворенных самок, у которых извлекали эмбрионы на стадии зиготы и помещали их в специальную среду. Деление эмбрионов анализировали в течение 120 часов от оплодотворения с использованием микроскопа. Оценку развития осуществляли с помощью индекса выхода бластоцист – процента образования бластоцист из общего количества извлеченных эмбрионов. Выход бластоцист у нокаутных по IRR животных в разы ниже, чем у дикого типа, 7,5% от общего количества извлеченных клеток у нокаутных животных и 63% у животных дикого типа. У нокаутных животных наблюдалось большее количество дефектных яйцеклеток, качество бластоцист также различалось Bl2Bb/Bl2Bc/Bl2Cc в нокаутных эмбрионах, и Bl4Ab/Bl4Aa в эмбрионах дикого типа. Число поделившихся клеток у нокаутных животных также было очень низким, 10 клеток из 53 извлеченных, тогда как у мышей дикого типа 68 клеток из 83 извлеченных. Если рассчитывать выход бластоцист от количества 2-х клеточных, то он составил 76,5% и 25% для мышей дикого типа и нокаутных, соответственно. Также были скрещены нокаутные самки с дикими самцами. Выход бластоцист составил 25% от числа всех извлеченных клеток, 40 клеток из 76 были поделившимися, выход бластоцист 47,5% от числа 2-х клеточных. Таким образом, у гетерозиготных эмбрионов выживаемость выше, чем у нокаутных.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 19-04-01042, 19-34-51034, 19-34-90177.

РЕТРОТРАНСПОЗОНЫ ARABIDOPSIS THALIANA

Гварамия С. А., Меркулов П. Ю., Омаров М. Р.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

sofia.gvaramia@gmail.com

Ретротранспозоны – мобильные генетические элементы, перемещающиеся по геному путём транспозиции – обратной транскрипции с образованием кДНК и инсерции в геном. В настоящее время множество вопросов, связанных с жизненным циклом, функционированием ретротранспозонов и их эволюцией остаются неизученными. В растениях активность ретротранспозонов зачастую подавлена действием различных метилтрансфераз – MET1, CMT3, KYP, а также РНК-направленным ДНК метилированием (RdDM). По этим причинам изучение биологии ретротранспозонов затруднено. Однако у Arabidopsis thaliana были получены мутантные линии с выключенными генами, контролирующими метилирование и RdDM, что открыло возможность детального анализа биологии ретротранспозонов.

В данной работе была проведена верификация мутантных линий арабидопсиса по целевым генам и проведена оценка мобильности и транскрипционной активности ретротранспозона EVD, как маркерного для данных линий. Используя разработанный нами биоинформатический подход, мы идентифицировали 6 ретротранспозонов, которые экспрессируются как в мутантных линиях, так и у дикого типа. Была проведена оценка мобильной активности этих ретротранспозонов через образование кольцевых ДНК. Найденные ретротранспозоны могут послужить важным материалом для изучения закономерностей образования ретротранскриптома растений и функциональной активности ретротранспозонов.

ВЛИЯНИЕ КОФАКТОРА НА АКТИВНОСТЬ ДНК ПОЛИМЕРАЗЫ BST EXO- В РЕАКЦИЯХ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Гильванов А.Р., Сахабутдинова А.Р., Купова О.Ю., Гарафутдинов Р.Р.
ФГБУН Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

aidar_gilvanov@mail.ru

В последние годы в качестве альтернативы полимеразной цепной реакции все большее распространение получают изотермические методы амплификации нуклеиновых кислот. Для проведения изотермической амплификации необходимы ДНК полимеразы, обладающие цепь-вытесняющей активностью. Среди подобных полимераз одной из наиболее популярных является Bst exo$^-$ (большой фрагмент ДНК полимеразы I *Geobacillus stearothermophilus*) в силу ряда ее преимуществ. Однако существенным недостатком данного фермента является образование на линейной матрице неспецифических продуктов - мультимеров, по своей структуре сходных с конкатемерами – специфическими продуктами амплификации по типу «катящегося кольца». Невозможность дифференциации мультимеров и конкатемеров существенно повышает риск получения ложноположительных результатов.

Для оценки возможности ингибирования мультимеризации нами было исследовано влияние различных дивалентных катионов (Mg^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}) на активность ДНК полимеразы Bst exo$^-$. Обнаружено, что кофакторами данной полимеразы могут выступать Mg^{2+}, Mn^{2+} и Cd^{2+}. В присутствии Mn^{2+} наблюдается

снижение активности полимеразы и подавление неспецифической амплификации на линейной матрице. Амплификация с ионами Cd^{2+} возможна только при наличии 2-меркаптоэтанола в реакционной смеси. Амплификация в присутствии двух катионов протекала только для некоторых смесей: для Mg^{2+}/Mn^{2+} и Mg^{2+}/Cu^{2+} возможны как специфическая, так и неспецифическая амплификация, а в случае Mg^{2+}/Ca^{2+} образование мультимеров полностью подавлялось. Секвенирование продуктов амплификации выявило, что ни для одного из нетипичных кофакторов не наблюдается встраивания некомплементарных нуклеотидов, описанного ранее другими авторами. Полученные результаты могут быть использованы для оптимизации условий изотермической амплификации и подавления образования неспецифических продуктов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-9001019.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГЕПАТОЦИТАХ ПРИ ИНФЕКЦИИ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С: ИССЛЕДОВАНИЕ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ СРЕДЕ

Голиков М.В.[1], Смирнова О.А.[2]
[1]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; [2]ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

cool.mik3492594@yandex.ru

По данным ВОЗ во всем мире хроническим гепатитом С страдают около 71 миллиона человек, ВГС является причиной смерти около 400 тыс. человек ежегодно. У многих пациентов возникают патологии печени, включая фиброз, цирроз и рак. В России в 2017 году число носителей гепатита С оценивается как 5.7 млн. человек. В данный момент вакцины от гепатита С не существует.

Патогенез вируса ассоциирован в т.ч. с изменениями метаболизма инфицированных клеток. Их исследование затруднено из-за сильного влияния стандартных (нефизиологических) культуральных сред (напр. DMEM). В последние годы предложено несколько вариантов сред, имитирующих состав плазмы крови (HPLM, Plasmax), и показано, что результаты исследований в таких условиях точнее отражают результаты, полученные *in vivo*. Целью данной работы является исследование метаболических изменений гепатоцитов в различных средах при их инфицировании ВГС. Основным объектом являлась пермиссивная к вирусу линия Huh7.5. Экспрессия генов оценивалась методом ОТ-ПЦР в реальном времени, а цитотоксичность веществ – МТТ-тестом.

На основе анализа экспрессии около 70 генов были выявлены изменения в таких метаболических путях, как глутаминолиз, пентозофосфатный путь, биосинтез серина и ряде других. Известно, что раковые клетки *in vitro* часто зависят от глутамина и его превращения в глутамат глутаминазой (GLS), что во многих случаях вызвано искусственностью созданных условий культивирования. Уровень экспрессии GLS уменьшается при культивировании клеток в среде Plasmax. Другим известным метаболическим отличием раковых клеток является эффект Варбурга – усилении гликолиза посредством шунтирования его продукта пирувата в лактат лактатдегидрогеназой (LDH). При использовании среды Plasmax уровень экспрессии LDHA был снижен по сравнению с его уровнем при культивировании клеток в DMEM. Кроме того, при переходе к культивированию клеток в среде Plasmax была выявлена активация пути биосинтеза серина и глицина, что согласуется с более низкими уровнями экспрессии PKM2. Кроме того, снизился уровень транскрипции G6PD – фермента пентозофосфатного пути. Наконец, замена среды DMEM на Plasmax снизила

чувствительность клеток к ингибированию LDHA и, наоборот, повысила чувствительность к ингибитору первого фермента гликолиза - HK2.

Таким образом, изменения, возникающие в метаболизме клеток при переходе к физиологическим средам, могут быть весьма значительными и касаются самых разных метаболических путей.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ №19-74-10086.

ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИЙ В N ДОМЕНЕ ДРОЖЖЕВОГО БЕЛКА SUP35 НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНДЕНСАТОВ

Горшенева Н. А.[1], Гризель А. В.[1], Куличихин К. Ю.[1], Рубель А. А.[1,2], Чернов Ю. О.[1,3]
[1]ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; [2]Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия; [3]School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, USA

Natalia.Gorsheneva@mal.ru

Биомолекулярные конденсаты – немембранные органеллы клетки, содержащие белки и нуклеиновые кислоты. Будучи обратимыми, структурно они представляют собой «жидкие капли», которые могут переходить в твердые гелеобразные агрегаты. В формировании биомолекулярных конденсатов в основном принимают участие белки с доменами, способными к взаимодействию друг с другом, а также белки с неструктурированными участками, известные способностью формировать амилоидные агрегаты (высокоупорядоченные белковые агрегаты с межмолекулярными кросс-бета структурами, устойчивые к действию протеаз и детергентов).

Примером белка с неструктуирированными доменами может служить дрожжевой белок Sup35 — фактор терминации трансляции eRF3. Sup35 содержит 3 домена: (1) прионный N-домен, (2) M-домен и (3) каталитический C-домен (терминация трансляции). Сверхпродукция белка Sup35 в некоторых случаях может приводить к возникновению приона [PSI^+], в его образовании задействованы N- и M-домены, физиологическая роль до сих пор не ясна. При переходе в прионное состояние функциональная активность белка Sup35 как фактора терминации трансляции снижается, происходит прочтение стоп-кодонов как смысловых. Кроме того, прионный (NM) домен Sup35 вызывает образование обратимых биомолекулярных конденсатов (при снижении цитоплазматического pH, блокировании синтеза АТФ). Формирование биоконденсатов обеспечивает защиту функционального домена белка Sup35 в стрессовых условиях.

На данный момент не ясна роль N-домена в формировании биомолекулярных конденсатов. Цель данной работы — выявить участки в N-домене дрожжевого белка Sup35, отвечающие за формировании биомолекулярных конденсатов. Для этого была исследована способность образовывать биомолекулярные конденсаты различными делеционными вариантами белка Sup35, слитыми с флуоресцентным белком YFP.

В работе было показано, что: (1) осмотический шок приводит к переходу белка Sup35 в обратимые биомолекулярные конденсаты в клетках дрожжей S. cerevisiae; (2) M-домен Sup35 сдерживает переход белка в биоконденсаты в отсутствие стрессовых воздействий; (3) при удалении 1-39 а.к., 75-123 а.к. в N-домене белка Sup35, происходит нарушение формирования биомолекулярных конденсатов; (4) удаление 98-123 а.к белка Sup35 приводит к снижению его способности образовывать биомолекулярные конденсаты.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта 18-74-00041 (РНФ) и при помощи Ресурсных центров «Биобанк», «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

ВЛИЯНИЕ siРНК ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SOX9 В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОКЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

Григорьева Е.С.[1,2], Кондратьева Л.Г.[1]

[1]ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия

elizaweta.grigoreva2017@yandex.ru

На сегодняшний момент одним из самых сложных видов рака признана протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (ПЖ). Исследования факторов, вовлеченных в процессы эмбриогенеза, могут выявить важные регуляторы канцерегонеза. Одним из важнейших мастер регуляторов процессов развития ПЖ является фактор транскрипции SOX9. Важность SOX9 как для процесса развития, так и для нормального функционирования взрослой ПЖ, объясняет, почему дисрегуляция SOX9 связана с различными врожденными и приобретенными заболеваниями, включая рак. Однако данные относительно роли этого фактора в канцерогенезе поджелудочной железы до сих пор противоричивы. Целью нашей работы была оценка влияния подавления синтеза SOX9 на экспрессию некоторых генов, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом и клеточной пролиферацией, а также влияния на пролиферативные и морфологические свойства клеточной линии PANC-1.

Для подавления экспрессии гена SOX9 были использованы малые интерферирующие РНК (siРНК) к гену SOX9 (siSOX9). В клетках PANC-1 обработанных siSOX9 и контрольными siРНК, оценивали уровень экспрессии генов транскрипционных факторов SNAIL, SLUG, GATA4, p21 методом ПЦР в реальном времени и методом вестерн блоттинга содержание белковых продуктов этих генов. Было показано, что продукция белка и содержание мРНК генов SNAIL и GATA4 были снижены в клетках PANC-1, обработанных siSOX9, по сравнению с контрольными клетками линии PANC-1. В то же время при ингибировании SOX9 повышались уровни экспрессии гена мезенхимального регулятора SLUG и гена регулятора пролиферации p21, а также уровни синтеза их белкового продукта.

Было изучено влияние подавления экспрессии гена SOX9 с помощью siРНК на пролиферативные свойства клеток линии PANC-1. Для этого изучали распределение клеток по стадиям клеточного цикла методом проточной цитофлуориметрии с использованием иодида пропидия. Было обнаружено, что при подавлении экспрессии SOX9, количество находящихся в G1/G0-фазе клеток увеличивается до 75% по сравнению с 55% контрольных клеток в этой фазе. Эти результаты могут свидетельствовать, что siРНК-ингибирование гена SOX9 снижает пролиферативные свойства клеток рака ПЖ.

Также было обнаружено, что при обработке клеток линии PANC-1 siSOX9 происходят измененияя морфологии клеток: клетки увеличиваются в размерах, приобретают большое количество клеточных контактов, фенотип становится похож на сенесцентный.

Таким образом, было показано, что подавление экспрессии гена SOX9 снижает пролиферативный потенциал клеток и влияет на эпителиально-мезенхимальные характеристики.

ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННАЯ СБОРКА ГЕНОМА FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LINI С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНАЦИИ ПЛАТФОРМ OXFORD NANOPORE И ILLUMINA

Дворянинова Е.М.[1,2], Пушкова Е.Н.[1], Краснов Г.С.[1], Новаковский Р.О.[1], Кудрявцева Л.П.[3], Рожмина Т.А.[1,3], Мельникова Н.В.[1], Дмитриев А.А.[1]

[1]ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия; [2]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; [3]ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, Россия

dvorianinova.em@phystech.edu

Fusarium oxysporum f. sp. *lini* является одним из наиболее вредоносных патогенов льна (*Linum usitatissimum* L.), который вызывает фузариозное увядание, значительно снижающее выход и качество льнопродукции. Для молекулярно-генетических исследований этого фитопатогена и его взаимодействия с растениями льна требуется нуклеотидная последовательность его генома. В нашей работе произведена первая сборка генома *F. oxysporum* f. sp. *lini*. Для высококачественной сборки необходимо комбинировать данные двух платформ – Oxford Nanopore, позволяющей получать прочтения в десятки и сотни тысяч нуклеотидов, и Illumina, генерирующей высокоточные прочтения с качеством Q30 и более.

Патогенный штамм #39 *F. oxysporum* f. sp. *lini*, предоставленный Институтом льна (г. Торжок), выращивали в течение 3 недель на картофельно-декстрозном агаре. Нами разработана методика выделения чистой высокомолекулярной ДНК из мицелия этого гриба, включающая очистку от таких примесей, как белки и полисахариды. Количество и качество полученной ДНК оценивали на флуориметре Qubit, спектрофотометре Nanodrop, а также методом электрофореза в 0,8% агарозном геле.

Для секвенирования на платформе Illumina ДНК была гомогенизирована ультразвуком с последующей подготовкой библиотеки набором NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs). Длина парноконцевых прочтений составляла 250+250 н. На приборе HiSeq 2500 получено 20-кратное покрытие генома (после фильтрации по качеству). Подготовку библиотеки ДНК для секвенирования на платформе Oxford Nanopore проводили набором SQK-LSK109 Ligation Sequencing Kit (Oxford Nanopore), предварительно очистив пробу от коротких фрагментов ДНК. Секвенирование осуществляли на приборе MinION с проточной ячейкой FLO-MIN-106 R9.4. Удалось достичь примерно 80-кратного покрытия, параметр N50 составил 29 т.н.

В общей сложности, получили 100-кратное покрытие генома. Сначала использовали сборщик Canu, затем полировщики Racon и Pilon, избавлялись от гаплотигов с помощью Purge Haplotigs. В результате получили высококачественную сборку генома с общей длиной 59 млн.н., параметром N50 равным 3.3 млн.н. и полнотой сборки более 99%, согласно BUSCO. Полученный геном *F. oxysporum* f. sp. *lini* расширяет возможности по исследованию *F. oxysporum*, в том числе изучению его воздействия на растения льна. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (№ 16-16-00114, секвенирование и сборка генома) и РФФИ (№ 19-34-90055, разработка метода выделения чистой высокомолекулярной ДНК).

МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ С УЧАСТИЕМ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ

Денисова Д.А.
ФГБУ Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, Москва, Россия

greataddress@yandex.ru

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ, MDR – multi drug resistance) – совокупность факторов, приводящих к снижению эффективности фармакологической терапии опухолей. Ее возникновение вызвано в т.ч. неправильной экспрессией или же функционированием мембранных белков-транспортеров семейства ABC.

Одним из таких белков является Р-гликопротеин. Белок P-gp является продуктом гена multi drug resistance gene 1 (MDR1). P-gp работает как АТФ-зависимый мембранный насос, выводящий ксенобиотики во внеклеточное пространство. Его гиперэкспрессия провоцирует выброс лекарственных средств из клеток, что приводит к падению терапевтического эффекта лечения.

К семейству белков ABC-транспортеров, ассоциированных с явлением МЛУ, принадлежит продукт гена MRP (multi drug resistance associated protein, «белок, ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью»). Молекулярная масса составляет 190 кДа, его функции и механизмы действия сходны с таковыми у P-gp. Клетки, продуцирующие белок MRP, проявляют устойчивость к широкому спектру препаратов, однако для них зарегистрировано меньшее проявление кросс-устойчивости к противоопухолевым алкалоидам. Мембранный переносчик MRP также способствует снижению токсичности и выбросу ксенобиотиков из клетки, однако его активность в сравнении с Р-гликопротеином существенно ниже, т.к. MRP является конъюгантом глутатиона, не функционирующим в его отсутствие. На клеточном уровне глутатион связывается с активной группой молекулы-ксенобиотика, что приводит к образованию водорастворимого конъюгата, способного выводиться из клетки с помощью белков-транспортеров, в т.ч. MRP.

В 1993 г. был открыт белок-транспортер, не связанный с клеточной мембраной, но также принимающий участие в формировании МЛУ – LRP (lung resistance related protein). Данный белок был зарегистрирован в цитоплазме как нормального эпителия, так и тканей, подвергавшихся воздействию токсинов. LRP имеет молекулярную массу 110 кДа и ассоциирован со специфическими немембранными органеллами, отвечающими за процессы лизиса в клетке, такими как лизосомы и везикулы, и, предположительно, осуществляет внутриклеточный транспорт токсических веществ и их расщепление.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ АКТИВНОСТЬ PRE -ЭЛЕМЕНТОВ У DROSOPHILA MELANOGASTER

Ерохин М.М., Горбенко Ф.В., Ломаев Д.В., Четверина Д.А.
ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

yermaxbio@yandex.ru

Корректное развитие многоклеточных организмов требует установления индивидуальных паттернов экспрессии генов в каждом типе клеток и их стабильной передачи через множественные клеточные деления. Эпигенетический контроль экспрессии генов в многоклеточных организмах осуществляется белками групп Polycomb (PcG) и Trithorax (TrxG), которые репрессируют или активируют транскрипцию

соответственно. Нарушение регуляции систем PcG и TrxG приводят к аномалиям в развитии и к раку. У *Drosophila* белки PcG и TrxG функционируют посредством рекрутирования на специализированные элементы ДНК, называемые PREs (Polycomb Response Elements) через ДНК-связывающие белки. Базовой активностью PRE считается репрессия, однако, по крайней мере, некоторые PRE являются переключаемыми элементами, и в зависимости от условий они могут либо репрессировать, либо активировать транскрипцию. Кроме того, функционирование трансгенных PRE сильно зависит от окружающего хроматина. Механизм регуляции активности PRE, а также зависимость их функционирования от геномного окружения, в настоящее время неизвестны. В то же время, известно, что PRE-элементы в геноме часто расположены рядом с инсуляторами, что предполагает возможность их участия в активностях PRE. Данная работа посвящена исследованию потенциального влияния инсуляторов на активность PRE.

В данном исследовании нами была разработана модельная трансгенная система, позволяющая проводить контролируемую инсерцию разного набора ДНК-элементов в одни и те же места генома. Репрессирующая активность PRE сильно зависела от места локализации трансгена и в некоторых положениях PRE не репрессировал транскрипцию. В данных положениях PRE-элементы не рекрутировали белки PcG. В то же время, добавление к последовательности элементов PRE сайтов связывания для разных инсуляторных белков Su(Hw), CTCF, Pita приводило к резкому усилению репрессии репортерного гена и сопровождалось эффективным рекрутированием белков PcG на PRE. Таким образом, рекрутирование инсуляторных факторов на ДНК, приводит к усилению активности PRE. Мы предполагаем, что инсуляторы могут привлекать в области PRE-элементов ремоделирующие хроматин комплексы, облегчая взаимодействие с ДНК PcG и TrxG белков. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-00798.

ПОИСК И РАЗМНОЖЕНИЕ «БЕЗКАНАМИЦИНОВЫХ» ГЕНОТИПОВ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

Имамходжаева А.С., Кадырова Ш.Б., Мухаммадов Й.А., Маманазаров Ш. И.
Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

iazadaxan@gmail.com

Удаление так называемого «генетического груза» из генома трансгенных организмов – одно из активно развивающихся направлений биотехнологии и генной инженерии. Это направление поддерживается активным вниманием общественности к производству новых растительных и животных трансгенных организмов и привлечению их продуцентов в жизнедеятельность человека.

На хлопчатнике *G. hirsutum L.* продолжаются исследования по выявлению генотипов, не несущих ген неомицинфосфотрансферазы II (npt II), который использовался в качестве селективного гена в процессе трансформации.

С целью выявления закономерности наследования или закрепления фрагментов генетической конструкции, вызывающей РНК интерференцию у хлопчатника, в 2019 году была получена вторая генерация четырех семей, определённых как «безканамициновые». Из 214 растений хлопчатника семьи №21, 23, 35 и 96 с помощью ПЦР при использовании специальных пар праймеров (kan F/kan R) было выявлено 134 генотипа с негативным ответом. Прежде чем прийти к заключению о закономерности наследования или расщепления, решено проанализировать следующее поколение этих образцов, в 2020 году они будут высеяны в полевые условия.

А также нами был повторно проведен молекулярно-генетический мониторинг на сортах Порлок-1, Порлок-2, Порлок-3 и Порлок-4, используя ПЦР с праймерами 35S F/35S R и kan F/kan R.

Результаты скрининга показали, что среди растений Порлок-1 средняя встречаемость «безканамициновых» генотипов была равна 9,32%, что составило 27 генотипов (растений), среди растений Порлок-2 - 10,39%, что равно 29 генотипам. Среди растений хлопчатника сорта Порлок-3 было выявлено 20,80% или 47 генотипов, тогда как у 5,38% (19 генотипов) растений сорта Порлок-4 не были выявлены продуктов амплификации. С целью получения большего материала мониторинг будет продолжен.

Согласно литературным данным, среди трансгенных растений наблюдается неменделевское наследование селективных маркерных генов, поэтому, вероятно, в течение нескольких генераций могли происходить случайные события, завершившиеся сайленсингом или замолканием гена в результате повреждения его структуры и небольших анти-смысловых вставок.

АНАЛИЗ ДНК-МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ PTPRD, CLNKB, SLC12A7 В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ФИБРОБЛАСТОВ МОНОЗИГОТНЫХ БЛИЗНЕЦОВ, ДИСКОРДАНТНЫХ ПО БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Калганова Н.А.[1], Рыболовлев И.Н.[2], Власов И.Н.[2], Сломинский П.А.[2], Шадрина М.И.[2]
[1]ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; [2]ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

na.a.kalganova@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) является многофакторным гетерогенным нейродегенеративным заболеванием. БП характеризуется преимущественной дегенерацией дофаминергических (ДА-) нейронов компактной части черной субстанции среднего мозга [1] Одним из перспективных направлений исследований являются исследования эпигенетических факторов, которые также играют роль в патогенезе БП [2].

Один из подходов к изучению влияния эпигенетики на развитие БП является анализ монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Ранее в лаборатории были получены клеточные линии фибробластов кожи от 3 пармонозиготных близнецов, дискордантных по БП, и был проведен полнотранскриптомный анализ. В результате был получен набор генов с значимо различающимся (≥ в 1,5 раза) уровнем экспрессии («Дифференциально экспрессирующиеся гены» — ДЭГи). С помощью базы данных ENCODE среди ДЭГов были выбраны потенциальные дифференциально-метилированные гены, в том числе: PTPRD (рецептор тирозин-фосфатазы, пре- и постсинаптическая дифференцировка нейронов [3]; экспрессия у близнецов с БП повышается), CLNKB (хлоридный канал, стабилизация мембранного потенциала[3]; экспрессия у близнецов с БП повышается) и SLC12A7 (транспортер растворенных веществ, стабилизация мембранного потенциала [3]; экспрессия у близнецов с БП понижается). Целью данного исследования являлся анализ уровня метилирования CpG-островков данных генов.

Были применены следующие методы: экстракция ДНК из культур фибробластов (TRIzol Reagent (Invitrogen, США)); бисульфитная конверсия ДНК (Zymo Research EZ DNA Methylation-Lightning Kit (Zymo Research, США)); semi-nested PCR с нечувствительными к метилированию системами праймеров; очистка ПЦР-продуктов из геля (CleanUpStandartKit (Евроген, Россия)), секвенирование по Сэнгеру и анализ флюорограмм (SnapGene (GLCBiotechLLC, США), MS Excel 2016 (Microsoft, США)). В результате было показано, что в CpG-островке гена PTPRD у близнеца с БП наблюдается гипометилирование, для остальных генов дифференциального метилирования не

обнаружено, но необходимы дальнейшие исследования, в том числе проведение повторных экспериментов.

Литература

1. Lesage, S. and A. Brice, *Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors*. Hum Mol Genet, 2009. 18(R1): p. R48-59.
2. Singleton, A.B., M.J. Farrer, and V. Bonifati, *The genetics of Parkinson's disease: progress and therapeutic implications.* Mov Disord, 2013. 28(1): p. 14-23.
3. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge, Nucleic Acids Res. 47: D506-515 (2019)

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК XRCC1, ERCC2, ERCC5 С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ БЕЗ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Капралова М.А.[1,2], Бреннер П.К.[1,3], Заварыкина Т.М.[1], Тюляндина А.С.[4], Хохлова С.В.[5], Хабас Г.Н.[5], Асатурова А.В.[5], Носова Ю.В.[5], Аткарская М.В.[1], Ходырев Д.С.[6], Бурденный А.М.[1,7], Логинов В.И.[7], Стенина М.Б.[4]

[1]ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; [3]ФГБОУ ВО Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия; [4]ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия; [5]ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия; [6]ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, Россия; [7]ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

kapamariya97@gmail.com

Рак яичников (РЯ) – вторая по значимости причина смертности от онкологических заболеваний среди женщин в мире. Ключевым подходом к лечению РЯ является химиотерапия (ХТ) на основе препаратов платины. Однако наряду с высокой противоопухолевой активностью данные препараты обладают выраженной цитотоксичностью. При этом у небольшой части пациентов имеется исходная резистентность опухоли к производным платины, а у других пациентов резистентность развивается в процессе лечения. В связи с этим, важной задачей при изучении РЯ является поиск маркеров чувствительности к платиносодержащей ХТ. Цель работы – изучить связь полиморфных маркеров генов репарации ДНК (Gln399Arg гена XRCC1, Lys751Gln гена ERCC2 (XPD), Asp1104His генаERCC5 (XPG) при РЯ с длительностью времени без прогрессирования (ВБП) после платиносодержащей ХТ.

В работе были изучены образцы опухолевой ткани 49 больных РЯ. Забор материала производился при первичной циторедуктивной операции, до начала ХТ. После операции все больные получили платиносодержащую ХТ и наблюдались до прогрессирования заболевания. Анализ генотипов исследованных полиморфных маркеров генов проводился методом ПЦР-ПДРФ и ПЦР в реальном времени. Результаты определения маркеров были сопоставлены с клиническими данными (ВБП) для выявления связи данных маркеров с длительностью ремиссии РЯ после платиносодержащей химиотерапии с помощью метода Каплана-Мейера. Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ Statistica 6.0.

В результате исследования была выявлена тенденция к связи с большим значением медианы ВБП (М) для больных с наличием аллеля Gln маркера Gln399ArgXRCC1 (М=12,8 мес.) в сравнении с подгруппой больных с отсутствием аллеля Gln (М=10,7 мес.), p=0,06).

При анализе полиморфного маркера Lys751Gln гена ERCC2 различий в медианах ВБП при наличии и отсутствии аллеля Gln не наблюдалось (12,0 и 12,8 мес. соответственно, p=0,45). При рассмотрении генотипов данного маркера выявлена тенденция к уменьшению медианы ВБП у носителей минорной гомозиготы Gln/Gln (10.3 мес. по сравнению с 13.2 мес. для двух других генотипов вместе, p=0.13). При носительстве аллеля His маркера Asp1104His гена ERCC5 наблюдалась тенденция к уменьшению медианы ВБП (M(His+)=10.2 мес., M(His-)=17.0 мес.), p=0,18).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-08-01258.

САЙТ-НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ В СУБСТРАТ-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ ОБЛАСТИ ДВУДОМЕННОЙ ЛАККАЗЫ STREPTOMYCES GRISEOFLAVUS

Коляденко И.А, Костарева О.С, Михайлина А.О, Тищенко С.В, Габдулхаков А.Г
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

ilya@vega.protres.ru

Лакказа (п-дифенол:кислородоксидоредуктаза, КФ 1.10.3.2) медьсодержащий фермент, катализирующий реакцию окисления различных соединений, с сопутствующим восстановлением молекулярного кислорода до воды. Данный фермент способен окислять такие соединения как фенолы, метокси-замещенные фенолы, аминофенолы, диамины, сахара, ненасыщенные жирные кислоты и различные неорганические ионы. В природе встречаются как трехдоменные (3D) лакказы, так и двухдоменные (2D). Первые характерны для грибов, растений, насекомых и бактерий, в то время как 2D лакказы встречаются только в бактериях. Активный центр всех лакказ представлен 4 атомами меди. Т1 –атом меди, вблизи которого происходит окисление субстрата, и Т2/Т3 – медный кластер, в котором молекулярный кислород восстанавливается до воды.

На основе проведенного нами анализа пространственных структур 2D лакказ, мы идентифицировали высококонсервативный аминокислотный остаток метионин в 199 положении (Met199 по нумерации *Streptomyces griseoflavus*, PDB:5LHL), который, по нашему мнению, играет важную роль в формировании субстрат-связывающей области 2D лакказ. Боковая группа Met199 может ограничивать доступ субстрата к Т1 центру и замена данного аминокислотного остатка на остаток с меньшей боковой группой может привести к увеличению каталитической активности фермента.

Методом Quick-change мутагенеза получена генетическая конструкция, несущая ген 2D лакказы *Streptomyces griseoflavus* с заменой Met199 на аланин (Met199Ala). Для данной мутантной формы получен штамм-суперпродуцент *Escherichia coli*, отработаны условия выделения целевого белка. Определены константы каталитической активности с использованием в качестве субстратов ABTS и 2,6-диметоксифенола (DMP). Показано, что замена Met199Ala привела к четырёхкратному увеличению активности (K_{cat}/K_m) фермента при окислении ABTS, и сдвигу pH-оптимума в более кислую область ($pH_{опт}$ =7) при окислении DMP.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-31-27001 и программы Президиума Российской академии наук «Постгеномные технологии и перспективы решения в биомедицине».

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ДВУДОМЕННЫХ ЛАККАЗ РОДА STREPTOMYCES

Коляденко И.А., Михайлина А.О., Габдулхаков А.Г., Тищенко С.В.
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

alisamikhaylina15@gmail.com

Лакказа (пара-бензендиол:кислород оксидоредуктаза) – один из самых первых открытых и выделенных в чистом виде ферментов. Данный фермент относится к классу медьсодержащих оксидоредуктаз и катализирует реакцию окисления различных органических и неорганических соединений, с сопутствующим восстановлением молекулярного кислорода до воды. Субстратами для лакказ являются такие соединения как фенолы, метокси-замещенные фенолы, аминофенолы, диамины, сахара, ненасыщенные жирные кислоты и различные неорганические ионы. Лакказы представляют интерес для биотехнологии. По структурной организации выделяют трехдоменные (3D) лакказы и двухдоменные (2D). 3D лакказы характерны для грибов, растений, насекомых и бактерий, в то время как 2D лакказы встречаются только в бактериях. Не смотря на редкую встречаемость в природе, 2D лакказы, по сравнению с 3D, обладают рядом преимуществ, такими как: высокая термостабильность, низкая ингибируемость классическими ингибиторами лакказ, способность функционировать как в кислых, так и в щелочных условиях среды.

Объектом наших исследований являются 2D лакказы из *Streptomyces viridochromeogenes* (SvSL) и *S. griseoflavus* (SgSL). SvSL, несмотря на высокую степень гомологии с SgSL по аминокислотной последовательности (идентичность – 85%) и структурной гомологии (RMSD - 0.375 Å), имеет более высокую термостабильность. Проведённый нами сравнительный биоинформатический анализ структур этих двух лакказ с использованием веб-сервиса Dezyme позволил определить группы аминокислотных остатков, замены которых могли бы объяснить повышенную термостабильность SvSL. Одна из групп включала 3 аминокислотных остатка на поверхности белка. Методом Quick-change мутагенеза мы получили генетическую конструкцию 32Xa-Lic/T200L/R204Q/T208S SgSL, которая была трансформирована в штамм Rosetta(DE3). Очистку мутантной формы лакказы слитой с тиоредоксином проводили на смоле Ni-NTA Agarose. Для отщепления тиоредоксина к препарату добавляли протеазу фактор Xa и разделяли смесь белков на смоле Ni-NTA агароза. Была определена кристаллическая структура данной мутантной формы и её каталитическая активность. Показано, что термостабильность мутанта лакказы SgSL с тремя заменами аминокислотных остатков в петле на поверхности белка повысилась: остаточная активность после инкубации в течение получаса при 80ºС была в полтора раза выше, чем у лакказы дикого типа. Ранее было показано, что замены в гидрофобном ядре молекулы лакказы SgSL на соответствующие в лакказе SvSL не повлияли на термостабильность белка.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-04-00270а).

РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО РЕЦЕПТОР IP3R1 ЧЕЛОВЕКА, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRISPR/CAS9 ТЕХНОЛОГИИ

Копылова Е.Е., Соколова Е.А., Рогачевская О.А., Быстрова М.Ф.
ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

ikopylov76@gmail.com

Инозит-1,4,5-трифосфат (IP3) является вторичным посредником в сигнальных процессах, запускаемых в клетках различными первичными медиаторами, включая нейротрансмитеры, гормоны и факторы роста. Его регуляторная роль заключается в инициации выброса депонированного Ca2+ путем активации IP3-рецепторов, являющихся Ca2+ каналами, которые функционируют во внутриклеточном Ca2+ депо. Целью исследования было применение CRISPR/Cas9 системы для внесения мутаций, ведущих к смещению открытой рамки считывания гена IP3R1 и последующей инактивации кодируемого им IP3R1-рецептора. Для минимизации off-target эффектов, состоящих в неспецифическом разрезании ДНК вне целевого гена, в работе использовалась Cas9-D10A, обладающая ДНК-никазной активностью. Целевое действие Cas9-D10A обеспечивали две направляющие sgРНК. Для внесения направленной мутации в выбранном участке локуса гена, кодирующего IP3R1-рецептор, была создана генетическая конструкция на основе вектора pAIO-GFP, кодирующая Cas9-D10A мутант с никазной активностью, слитый с зеленым флуоресцентным белком, и пару направляющих sgРНК. Плазмида pAIO-GFP/IP3R1 использовалась для трансфекции клеток HEK293 с последующей селекцией моноклонов. Из индивидуальных клеточных моноклонов была выделена геномная ДНК, которую использовали в качестве матрицы для ПЦР-амплификации с праймерами, фланкирующими предположительный сайт мутаций. ПЦР-фрагменты, полученные из индивидуальных моноклонов, несколько отличались по подвижности при электрофорезе в агарозном геле, что свидетельствовало о различиях в размерах геномной ДНК в сайтах, содержащих мутации, у разных моноклонов. Это косвенно подтверждало эффективность созданной экспрессионной кассеты для внесения мутации в локус IP3R1. Выявление моноклонов, содержащих моноаллельные или биаллельные мутации IP3R1, проводилось путем специфического гидролиза амплифицированных фрагментов ДНК в модели *in vitro* с помощью Cas9-sgRNA. В этой модели мы использовали коммерчески доступный фермент нуклеазу Cas9 и синтезированные нами sgRNA в реакции *in vitro* транскрипции. Показано, что двухцепочечные разрывы в локусе IP3R1 репарируются в процессе негомологической рекомбинации с образованием различных индельных мутаций. Из 24 созданных рекомбинантных клеточных моноклонов четыре содержали биаллельные мутации, приводящие к сдвигу открытой рамки считывания IP3R1 и инактивации кодируемого рецептора.

Работа поддержана грантом РНФ-18-14-00347.

ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С НУКЛЕОБИНДИНОМ 1 В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Костарева О.С., Михайлина А.О., Мордовкина Д.А., Тищенко С.В.
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

kostareva@vega.protres.ru

Нуклеобиндин 1 (NUCB1) – мультидоменный консервативный белок млекопитающих, вовлечённый в процессы транспорта белковых молекул, стрессовый ответ клетки и регуляцию кальциевого обмена. Впервые NUCB1 был обнаружен у мышей как фактор роста и дифференцировки В-лимфоцитов при системной красной волчанке. Показано, что нуклеобиндин 1 взаимодействует с нуклеиновыми кислотами, во взаимодействие вовлечено два участка белка: один расположен в N-концевой части и содержит положительно заряженные аминокислотные остатки, второй представляет собой область лейциновой «застежки-молнии». Несмотря на многолетнюю историю изучения белка, его «мишени»- нуклеиновые кислоты до сих пор неизвестны.

Ранее мы показали, что в клеточных линиях человека (HEK 293T и SK-N-SH) NUCB1 находится во фракциях мембранных органелл (эндоплазматическая сеть, аппарат Гольджи и митохондрии). Такая локализация позволяет предположить взаимодействие NUCB1 с РНК и опосредованное влияние белка на биосинтез белков.

Мы выделили комплексы NUCB1 с нуклеиновыми кислотами (НК) из клеток SK-N-SH с помощью антител, специфически взаимодействующих с белком, и проанализировали полученный препарат методом электрофореза в агарозном геле. Выделенный препарат НК содержит 2 мажорные фракции длиной 500 и 3000 пар нуклеотидов и несколько близких по размеру минорных фракций. Мы планируем выделить из клеток отдельные препараты ДНК и РНК, и выяснить, с какими именно НК взаимодействует NUCB1. Это позволит уточнить физиологическую роль нуклеобиндина 1 в организме человека.

ПОЛИМОРФИЗМ ЛОКУСА VvAGL11 И ПРОЯВЛЕНИЕ СТЕПЕНИ БЕССЕМЯННОСТИ У ВИНОГРАДА

Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Макаркина М.В., Котляр В.К.
ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

mayyyiva@gmail.com

Признак бессемянности ягод является одним из наиболее востребованных в селекции столовых сортов винограда. Фенотипическое проявление бессемянности может быть представлено как наличием рудиментов, так и полным отсутствием семени. Привлечение методик ДНК-маркерного отбора очень перспективно в селекции данного признака, так как позволяет отбраковать часть гибридов на ранней стадии, не дожидаясь вхождения молодого растения в плодоношение.

Разделяют два типа бессемянности: стеноспермокарпический и партенокарпический Стеноспермокарпический тип – при опылении образуется семя, но на определённом этапе прекращает свое развитие. Ген VvAGL11 предложен в качестве основного функционального гена-кандидата признака бессемянности по типу стеноспермокарпии. Как наиболее оптимальный маркер для селекционных программ на бессемянность учёными рекомендован STS-маркер p3-VvAGL11, который относится к регуляторной области гена VvAGL11 (Mejia N. et al., 2011).

Целью данной работы было провести молекулярно-генетическое изучение генотипов бессемянных сортов различного происхождения, а именно ДНК-маркерное исследование аллельного состояния локуса VvAGL11, определяющего формирование признака бессемянности.

ДНК выделяли из листьев верхушек молодых побегов растений винограда изучаемых сортов методом ЦТАБ. Последовательности маркеров синтезированы в соответствии с литературными данными. Амплификацию ДНК осуществляли по экспериментально подобранным оптимальным параметрам. Определение размеров амплифицированных фрагментов проведено на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 3130 с использованием специального программного обеспечения Gene Mapper и Peak Scanner.

При ДНК-анализе с использованием маркера p3-VvAGL11, наличие ПЦР-продукта размера 198 пар нуклеотидов коррелирует с бессемянностью, согласно литературным данным. Амплифицированный фрагмент указанного целевого размера идентифицирован нами во всех двадцати проанализированных генотипах, которые относились к бессемянным сортам и проявляли этот признак. Как контроли использовали сорта с нормальным развитием семени, при анализе этих генотипов фрагмент 198 п.н. нами не был обнаружен. Из фрагментов других размеров в наибольшем количестве были определены ПЦР-продукты 188 и 162 п.н.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Администрации Краснодарского края (грант № 19-416-230051 р_а).

РОЛЬ ХРОМАТИН-РЕМОДЕЛИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ СТРУКТУРЫ Х-ХРОМОСОМЫ У САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ.

Кучинская Я.А., Боровых Е.С., Некрасова М.А., Конев А.Ю.
НИЦ "Курчатовский институт" - Петербургский институт ядерной физики, Гатчина, Россия

kuchinskaya_yaa@pnpi.nrcki.ru

В данной работе рассматривается роль факторов сборки и ремоделирования хроматина в регуляции активности генов на уровне отдельных хромосом в процессе дозовой компенсации у *Drosophila melanogaster*. У самцов дрозофилы дозовая компенсация (ДК) – выравнивание экспрессии генов в Х-хромосоме у самцов (ХУ) и самок (ХХ) происходит за счёт нескольких механизмов, ведущих к увеличению экспрессии генов Х-хромосомы примерно в два раза. Основную роль играет комплекс дозовой компенсации MSL (male-specific lethal), состоящий из белков MSL1-MSL3, двух некодирующих РНК (roX1 и roX2), ацетилтрансферазы MOF и РНК геликазы MLE [1].

Среди разнообразия факторов сборки и ремоделирования хроматина нас в наибольшей степени интересует консервативный белок CHD1, поскольку мутации кодирующего его гена Chd1 ведут к сильной деформации и деконденсации Х-хромосомы самцов [2]. Кроме того нами показано, что в норме у дикого типа данный фактор показывает повышенное привлечение к сайтам связывания комплекса MSL на Х-хромосоме, необходимым условием является нормально функционирующий комплекс MSL, а у самцов нуль-мутантов по гену Chd1 весь соответствующий белок материнского происхождения связывается исключительно с Х-хромосомой [3].Поскольку совокупность фактов свидетельствует о специфической роли белка CHD1 в процессе ДК Х-хромосоме, мы сравнили распределение на политенных хромосомах ряда факторов (kismet, ISWI, Ino80 и brahma) у дикого типа и у Chd1 нуль-мутантов. Все они, включая ISWI, мутации которого приводят к сходной с нуль-мутантами по гену Chd1 картине изменений Х-

хромосомы у самцов показали отсутствие специфического привлечения к Х-хромосоме и дополнительных сайтов связывания как у самцов дикого типа, так и у нуль-мутантов, что говорит незаменимости CHD1 в подвергающейся ДК Х-хромосоме самцов дрозофилы.

Список литературы:

[1]. Conrad, T. and Akhtar, A. Dosage compensation in Drosophila melanogaster: epigenetic fine-tuning of chromosome-wide transcription //Nat Rev Genet, – 2012. – V. 13. – No. (2).– P. 123-134.

[2]. Конев А.Ю., Тютюнник, А.А., and Барановская, И.Л. Влияние мутации гена Chd1, кодирующего фактор сборки и ремоделирования хроматина, на организацию политенных хромосом дрозофилы. //Цитология, – 2016. – V. 58. – No. (4).– P. 281-4.

[3]. Tiutiunnik A., Baranovskaya I., Kuchinskaya Y., Gnennaya Y., Shalaev A., Konev A. The role of the chromatin remodeling factor CHD1 in the global organization of Drosophila chromosomes. // Biopolymers & Cell, – 2019 – V35 – N. 3, – P. 174–175.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭЛОНГАЦИОННОГО КОМПЛЕКСА, ОБРАЗУЮЩЕГОСЯ ПРИ РЕПЛИКАЦИИ РНК Qβ-РЕПЛИКАЗОЙ

Лободин К.В., Угаров В.И., Четверина Е.В., Четверин А.Б.
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

lobodin-kirill@mail.ru

RQ РНК (от англ. *Replicable by Qβ-replicase*) – это узкий класс РНК, способных реплицироваться Qβ-репликазой – РНК-зависимой РНК-полимеразой бактериофага Qβ, паразитирующего на клетках *Escherichia coli*. При молярном избытке фермента репликация происходит в экспоненциальном режиме: на каждом цикле репликации число молекул RQ РНК удваивается. Высокая эффективность фермента сочетается с высокой специфичностью: из триллионов РНК случайной последовательности репликаза реплицирует лишь единичные варианты.

Важным этапом в процессе репликации является переход Qβ-репликазы на стадии инициации считывания RQ РНК в закрытую конформацию, в которой затем происходит элонгация инициированной комплементарной цепи. Этот конформационный переход позволяет ферменту распознавать RQ РНК и эффективно размножать их.

Определение пространственной структуры закрытого элонгационного комплекса необходимо для выяснения механизма экспоненциальной амплификации RQ РНК. Нами был сделан первый шаг в этом направлении.

Элонгационный комплекс получали путём удаления из репликационной смеси одного или нескольких нуклеотидов. Это обеспечивало остановку синтеза комплементарной цепи на определённом шаге. Мы показали, что наибольшей стабильностью элонгационный комплекс обладает, когда в смеси присутствует три нуклеотида и, соответственно, прочитывается более длинный участок матрицы.

Сравнив стабильность комплексов, образованных на 4 разных RQ РНК, для дальнейшей работы мы выбрали (+)-цепь $RQ87^{-3}$ РНК длиной 83 нт, образовавшую самый стабильный элонгационный комплекс.

Используя данную матрицу, мы получили элонгационный комплекс в препаративных количествах и выделили его с помощью гель-фильтрации. Данный результат даёт надежду на то, что комплекс удастся закристаллизовать и определить его пространственную структуру с помощью рентгеноструктурного анализа.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ СУПЕРЭНХАНСЕРОВ В ГЕНОМЕ DROSOPHILA

Ломаев Д.В., Четверина Д.А., Ерохин М.М.
ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

lomaevdv@gmail.com

Экспрессия генов высших эукариот является чрезвычайно сложным и многоступенчатым процессом. Один из ключевых этапов этого процесса – транскрипция генов РНК-полимеразой II. За регуляцию транскрипции отвечают множество факторов – это цис-действующие регуляторные ДНК-последовательности и транс-действующие белковые молекулы. К белковым факторам относят белки основного транскрипционного комплекса, а также такие регуляторные компоненты как активаторы и репрессоры транскрипции. Цис-действующие регуляторные ДНК-последовательности включают энхансеры, сайленсеры, промоторы и инсуляторы. Недавние полногеномные исследования многоклеточных выявили существование протяженных активаторных элементов, представляющих из себя скопление энхансеров. Такие элементы получили название «суперэнхансеры». У млекопитающих многие из элементов данного класса расположены в регуляторных областях генов, кодирующих ключевые транскрипционные факторы. Так, было установлено, что суперэнхансеры в стволовых клетках контролируют активность важнейших транскрипционных факторов, необходимых для поддержания плюрипотентности, а в раковых клетках – транскрипцию онкогенов. Необходимо отметить, что часто суперэнхансеры расположены в интронах их генов-мишеней (например, до 80% суперэнхансеров в геноме человека). При этом транскрипция, инициируемая с промотора гена-мишени, проходит через ДНК-последовательности суперэнхансеров. Ранее в нашей лаборатории была предложена и подтверждена модель, согласно которой сильная проходящая через энхансеры транскрипция подавляет их активность. Мы предположили, что интрон-расположенные суперэнхансеры регулируются по принципу отрицательной обратной связи: усиление транскрипции с промотора приводит к ингибированию активности интрон-расположенных суперэнхансеров, ограничивая чрезмерную активацию промотора. В данном исследовании в качестве модельного элемента был использован интрон-расположенный суперэнхансер Drosophila из регуляторной области гена Trl. С помощью встраивания трансгенных конструкций в одно и то же место генома мы продемонстрировали, что проходящая через суперэнхансер Trl транскрипция приводит к переключению активности исследуемого элемента с активации на репрессию. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-04-00179.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА НЕЗРЕЛОЙ 30SСУБЧАСТИЦЫ С ФАКТОРОМ БИОГЕНЕЗА HFQ

Максимова Е.М., Корепанов А.П., Столбоушкина Е.А.
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

maksimova.em@vega.protres.ru

Биогенез рибосом является сложным многостадийным процессом. Он выполняет одну из важнейших функций в клетке – сборку функционально активной рибосомы, способной осуществлять синтез полипептида. Известно, например, что для биогенеза бактериальной 30S субчастицы необходимо созревание 16S рРНК из 17S рРНК

предшественника, а также последовательное присоединение к ней 21 рибосомного белка. Данный процесс осуществляется при участии многочисленных факторов биогенеза, белков-шаперонов, хеликаз и РНК-модифицирующих ферментов. Одним из таких факторов, чья роль в биогенезе бактериальной рибосомы была показана совсем недавно, является шаперон Hfq. Он обладает многочисленными функциями в клетке, такими как регуляция транскрипции мРНК, синтез ее poly(A) концевой части и формирование нуклеоида. В качестве фактора биогенеза, Hfq способен связываться с непроцессированными концами 17S рРНК незрелой 30S субчастицы, участвуя в дальнейшем ее формировании. Тем не менее, точное место связывания Hfqc малой рибосомной субчастицей до сих пор неопределенно. Цель нашего исследования – определение структуры комплекса Hfqc незрелой 30S субчастицей из *Escherichia coli* с помощью криоэлектронной микроскопии. Для этого мы выделили незрелые 30S субчастицы из *ΔrbfA* штамма, который позволяет накапливать субчастицы, обогащенные 17S рРНК предшественником. Анализ этих субчастиц с помощью 2D электрофореза, показал наличие дополнительных белков, не присутствующих в зрелых 30S субчастицах. В дальнейшем мы планируем провести анализ этих белков с помощью масс-спектрометрии, а также продолжить подбор условий формирования комплекса Hfq с незрелой 30S субчастицей, необходимых для определения структуры комплекса. Работа поддержана грантом РНФ 19-74-20186 Ж.А.А.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ИЗОФОРМЫ И МУТАНТНЫЕ ВАРИАНТЫ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ PAX4: КЛОНИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ

Мельникова А.И.[1,2], Краснова Т.С.[2], Рубцов П.М.[1,2]
[1]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; [2]ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН. Москва, Россия

anyakuznetsova5@mail.ru

PAX4 – представитель семейства факторов транскрипции, содержащих ДНК-связывающие домены PAIRED и HOMEO. Он играет важную роль в дифференцировке и развитии β-клеток поджелудочной железы. Мутации в гене PAX4 приводят к развитию сахарного диабета типа MODY9. PAX4 способен связываться с регуляторными элементами в промоторах и энхансерах генов, в том числе в промоторах генов инсулина, глюкагона и соматостатина. Кроме основной канонической формы PAX4, содержащей все экзоны и экспрессирующейся в β-клетках поджелудочной железы, известны изоформы, образующиеся в плаценте и в инсулиномах в результате альтернативного сплайсинга. Альтернативные формы отличаются структурой N- или C-концевой области белка, что может отражаться на их активности.

Цель настоящей работы – сравнительный анализ альтернативных форм фактора транскрипции PAX4. Нами были клонированы кДНК альтернативных продуктов сплайсинга транскриптов PAX4 из плаценты человека и определены их нуклеотидные последовательности. Поскольку все обнаруженные варианты были лишены участка, кодирующего 8 N-концевых аминокислот из 1-го экзона, соответствующий фрагмент был амплифицирован из геномной ДНК и использован для реконструкции полной канонической формы PAX4. В результате мы получили 8 вариантов, кодирующих изоформы PAX4, отличающиеся структурой C-концевой области белка, наличием или отсутствием первого экзона, а также наличием полного или усеченного гомеодомена. Для проверки их транскрипционной активности использовали репортерные конструкции с

геном люциферазы под контролем промоторов генов инсулина, глюкагона и соматостатина человека. В системе экспрессии гена люциферазы под контролем промотора инсулина активность альтернативных вариантов PAX4 была снижена примерно в 1,5-2 раза по сравнению с основной канонической формой, содержащей интактные ДНК-связывающие домены и полную С-концевую область. Сходные результаты были получены и на промоторах генов глюкагона и соматостатина.

Нами изучено также влияние миссенс-мутаций в гене PAX4 на транскрипционную активность белка. Установлено, что большинство мутаций, затрагивающих консервативные ДНК-связывающие домены PAX4, достоверно снижают его активность, причем результаты экспериментального анализа хорошо согласуются с биоинформатическими предсказаниями. Замены нуклеотидов в междоменной области белка PAX4 и в менее консервативной С-концевой области ведут себя менее предсказуемо, поэтому в их случае экспериментальные результаты и биоинформатические данные совпадают в меньшей степени.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проекты №18-04-01271 и №17-29-06049).

ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ

Меркулов П.Ю., Киров И.В., Омаров М.Р.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

paulmerkulov97@gmail.com

LTR-ретротранспозоны являются наиболее распространёнными мобильными генетическими элементами в геномах растений и представлены суперсемействами Ty3/gypsy и Ty1/copia. Но несмотря на то, что ретротранспозоны занимают значительную часть генома растений (до 80%), их активность в нормальных условиях подавлена как на уровне РНК, так и хроматина.

Целью нашей работы была экспериментальная оценка транскрипционной активности ретротранспозонов в различных органах подсолнечника однолетнего (Helianthusannuus L.) и выявления структурных особенностей их транскриптов. Для этого нами были проведены предсказание экспрессирующихся ретротранспозонов в геноме подсолнечника, анализ транскриптов в поли-А и тотальной РНК фракциях и детекция альтернативного сплайсинга.

Объектом исследования служили РНК, выделенные из семянки, семядолей, стебля и листа H. annuus.

С помощью метода ОТ-ПЦР были получены данные по экспрессии 11 ретротранспозонов в исследуемых органах и частях растений. Показаны полиаденилирование и альтернативного сплайсинга исследуемых ретротранспозонов. Между анализируемыми тканями были выявлены как количественные различия в транскрипции, так и изменения в соотношении продуктов альтернативного сплайсинга. С помощью секвенирования удалось установить, что альтернативный сплайсинг приводит к образованию изоформ ретротранспозона, несущих открытые рамки считывания, кодирующие различные белки ретротранспозона.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-2360.2019.4.

ФУНКЦИИ БЕЛКА CROL В POLYCOMB-ЗАВИСИМОЙ РЕПРЕССИИ У DROSOPHILA

Михайлова А.В., Ломаев Д.В., Четверина Д.А., Ерохин М.М.
ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

mihailova.ann@bk.ru

Белки группы Polycomb (Polycomb group, PcG) являются важными регуляторами транскрипции генов у многоклеточных эукариот. Данные факторы эволюционно консервативны: они формируют схожие белковые комплексы у *Drosophila* и человека. В последнее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о корреляции между нарушениями работы PcG-системы и возникновением опухолей, дефектов развития, старения. Впервые PcG-белки были обнаружены у *Drosophila*, и на сегодняшний день плодовая мушка является наиболее удобным модельным объектом для исследования факторов системы PcG. В геноме *Drosophila* PcG-факторы связываются с определенными ДНК-регуляторными элементами, названными PRE (Polycomb Response Element). Одним из не решенных на сегодняшний день вопросов является механизм специфичного рекрутировании комплексов PcG на хроматин. Предполагается, что основную роль в этом процессе играют ДНК-связывающие факторы. На сегодняшний день у дрозофилы известно несколько таких факторов, однако, комбинация их сайтов связывания в ДНК не приводит к созданию функционального PRE-элемента. Предполагается, что многие важные для рекрутирования белки в настоящее время еще не охарактеризованы.

Данная работа посвящена детальному изучению функций белка Crol, который был выявлен нами в скрининге как потенциальный PRE ДНК-связывающий белок Drosophila. Данный белок имеет в своем составе кластер из 18 тандемно расположенных мотивов «цинковые пальцы» C2H2-типа. В ходе данного исследования нами были получены поликлональные антитела к белку Crol и изучена его полногеномная локализация методом ChIP-seq на стадиях эмбриона и личинки. Нами было обнаружено более 10000 сайтов посадки белка Crol, которые сильно пересекаются с известными местами посадки репрессоров группы Polycomb. Методом иммунопреципитации с последующим масс-спектроскопическим анализом нами были выявлены партнеры фактора Crol, среди которых несколько представителей группы Polycomb. Методом коиммунопреципитации с последующим вестерн-блот анализом подтверждено взаимодействия белка Crol с некоторыми белками группы Polycomb. Методом CRISPR/Cas9 мы получили линию с делецией гена Crol. С помощью иммунопреципитации хроматина (X-ChIP-qPCR) мы показали, что в мутантах по Crol наблюдается падение связывания репрессоров Polycomb с ДНК. Таким образом, Crol является новым ДНК-связывающим транскрипционным фактором, необходимым для привлечения репрессоров Polycomb на хроматин. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-20046.

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СИНТЕЗА БРАССИНОСТЕРОИДОВ

Мурган О.К., Казакова А.Д., Филимонов К.П., Ефимова М.В.
ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия
reborn_rinni@mail.ru

Хлоридное засоление отрицательно влияет на рост и развитие растения. Фитогормоны способны повысить устойчивость растений к засолению. По этой причине сейчас активно изучают физиологические эффекты гормонов в оптимальных условиях

выращивания растений и при действии на них абиотических или биотических факторов. Нами было показано ранее, что кратковременное добавление брассиностероидов (БС) в питательную среду способствовало формированию защитных механизмов растений картофеля при хлоридном засолении. Кроме того, накопление лактон- и кетон-содержащих стероидных гормонов изменяется в ответ на действие NaCl. Биосинтез БС кодируется многими генами, среди которых DEETIOLATED 2 (DET2) и CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC DWARF (CPD или CYP45090A1) представляют значительный интерес. Отсутствие продуктов данных генов приводит к недостаточному синтезу стероидных гормонов, что приводит к карликовости растений. Нами было проанализирована экспрессия генов синтеза БС в норме и при хлоридном засолении в листьях растений картофеля.

Оздоровленные растения-регенеранты картофеля в возрасте 21 суток адаптировали 2 недели на питательной среде Мурасиге-Скуга (МС). Дальнейшее выращивание растений проводили на МС в отсутствии или присутствии хлоридного засоления (100 мМ NaCl). Далее методом полимеразной цепной реакции в реальном времени нами был оценен уровень экспрессии генов синтеза брассиностероидов (DET2 и CYP45090A1).

Нами было установлено, что в ответ на хлоридное засоление экспрессия гена DET2 в листьях растений картофеля увеличивалась примерно в 1.5 раза по сравнению с контрольным вариантом, в то время как количество транскриптов гена CYP45090A1 оставалась на уровне контрольных значений. Вероятно, это связано со способностью фермента как окислять субстрат, так и восстанавливать полученный продукт.

Таким образом, хлоридное засоление стимулирует биосинтез брассиностероидов путём увеличения уровня экспрессии гена DET2.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-54-00013 – Бел_а.

АНАЛИЗ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК В ГЕНОМАХ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ НА ПРИМЕРЕ THINOPYRUM PONTICUM (PODP.) Z.-W.LIU & R.-C.WANG.

Никитина Е.А.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
shhket@gmail.com

В ядерном растительном геноме, помимо низкокопийных последовательностей ДНК, широко представлены повторяющиеся последовательности ДНК, такие как: рДНК, тандемно организованные повторы, мобильные генетические элементы. Все эти последовательности исполняют важную роль в структурной организации хромосом, поддержании их стабильности, мобильные генетические элементы вовлечены в видообразование. Повторяющиеся последовательности ДНК могут занимать до 88% генома растения.

Tinopyrum ponticum (Podp.) Z.-W.Liu & R.-C.Wang – многолетнее злаковое растение, имеющее широкий ареал обитания, его геномная конституция: JJJsJs (2n=70). Является ценным видом для отдалённой гибридизации и создания пшенично-пырейных гибридов, отличается устойчивостью к засолению, что позволило создать интрогрессивные устойчивые формы пшеницы.

Для изучения количественного и качественного состава повторяющихся последовательностей ДНК были взяты данные NGS секвенирования на приборе Illumina. Полученные сиквенсы, после предварительной подготовки и отбора, были проанализированы с помощью программы Repeat Explorer.

Результаты кластерного анализа показали, что 3,15% ридов, отобранных для анализа, относятся к TIR транспозонам; 11,7% к LTR Ty1-Copia ретротранспозонам; 34,15% к LTR Ty3-gypsy ретротранспозонам; 0,11% к LINE элементам; 5,8% к LTR элементам; 1% к пластидной ДНК; 1% к рДНК; 1% к сателлитной ДНК и 16% не идентифицированных повторов.

В дальнейшем планируется более детальное изучение репитома, сравнение внутри популяции, поиск геном-специфичных повторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 18-76-00035.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В ОТВЕТ НА ЗАРАЖЕНИЕ FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LINI В СОРТАХ И ЛИНИЯХ ЛЬНА (LINUM USITATISSIMUM L.)

Новаковский Р.О.[1], Дворянинова Е.М.[1,2], Рожмина Т.А.[1,3], Пушкова Е.Н.[1], Большева Н.Л.[1], Дмитриев А.А.[1], Мельникова Н.В.[1]

[1]ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия; [2]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; [3]ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, Россия

0legovich46@mail.ru

Такая ценная сельскохозяйственная культура, как лен обыкновенный (*Linum usitatissumum* L.), насчитывает большое количество сортов, характеризующихся различной устойчивостью к фузариозному увяданию, вызываемому грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. lini. Методами классической генетики у сортов льна показано наличие различных генов устойчивости к этому патогену, однако нуклеотидные последовательности генов устойчивости и молекулярно-генетические механизмы их действия до сих пор неизвестны.

Целью данной работы являлась оценка дифференциальной экспрессии генов при заражении *F. oxysporum* 13 сортов и линий льна, устойчивых к фузариозному увяданию (Дипломат, Смолич, Русич, Росинка, Восход, Ленок, Linota, Currong, г-2101-4-7, Querandi, Atalante, Roja, г-4729) и 2 сортов, чувствительных к данному заболеванию (ТОСТ и АР5). Использованные в работе устойчивые сорта несут гены устойчивости Fu4, Fu5, Fu6, Fu7, Fu8, Fu9, Fu10 и Fu11. Предварительно стерилизованные и пророщенные семена высаживали в пробирки с подготовленной средой Мурасиге-Скуга и растили в режиме 16 часов день/8 часов ночь. Через 5 дней в половину пробирок каждого сорта/линии вносили суспензию штамма № 39 *F. oxysporum* (концентрация – 10^6 конидий/мл), а половину использовали в качестве контроля. Через 48 часов собирали корни растений и замораживали в жидком азоте для последующего выделения РНК. Для каждого сорта/линии РНК выделена не менее чем из 30 растений (15 контрольных и 15 зараженных грибом). Сорта и линии льна, а также штамм гриба-патогена предоставлены Институтом льна (г. Торжок).

Для секвенирования на платформе Illumina подготовлены библиотеки кДНК с использованием набора NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs) согласно протоколу производителя. Концентрацию и качество кДНК-библиотек оценивали на флуориметре Qubit (Thermo Fisher Scientific) и приборе 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). Оценка дифференциальной экспрессии генов в ответ на заражение *F. oxysporum* в исследованных сортах и линиях льна позволит определить гены, вовлеченные в ответ на этот патоген, предложить гены-устойчивости и

молекулярные механизмы их действия. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 16-16-00114.

ИЗМЕНЕНИЕ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ПУТРЕСЦИНА У ВЫСОКОАКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С, ШТАММА ACREMONIUM CHRYSOGENUM ВКМ F-4081D

Нураева Г.К.[1], Январев Д.В.[2], Хомутов М.А.[2], Жгун А.А.[1]
[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, институт Биоинженерии, Москва; [2]Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

nuraevagulgina@mail.ru

Acremonium chrysogenum – продуцент цефалоспорина С (цефС), важнейшей субстанции для биосинтеза антибиотиков цефалоспоринового ряда, 1-5 поколений. В промышленном производстве цефС используют улучшенные штаммы, полученные в результате многораундового мутагенеза и селекции. В нашей работе изучили метаболизм высокоактивного продуцента *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D (HY), у которого выход цефС увеличен более чем в 100 раз по сравнению с исходным штаммом дикого типа *A. chrysogenum* ATCC 11550 (WT). Ранее было показано, что добавление экзогенных полиаминов в процессе ферментации способно дополнительно увеличить продукцию цефС у *A. chrysogenum* HY (Жгун и др., 2015). В связи с этим, важно понять, произошли ли также изменения в эндогенном метаболизме полиаминов у HY штамма, полученного в результате случайного мутагенеза и селекции по увеличению продукции цефС.

Целью данной работы явилось изучение пути биосинтеза путресцина, ключевого полиамина, из которого последовательно синтезируются спермидин и спермин. Методом ингибиторного анализа для HY штамма показали значительное повышение устойчивости к ингибиторам орнитин-декарбоксилазы (ODC), ключевого фермента биосинтеза путресцина. Это эффект продемонстрировали методом разведения капель в агаре на среде Чапека-Докса против двух ингибиторов этого фермента: α-дифторметилорнитина (ДФМО) и 1-аминооокси-3-аминопропана (АРА) в диапазоне концентраций, от 0.25 до 10 мМ. Наряду с этим, штамм *A. chrysogenum* HY продемонстрировал повышенную чувствительность к ингибиторам аргинин-декарбоксилазы (ADC), фермента альтернативного пути биосинтеза путресцина (через образование агматина). Вещества DL-α-дифторметиларгинин (ДФМА) и 1-аминооокси-3-гуанидинопропан (АО-Agm, аминооокси-агматин) ингибировали рост колоний штамма *A. chrysogenum* HY сильнее, чем *A. chrysogenum* WT. Для того чтобы объяснить выявленный феномен у обоих штаммов определили содержание полиаминов в процессе культивирования. Оказалось, что у высокоактивного штамма на HY количество полиаминов увеличено в 3-5 раз. Это могло быть побочным явлением при получении этого штамма методами рендомного мутагенеза, поскольку их повышенное содержание способствует как радиорезистентности, так и устойчивости к окислительным повреждениям, возникающим в процессе классического улучшения штамма. Полученные результаты важны для дальнейшего изучения феномена повышения продукции целевых ВМ при экзогенном введении полиаминов.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-01173.

ПОЛИМОРФИЗМЫ FAD3 ГЕНОВ ЛЬНА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ЖИРНОКИСЛОТНЫМ СОСТАВОМ МАСЛА

Повхова Л.В.[1,2], Кезимана П.[1,3], Пушкова Е.Н.[1], Рожмина Т.А.[1,4], Краснов Г.С.[1], Дмитриев А.А.[1], Мельникова Н.В.[1]

[1]ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия; [2]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия; [3]ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия; [4]ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, Россия

povhova.lv@phystech.edu

Лён (*Linum usitatissimum L.*) – ценная сельскохозяйственная культура, которая выращивается для получения волокна и семян. Сорта льна отличаются составом масла и в зависимости от соотношения жирных кислот используются в фармацевтической, пищевой и полимерной промышленности. Гены семейства FAD3 (fatty acid desaturase) играют ключевую роль в синтезе жирных кислот, катализируя переход линолевой кислоты в линоленовую. Известно, что некоторые аллели этих генов ассоциированы с определенным составом льняного масла, однако имеющаяся информация всё еще ограничена.

На основе коллекции Института льна (г. Торжок) нами сформирована представительная выборка из 84 сортов и линий, отражающая разнообразие жирнокислотного состава льняного масла. Для каждого сорта/линии ДНК выделена из пула по 40-50 проростков. Для определения полных последовательностей генов FAD3A и FAD3B разработан подход с использованием глубокого секвенирования на платформе Illumina, основанный на двухстадийной ПЦР. Качество и концентрацию полученных ДНК-библиотек оценивали на флуориметре Qubit 2.0 (Life Technologies) и биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent Technologies). Секвенирование выполнено на приборе MiSeq с длиной прочтения 300+300 нуклеотидов.

Получено большое покрытие (400x), которое позволило точно определить полиморфизмы в генах FAD3A и FAD3B и оценить внутрисортовую гетерогенность. С помощью приложения VarScan для генов FAD3A и FAD3B обнаружено 91 и 62 полиморфизма соответственно. Корреляционный анализ выявил ассоциации между определенными вариантами генов FAD3 и содержанием линолевой и линоленовой кислот в масле. Все исследованные нами низколиноленовые сорта и линии, кроме одного сорта, содержали как замену триптофана на стоп-кодон в гене FAD3A, так и замену гистидина на тирозин в гене FAD3B, в то время как образцы, содержащие только один из этих полиморфизмов, обладали средним содержанием линоленовой кислоты. Низколиноленовый образец-исключение содержал замену аргинина на стоп-кодон в гене FAD3A.

Полученные результаты необходимы для внедрения в практику маркер-ориентированной селекции льна и являются основой для разработки тест-системы для определения идентифицированных полиморфизмов FAD3 генов, ассоциированных с жирнокислотным составом льняного масла. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-08036.

ЭКСПРЕССИЯ ЛИГАНДОВ СУПЕРСЕМЕЙСТВА TGF-BETA В РАЗВИТИИ ГУБКИ HALISARCA DUJARDINI

Подлевских А.Л., Борисенко И.Е.
ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

ann-vesta201395@yandex.ru

Сигнальный путь TGF-β – один из основных путей межклеточной коммуникации, принимающий участие в развитии многоклеточных животных. Компоненты этого сигнального пути присутствуют у всех Metazoa. Суперсемейство лигандов TGF-β включает в себя несколько семейств (TGF-β sensu stricto, BMP, GDF и т.д.), участвующих в различных процессах эмбрионального и постэмбрионального развития, таких как пролиферация, миграции, дифференцировка клеток, апоптоз. Одним из важнейших процессов в эмбриональном развитии животных, которые регулируются каскадом TGF-β, является становление полярности зародышей. Исследования подобных процессов особенно актуальны для базальных клад многоклеточных, поскольку с их помощью можно сделать предположение о механизмах создания новой в истории животных оси тела. Одной из таких групп является тип *Porifera* (Губки). Ранее участие сигнального пути TGF-β в развитии зародышей губок было показано несколькими исследованиями (Agamska et al., 2007, Leininger et al., 2014). Объектом нашего исследования стала губка *Halisarca dujardini* (класс *Demospongiae*).

Ранее нами были определены последовательности ортологов генов, кодирующих лиганды (8 молекул), рецепторы (6 молекул) и Smad-белки (6 молекул), участвующие в TGF-β-сигналинге, синтезированы зонды для гибридизации *in situ*. На данный момент проведен филогенетический анализ лигандов, из восьми лигандов пять сформировали хорошо поддержанную группу в основании филогенетического дерева, а три были отнесены к TGF-β sensu stricto. Материал для исследования был собран в Белом море с помощью кошкования. Были определены стадии развития, на которых находятся зародыши (ооциты, разные стадии дробления, личинки). Проведена гибридизация in situ с ортологами лигандов, которая показывает наличие их экспрессии на разных стадиях развития губки: некоторые из них экспрессируются диффузно во всем зародыше, некоторые (на стадии формирования предличинки) демонстрируют более интенсивную экспрессию в наружном клеточном слое, некоторые также экспрессируются в клетках эмбриональной капсулы. Ярко выраженной локализации экспрессии в определенных клетках эмбриона выявить не удалось.

Проект выполняется при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00398, с использованием оборудования РЦ РМиКТ СПбГУ.

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МУЖСКИХ И ЖЕНСКИХ ТОПОЛЕЙ POPULUS X SIBIRICA

Пушкова Е.Н.[1], Краснов Г.С.[1], Новаковский Р.О.[1], Повхова Л.В.[1,2], Мельникова Н.В.[1], Дмитриев А.А.[1]

[1]ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;
[2]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

pushkova18@gmail.com

Виды рода *Populus* (тополь) являются модельными объектами для генетических исследований деревьев. Мы использовали деревья вида *Populus x sibirica*, широко распространенного на территории Московского региона. Для получения высококачественных *de novo* сборок геномов мужских и женских растений тополя использовали комбинацию двух платформ – Nanopore с большой длиной прочтений и Illumina с высокоточными короткими прочтениями. Секвенирование на платформе Nanopore требует высокого качества и чистоты ДНК. Однако, получение чистой высокомолекулярной ДНК из растительных клеток является сложной задачей из-за высокого уровня запасных веществ, таких как полисахариды и вторичные метаболиты. Кроме того, эти метаболиты значительно различаются, что делает невозможным использование универсального протокола выделения ДНК. Мы разработали и оптимизировали методологию выделения геномной ДНК из молодых листьев тополя. Данный метод позволил выделять чистую ДНК с соотношением A260/280 в диапазоне 1.77-1.80, соотношением A260/230 в диапазоне 1.7-2.3 и длиной около 50 т.п.н. В результате секвенирования подготовленных ДНК-библиотек с помощью секвенатора MinION для мужского и женского растений тополя получили по 18 млрд. н. со средним N50 около 25 тыс. н., а с помощью секвенатора HiSeq 2500 – 52 млн. парноконцевых прочтений по 125 н. с каждой стороны для мужского растения и 36 млн. прочтений для женского растения. Первичная сборка геномов проводилась на основе данных Nanopore с помощью приложений Shasta, wtdbg2 и Flye. Затем последовательно выполнялась полировка этих сборок с использованием Racon (данные Nanopore) и дважды Pilon (данные Illumina). Наилучшие результаты показал сборщик Shasta. Показатель N50 сборок составил до 0.5 млн. н., а целостность по BUSCO – более 95%.

Использование комбинации длинных прочтений платформы Nanopore и коротких высокоточных прочтений платформы Illumina позволило получить высококачественную сборку геномов мужских и женских растений вида *Populus x sibirica*. Кроме того, мы разработали протокол для выделения чистой высокомолекулярной ДНК из листьев тополя для секвенирования на платформе Nanopore. Анализ высококачественных геномов мужских и женских растений *P. x sibirica* даст возможность найти потенциальные гены, ассоциированные с полом тополя, что поможет установить механизмы его половой детерминации. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-20113 мол_а_вед.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ MI-1 К КОРНЕВОЙ НЕМАТОДЕ У НОВЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ ТОМАТА ВИДА SOLANUM LYCOPERSICUM

Пырсиков А.С., Милюкова Н.А.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

andrey.pyrsikov@yandex.ru

В настоящее время фитопаразитические нематоды – наиболее патогенные из множества паразитов, поражающих сельскохозяйственные культуры. Поражения нематодами ежегодно приводят к потерям больших объемов ценных пищевых и кормовых продуктов. Паразитические нематоды снижают селекционные и товарные качества растительной продукции, вызывают тяжелые отравления жвачных сельскохозяйственных животных и являются одним из основных факторов снижения урожайности. По данным, опубликованным в различных странах, снижение продукции сельского хозяйства от повреждений нематодами, в среднем ежегодно колеблется в пределах 10-20%. В условиях Российской Федерации массовые поражения овощных культур, в частности культурного томата вызывают галловые нематоды рода *Meloidogyne,* вызывающие заболевание – мелойдогиноз. По данным ФАО в нашей стране за 2018 год было произведено более 3 млн. тонн томата, на мировом сельскохозяйственном рынке производство томата занимает 85% от всего объёма возделываемых сельскохозяйственных культур. Галловая нематода вызывает видоизменения корневой системы растения, нарушает его рост и развитие, тем самым нанося значительный ущерб урожаю. Перед селекционерами стоит важнейшая задача по выведению новых сортов томата, несущих гены устойчивости к мелойдогинозу, что значительно сократит потери урожая. Одним из таких генов является ген Mi-1.

Цель работы состояла в анализе коллекции культурного томата вида Solanum lycopersicum и выявления образцов, устойчивых к мелойдогинозу, с помощью молекулярных маркеров. Для обнаружения аллелей гена Mi-1 из листьев 24 образцов томата микрометодом в пробирках типа Eppendorf выделили ДНК. Концентрация ДНК в рабочем растворе составляла 40 нг/мкл. Для ПЦР использовали пару праймеров к SCAR маркеру гена Mi-1 (Mi23F: tggaaaaatgttgaatttcttttg и Mi23R: gcatactatatggcttgtttaccc). Амплифицированные фрагменты для детектирования результатов разделяли электрофорезом в 1,5 %-м агарозном геле в 1 х ТАЕ-буфере, гели окрашивали бромистым этидием и идентифицировали результаты электрофореза в трансиллюминаторе. Были визуализированы участки ДНК размером 430 п.н., которые свидетельствовали о неустойчивости образцов к мелойдогинозу и 380 п.н., свидетельствующие об устойчивости исследуемых образцов к данному заболеванию. В результате проведённой работы было выявлено, что из 24 исследуемых образцов культурного томата обнаружено шесть устойчивых к корневой нематоде, три из которых гомозиготные и три – гетерозиготные, остальные 18 проанализированных образцов были восприимчивы к исследуемому заболеванию.

ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТЬ СЫВОРОТОЧНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А, ИНДУЦИРОВАННАЯ ГЕМОМ

Раззоренова Е. А.[1], Астраханцева И. В.[1,2], Горшкова Е. Н.[1], Василенко Е. А.[1], Димитрова П.[3], Василев Ч. Л.[3]

[1]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; [2]Университет Сириус, Сочи, Россия; [3]Институт микробиологии им. Стефана Ангелова, София, Болгария

ovcha15@gmail.com

Полиспецифичность считается неотъемлемым свойством природных антител. Это свойство позволяет ограниченному набору иммуноглобулинов реагировать с большим разнообразием патогенов и модифицированных эндогенных антигенов. Ранее было описано, что комплекс протопорфирина IX и железа, или гем, может индуцировать полиреактивность иммуноглобулинов класса G (IgG). При этом усиление антигенсвязывающего потенциала позволяет им более эффективно выполнять защитную и иммунорегуляторную функцию. Неизученным остается вопрос индуцирования полиспецифичности иммуноглобулина А (IgA), хотя для данных антител характерен более широкий репертуар антигенных взаимодействий. Поэтому целью данной работы явилось изучение способности гема индуцировать полиспецифичность сывороточного IgA в отношении бактериальных антигенов и аутоантигенов.

В работе использовали сывороточный мономерный иммуноглобулин А (mIgA, CSL Behring AG, Switzeland). В качестве антигенов использовали лизаты бактериальных штаммов (*Escherichia coli* (штамм BL21) и *Staphylococcus aureus*) и опухолевых клеток человека линии Colo205. mIgA инкубировали с растворами гема в концентрациях 0 мкМ, 0,156 мкМ, 0,3125 мкМ, 0,625 мкМ, 1,25 мкМ, 2,5 мкМ, 5 мкМ и 10 мкМ в течение 30 мин при 4°С. Затем, с помощью метода Вестерн Блотт-анализа, была определена реактивность обработанного и необработанного гемом mIgA против антигенов. Для этого был проведен электрофорез антигенных белков в полиакриламидном геле, а затем произведен перенос антигенов на нитроцеллюлозную мембрану (BioRad, США). Для детекции образовавшихся на мембране комплексов IgA с антигенами использовали антитела, специфичные к человеческому IgA, конъюгированные с щелочной фосфатазой (Invitrogen, США).

Было показано, что обработка mIgA раствором гема прямо пропорционально увеличивает эффективность его связывания с бактериальными антигенами *Escherichia coli* BL 21 и *Staphylococcus aureus*, начиная с концентрации гема 0,3125 мкМ и выше. Аналогично, mIgA, обработанный гемом в концентрации 0,156 мкМ и выше, эффективнее связывался с антигенами клеток линии Colo205.

Таким образом, было установлено, что гем может индуцировать полиспецифичное связывание mIgA как бактериальных антигенов, так и аутоантигенов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-54-18018 Болг_а.

ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ Al_2O_3 НА КЛЕТОЧНУЮ ЛИНИЮ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЁГКОГО ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА (ФЛЭЧ-104)

Росинский А.Ю., Чернухина С.А., Короткова А.Д.
ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

rosinskij@yandex.ru

Оксид алюминия широко востребован в авиационной, керамической, химической, фармацептической и биохимической промышленности. Наноразмерные частицы Al_2O_3 также обладают обширным диапазоном использования. Отмечено, что они способны оказывать цитотоксическое и генотоксическое воздействие на биологические объекты. В то же время данные по свойствами наночастиц Al_2O_3 in vitro противоречивы. Целью исследования была оценка способности наночастиц Al_2O_3 вызывать повреждения ДНК в клетках фибробластов легкого эмбриона человека.

Материалом для исследования послужила клеточная линия ФЛЭЧ-104, экспонируемая с различными концентрациями 8 нм частиц оксида алюминия. Предварительно нарощенную культуру ФЛЭЧ – 104 рассаживали в культуральные планшеты. Посевная концентрация составила 60000 на см² . В качестве ростовой среды использовали среду Игла с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и пенициллин-стрептомицина. Клетки инкубировались 48 часов. После этого сменили ростовую среду и внесли Al_2O_3 до конечных концентраций: 0,00025 и 0,005 г/мл. Инкубировали 72 часа. В дальнейшем клетки снимали с монослоя и подвергали пробоподготовке. Уровень повреждения ДНК оценивали с помощью метода ДНК-комет в щелочной модификации (Dhawan, 2009). Оценку параметров ДНК-комет «процент содержания ДНК в хвосте кометы» и «момент Оливе» производили в программе CometScore. Для каждого параметра рассчитывали среднее значение и доверительный интервал среднего. Сравнение параметров между группами проводили с помощью критерия Манна-Уитни.

В зависимости от уровня экспозиции наблюдалась дозазависимая тенденция к увеличению параметров ДНК-комет. В контрольной пробе “% ДНК в хвосте кометы” составил 6,53[6,27-6,79], «момент Оливе» 0,94[0,90-0,98]. В пробах, клетки, которые были обработаны Al_2O_3 в концентрации 0,00025 г/мл, отмечено значимое увеличение двух изучаемых параметров по сравнению с контролем (7,95[7,36-8,54] ($p<0,01$) и 1,11[1,02-1,19] ($p<0,001$)). Наибольший уровень повреждения ДНК наблюдался в пробах с высокой (0,005 г/мл) концентрацией нанообъектов (7,78[6,96-8,60] ($p<0,05$) и 1,15[1,01-1,28] ($p<0,01$).

На основе полученных результатов, а так же проведенных ранее исследований, можно сделать вывод, что наноразмерные частицы Al_2O_3, вероятно, оказывают генотоксическое воздействие на биологические объекты. Генотоксические свойства, вероятно, связаны с тем, что наночастицы оксида алюминия способны индуцировать активные формы кислорода.

Работа выполнена при финансовой поддержки грантового проекта РФФИ №19-05-50114.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Садыкова Э.З.[1], Костанова Е.А.[1], Бирюкова М.И.[1], Бычкова А.В.[1], Мурадова А.Г.[2]
[1]ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия;
[2]ФГБОУ ВО Российский химико- технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия

sadykova.leonora@mail.com

В настоящее время системы на основе магнитных наночастиц (МНЧ) используют во многих областях биомедицины: для адресной доставки лекарств, для гипертермии, для магнитно-резонансных исследований, а также для биосепарации макромолекул. Так, выделение белков крови для диагностики патологий системы гемостаза может быть выполнено с помощью МНЧ. В качестве модельного белка в работе был выбран плазминоген, профермент плазмина, участвующего в фибринолизе.

Целью работы является создание систем на основе МНЧ и антител для извлечения белка фибринолитической системы крови плазминогена путем магнитной сепарации из раствора и проведение качественного и количественного описания эффективности извлечения белка.

В работе использованы МНЧ с -NH_2 группой на поверхности; МНЧ, покрытые SiO_2 и модифицированные NH2-группами; глиоксаль-активированные МНЧ; мышиные моноклональные антитела к плазминогену; мышиные моноклональные антитела к плазминогену, конъюгированные с пероксидазой хрена; плазминоген человека.

При выполнении работы с применением различных МНЧ были созданы системы для извлечения плазминогена in vitro. Процесс создания частиц и извлечения плазминогена состоял из нескольких стадий, на каждой из которых производили качественную и количественную оценку белка в растворе и на поверхности частиц. В результате отработки каждой стадии были подобраны оптимальные условия модификации и использования частиц. После извлечения плазминогена из раствора активность плазминогена подтверждали с помощью хромогенного субстрата. Для оценки присутствия плазминогена воспроизводили “сэндвич”-вариант иммуноферментного анализа с использованием магнитных частиц в качестве твердой фазы. Регистрируемый сигнал ТМБ-реакции позволил доказать эффективность системы для извлечения плазминогена. С целью устранения неспецифического связывания белков поверхностью МНЧ был использован полиэтиленгликоль (м.м. 2000 и 15000).

Таким образом, в работе было охарактеризовано связывание белков в реакциях антиген-антитело с участием плазминогена в качестве антигена и выполнен подбор оптимального pH буфера для проведения реакции связывания, получены образцы магнитных частиц с иммобилизованными антителами на поверхности. Доказана эффективность полученных частиц в извлечении модельного белка - плазминогена из раствора, а также подобраны условия элюции плазминогена с поверхности частиц.

Исследование выполняется при финансовой поддержке РНФ, проект № 18-73-00350.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ 5’-НЕТРАНСКРИБИРУЕМОГО УЧАСТКА ДНК ИЗ ОБЛАСТИ ГЕНА ФАКТОРА ЭЛОНГАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 1 АЛЬФА (EEF1A1) КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА (CHO) И ФРАГМЕНТА КОНКАТЕМЕРА ДЛИННОГО КОНЦЕВОГО ПОВТОРА ВИРУСА ЭППШТЕЙНА-БАРР (EBVTR) В ВЕКТОРНЫХ ПЛАЗМИДАХ СЕМЕЙСТВА P1.1

Синегубова М.В, Орлова Н.А., Ковнир С.В., Воробьёв И.И.
ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

mvsineg@gmail.com

Использование векторных плазмид семейства p1.1, содержащих промотор гена фактора элонгации трансляции 1 альфа (EEF1A1) китайского хомячка (CHO), протяженные области нетранскрибируемой ДНК, а также фрагмент конкатемера длинного концевого повтора вируса Эппштейна-Барр (EBVTR), позволило нам ранее получить ряд фармацевтически значимых белков в культуре клеток CHO с необычно высоким титром. В данной работе мы исследовали возможную роль двух элементов данной плазмиды - 5`-нетранскрибируемой области гена EEF1A1 и повтора EBVTR.

Для изучения влияния 5`-нетранскрибируемой ДНК, предшествующей коровой области промотора EEF1A1, были получены генетические конструкции с делетированной 5`-областью в трех вариантах (кодовые названия Tr1, Tr2 и Tr3), содержащие ген модельного зеленого флуоресцентного белка (eGFP). Делетируемые области ДНК, согласно данным ChiP-Seq анализа ортологичного гена человека, содержали три различных участка связывания транскрипционных факторов. После получения стабильно трансфицированных данными плазмидами поликлональных популяций клеток CHO и одностадийной амплификации целевых генов под действием 2 мкМ метотрексата было установлено, что во всех случаях доля eGFP в общем внутриклеточном белке увеличилась с примерно 0,5% до 4%, что соответствовало увеличению копийности вставки в геноме по оценке методом ПЦР-РВ. Для вариантов Tr1 и Tr2 увеличение уровня экспрессии eGFP было достоверно выше, чем в исходном варианте без делеций в 5’-области. При последующей культивации полученных клеточных популяций в неселективной среде в течение 70 дней было установлено, что уровень экспрессии целевого гена не падает для вариантов делеций Tr3 и Tr2, то есть при делеции дальнего от промотора и среднего участков связывания транскрипционных факторов (около 2,5 т.п.о.).

Для исследования точной роли фрагмента EBVTR были получены контрольные генетические конструкции на основе промотора цитомегаловируса (CMV) с наличием и отсутствием EBVTR. При помощи методов исследования, описанных выше, было установлено, что снижение уровня экспрессии целевого белка для клеток, не содержащих EBVTR, происходит быстрее, чем в его присутствии, что подтверждается данными проточной цитометрии. Одновременно с этим было установлено, что темп падения уровня экспрессии гена eGFP в случае конструкции на основе промотора EEF1A1 ниже, чем в случае конструкции со стандартным промотором CMV. И нетранскрибируемая область гена EEF1A1, и фрагмент EBVTR замедляют падение уровня экспрессии целевого гена при продолжительной культивации клеток в неселективной среде, и их действие является аддитивным.

УВЕЛИЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ В CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM С ПОМОЩЬЮ ВНЕСЕНИЯ ДЕЛЕЦИИ В ГЕН PONA ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИСТЕМЫ CRISPR-CPF1.

Суворов Д.А.[1,2], **Дербиков Д.Д.**[1]

[1]ФГБУ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия

dimitriui@mail.ru

В биотехнологии для получения многих аминокислот широко используются бактерии *Corynebacterium glutamicum*. Однако используемые в промышленности штаммы-продуценты обычно получают с помощью отбора после ненаправленного мутагенеза. В этом случае геном получаемого штамма обычно плохо охарактеризован и может содержать случайные мутации, которые способны влиять на способность к биосинтезу целевого продукта. Для решения этой проблемы требуется перейти к разработке штаммов с помощью таких современных методов направленного геномного редактирования, как CRISPR-Cpf1. К сожалению, клетки *C. glutamicum* плохо поддаются редактированию с помощью данных методов из-за низкого значения исходной эффективности трансформации по отношению к экзогенной ДНК.

Чтобы повысить эффективность трансформации (ТЕ), мы ввели в геном *C. glutamicum* ATCC13869 делецию по гену ponA, кодирующему фермент, отвечающий за синтез пептидогликанового слоя клеточной стенки. Делеция данного гена позволила получить штамм *C. glutamicum* ATCC13869 ΔponA, электрокомпетентность которого возросла относительно исходного в 150±7 раз. Интересно, что данная делеция не привела к подобному эффекту для клеток C. glutamicum ATCC13032 – в данном штамме наблюдалось возрастание ТЕ только в 2,5±0,2 раза.

Чтобы продемонстрировать наблюдаемое увеличение электрокомпетентности, в геном *C. glutamicum* ATCC13869 ΔponA нами была введена делеция гена ilvA с помощью плазмиды pJYS3, содержащей систему CRISPR-Cpf1. Ген ilvA в *C. glutamicum* кодирует треониндегидратазу, а его делеция приводит к повышению биосинтеза валина за счет снижения расхода пирувата на биосинтез изолейцина. После культивирования в течении 48 часов на среде, содержащей гидролизат пшеничного глютена, для ATCC13869 и ATCC13869 ΔponA продуктивность по валину составляла 3 г/л, а для ATCC13869 ΔponA ΔilvA – 18 г/л. При этом электрокомпетентность полученного штамма возросла относительно исходного в 3140±250 раз, что может быть использовано для дальнейшего редактирования генома.

Таким образом, нами было показано, что делеция гена ponA в геноме *C. glutamicum* ATCC13869 позволяет значительно повысить электрокомпетентность клеток этого штамма к экзогенной ДНК и открывает новые перспективы для использования методов точного геномного редактирования в отношении коринебактерий.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ОДНОЛЕТНЕГО (HELIANTHUS ANNUUS L.) В ОТВЕТ НА ОБРАБОТКУ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТОЙ.

Тен А.А., **Киров И.В.**, **Меркулов П.Ю.**
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

arteym1998ten@icloud.com

Ретротранспозоны - мобильные элементы ДНК способные к саморепликации и вставке в геномную ДНК. В нормальном состоянии активность большинства ретротранспозонов подавляется различными механизмами регуляции экспрессии. Однако известно, что влияние стрессовых факторов способно вызывать экспрессию определенных ретротранспозонов растений. Так, влияние различных фитогормонов индуцировало активность FaRE1 ретротранспозона у клубники (Ping et al. 2011).

Биоинформатически полученные данные об экспрессии ретротранспозонов у подсолнечника однолетнего (*Helianthus annulus*) показали индукцию экспрессии ретротранспозона, названного ABATE, после обработки абсцизовой кислотой.

Целью работы является оценка экспрессии данного ретротранспозона в проростках подсолнечника, обработанных разной концентрацией абсцизовой кислоты и проверка его мобильной активности.

В рамках работы был подготовлен растительный материал в нескольких вариантах: обработанный АБК с концентрацией 10^-3, 10^-6, 10^-9 и без обработки.

Исследование показало высокую экспрессию ретротранспозона ABATE как в обработанных, так и в контрольных образцах. Кроме того, результаты ПЦР на кДНК показали наличие 3 изоформ, что свидетельствует о прохождении сплайсинга, и полиаденилирование транскриптов ретротранспозона.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-2360.2019.4.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ У МУТАНТОВ CHD1 DROSPHLA MELANOGASTER

Торощина А.В., **Конев А.Ю.**, **Ильина Ю.А.**
ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ Курчатовский институт, Гатчина, Россия

darkagness@mail.ru

В эукариотических клетках генетический материал присутствует в виде нуклеопротеинового комплекса (хроматина), нити ДНК которого накручены на нуклеосомы, которые состоят из гистоновых белков. Для реализации генетической информации необходимо освободить необходимые участки ДНК от нуклеосом, а после, восстановить их нуклеосомную последовательность. Удаление и сборка нуклеосом осуществляется гистоновыми шаперонами и АТФ-зависимыми хроматин ремоделирующими факторами. Впервые *in vivo* участие в сборке хроматина АТФ-зависимых факторов было показано для белка CHD1 [1]. CHD1 (хромодомен содержащая ДНК-связывающая геликаза) – это консервативная SNF2-подобная АТФ-аза. В человеческом геноме расположены 2 гомолога CHD: CHD1 и CHD2, являющиеся онкогенами. Как сверхпродукция белка CHD1, так и гомозиготные делеции гена CHD1

являются причиной некоторых типов онкологии простаты [2], что делает белок CHD1 возможной терапевтической мишенью. В геноме дрозофилы был найден всего один ген CHD1. Отсутствие или дисфункция белка CHD1 провоцирует нарушение сборки хроматина в мужском пронуклеусе и, как следствие - нежизнеспособность эмбрионов дрозофилы. Известно, что CHD1 необходим для включения вариантного гистона H3.3 в репликативно-независимой сборке хроматина [1]. CHD1 принимает участие в регуляции транскрипции, в политенных хромосомах он колокализуется с элонгирующей формой РНК полимеразы II, неоходим при работе РНК полимеразы I [3].

Ранее в нашей лаборатории было показано, что сверхпродукция нативной и каталитически неактивной форм белка CHD1 вызывает серьезную деформацию политенных хромосом в слюнных железах дрозофилы. На первом этапе были исследованы гены из пуфированного района 3C: Sgs4, ng2 и Pig1. В данной работе мы исследовали влияние сверхэкспрессии CHD1 вегонативной, доминант-негативной форме и у нуль-мутанта на транскрипцию генов из районов с нарушенным пуффированием политенных хромосом. В работу включены гены экдизонового ответа Eig71Eb, Eig71Eg и Eig71Ee, расположенные в районе 71E.

Список литературы:

1. Konev A.Y., M. Tribus S.Y., Park V., Podhraski C.Y. et al. CHD1 motor protein is required for deposition of histone variant H3.3 into chromatin in vivo. Science. 2007. V. 317(5841). P. 1087-1090.

2. Rodrigues L.U., Rider L., Nieto C., Romero L. et al. Coordinate loss of MAP3K7 and CHD1 promotes aggressive prostate cancer. CancerRes. 2015. V. 15, 75(6). P. 1021-34.

3. Mc DanielI. E., LeeJ. M., Berger M.S., Hanagami C.K., Armstrong J.A. Investigation of CHD1 function in transcription and development of Drosophila melanogaster. Genetics. 2008. V. 178(1). P. 583-587.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ И ТРАНСКРИПЦИЯ ЦЕНТРОМЕР-СПЕЦИФИЧНОГО ГИСТОНА (CENH3) РАСТЕНИЙ, КАК МИШЕНИ ДЛЯ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Уварова А.Г., Киров И.В.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

uvar.lika.96@gmail.com

В настоящее время генетическое редактирование является самым перспективным инструментом в создании форм растений с измененными генами. В основу геномного редактирования заложены природоподобные механизмы высокоспецифичного внесения мутаций в определенную область ДНК. Благодаря своей точности и универсальности, редактирование позволяет сократить селекционный процесс, делая его более наукоемким направлением.

Центромер-специфичный гистон H3 (CenH3) необходим для нормального функционирования такого участка хромосомы, как центромера. По структуре этот ген содержит N-концевой хвост, который выступает из нуклеосомы и является мишенью для посттрансляционной модификации, и С-концевой домен, который взаимодействует с ДНК и другими гистонами с образованием нуклеосомы. Этот ген привлёк особое внимание селекционеров, так как растения с изменённой последовательностью белка CENH3 могут являться гаплопродюсерами. Таким образом, редактирование данного гена представляет особый интерес для потенциального получения линий гаплопродюсеров и создания чистых линий, необходимых для ведения селекции F_1 гибридов. Однако до сих пор не

было получено ни одного культурного растения с мутантным геном cenh3 в гомозиготном состоянии. И одной из причин этого является выбор витальных сайтов для мутагенеза.

Целью этой части работы является выявление неконсервативных сайтов белка CENH3 подсолнечника с помощью анализа этого белка в сотнях видах растений, оценка экспрессии гена CenH3, подбор и тестирование гРНК для его CRISPR/Cas9 редактирования.

Для оценки экспрессии центромер-специфичного белка на полученную последовательность CenH3 были подобраны праймеры для амплификации целевого гена, а также выделена тотальная РНК из нескольких сортов подсолнечника. Методом ОТ-ПЦР синтезирована кДНК и показа экспрессия целевого гена. Был разработан и использован новый подход 1KPCons для глубокой оценки сайтов консервативности белка на основе быстрой идентификации и сравнения гомологичных белков у сотен различных видов растений. Использование данного подхода на примере белка CENH3 позволило нам идентифицировать и сравнить последовательности данного белка у 393 видов растений. 1KPCons позволил найти вариабельные сайты. Благодаря детальному исследованию варибельной части центромер-специфичного белка были подобраны и протестированы *in vitro* три гРНК для геномного редактирования, которые снижают вероятность возникновения летальных мутаций.

ВЛИЯЕТ ЛИ ДЕКОДИРУЮЩАЯ ТРАНСПОРТНАЯ РНК НА УСТОЙЧИВОСТЬ ТРАНСЛЯЦИИ К ЭРИТРОМИЦИНУ?

Хабибуллин Н.Р., Колб В.А.
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

khabibullin.nikita.2012@post.bio.msu.ru

Макролидные антибиотики ингибируют биосинтез белка, связываясь с рибосомой в рибосомном туннеле, между пептидилтрансферазным центром и сужением, образованным белками L4 и L22. В традиционной модели действия макролидов постулируется, что эти антибиотики останавливают трансляцию путем простого механического «закупоривания» рибосомного туннеля, в результате которого трансляция на рибосомах, связавших макролид, продолжается лишь до тех пор, пока растущий пептид не достигнет участка связывания макролида. После этого из рибосомы выпадают пептидил-тРНК, несущие короткие олигопептиды длиной от 4 до 9 а.о. в зависимости от транслируемой матрицы, то есть остановка трансляции происходит на ранних этапах элонгации. Однако классическая модель была значительно трансформирована, поскольку значительное количество данных не может быть ею объяснено. Так, модель не объясняет, почему синтез полифенилаланина не ингибируется эритромицином – о том, что трансляция в присутствии антибиотика не изменяет длину синтезируемых полифенилаланиновых цепей, известно давно.

Задачей настоящего исследования является установление причин устойчивости синтеза полифенилаланина на рибосомах, содержащих эритромицин. Мы решили выявить компонент фенилаланил-тРНК^{Фен}, обеспечивающий устойчивость трансляции в присутствии макролидов. Таким компонентом может служить либо аминокислотный остаток, либо полинуклеотид тРНК. Для решения этой задачи мы использовали рибозимы (так называемые *eFx* и *dFx*), позволяющие присоединять различные аминокислотные остатки (по выбору исследователя) к тРНК разной специфичности (не соответствующей присоединённому остатку). Благодаря этим рибозимам нам удалось получить такие аминоацил-тРНК, как фенилаланил-тРНК^{Ала} и аланил-тРНК^{Фен}. Выход реакции

аминоацилирования, который составил приблизительно 50%, оценивали с помощью денатурирующего электрофореза в полиакриамидном геле в кислых условиях.

Использование методики аминоацилирования с помощью рибозимов в дальнейших экспериментах необходимо для понимания механизма действия макролидов и основ функционирования рибосомы, что, в свою очередь, важно для разработки новых антибиотиков.

ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНА GBSS КАРТОФЕЛЯ

Хижная А.В.[1], Тарлачков С.В.[2], Дьяченко О.В.[2], Захарченко Н.С.[2], Шевчук Т.В.[2]
[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия

a.khizhnaia@gmail.com

Геномное редактирование представляет собой мощный инструмент в исследовании функциональной геномики растений. Использование системы CRISPR/Cas9 для направленной модификации генома эукариот широко используется как для получения экспериментальных моделей, так и в прикладной биотехнологии. В настоящее время методология геномного редактирования переориентируется от получения примитивных нокаутов к тонкой модификации метаболических путей и регуляторных связей, для чего выбираются последовательности-мишени в геноме, изменения которых наименьшим образом окажут влияние на организм в целом.

В современной промышленности большая часть крахмала используется в производстве бумаги, в текстильной промышленности и для производства биодеградируемых пластиков и клея. Во всех этих производствах, как и в пищевом, наиболее востребован крахмал с низким содержанием линейной формы крахмала — амилозы, поэтому сорта картофеля с пониженным содержанием амилозы представляются наиболее ценными для промышленной переработки.

Данная работа направлена на сравнение эффективности различных точек мутагенеза в гене гранул-связанной синтазы крахмала gbss. Предлагаемый подход позволит получать растения с минимальным вмешательством в метаболические пути растения. В качестве стандартной мишени был выбран фрагмент, кодирующий каталитический центр гена gbss в седьмом экзоне. В качестве альтернативной мишени предлагается канонический фрагмент промотора в 5’-области гена gbss. Для использования в “двойной никазной” системе CRISPR/Cas9 (D10A) были сконструированы специфичные gRNA. Последовательности соответствующие указанным gRNA были клонированны в вектор pTX179. Результат клонирования подтвержден секвенированием. Данная конструкция была перенесена в клетки агробактерий и полученным рекомбинантным штаммом проведена трансформация листовых эксплантов картофеля. В настоящее время проводится отбор и анализ трансформированных растений картофеля.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ № 18-08-00752 и № 19-08-00375.

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР WHIA ОБЕСПЕЧИВАЕТ ОБРАТНУЮ СВЯЗЬ МЕЖДУ ТРАНСЛЯЦИЕЙ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИМ МЕТАБОЛИЗМОМ

Фисунов Г.Ю., Евсютина Д.В., Цой Е.А
ФГБУ ФХМ ФМБА Федеральный Научно-клинический центр физико-химической медицины, Москва,Россия

eatsoy2012@gmail.com

WhiA - это консервативный белок, который присутствует во многих прокариотах, в том числе и в бактериях с редуцированным геномом - микоплазмах (класс *Mollicutes*). Он состоит из двух доменов, соединенных гибким линкером. Его С-концевой участок гомологичен HTH-доменам, присутствующим в структурах транскрипционных сигма-факторов, а N-концевой домен (HEN) гомологичен хоминг-эндонуклеазам.

Функции WhiA в целом непонятны за исключением некоторых частных случаев. Например, у *Streptomyces spp* он участвует в регуляции споруляции, а у *Bacillus subtilis* в поддержании структуры хроматина. WhiA входит в состав четырёх транскрипционных факторов, консервативных в большинстве геномов бактерий класса *Mollicutes*. Анализ консервативности WhiA и оперонной структуры у бактерий позволяет предположить, что консервативной мишенью WhiA является оперон, кодирующий рибосомные и некоторые другие белки (оперон rpsJ).

В данной работе мы изучали функцию гомологичных белков WhiA из *Bacillus subtilis* и *Mycoplasma gallisepticum*. В ходе исследований было подтверждено, что каждый из доменов WhiA способен распознавать и связывать определенную последовательность. При этом HTH домен распознаёт основной мотив GAYACRCY (Y=C или T, R = A или G), а HEN отвечает за взаимодействие с дополнительным.

Мы доказали, что белки относящиеся к этому семейству чувствительны к колебаниям концентраций макроэргов АТФ и АДФ. Например, WhiA *Bacillus subtilis* изменяет сродство к ДНК в присутствии как АТФ, так АДФ. При этом, за данный эффект отвечает HTH домен. WhiA из *M. gallisepticum*, в отличии от белка из классического модельного объекта, реагирует только на изменение концентрации АТФ. Увеличение в клетке концентрации нуклеотида приводит к диссоциации HEN домена от ДНК в районе дополнительного мотива (GTTGT). В ходе работы было доказано, что WhiA, синтезирующийся в *Mollicutes*, является транскрипционным репрессором. При этом за репрессорную функцию отвечает HEN домен. В ответ на неблагоприятные условия, когда концентрация АТФ в клетке снижается, белок связывается с ДНК в промоторной зоне rpsJ, тем самым не давая полимеразе осуществлять транскрипцию генов, кодирующих рибосомные белки. При высокой концентрации АТФ HEN-домен диссоциирует и открывает промотор. Также WhiA из *M. gallisepticum может* участвовать в организации хроматина, связывая консервативные мотивы, между которыми находится несколько сотен оснований, с помощью HTH и HEN доменов, в результате чего могут образовываться петли ДНК.

ИДЕНТИФИКАЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАБОТУ РЕГУЛЯТОРНЫХ ДНК-ЭЛЕМЕНТОВ МЕТОДОМ IP/MS

Четверина Д.А., Михайлова А.В., Ломаев Д.В., Ерохин М.М.
ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

daria.chetverina@gmail.com

В процессе развития и дифференцировки клеток устанавливаются индивидуальные паттерны транскрипции генов. Контроль активности генов, контролируемых РНК-полимеразой II, зависит от ДНК-регуляторных элементов: энхансеров, элементов ответа белков группы Polycomb (Polycomb response elements, PREs) и инсуляторов. Энхансеры активируют, а PREs репрессируют транскрипцию генов. Инсуляторы способны ограничивать активность энхансеров и сайленсеров. ДНК-регуляторные элементы разных классов содержат сайты связывания для многих разных ДНК-связывающих факторов транскрипции, которые в свою очередь привлекают мультисубъединичные регуляторные белковые комплексы. Последние исследования позволяют предположить, что в настоящее время охарактеризована только малая часть ДНК-связывающих факторов регуляторных элементов. Идентификация неизвестных ДНК-связывающих белков имеет решающее значение для понимания принципов рекрутирования белковых комплексов на ДНК и для установления механизмов контроля транскрипции регуляторными элементами. Однако современные методы идентификации ДНК-связывающих компонентов являются трудоемкими и малоэффективными для массового поиска новых транскрипционных факторов, вовлеченных в функционирования элементов определенного класса.

В данной работе мы протестировали эффективность использования метода иммунопреципитации белковых экстрактов за антитела к ранее идентифицированным функциональным белковым факторам с последующим высокочувствительным пептидным секвенированием (IP/MS) для поиска их ДНК-связывающих транскрипционных партнеров. Данный подход был примерен для двух известных белков группы Polycomb *Drosophila*: dSfmbt и GAF. В результате анализа нами был найден ряд белков, имеющих домены содержащие мотивы цинковые пальцы C2H2-типа, которые являются потенциальными ДНК-связывающими факторами PRE. Для четырех факторов методом дрожжевого двугибридного скрининга было подтверждено наличие прямых партнеров среди белков группы Polycomb, а также продемонстрирована ассоциация с элементами PRE методом X-ChIP. Таким образом, данный подход может быть использован для поиска транскрипционных факторов различных ДНК-регуляторных элементов. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 18-74-10091.

ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ИММУНОГЛОБУЛИН А КИСЛЫМ pH В ПРОЦЕССЕ ОЧИСТКИ СНИЖАЕТ ЕГО СПОСОБНОСТЬ К ИНДУКЦИИ ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТИ В ЩЕЛОЧНОЙ СРЕДЕ

Чурина Т.С.[1], Горшкова Е.Н.[1], Василенко Е.А.[1], Старкина О.В.[1], Астраханцева И.В.[1,2], Димитрова П.[3], Василев Ч.Л.[1]

[1]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; [2]Университет Сириус, Сочи, Россия; [3]Институт микробиологии им. Стефана Ангелова, София, Болгария

tchurina.ttn@yandex.ru

Около 20% иммуноглобулинов человека в нативном состоянии обладают свойством полиспецифичности – способностью связывать несколько структурно неродственных антигенов. Ранее было показано, что полиспецифичность сывороточного иммуноглобулина А (IgA) можно индуцировать, подвергнув его воздействию ряда дестабилизирующих агентов, одним из которых являлся буфер с щелочным pH. Известно, что при некоторых способах очистки нативный IgA хоть и кратковременно, но подвергается воздействию буферов с кислыми или щелочными значениями pH. Однако, неизвестно, влияет ли это на способность IgA приобретать после этого новые специфичности. Поэтому целью данной работы стало исследование способности щелочных буферов индуцировать полиспецифичность иммуноглобулина А, подвергнутого в процессе очистки воздействию кислого pH.

В эксперименте был использован сывороточный IgA (Имтек, Россия), подвергнутый кратковременному воздействию кислого pH (pH 2.5) в ходе элюции при очистке хроматографическим методом.

Эффективность связывания IgA с рекомбинантными вирусными антигенами (вирус гепатита D, ВИЧ1, ВИЧ2) исследовали с помощью метода непрямого иммуноферментного анализа (ИФА), для бактериальных (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis*) и опухолевых (линия аденокарциномы толстой кишки человека Colo205) антигенов использовали метод иммуноблоттинга. Антигены, разделенные по молекулярной массе и иммобилизованные на нитроцеллюзной мембране, инкубировали с модифицированным IgA, обработанным в течение 10 минут буферами с pH 7.0 (контроль), pH8.5 и 9.5, а затем переведенным в нейтральную среду (pH 7.5). Образование комплексов детектировали с помощью анти-IgA-антител (Abcam, Великобритания), конъюгированных с пероксидазой хрена, и субстрата, содержащего пероксид водорода.

Полученные результаты показали, что буферы с щелочными pH способны расширять спектр связываемых IgA антигенов *M. tuberculosis*, при этом его связывающий потенциал в отношении остальных бактериальных и опухолевых антигенов снижался. В то же время, воздействие щелочных буферов приводило к снижению способности IgA связывать вирусные антигены в 2 раза относительно контроля.

Таким образом, кратковременная обработка IgA кислым pH в процессе его очистки оказывает негативное воздействие на его способность в дальнейшем приобретать полиспецифические свойства под влиянием щелочных буферов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-54-18018 Болг_а.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ СОРТООБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ГЕНАМ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ (LR12; LR25)

Шингалиев А.С.[1,2], Мерзляков В.А.[3], Дудников М.С.[1], Рубец В.С.[2], Соловьев А.А.[1]

[1]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; [3]ФГБОУ ВО Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

Kronstein491@yandex.ru

Пшеница – одна из важнейших зерновых культур возделываемая во всём мире. Посевные площади яровой пшеницы только в России составляют более 12млн га. Такие условия достаточно благоприятные для распространения инфекционных болезней, одной из которых является листовая ржавчина. Листовая (бурая) ржавчина – одно из наиболее опасных и вредоносных заболеваний пшеницы, которое ослабляет растение, а в следствие этого падает качество и количество получаемой продукции. Потери урожая могут составлять до 50%, ключевыми моментами является: фаза поражения, агрессивность расы, устойчивость сорта и условия окружающей среды. Поэтому основной задачей селекции в настоящее время является поиск эффективных генов устойчивости и их комплексное сочетание в растении.

С целью ускорения селекционного процесса были проанализированы 40 сортооборазцов (F3-F10) кафедры селекции, генетики и семеноводства РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева. В качестве контроля использованы почти изогенные линии Thatcher Lr12 и Lr25. Для анализа наличия генов устойчивости использовали SSR маркер Xgwm251 [1] с флуоресцентной меткой, локализованный в 4B хромосоме на расстоянии от генов кандидатов Lr12, Lr25 0,9 cM и 3,8 cM соответственно. Ген возрастной устойчивости Lr12 был перенесён из T. aestivum, а ген ювенильной устойчивости Lr25 из генома S. Cereale *[*2]. В результате фрагментного анализа установлено, что образцы под номерами 14, 16, 18, 20, 22, 25, 26, 31, 32, 33 несут ген Lr12, у образцов 28 и 38 присутствует расщепление, у образца 5 ген Lr25.

Список литературы:

1. S.Singh,Robert L.Bowden (2011) Molecular mapping of adult-plant race-specific leaf rust resistance gene Lr12 in bread wheat. MolecularBreeding **28**, 137-142.

2. П.Ю.Крупин, И.В.Груздев, М.Г.Дивашук, М.С.Баженов, А.А.Кошечкова, А.Г.Черноок, М.В.Дудников, Г.И.Карлов, А.А. Соловьев. (2019) Анализ коллекции яровой тритикале по генам устойчивости к листовой ржавчине с помощью ПЦР-маркеров. Генетика, 893-903.

ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У РАБОТНИКОВ АЛЮМИНИЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА И У ЖИТЕЛЕЙ ПРИЛЕГАЮЩИХ К ЗАВОДУ ТЕРРИТОРИЙ

Щетникова Е.А., Вдовина Е.Д., Зыкова Г.С.
ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

schetnikovakat@gmail.com

Соединения фтора потенциально генотоксичны за счет сильных окислительных свойств элемента. Исследования подтвердили способность фторидов значительно увеличивать уровень повреждения ДНК и частоту хромосомных аберраций в клеточных культурах, однако вопрос об их генотоксическом воздействии на человека при сверхнормативной экспозиции остается открытым. Хронический контакт с фторсодержащими соединениями может вызывать тяжелую патологию – скелетный флюороз, влияние которого на частоту хромосомных нарушений так же малоизучено. Цель исследования - оценить частоту ХА в лейкоцитах крови у лиц, контактирующих с фтористым фактором, индуцируемым Новокузнецким алюминиевым заводом.

Материалом для исследования послужила периферическая венозная кровь 29 работников Новокузнецкого алюминиевого завода с диагностированным заболеванием «костный флюороз», 15 работников без патологии, 23 человек, постоянно проживающих в непосредственной близости от завода, и 30 человек, проживающих в значительном отдалении от завода.

Цитогенетический анализ проводился на рутинной окраске путём оценки 200 метафазных пластинок лимфоцитов периферической крови. Измерение уровня фторид-иона в плазме крови было выполнено методом прямой потенциометрии. Сравнение частот переменных между группами проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

В результате исследования было отмечено, что у работников Новокузнецкого алюминиевого завода, больных скелетным флюорозом, наблюдался повышенный уровень суммарной частоты ХА, по сравнению с рабочими без патологии (4,77[4,28-5,26] против, 3,15[2,50-3,81]),($p<0,05$). В целом у работников алюминиевого завода, не страдающих патологией, также наблюдается тенденция к увеличению суммарной частоты ХА по сравнению с жителями прилегающего района(3,15[2,50-3,81] против 2,24[1,23-3,24]). По результатам измерения уровня фторид-иона в плазме крови работников алюминиевого производства было отмечено значимое повышение уровня фторид-иона в плазме работников завода страдающих патологией (4,47 ± 1,17 мг/л против 3,12 ± 1,84 мг/л). Значимое увеличение частоты ХА у работников алюминиевого завода по сравнению с контрольными группами может объясняться хронической экспозицией фторидами. Наблюдаемое увеличение ХА у рабочих с флюорозом по сравнению с рабочими без патологии, вероятно, объясняется повышенным содержанием в плазме крови фторид-иона, но нельзя исключить влияние патологических процессов. Повышенная концентрация фторид-иона у рабочих с патологией по сравнению со здоровыми работниками, логично объясняется характером патологического процесса.

УВЕЛИЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ВИМЕНТИНА В ОТВЕТ НА ФРАКЦИОНИРОВАННОЕ γ-ОБЛУЧЕНИЕ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИИ MCF-7

Якимова А.О., Матчук О.Н., Замулаева И.А.
Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба- филиал ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

anna.prosovskaya@gmail.com

Понимание радиобиологических закономерностей влияния ионизирующих излучений на опухолевые и нормальные клетки лежит в основе совершенствования существующих и разработки новых методов лучевой терапии, которая широко используется для лечения онкологических заболеваний. Несмотря на длинную историю развития экспериментальной и клинической радиобиологии, ряд фундаментальных проблем, имеющих существенное (если не ключевое) значение для повышения эффективности лучевой терапии, ещё ждет своего решения. К числу таких проблем относится парадоксальное повышение метастазирования злокачественных новообразований под влиянием редкоионизирующего излучения, которое чаще всего используется в традиционных схемах радиотерапии. В настоящее время закономерности и механизмы этого феномена изучены недостаточно, и, соответственно, пока не разработаны подходы к подавлению радиационно-индуцируемого метастазирования. По-видимому, одним из таких механизмов является процесс эпителиально-мезенхимальной транзиции (ЭМТ), в результате которого опухолевые клетки эпителиального происхождения приобретают свойства мезенхимальных клеток. Как показано для острого однократного облучения in vitro, радиационное воздействие стимулирует ЭМТ, что сопровождается повышением миграционной активности опухолевых клеток и увеличением количества опухолевых стволовых клеток. Однако закономерности ЭМТ после фракционированного облучения, именно которое и применяется в клинической практике, изучены недостаточно.

Мы проанализировали изменение экспрессии виментина (одного из основных маркеров ЭМТ) на уровне белка и мРНК в клетках рака молочной железы линии MCF-7 в ответ на γ-облучение в суммарных дозах 2-10 Гр в режиме стандартного фракционирования дозы (по 2 Гр ежедневно). Методом проточной цитофлуориметрии зарегистрировано 1,5-кратное повышение экспрессии виментина при облучении в дозе 10Гр через 24 ч после облучения ($p<0,01$ по сравнению с контролем). На уровне мРНК отмечено повышение экспрессии виментина в 1,3 раза через 2 часа после облучения в дозе 10Гр по сравнению с необлученным контролем. Спустя 24 ч экспрессия этого гена возвращалась к контрольному уровню. При облучении в дозе 4 Гр не наблюдалось повышения экспрессии этого гена ни через 2, ни через 24 ч после радиационного воздействия, так же как не отмечалось повышения экспрессии этого белка. Таким образом, получены согласующиеся данные о повышении уровня экспрессии виментина на уровне мРНК и белка в клетках MCF-7 после фракционированного облучения в дозе 10 Гр. Полученные данные указывают на риск активации процессов ЭМТ при использовании стандартной схемы радиотерапии рака молочной железы и обосновывают поиск ингибиторов ЭМТ в целях повышения эффективности лечения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-75-10025).

ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-Р IN VITRO

Абаленихина Ю.В., Ерохина П.Д., Черных И.В., Щулькин А.В.
ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения РФ, Рязань, Россия

abalenihina88@mail.ru

Гликопротеин-Р (Pgp, ABCB1-белок) – эффлюксный белок-транспортер, обеспечивающий выведение экзогенных и эндогенных веществ из клеток. Экспрессия Pgp в опухолевых клетках является одной из причин развития их множественной лекарственной устойчивости.

Цель исследования – оценить влияние пероксида водорода (H_2O_2) на функционирование Pgp *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на клетках линии Caco-2, гиперэкспрессирующих Pgp. Активность белка-транспортера оценивали по транспорту субстрата Pgp – фексофенадина (150 мкМ) в трансвелл-системе. Трансвелл-система состоит из двух камер апикальной и базальной, разделенных полупроницаемой мембраной, на которую высеивали клетки. Транспорт фексофенадина из базалальной камеры в апикальную (ba-транспорт) осуществляется за счет работы Pgp, а из апикальной в базальную (ab-транспорт) пассивной диффузией против работы Pgp. Дополнительно оценили отношение ba-транспорта к ab-транспорту. Этот параметр характеризует участие белка-транспортера в транспорте субстрата. Для субстратов он превышает значение «2». Концентрацию фексофенадина определяли методом ВЭЖХ-УФ. Количество Pgp оценивали методом ИФА. Клетки инкубировали с H_2O_2 в концентрациях 0,1 мкМ, 0,5 мкМ, 1 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ и 50 мкМ (n=3) в течение 3 суток. Полученные результаты обрабатывали дисперсионным анализом.

Результаты. H_2O_2 в концентрациях 0,1 мкМ, 0,5 мкМ, 1 мкМ, 5 мкМ не влиял на количество белка-транспортера. В концентрации 10 мкМ пероксид водорода повышал содержание Pgp на 47,2% ($p<0,05$), а в концентрации 50 мкМ снижал его на 70,9% ($p<0,05$). При этом ba-транспорт фексофенадина (опосредованный Pgp) и противоположный ab-транспорт при концентрации пероксида водорода 0,1 и 0,5 мкМ не изменялся. При концентрации H_2O_2 1, 5, 10, 50 мкМ ba-транспорт фексофенадина увеличился в 1,52 раза, 2,25 раза, 2,9 раза и 3,1 раза ($p<0,05$), а ab-транспорт увеличился в 1,9 раз, 2,5 раз, 2,3 раза и 4,5 раза ($p<0,05$) соответственно. При этом отношение ba-транспорта к ab-транспорту достоверно от контроля не отличалось при инкубации с H_2O_2 в концентрациях 1, 5, 10 мкМ (что свидетельствует о сохранении градиента концентрации фексофенадина, несмотря на повышающуюся проницаемость билипидной мембраны) и снижалось до 1,2 при инкубации с прооксидантом в концентрации 50 мкМ (что свидетельствует о неадекватной работе транспортера).

Заключение. H_2O_2 в концентрации 10 мкМ повышает экспрессию и активность Pgp, а в концентрации 50 мкМ их снижает.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-1856.2020.7.

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНОГЕНА ИНДУЦИРОВАННАЯ ГИПОХЛОРИТОМ

Азарова Д.Ю.[1], Юрина Л.В.[2], Васильева А.Д.[2], Индейкина М.И.[2,3], Бугрова А.Е.[2], Кононихин А.С.[4,3], Николаев Е.Н.[5], Розенфельд М.А.[2]

[1]ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; [2]ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; [3]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия; [4]ФИНЭПХФ РАН им. В. Л. Тальрозе, Москва, Россия; [5]Автономная некоммерческая образовательная организация высшего профессионального образования "Сколковский институт науки и технологий", Сколково, Россия

azarovadana@mail.ru

Молекулы фибриногена (ФГ), циркулируя в плазме крови, постоянно подвергаются атаке активными формами кислорода (АФК). Посттрансляционные окислительные модификации фибриногена вызывают нарушения функциональных свойств белка и, как следствие, сборку фибрина, характеризующегося аномальной архитектурой, пониженной прочностью и эластичностью, отличающегося более тонкими фибриллами, более низкой пористостью. Можно предположить, что окислительные посттрансляционные модификации фибриногена, возникающие в результате окислительного стресса, могут быть связаны с широким диапазоном болезней: сердечно-сосудистые заболевания, нарушения тромбообразования, нефрологические и нейродегенеративные заболевания.

Для исследования использовали фибриноген, выделенный из цитратной плазмы крови человека. Свободнорадикальное окисление индуцировали гипохлоритом, количество окислителя составляло 50 мкМ на 1 мкМ фибриногена.

Молекулярную структуру молекулы изучали хромато-масс-спектрометрическим анализом. При подготовке проб образцы обрабатывались дитиотреитолом (DTT) для восстановления дисульфидных связей с последующим алкилированием йодоацетоамидом и гидролизом трипсином (Promega, USA). Триптические пептиды были идентифицированы с помощью программного обеспечения PEAKS Studio (V. 8.5, Bioinformatics Solutions Inc., Waterloo, On, Canada).

Методом масс-спектрометрии было показано, что окислению были подвержены все три полипептидные цепи фибриногена. Общая степень окисления, а также количество аминокислотных остатков, участвующих в окислительной модификации боковых цепей аминокислот, уменьшаются в ряду Met> Tyr> Pro ≈ Asn ≈ Asp ≈ Lys> His ≈ Trp ≈ Arg ≈ Glu ≈ Ser. Среди всех образцов наиболее окисленным структурным элементом является αC-коннектор, для которого количество аминокислотных остатков, участвующих в окислении, и значение глубины окисления равны 2,92% и 1,93% в контроле, 4,68% и 2,2% в опыте. Все части молекулы фибриногена (за исключением E-области, в которой ни один из аминокислотных остатков не был подвержен окислительной модификации) демонстрируют высокую уязвимость к окислительной модификации. Ни один из идентифицированных остатков, которые считаются решающими для связывания как hole «a», так и hole «b» с knob «A» и knob «B» соответственно, а также для связывания тромбина с фибриногеном не подвергается химическому изменению при окислении.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ВАЛЬПРОАТА НАТРИЯ

Алилова Г. А., Тихонова Л. А., Косенко Е. А.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

hells2012@yandex.ru

Аммиак – это нормальный клеточный метаболит, который регулирует многие жизненно важные процессы в клетках. Однако повышение его концентрации в крови (гипераммониемия) всего лишь в два раза вызывает судороги, кому, которая часто заканчивается смертью, что свидетельствует о том, что аммиак является мощным нейротоксином. Гипераммониемия может возникать при острых и хронических болезнях печени, например, при гепатите и циррозе, болезнях почек, диабете, нейродегенеративных заболеваниях, приеме некоторых медикаментозных препаратов. Известно, например, что прием противоэпилептического препарата вальпроата натрия вызывает многочисленные побочные реакции, и, в частности, гипераммониемию, которая сопровождается атаксией, нарушением когнитивных функций, летаргией и приводит к учащению судорог у пациентов-эпилептиков. Причем было отмечено, что развитие судорог у всех обследованных пациентов после приема вальпроата происходило на фоне нормальной функции печени. Эти данные дают возможность предположить, что при эпилепсии в мозге активируются реакции, связанные с образованием аммиака, который может вносить самостоятельный вклад в развитие судорожных приступов, независимо от его концентрации в крови и детоксицирующей функции печени. С целью выявления причин повышения концентрации аммиака в мозге животных под воздействием вальпроата натрия мы измерили активность ключевых ферментов обмена аммиака в митохондриях и цитозоле разных отделов мозга крыс. Было обнаружено, что действие вальпроата связано с ускорением аммиак-образующих реакций в мозге и что глутаматдегидрогеназа и глутаминаза митохондрий являются главными аммиак-образующими ферментами, которые при сниженной активности глутаминсинтетазы могут вносить значительный вклад в нарушение гомеостаза аммиака и его накопление в разных отделах мозга животных.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 18-015-00106 А).

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗ ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНОГО МЕТАНОТРОФА METHYLOTUVIMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z

Андриянов П.А.[1,2], Мустахимов И.И.[1]
[1]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

pas1816@yandex.ru

Первой реакцией пентозофосфатного пути и пути Энтнера-Дудорова является окисление глюкозо-6-фосфата до 6-фосфоглюконо-s-лактона, сопровождающееся восстановлением $НАДФ^+$ ферментом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (Г6ФДГ). В геноме *Methylotuvimicrobium alcaliphilum* 20Z обнаружено две изоформы Г6ФДГ с идентичностью аминокислотных последовательностей 38,3%. Цель данной работы

заключалась в биохимической характеристике глюкозо-6-фосфатдегидрогеназ галоалкалофильного метанотрофа M. alcaliphilum 20Z.

Рамки считывания Г6ФДГ1 1491 п.о. и Г6ФДГ2 1470 п.о., кодирующие гены глюкозо-6-фосфатдегидрогеназ, были амплифицированы из геномной ДНК *M. alcaliphilum* 20Z. ПЦР-продукты лигировали в экспрессионный вектор pET-30a. Полученной плазмидой трансформировали клетки *E. coli* Rosetta (DE3), синтез белка индуцировали добавлением 0,5 мМ ИПТГ в логарифмической фазе роста культуры. Гомогенный препарат белка был получен с использованием аффинной хроматографии на Ni-NTA агарозе. Молекулярная масса субъединицы Г6ФДГ1 – 57 кДа и 56 кДа у Г6ФДГ2. Была определена нативная м. м. ферментов (гель-фильтрация), составившая ~400 кДа.

Дегидрогеназы обладают различной специфичностью: Г6ФДГ1 восстанавливает $НАДФ^+$, тогда как Г6ФДГ2 – $НАД^+$. Г6ФДГ1 активна в диапазоне pH 5,5 - 10,5 с оптимумом pH 10; Г6ФДГ2 активна при pH 7,5 - 10,5, с оптимумом pH 10,5. Диапазон рабочих температур для Г6ФДГ1 – 10-45ºС с оптимумом при 40ºС. Активность фермента снижалась на ~50% при температуре 45ºС, при 50ºС фермент терял активность. Г6ФДГ2 активна в диапазоне 10-65ºС с оптимумом при 50ºС, но уже при 60ºС энзим терял ~60% активности. Обе дегидрогеназы зависят от Mg^{2+}. В реакции с Г6ФДГ1, при добавлении 1 мМ Sn^{2+} или Ba^{2+} активность возрастала в 2,61 и 1,7 раз, соответственно. 1 мМ Ni^{2+} и Cd^{2+} ингибировали фермент соответственно в 2,7 и 2,04 раза.

Анализ влияния метаболитов на активность Г6ФДГ1 показал, что в присутствии оксалоацетата активность фермента увеличивалась в 3,55 раз, в присутствии малата и фруктозо-6-фосфата - в 2,35 и 2 раза, соответственно. ФЕП, ПВК, глюкозо-1-фосфат и α-кетоглутарат не оказывали существенного эффекта на Г6ФДГ1.

Г6ФДГ1 подчиняется кинетике Михаэлиса-Ментен (K_m для глюкозо-6-фосфата составила 2,09 мМ; K_m для $НАДФ^+$ 0,95 мМ). Максимальная скорость реакции V_{max} = 9,56 Е/мг белка. k_{cat}=3,8 $мин^{-1}$, k_{cat} / K_m =1,9.

Г6ФДГ2 не подчиняется кинетике Михаэлиса-Ментен относительно субстрата. Кинетические параметры были рассчитаны с помощью уравнения Хилла: V_{max}=129,9 Е/мг, n=1,7, $S_{0,5}$=34,1 мМ; k_{cat}=51,96 $мин^{-1}$, k_{cat} / K_m =1,5. K_m для $НАД^+$ = 0,16 мМ.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ ZEA MAYS L.

Анохина Г.Б., Оя П.С., Дедов Я.И.
ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет

dowi2009@mail.ru

Исследования ферментных систем растений, как организмов в разные периоды отногенеза осуществляющих и гетеротрофный и автотрофный тип питания необычайно важны как для биохимии и физиологии растений, так и для биологии в целом. Переход от гетеротрофного существования к автотрофии несомненно сопровождается кардинальными изменениями в функционировании всех систем.

Глутаматдегидрогеназа (НАД(Ф)-ГДГ, КФ 1.4.1.3) растительных организмов в связи с выполняемыми функциями – обеспечение работы ГАМК-шунта, синтез аминокислот, транспортные системы клетки, поставщик субстрата в виде 2-оксоглутарата для ЦТК – является необычайно важным объектом для изучения в период смены типов питания. Целью работы являлось исследование динамики функционирования глутаматдегидрогеназы в щитках кукурузы *Zea mays* L. при прорастании семян. Активность ГДГ определяли спектрофотометрически при 340 нм путем регистрации восстановленного НАДН.

При прорастании глутаматдегидрогеназы в щитках изменялась уже начиная с первого дня прорастания: общая ферментативная активность исследуемого энзима в первый день увеличилась в 8.5 раз относительно значений, отмеченных в первые часы после набухания семян. В дальнейшем, также отмечался рост активности фермента, вплоть до шестого дня прорастания. Начиная с седьмого дня активность ГДГ в щитках начала снижаться. Известно, что ген gdh-2 в геноме кукурузы кодирует α-субъединицу глутаматдегидрогеназы, преобладание которой в структуре фермента приводит к смещению равновесия в работе в сторону реакции дезаминирования глутамата. Исследование относительного уровня транскриптов гена gdh-2 показало, что в первые пять дней прорастания транскрипционная активность гена минимальна. Однако, начиная с седьмого дня прорастания концентрация мРНК гена gdh-2 увеличивается более чем в 13 раз относительно значений, зарегистрированных для семян спустя несколько часов после набухания.

Таким образом, вероятно, высокая активность ГДГ спустя сутки после набухания семян обусловлена наличием в семени неактивных форм ферментов ГДГ, которые постепенно активизируются после набухания семени, что говорит о важной роли ГДГ в развитии растительного организма. На ранних этапах развития, в связи с отсутствием фотосинтетической системы ЦТК играет ключевую роль в обеспечении клетки энергией. В последующие дни прорастания семян функционирование ГДГ обеспечивается работой геномного аппарата, т.е. синтезом мРНК, что подтверждается результатами исследования относительного уровня транскриптов гена gdh-2.

ИЗМЕНЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В АДИПОЦИТЫ

Вадим И.Ч., Иванова А.М., Тюрин-Кузьмин П.А.
ФГБОУ ВО Московский государственный университет
им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

v-chech@mail.ru

Эмбриональные стволовые клетки (мЭСК) – это выделенные в культуру клетки внутренней клеточной массы бластоцисты мыши. ЭСК являются плюрипотентными стволовыми клетками, они способны дифференцироваться в клетки трех зародышевых листков и в половые клетки. После дифференцировки мЭСК в клетки мезодермы они становятся мультипотентными мезенхимными стволовыми клетками (мМСК). Постанатальные МСК выявляются в стромальном компоненте большинства тканей организма и способны дифференцироваться в адипоциты, хондробласты и остеобласты. Функции МСК регулируют гормоны и нейромедиаторы, например, норадреналин и серотонин. Также МСК проявляют функциональную гетерогенность, проявляющуюся в различной чувствительности отдельных клеток к различным гормонам. МСК можно разделить на отдельные субпопуляции, специфично реагирующие на отдельные агонисты. Целью данной работы было выяснение закономерностей созревания гормональной чувствительности стволовых клеток в процессе дифференцировки мЭСК в мМСК, и далее в адипоциты.

Мы проанализировали чувствительность и функциональную гетерогенность стволовых клеток, находящихся на разных стадиях дифференцировки, к ключевым гормонам-регуляторам их функциональной активности. Для этого мы делали серийные стимуляции клеток гормонами с отмывкой между добавками в проточной камере. Мы стимулировали клетки такими гормонами как норадреналин, серотонин, дофамин, гамма-аминомасляная кислота, аденозин, гистамин, глутамат, ангиотензин II и регистрировали

кальциевый сигнальный ответ. Мы показали, что среди мЭСК существует субпопуляция клеток, отвечающая на разные гормонов. При этом большая часть клеток не реагируют на гормоны. Можно предположить, что группа клеток, чувствительная к гормонам, выполняет регуляторную функцию. При дифференцировке мЭСК в мМСК происходят изменения гормональной чувствительности. Единичные мМСК чувствительны к 1-2 определенным гормонам. Таким образом, выявляются отдельные субпопуляции мМСК, регулирующиеся конкретными гормонами, что соответствует картине постанатальных МСК. При изучении гормональной чувствительности адипоцитов, полученных из мМСК, мы показали, что у клеток сглаживается функциональная гетерогенность по чувствительности к различным гормонам.

Таким образом, в процессе дифференцировки мЭСК в мМСК происходит изменение гормональной чувствительности клеток. Наблюдается переход от регуляторной субпопуляции клеток, чувствительной к широкому спектру гормонов, к субпопуляциям, отвечающим только на конкретные агонисты.

ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАТИВНО-ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА И ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ СТАРЕНИЯ

Войнова Е.С.
ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

voynovaes.pharm@gmail.com

Введение. Мезенхимные стромальные клетки располагаются в строме большинства тканей и являются стволовыми клетками взрослого организма. Они представляют большой интерес для регенеративной медицины благодаря применению для аутологичной трансплантации и стимуляции эндогенных механизмов репарации и регенерации поврежденных тканей. Как стволовые клетки, они обладают способностью к самообновлению и дифференцировке - процессов, от которых зависит размер популяции МСК и ее регенеративный потенциал на протяжении жизни человека. Старение популяции стволовых клеток влияет на данные свойства.

Материалы и методы. В качестве моделей стареющих МСК нами использовались клетки, выделенные из доноров разного возраста, и продолжительное пассирование клеток в культуре. Митотическая активность, адиподифференцировка и гормональная регуляция клеток наблюдались в режиме реального времени на уровне одиночных клеток.

Результаты. В процессе исследования удалось выяснить, что клетки как молодых, так и пожилых доноров, высаженные в большей плотности, эффективнее переходят в адиподифференцировку. Обнаружилось, что сенесцентные клетки обладают меньшим потенциалом к дифференцировке, а также теряют гормональную регуляцию данного процесса. Так, клетки молодых доноров на ранних пассажах эффективнее переходят в адиподифференцировку после стимуляции серотонином и хуже - после стимуляции норадреналином, в то время как сенесцентным клеткам ни один из данных эффектов не присущ. Помимо этого, в процессе старения меняется процент клеток, отвечающих на гормоны, и характер этих ответов.

Выводы. В данной работе был выявлен ряд особенностей изменения свойств МСК в процессе их старения, понимание которых необходимо для контролируемого использования этих клеток в регенеративной медицине.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-315-80018.

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ КОРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА

Воронина О.А., Савина А.А., Боголюбова Н.В., Зайцев С.Ю.
ФГБНУ Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Дубровицы, Россия

VoroninaOk-senia@inbox.ru

В качестве одного из надежных, доступных и простых в практическом применении методов определения антиоксидантов широко применяется амперометрическое детектирование. При помощи данного метода возможно определение суммарного количества водорастворимых антиоксидантов (СКВА) в самых различных биологических жидкостях.

Целью данной работы стало изучение СКВА образцов молока и сыворотки крови коров. В качестве стандарта при измерениях использовалась галловая кислота. В эксперименте исследовано 13 образцов молока коров и 28 образцов сыворотки крови коров. Пробы получены от животных, выбранных в группы по принципу аналогов. Все они имеют одинаковый возраст, живую массу, условия кормления и содержания. На момент исследования были клинически здоровы.

В результате проведенных исследований получены следующие средние значения СКВА: для сыворотки крови 16,0±3,2 мг/г (минимальное значение 10,4 мг/г, максимальное значение 21,4 мг/г); для молока 10,8±2,6 мг/г (минимальное значение 7,9 мг/г, максимальное значение 14,9 мг/г). Поскольку через ткани молочной железы при образовании молока циркулирует до трех с половиной литров крови в минуту с повышенной концентрацией предшественников составных компонентов молока, не удивительно, что пересекается диапазон минимальных значений СКВА крови и максимальных значений СКВА молока в области от 10,4 мг/г до 14,9 мг/г.

Повышенная продукция свободных радикалов в условиях стресса приводит к повреждению биологических макромолекул, таких как белки, липиды мембран, нуклеиновые кислоты, что сказывается на работе всех органов и систем организма. Прижизненная оценка СКВА, позволит шире взглянуть на адаптационные качества животных и мобильность биохимических путей в условиях окислительного стресса. И, кроме того, позволит направленно проводить коррекцию сдвига гомеостаза оптимально сочетая блокировку путей избыточного образования свободных радикалов и введение дополнительного поступления антиоксидантов в организм с кормами.

Работа выполнена при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований МИНОБРНАУКИ РОССИИ, номер государственного учета НИОКТР АААА-А18-118021590136-7.

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ N-АЦИЛДОФАМИНОВ НА СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЭУТОПИЧЕСКОГО И ЭКТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ

Гамисония А.М.[1,2], Бобров М.Ю.[1,2], Акимов М.Г.[1], Грецкая Н.М.[1], Безуглов В.В.[1]
[1]ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; [2]ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

alyafonya@mail.ru

Эндометриоз — неопластическое заболевание, характеризующееся наличием эктопических очагов эндометриоидной ткани вне полости матки. Эндометриоз выявляется у 6-10% женщин репродуктивного возраста, при этом агрессивное течение заболевания приводит к функциональным расстройствам органов малого таза, бесплодию, выраженному болевому синдрому. На сегодняшний день эффективной медикаментозной терапии эндометриоза не разработано, поэтому поиск подходов к терапии эндометриоза и его рецидивов остается актуальной задачей. В последние годы каннабиноидно-ванилоидная система рассматривается как перспективная мишень терапевтического воздействия при онкологических заболеваниях. Участие каннабиноидно-ванилоидной системы в патогенезе эндометриоза остаётся недостаточно изученным. Целью данной работы было проведение сравнительного исследование влияния N-ацилдофаминов (NADA), лигандов одновременно каннабиноидных и ванилоидных рецепторов, на жизнеспособность и пролиферацию культивируемых стромальных клеток эутопического и эктопического эндометрия. Образцы тканей эндометрия были получены в ходе хирургического вмешательства. Всего в исследование был включен биоматериал от 20 пациенток с эндометриозом яичников под контролем Этического комитета. Цитотоксичность и пролиферацию оценивали с помощью МТТ-теста и анализа стадий клеточного цикла методом проточной цитофлуориметрии. Механизмы действия изучали с помощью антагонистов рецепторов CB1, CB2, TRPV1, антиоксидантов и ингибитора NO-синтазы, путь клеточной гибели – с помощью панкаспазного ингибитора, флуоресцентных субстратов каспаз 3 и 9 и окраски аннексином-пропидием. АФК детектировали с помощью флуоресцентного зонда DCFH, мембранный потенциал митохондрий – с помощью зонда TMRE. NADA были цитотоксичны для клеток эутопического и эктопического эндометрия с LC50 15±3 мкМ и 2±3 мкМ, соответственно. В концентрациях 0.078-0.625 мкМ NADA стимулировали пролиферацию клеток эутопического эндометрия, однако не влияли на пролиферацию клеток эктопическогондометрия. Цитотоксическое действие NADA подавлялось блокатором CB1, панкаспазным ингибитором, N-ацетилцистеином и аскорбиновой кислотой, а стимуляция пролиферации - блокатором CB2. Токсичные концентрации NADA вызывали активацию каспаз 3 и 9, накопление активных форм кислорода и падение мембранного потенциала митохондрий, что указывает на гибель клеток по внутреннему пути апоптоза. Полученные результаты позволяет рассматривать N-ацилдофамины как перспективную мишень для разработки новых фармакологических подходов для контроля за прогрессированием эндометриоидных гетеротопий.

ТЕСТИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВАРИАНТОВ СТРЕПТОЛИЗИНА О МЕТОДОМ ЛАТЕКС-УСИЛЕННОЙ ИММУНОТУРБИДИМЕТРИИ

Головина В. Ю.[1,2,3], **Лаштабова С. В.**[1,2,3], **Мирзабеков Т. А.**[3], **Штанчаев Р. Ш.**[1,3,4], **Гудкова О. Ю.**[2], **Фунтикова Т. В.**[4]

[1]ФБГУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; [2]АО "Диакон-ДС", Пущино, Россия; [3]ООО "Антерикс", Пущино, Россия; [4]ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН, Пущино, Россия

golovina.vika0107@yandex.ru

Серологический тест на антитела против стрептолизина О (СЛО), гемолитического кислород-лабильного бактериального экзотоксина, является широко распространенным способом диагностики заболеваний стрептококковой природы. Обычно в клинико-диагностических лабораториях антистрептолизин О (АСО) измеряют количественно при помощи фотометрического определения динамики агглютинации антител с антигеном методом латекс-усиленной иммунотурбидиметрии. С этой целью СЛО ковалентно иммобилизуют на поверхности латексных частиц и подбирают такие условия иммунотурбидиметрической реакции, при которых нарастание оптической плотности реакционной смеси происходит строго контролируемо и зависимо от концентрации АСО.

Для улучшения качества латексного теста при иммобилизации используют не нативный СЛО, а его модифицированные формы в виде фьюжн-конструкций или конъюгатов с другими белками. Целью данной работы была проверка применимости собственных фьюжн-конструкций рекомбинантного СЛО в иммунотурбидиметрическом латексном тесте. Гибридные белки tsf-SLO (Mw=95.19kDa, pI=5.79, буфер для хранения – 10мМ PBS, pH8.0) и slyD-SLO (Mw=86.57kDa, pI=5.66, 10мМ PBS, pH8.0) иммобилизовали на поверхности карбоксилированных латексных микрочастиц диаметром 150 нм (VDO Biotech, Китай). В качестве контроля использовали коммерческий СЛО, рекомбинантная конструкция с неизвестным фьюжном (Mw=120kDa, 10мМ PBS, pH8.0; BSBE, Китай).

Концентрационно-зависимый прирост оптической плотности при калибровке в случае с tsf-SLO оказался сопоставим с контролем, в то время как slyD-SLO демонстрировал высокий сигнал оптической плотности в отсутствие АСО и слабое нарастание сигнала при калибровке. Это может быть связано с сильным кросс-реактивным связыванием slyD-SLO-ассоциированного латекса. В то же время, инкубация латексных реагентов с пришитыми tsf-SLO и slyD-SLO при 37°C в течение суток приводила к существенному снижению уровня калибровочной кривой для tsf-SLO и исчезновению неспецифичности для slyD-SLO, с увеличением уровня калибровки до значений, сопоставимых с контролем (коммерческий белок легко выдерживал инкубацию).

Предварительные данные демонстрируют применимость полученных нами рекомбинантных вариантов СЛО в латекс-усиленном иммунотурбидиметрическом анализе АСО. Дальнейшие исследования позволят улучшить стабильность и специфичность латексного реагента на основе рекомбинантного СЛО, что позволит в перспективе разработать полноценный набор реагентов для диагностики воспалений стрептококковой природы.

ИНГИБИРОВАНИЕ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ 4/5 ПРЕДОТВРАЩАЕТ СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТИТИНА ПРИ РАЗВИТИИ АТРОФИИ В M. SOLEUS КРЫСЫ ПОСЛЕ СЕМИСУТОЧНОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Грицына Ю.В.[1], Уланова А.Д.[1], Бобылёв А.Г.[1], Якупова Э.И.[1], Жалимов В.К .[2], Немировская Т.Л.[3], Шенкман Б.С.[3], Вихлянцев И.М.[1]

[1]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; [3]ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

gri23.86@mail.ru

Атрофия мышц в условиях гравитационной разгрузки является следствием ингибирования белкового синтеза и повышенного протеолиза саркомерных белков, в частности титина – гигантского белка саркомерного цитоскелета. Гистондеацетилазы (ферменты, регулирующие экспрессию генов через деацетилирование гистонов) могут вносить вклад в развитие мышечной атрофии. Мы предположили, что ингибирование гистондеацетилаз 4/5 (HDACs4/5) предотвратит снижение уровня титина и экспрессии его гена (TTN) в m. soleus крыс после 7-ми суточной гравитационной разгрузки. Для проверки гипотезы использованы самцы крыс Wistar массой 210±10 г. Животные были разделены на три группы: контрольная группа (C, n=7); группа 7-ми суточного вывешивания (HS, n=7); группа 7-ми суточного вывешивания с введением ингибитора HDACs4/5 LMK в концентрации 1 мг/кг в сутки (HS+LMK, n=7). По сравнению с контрольной группой, в группах HS и HS+LMK обнаружено уменьшение на 25.6% ($p<0.01$) и 28.2% ($p<0.01$), соответственно, параметра «масса m. soleus/масса тела животного», что свидетельствует о развитии атрофических изменений в мышце. При этом в группе HS атрофия m. soleus сопровождалась снижением в 1.6 раза ($p<0.01$) содержания интактного титина-1 (T1) и увеличением в 2.1 раза ($p<0.01$) содержания его протеолитических T2-фрагментов. Уменьшение содержания T1 в атрофированной m. soleus могло быть следствием двух процессов: повышенного протеолиза титина из-за увеличения в 1.35 раза ($p<0.05$) содержания кальпаина-1 (кальций-зависимой протеазы, субстратом которой является титин), а также из-за сниженного в 2.3 раза ($p<0.01$) уровня экспрессии гена TTN. В группе HS+LMK, несмотря на развитие атрофических изменений в m. soleus и повышенное (в 1.3 раза, $p<0.05$) содержание кальпаина-1, не выявлено статистически значимых различий как в содержании титина, так и в уровне экспрессии его гена по сравнению с контрольной группой. Вывод: ингибирование HDACs4/5 на фоне 7-ми суточной гравитационной разгрузки не предотвращало развитие атрофии m. soleus, однако предотвращало снижение содержания белка и мРНК титина.

Вполне вероятно, что сохранение уровня экспрессии гена титина в группе HS+LMK могло компенсировать снижение содержания титина в m. soleus при развитии атрофии, индуцируемой гравитационной разгрузкой. Полученные результаты позволяют предположить, что HDACs4/5 участвуют в регуляции экспрессии гена титина.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 18-15-00062.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ СУСЛИКОВ ПРИ СПЯЧКЕ И ПРОБУЖДЕНИИ

Джараева М.М., Чалабов Ш.И.
ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

www.maryam0030910@gmail.com

Для противостояния неблагоприятным условиям среды многие млекопитающие переходят в состояние гипометаболизма. Одним из важнейших стратегий переживания неблагоприятных условий среды является гибернация. Гибернация млекопитающих сопровождается изменениями на молекулярном, физиологическом и биохимическом уровнях. Гибернация или зимняя спячка является прерывным процессом. Во время гибернации мелкие грызуны многократно пробуждаются и снова входят в торпидное состояние. В торпидном состоянии наблюдается значительное понижение температуры тела и замедление общего метаболизма. Периодические пробуждения во время спячки необходимы для поддержания нормального функционирования иммунной и нервной систем, что требует значительных энергетических затрат. Циклическое изменение физиологического состояния животного поддерживается адаптивными изменениями на уровне клеток и субклеточных структур. Однако детальные механизмы таких адаптивных изменений в период гибернации не полностью изучены.

Исследование выполнено на малых сусликах (*Spermophilus pygmaeus*) в торпидном состоянии, с температурой тела 4℃, и сразу после пробуждения. В мембранах эритроцитов изучены кинетические параметры мембранносвязанной ацетилхолинэстеразы (АХЭ).

Полученные в ходе исследования результаты показывают, что зависимость активности АХЭ от концентрации субстрата (ацетилтиохолин) имеют колокообразную форму как при спячке, так и при пробуждении, что свидетельствует о наличии субстратного ингибирования. При обоих состояниях максимальная активность фермента наблюдается при концентрации субстрата ~1 мМ. После пробуждения сусликов активность АХЭ существенно возрастает. При этом V_{max} возрастает в два раза. После пробуждения существенно снижается сродство фермента к субстрату (значение K_m при спячке 0,091 мМ, после пробуждения – 0,177 мМ). В тоже время эффективность катализа, или отношение V_{max} на K_m, после пробуждения не изменяется. Это означает, что АХЭ мембран эритроцитов способна перестраиваться, чтобы эффективно функционировать при изменении физиологического состояния животного.

ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТНЫХ ШТАММОВ МЕТАНОТРОФА METHYLOTUVIMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z, ДЕФЕКТНЫХ ПО КЛЮЧЕВЫМ ГЕНАМ СЕРИНОВОГО ЦИКЛА АССИМИЛЯЦИИ С1-СОЕДИНЕНИЙ

Егорова С.В.[1,2], Бут С.Ю.[1,2]
[1]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, Пущино, Россия; [2]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

bohemianrhapsody12345@gmail.com

Метанотрофы – это группа бактерий, использующих метан или метанол в качестве единственных источников углерода и энергии. Получение энергии происходит при окислении метана до CO_2, при этом углерод фиксируется на уровне промежуточных продуктов − формальдегида, формиата или самого CO_2, в одном из 3х биохимических

путей рибулозомонофосфатном, сериновом циклах или в цикле Кальвина. При первичной расшифровке метаболизма метанотрофов данные пути рассматривались как альтернативные в каждой группе этих бактерий. Геномный анализ, однако, показывает, что гены серинового пути могут присутствовать, в том числе, у бактерий, реализующих РМФ путь и/или цикл Кальвина.

Для выяснения функций серинового цикла у метанотрофа *M. alcaliphilum* 20Z были получены мутантные штаммы по генам ключевых ферментов серинового цикла – серин-глиоксилатаминотрансферазы (sga), малил-КоА лиазы (mcl), а также одновременно инактивированными генами sga и hpr, кодирующим гидроксипируватредуктазу (hpr).

Мутантные штаммы Δsga и Δsgahpr характеризовались пониженной скоростью роста по сравнению со штаммом дикого типа, причем данный эффект был более выражен при росте на метаноле. При пересеве с метана на метанол наблюдалась длительная лаг-фаза (около 4 дней). При росте на метаноле в клетках штаммов Δsga и Δsgahpr обнаружено повышенное по сравнению со штаммом дикого типа внутриклеточное содержание ряда центральных метаболитов: пирувата, ацетата и α-кетоглутарата. Данного эффекта не наблюдали у культур, выращенных на метане, что указывает на вовлечение серинового цикла в метаболизм *M. alcalihphilum* 20Z при росте на метаноле. У штамма Δsgahpr также был повышен пул аланина. Возможно, гидроксипируватредуктаза участвует в регулировании уровней восстановительных эквивалентов в клетке, а при ее элиминации эту роль на себя берет аланиндегидрогеназа.

Полученный мутантный штамм Δmcl рос одинаково на метане и метаноле, но оказался неспособен расти без добавления в среду глицина. Это указывает на то, что реакция, катализируемая малил-КоА лиазой является единственным источником глиоксилата, который, в свою очередь, является предшественником глицина в реакциях переаминирования. В клетках мутанта Δmcl обнаружено повышенное по сравнению со штаммов дикого типа содержание ряда метаболитов, в том числе, глутамата, серина и аланина, т.е аминокислот, вступающих с глиоксилатом в реакции переаминирования с образованием глицина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №20-04-00493.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К С-ТЕРМИНАЛЬНОМУ ДОМЕНУ ГЕМОЛИЗИНА II BACILLUS CEREUS

Замятина А. В.[1,2], Руденко Н. В.[1,2], Каратовская А. П.[2], Нагель А.С.[3], Андреева-Ковалевская Ж.И.[3], Сиунов А.В.[3], Бровко Ф.А.[1,2], Солонин А.С.[1,3]

[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]Филиал ФГБУН ИБХ РАН, Пущино, Россия; [3]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия

anna.zamjatina@yandex.ru

Важным фактором вирулентности многих микроорганизмов являются порообразующие экзотоксины, способные олигомеризоваться в мембране с образованием каналов. *Bacillus cereus* секретирует ряд токсинов, один из которых гемолизин II, гомологичный α-токсину *Staphylococcus aureus* и отличается от него наличием дополнительных в 94 а.о. на С-конце (CTD), необычной пространственной структуры. Функция этого участка не известна, но при его отщеплении гемолитическая активность токсина снижается в 8 раз. Целью исследования являлось получение представительной панели моноклональных антител к CTD. Для этого в качестве антигена был использован рекомбинантный препарат CTD. Длительная иммунизация животных CTD не приводила к

развитию значимого иммунного ответа, только одна особь из 4 экспериментальных групп после девятой иммунизации демонстрировала высокое содержание специфических антител в сыворотке крови - около 1/1 000 000. Титр остальных при этом составлял не более 1/32 000. Спленоциты особи, демонстрирующей высокий уровень специфических антител в сыворотке крови, были использованы для получения гибридом, секретирующих моноклональные антитела, направленные против CTD. В результате была получена панель из 24 моноклональных антител, содержащих в своем составе легкую цепь к (kappa), принадлежащих к классу G, подклассу 1, за исключением антител HlyII-18 и HlyIIC-40, тяжелая цепь которых – IgG2b. Методом иммуноблоттинга было показано взаимодействие полученных антител как с CTD, так и с интактным гемолизином II. Использование полученных моноклональных антител позволило продемонстрировать способность CTD связываться с мембранами эритроцитов кролика, и олигомеризоваться в их присутствии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-04-00592.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ИШЕМИИ НА ФОНЕ МНОГОКРАТНОЙ УМЕРЕННОЙ ГИРОТЕРМИИ

Исабекова П. Ш., Сулейманова М. Н.
ФГБОУ ВО Дагестанский Государственный Университет, Дагестан, Россия

Patyla999@gmail.com

На протяжении многих лет важнейшей медико-социальной проблемой является часто встречаемая и распространенная заболеваемость цереброваскулярной патологией. Глобальное бремя инсульта резко возросло, и с прогрессирующим старением населения эта тенденция, вероятно, будет продолжаться.

Большое внимание в патогенезе церебральной ишемии уделяется процессам свободно-радикального окисления. Нервная ткань обладает высокой восприимчивостью к действию свободных радикалов, поскольку мозг нуждается в потреблении большого количества кислорода, а также содержит большое количество липидов, служащих основным субстратом для перекисного окисления липидов.

Целью проведенной работы было изучение влияния многократной умеренной гипотермии на перекисное окисление липидов в крови крыс при билатеральной окклюзии сонных артерий.

Экспериментальная часть работы проведена на белых беспородных крысах, масса которых составляла от 200 до 250 г. Животные были разделены на 3 группы: 1) ложнооперированные крысы; 2) крысы с ишемией головного мозга; 3) крысы с ишемией головного мозга, которым в течении 7 дней до операции моделировали умеренную гипотермию. Церебральная ишемия моделировали путем билатеральной окклюзии сонных артерий в течение часа. Интенсивность перекисного окисления липидов оценивали по содержанию в плазме крови и в эритроцитах крыс малонового диальдегида, которое определяли по реакции с тиабарбитуровой кислотой.

Полученные нами результаты показали, что при ишемическом повреждении мозга в эритроцитах стимулируются процессы перекисного окисления липидов. Так, при острой ишемии мозга наблюдается увеличение содержания МДА в эритроцитах крыс на 38,5% относительно уровня ложнооперированных животных. Многократная умеренная гипотермия способствует снижению уровня МДА в эритроцитах на 22,5% относительно ишемии, однако, при этом скорость перекисного окисления остается выше уровня у ложнооперированных животных, которые рассматривались нами как контроль.

Проведенные нами исследования содержания МДА в плазме крови крыс при тех же состояниях показали, что при ишемии и ишемии на фоне многократной гипотермии уровень МДА снижается на 7% и 15% относительно уровня ложнооперированных животных соответственно. При многократной гипотермии содержание МДА в плазме крови крыс понижается на 6% относительно ишемии.

Таким образом, многократная умеренная гипотермия замедляет истощение высокоэнергетических метаболитов, незначительно уменьшает индуцируемую ишемией активную выработку свободных радикалов.

АКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ ЕГО ФРАГМЕНТОМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 60-76 СТИМУЛИРУЕТ КАЛЬЦИЕВЫЙ СИГНАЛ В НЕЙРОНАХ

Камынина А.[1,2], Эстерас Н.[3], Короев Д.[2], Ангелова П.[3], Охрименко И.[1], Вольпина О.[2], Абрамов А.[3]

[1]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия; [2]ФГБУН ИБХ РАН, Москва, Россия; [3]Институт Нейрологии, Университетский колледж Лондона

aneskaminina@mail.ru

Рецептор конечных продуктов гликозилирования (RAGE) играет важную роль в развитии болезни Альцгеймера (БА) и участвует в процессах воспаления и гибели клеток. Ранее нами был выявлен фрагмент внеклеточного V-домена RAGE последовательности 60-76, который предотвращал потерю пространственной памяти мышей с экспериментально индуцированной формой БА, а также восстанавливал другие биохимические проявления БА у животных. Было также показано, что пептид 60-76 защищал нейроны и астроциты от бета-амилоидной токсичности в опытах на первичной культуре клеток, выделенной из гиппокампа и коры мозга крыс. Однако механизм протективного действия этого пептида оставался неясным. В связи с этим, в настоящей работе мы изучили действие синтетического фрагмента RAGE последовательности 60-76 на кальциевый сигнал в клетках первичной культуры и пути его возникновения. В данном исследовании мы показали, что добавление к первичной культуре нейронов и астроцитов гипокампа и коры мозга крыс пептида RAGE 60-76 вызывает возникновение кальциевого сигнала в нейронах, но не в астроцитах. Этот сигнал полностью блокировался в присутствии высокоаффинного антагониста RAGE (FPS-ZM1). В то же время в бескальциевой среде сигнал в ответ на добавление пептида 60-76 также исчезал. Мы использовали ингибиторы различных нейрональных рецепторов, являющихся кальциевыми каналами, и показали, что только присутствие в среде антагонистов NMDA и AMPA рецепторов блокировало кальциевый сигнал в нейронах в ответ на действие пептида RAGE. Таким образом, индуцируемый пептидом 60-76 кальциевый сигнал опосредован действием глутаматных рецепторов. Более того, мы показали, что предварительная обработка клеток конканамицином А, вызывающим высвобождение глутамата из глутаматных везикул, также препятствовала возникновению кальциевого сигнала в ответ на добавление пептида RAGE. Таким образом, наши данные показали, что кальциевый сигнал в нейронах в ответ на добавление пептидного фрагмента RAGE последовательности 60-76 возникает в результате активации рецептора RAGE и ассоциирован с высвобождением глутамата и последующей активацией глутаматных рецепторов.

Пептидный синтез и обработка данных были выполнены при поддержке гранта РНФ 20- 64-46027, исследования на клетках были выполнены при поддержке грантов РФФИ 19- 015-00064 и 20-015-00526.

ХРОНИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ АСТАКСАНТИНА ВОЗДЕЙСТВУЕТ НА БИОЭНЕРГЕТИКУ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА КРЫС ПРИ ОСТРОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Крестинин Р.Р.[1,2], Бабурина Ю.Л.[1], Одинокова И.В.[1], Сотникова Л.Д.[1], Крестинина О.В.[1,2]

[1]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;
[2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

rkrestinin@bk.ru

Митохондрии играют ключевую роль в нормальном функционировании сердца, а также в патогенезе и развитии различных заболеваний сердца. Изменения в митохондриальной биоэнергетике играют важную роль в возникновении и прогрессировании заболеваний сердца, проявляющихся как угнетение активности дыхательного комплекса, усиление утечки протонов из внутренней митохондриальной мембраны. Астаксантин (АСТ) является каротиноидом ксантофиллом преимущественно морского происхождения, с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Он обладает как липофильными, так и гидрофильными свойствами и используется в качестве обычного антиоксиданта или пищевой добавки, предназначенной для потребления человеком, животными и аквакультурой. АСТ может предотвращать митохондриальную дисфункцию путем проникновения и локализации в пределах митохондриях. Результаты исследования показали, что АСТ способен улучшать функциональное состояние митохондрий сердца крыс (RHM), увеличивать дыхательный контроль, а также активность комплексов дыхательной цепи и АТФ-синтазы при сердечной недостаточности, вызванной изопротеренолом (ISO). Кроме того, АСТ повышал уровень субъединиц комплексов дыхательной цепи и АТФ-синтазы в интактных RHM и в образцах после Blue Native Electrophoresis (BNE), что позволяет предположить, что АСТ предотвращал окислительное повреждение путем повышения эффективности митохондрий. Известно, что циклофилин Д (CyP-D) регулирует окислительное фосфорилирование. Введение АСТ уменьшало содержание CyP-D и увеличивало уровни ANT, субъединиц комплексов дыхательной цепи и субъединиц c, b и α АТФ-синтазы при сердечной недостаточности, что предполагает улучшение функционального состояния RHM, дыхания митохондрий и увеличение активностей комплексов дыхательной цепи и АТФ-синтазы. Анализируя вышеизложенное, можно предположить, что и АСТ предотвращал окислительное повреждение за счет повышения эффективности митохондрий. АСТ показал защитный эффект в RHM, изолированных из крыс, которым вводили ISO, и может рассматриваться как эффективный инструмент для улучшения работы сердечной мышцы в целом в нормальных и клинических условиях. АСТ можно рассматривать как потенциальное терапевтическое средство для лечения патологических состояний, связанных с окислительными повреждениями и митохондриальной дисфункцией, вызванной острой сердечной недостаточностью. Поэтому пищевые добавки с АСТ могут обеспечить антиоксидантную защиту клеток при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00131.

РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНЫХ ВАРИАНТОВ СТРЕПТОЛИЗИНА О ДЛЯ ИСПОЛЬЗУЕМОГО В ДИАГНОСТИКЕ СТРЕПТОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ АНАЛИЗА АНТИСТРЕПТОЛИЗИНА О

Лаштабова С.В.[1,2,3], Головина В.Ю.[1,2,3], Михайлов Р.В.[2], Фунтикова Т.В.[3,4]
[1]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;
[2]ООО "Антерикс", Пущино, Россия; [3]АО "Диакон-ДС", Пущино, Россия;
[4]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия

sofya.lashtabova@yandex.ru

Гемолитический экзотоксин стрептолизин О (СЛО), выделяемый стрептококками при заражении организма, служит триггером для запуска воспалительной реакции и последующей наработки антител, титр которых в сыворотке крови является важным критерием для оценки факторов риска острой ревматической лихорадки и постстрептококкового гломерулонефрита. Большинство коммерчески доступных методов иммуноанализа для оценки титра антистрептолизина О (АСО) основано на использовании СЛО, очищенного из культуры *Streptococcus pyogenes*. Очистка нативного белка связана с рядом трудностей: очень низкая продуктивность и значительные различия продукта от партии к партии, биологические риски при производстве. Цель данной работы состояла в получении рекомбинантного СЛО, позволяющего избежать указанных затруднений и пригодного для создания латекс-усиленного иммунотурбидиметрического анализа АСО.

Для получения рекомбинантных форм белка были разработаны гибридные генно-инженерные конструкции, в состав которых включены традиционно используемые компоненты фьюжн-конструкций – гены tsf, slyD и malE. При получении конструктов применяли классический метод рестрикции-лигирования, сборку осуществляли на базе векторов системы pSOL. Для экспрессии гибридных белков был использован штамм *E.coli* BL21 Star (DE3), генетические конструкции находились под контролем рамнозного промотора. Белки секретировались в цитоплазматическое пространство. Удалось достичь высоких уровней экспрессии (более 150 мг/л клеточной суспензии). Использование гистидиновой метки позволило эффективно очистить целевые белки от примесных белков методом металл-хелатной аффинной хроматографии (>90%, согласно данным SDS-ПААГ электрофореза).

Полученные белки TSF-SLO (Mw=92,4кДа; pI 5,8), SLYD-SLO (Mw=82,8кДа; pI 5,5) и MBP-SLO (Mw=102,3кДа; pI 5,76) хранили при +4°С в 10 мМ фосфатном буфере (pH 8,0) с добавлением 0,05% азида натрия. В конструкции гибридных белков также предусмотрено наличие сайта TEV-протеазы, что позволяет в случае необходимости выделять и использовать нативный СЛО. Предварительные результаты тестирования рекомбинантных форм СЛО в латекс-усиленном иммунотурбидиметрическом анализе, широко применяемом в клинико-диагностических лабораториях для выявления инфекционно-воспалительных состояний, показали эффективность белков в качестве антигенных мишеней для АСО и, следовательно, их применимость для диагностики стрептококковых инфекций. В дальнейшем планируется провести работу по оптимизации стабильности препаратов, в частности, путем повторной очистки, модификации условий хранения, изучения возможности лиофилизации и т.д.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕКОВЕРИНА И КАВЕОЛИНА-1 В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Лебедева А.Ю.[1,2], Владимиров В.И.[1], Авдюшкин А.С.[1,2], Михайлова И.В.[1,2], Пермяков С.Е.[3], Казаков А.С.[3], Зерний Е.Ю.[4], Зинченко Д.В.[1]

[1]Филиал ФГБУН ИБХ РАН; [2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [3]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, Россия; [4]НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва, Россия

ay_lebedeva@mail.ru

Белки семейства нейрональных кальциевых сенсоров (НКС), локализующиеся в фоторецепторных клетках сетчатки, реагируют на изменения концентрации внутриклеточного кальция благодаря чему вовлечены в регуляцию функционирования зрительной и нервной системы. Ca^{2+}-связывающий белок рековерин относится к семейству НКС и регулирует Ca^{2+}-зависимую десенситизацию фотоактивированного рецептора родопсина в палочках сетчатки позвоночных животных. Обнаруживаемый в различных системах организма, в том числе в наружных сегментах фоторецепторных клеток палочек, трансмембранный белок кавеолин-1, влияет на функциональную активность белков семейства НКС, в частности рековерина, как было показано ранее, но особенности этого взаимодействия изучены недостаточно. Нарушение функционирования НКС лежит в основе нейродегенеративных и нейроофтальмологических заболеваний. Ключевую роль в развитие таких нейродегенеративных болезней как, например, Паркинсона и Альцгеймера вносит окислительный стресс. Как известно, окислительный стресс вызывает фосфорилирование кавеолина-1 по Tyr14 и приводит к ковалентной димеризации рековерина. Таким образом, целью работы было установление влияния условий окислительного стресса на взаимодействие изучаемых белков.

В процессе работы были получены окисленные формы человеческого и бычьего рековерина, а также мимик фосфорилированного кавеолина-1 Y-14-E, в котором остаток тирозина заменен на остаток глутатионовой кислоты (кавеолин-E). Методом преципитации белков на аффином сорбенте установлено, что у нативных и окисленных (димер) форм человеческого и бычьего рековерина взаимодействие с кавеолином-1 и с кавеолином-E более выраженное в условиях отсутствия ионов кальция. При этом учитывая кинетические константы, полученные методом поверхностного плазмонного резонанса, нативная форма бычьего рековерина и его димер демонстрируют лучшее взаимодействие с кавеолином-1, чем с кавеолином-E. Так же константы показывают более выраженное взаимодействие кавеолнина-1 и кавеолина-E с окисленной формой рековерина, чем с нативной.

Таким образом, окисленная форма рековерина демонстрирует более интенсивное связывание с кавеолином-1, однако, оно слабее чем с кавеолином-E, в то же время Ca^{2+}-чувствительность этого процесса не меняется, это указывает на влияние окислительного стресса на взаимодействие исследуемых белков. Полученные результаты открывают новые аспекты функционирования белков семейства НКС в нормальных и патологических состояниях.

Работа поддержана за счет средств гранта РФФИ № 18-04-01250-А.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА (AGNP) С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ IN VIVO И IN VITRO.

Магазенкова Д.Н.[1], Скоморохова Е.А.[2]

[1]ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; [2]ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

magdash@mail.ru

Наночастицы серебра (AgNP) широко применяются в производстве медицинских материалов, текстильной и пищевой промышленности, что объясняется их антибактериальными свойствами. При этом считается, что AgNP практически не токсичны для высших эукариот, поэтому исследований, направленных на изучение влияния AgNP на млекопитающих, недостаточно. Однако известно, что ионы серебра Ag(I), изоэлектронные ионам меди Cu(I), способны вмешиваться в метаболизм меди – важного эссенциального элемента, участвующего в поддержании окислительно-восстановительного баланса клетки, сигналинге, регуляции транскрипции. В частности, включение серебра в активный центр церулоплазмина (ЦП) – основного медьсодержащего белка сыворотки крови, приводит к его инактивации. Таким образом, целью данной работы было изучение взаимодействия AgNP с ЦП как in vivo, так и in vitro. В работе использовали сферические AgNP, полученные путем химического восстановления серебра из AgNO3, трех размеров – 10, 20 и 75 нм (AgNP10, AgNP20, AgNP75). Все AgNP обладали дозо- и время-зависимой антибактериальной активностью, причем у частиц с наименьшим размером эффект был более выражен. AgNP вводили мышам линии C57Bl/6 интраперитонеально и перорально в течение 5 дней (10 мкг/г массы тела). Концентрации металлов были измерены методом ААС. Серебро в тканях животных накапливалось неравномерно; наибольшую аккумулирующую способность демонстрируют печень и селезенка. Размер AgNP на накопление серебра влияния не оказывал. Также не изменялась концентрация меди в тканях после обработки AgNP, при этом удельное содержание меди в органах и накопление серебра в них не коррелирует. В сыворотке крови мышей концентрация серебра увеличивалась в течение недели и оставалась на этом уровне и через семь дней после отмены инъекций; концентрация меди в сыворотке крови снижалась быстрее у животных, получавших AgNP75. Параллельно у животных снижалась активность ЦП, причем также наиболее выраженный эффект наблюдался в группе AgNP75. Методом гель-фильтрации было показано, что серебро в сыворотке крови мышей после обработки AgNP элюируется двумя пиками: один, в котором элюируется ЦП, и второй, соответствующий пику альфа-2-макроглобулина. У животных, получавших AgNP перорально, концентрация серебра в тканях была ниже, а концентрация меди и активность ЦП снижались медленнее, чем у животных с интраперитонеальными инъекциями. У всех мышей серебро выводилось через желчь. Инкубация очищенного ЦП с AgNP не приводит к замещению ионов меди на ионы серебра и изменении его энзиматической активности.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-015-00481.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУМАРАЗЫ А ИЗ ОБЛИГАТНОГО МЕТАНОТРОФА METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z

Мельников О.И.[1,2], **Розова О.Н.**[1]
[1]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

oleg96mel@gmail.com

Фумаратгидратаза является важным элементом цикла Кребса, выполняя гидратацию фумарата с образованием (S)-малата. В настоящее время известно существование двух биохимически различных классов фумараз: класс I (изоформы A, B и D) и класс II (изоформа C). В отличие от фумараз C, ферменты I класса термолабильны, чувствительными к кислороду, имеют 4Fe-4S кластер в активном центре и представляют собой димерные белки ~120 kDa. Цель данной работы изучить свойства рекомбинантной фумаразы А из галоалкалофильного метанотрофа *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z. Методом клонирования гена fumA и его гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli* $BL_{21}(DE_3)$ и последующей аффинной хроматографией на Ni-NTA агарозе был получен рекомбинантный фермент.

Фумараза А способна катализировать прямую реакцию превращения фумарата в малат с максимальной активностью – 155 Е/мг белка, а в обратной реакции превращения малата в фумарат – 83 Е/мг белка. Фумараза А эффективно работает в диапазоне pH от 6,0 до 9,5 с оптимумом при pH 8,5 в обоих направлениях. Температурный оптимум фермента составил 30ºС. Экспозиция фермента при 50ºС в течение 60 минут приводила к снижению активности на 50%, полная денатурация происходила через 180 минут при той же температуре. В отличие от других ферментов I класса, фумараза А *M. alcaliphilum* не чувствительна к кислороду. Для стабилизации активности фермент хранили в 0,25 mM растворе $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$. Фумараза А не подчиняется кинетике Михаэлиса-Мэнтен, значение $S_{0.5}$ для фумарата составило 0,28 ± 0,04 мМ (коэффициентом Хилла n 1,4 ± 0,2), а константа $S_{0.5}$ для малата - 0,55 ± 0,03 мМ (n = 1,7±0,1). Расчет $k_{cat}/S_{0.5}$ показал, что фумараза А в 4 раза специфичнее к фумарату, чем к малату. ФЕП и глюкозо-6-фосфат (в концентрации 1 и 5 мМ, соответственно) слабо снижали активность фермента (на 20%), в то же время, глицин, пируват и сукцинат (1 мМ) оказывали незначительное активирующее действие на фермент (на 27%, 35% и 44%, соответственно).

Фумараза А *M. alcaliphilum*, способна использовать в качестве субстрата мезаконат с образованием (S)-цитрамалата, с удельной активностью фермента в данной реакции 127 Е/мг белка. $S_{0.5}$ для мезаконата составила 0,24 ± 0,02 мМ (n = 1,4 ± 0,1). Примечательно то, что *M. alcaliphilum* не имеет ферментов дальнейшего метаболизма (S)-цитрамалата, следовательно, реакция с мезаконатом является общим свойством фумараз I класса и не имеет физиологического значения для данного метанотрофа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-04-00771).

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДИМЕРИЗАЦИИ БЕЛКА АКТИВАТОРА ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ 1 В ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ СИСТЕМЕ

Михайлова И.В.[1,2], Владимиров В.И.[1], Авдюшкин А.С.[1,2], Лебедева А.Ю.[1,2], Зерний Е.Ю.[3], Зинченко Д.В.[1]

[1]Филиал ФГБУН ИБХ РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [3]НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

rinarowing@mail.ru

Концентрация ионов кальция модулирует процессы передачи внутриклеточных сигналов в фоторецепторной системе. На изменение концентрации ионов кальция реагируют белки семейства нейрональных кальциевых сенсоров (НКС). К семейству НКС относится белок активатор гуанилатциклазы 1 (GCAP1), который регулирует активность гуанилатциклазы в фоторецепторной системе в зависимости от концентрации ионов кальция.

Сетчатка подвергается постоянному окислительному стрессу за счет интенсивного света и активных форм кислорода. Когда баланс между про- и антиоксидантной системой нарушается, окислительный стресс вызывает нарушение фототрансдукции и изменения, приводящие к ухудшению зрения. Метаболические нарушения вызывают окисление биомолекул, способствуя повреждению клеток и тканей и развитию ряда заболеваний, таких как возрастная макулярная дегенерация, диабетическая ретинопатия.

Мы проверили влияние различных факторов в системе, моделирующей условия окислительного стресса. В качестве контроля были взяты условия с высоким содержанием ионов кальция, моделирующие темновую фазу фоторецепторной клетки. Как было показано, ковалентная димеризация в таких условиях происходит значительно интенсивнее, чем в условиях отсутствия ионов кальция, моделирующих световую фазу в фоторецепторной клетке.

Магний является важным физиологическим ионом, который необходим для нормального функционирования зрительной системы и для правильного фолдинга GCAP1, однако по нашим результатам, присутствие или отсутствие ионов магния не влияют на процесс ковалентной димеризации GCAP1.

В присутствии ионов железа, цинка, марганца и меди, участвующих в антиоксидантной защите клетки, значительно уменьшается процесс ковалентной димеризации, чем в их отсутствии.

Было установлено, что мутантная форма GCAP1 C18D, в котором произведена замена остатка цистеина на остаток аспарагиновой кислоты, не способна к димеризации, что говорит о критической роли цистеина в 18 положении для димеризации белка. Кроме того, было установлено, что при денатурации белка до первичной структуры димеризация не происходит.

Таким образом, пространственная структура GCAP1 важна для его ковалентной димеризации, ионы металлов, участвующие в антиоксидантной защите, снижают интенсивность этого процесса. Процесс ковалентной димеризации GCAP1 наиболее выражен в присутствии ионов кальция, где GCAP1 функционально не активен, что может быть связано с механизмами нарушения зрительной фототрансдукции и нейродегенеративными заболеваниями сетчатки.

Работа поддержана за счет средств гранта РФФИ № 18-04-01250-А.

ОСОБЕННОСТИ МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИСТОВЫХ, ЧЕРЕШКОВЫХ И КОРНЕВЫХ ФОРМ СЕЛЬДЕРЕЯ (APIUM GRAVEOLENS L.) В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕЙ ПОЛОСЫ РОССИИ

Молдован А.И., Харченко А.В., Голубкина Н.А., Кошеваров А.А., Молчанова А.В.
ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, Одинцово, Россия

nastiamoldovan@mail.ru

Среди широко распространенных сельскохозяйственных культур сельдерей отличается высоким содержанием биологически активных соединений и мощным биологическим действием всех частей растения, определяющим широкое использование сельдерея в медицине. В связи с этим важность разработки новых сортов сельдерея предполагает необходимость выявления общих закономернотей формирования биохимического состава.

Изучен биохимический профиль трех видов сельдерея (листовая, черешковая и корневая формы) коллекции ФГБНУ ФНЦО. Установлено достоверно более низкое содержание листьев и листовой поверхности в черешковом сельдерее по сравнению с другими формами. Содержание нитратов и водорастворимых соединений в листьях листовой и черешковой формы в 2 раза выше, чем в черешках. Наибольший уровень моносахаров установлен в черешках черешкового сельдерея, в дисахаров - в корнеплодах. В листьях корневой формы установлена в 2 раза более низкое содержание водорастворимых соединений по сравнению с листьями листовых и черешковых форм.

Новый сорт сельдерея Добрыня характеризовался в 1.8 раза более высоким содержанием в листьях калия и железа и в 1.4 раза более высоким содержанием калия в корнеплодах.

Сходные уровни аскорбиновой кислоты установлены в листьях всех форм сельдерея, в то время как в черешках корневой формы уровень аскорбиновой кислоты был в 2 раза ниже, чем в листьях. Уровень накопления полифенолов и антиоксидантная активность листьев для всех видов сельдерея был в 1.5-2 раза выше, чем в черешках. Отличительной особенностью корневого сельдерея было достоверно более высокое содержание хлорофилла, марганца и железа в листьях по сравнению с черешковыми и листовыми формами. В целом, антиоксидантная система сельдерейных культур характеризовалась мощными положительными корреляциями между антиоксидантной активностью, содержанием полифенолов, флавоноидов, аскорбиновой кислоты и цинка. Этот характер взаимосвязей отличается от взаимосвязей антиоксидантной системы лука порея, где в систему антиоксидантной защиты вместо цинка входят калий и селен.

Для корнеплодов сельдерея было характерно наиболее низкое содержание золы.

Полученные результаты указывают на перспективность использования листьев корневого сельдерея, как значимого источника антиоксидантов, железа, марганца и природных антиоксидантов. Потребление 50 г листьев корневого сельдерея обеспечивает поступление в организм человека 13% суточной потребности в марганце, 11-17% - железа.

СТРЕССПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ГЛИЦИНАТА КОБАЛЬТА

Монстакова Т.В., Кочиш И.И., Азарнова Т.О.
ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

tommi@list.ru

В процессе искусственной инкубации зародыши птицы претерпевают целый ряд негативных воздействий в условиях производства, а также критические периоды развития. Всё это определяет напряженность обменных процессов, а нередко их нарушения. Доказано, что указанное обусловлено чрезмерным образованием свободных радикалов и, как следствие, активизацией липопероксидации.

Продукты указанных процессов цитотоксичны, вследствие этого обуславливают нарушение целостности и функциональности клетки, а вместе с тем невозможность качественного становления тканей и органов, что предопределяет негативный прогноз на дальнейшее существование особи и реализацию хозяйственно-полезных признаков.

Доказано, что применение веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, способно профилактировать вышеуказанные явления. Синтезированный нами препарат глицината кобальта обладает комплексом уникальных свойств, в том числе многоплановым антиоксидантным действием.

Цель работы – изучить возможность проявления стресспротекторного действия у эмбриона кур при применении препарата глицината кобальта.

Эксперимент проводили в условиях ФГУП ППЗ «Птичное» на яйцах кур кросса «Шейвер-браун», подобранных по принципу аналогов. Опытную группу до инкубации обрабатывали 0,05% раствором глицината кобальта. Все исследования проводили по общепринятым методикам.

Использование изучаемого БАВ определило снижение интенсивности перекисного окисления в опытной группе. Так, содержание малонового диальдигида снизилось на 8,23%, оснований Шиффа на 16,6% по сравнению с контролем. При этом уровень АОА повысился на 14,4%, в свою очередь активность СОД возросла на 27,7 %.

Вышеуказанное определило изменение интенсивности центральных метаболических процессов. Так, в опытной группе установлено достоверное: повышение активности α-амилазы на 16,84%, содержания глюкозы на 7,8%. Учитывая факт повышения ПВК на 40% при незначительном изменении ЛДГ, можно свидетельствовать о главенствующей роли аэробного гликолиза. При этом триглицериды возросли на 6,72%, активность липазы на 4,29%.

Оптимизация метаболизма определила высокую интенсивность роста, развития эмбрионов и молодняка в опытной группе по сравнению с контролем. Так, масса эмбрионов на 16-е сутки повысилась на 4,56%, суточного молодняка на 2,90%, на 60 сутки на 1,30%, соответственно.

Полученные данные определили получение более качественного и жизнеспособного молодняка суточного возраста (превосходство по шкале «Пасгар» и «Оптистарт» составило 1,0 ($P<0,05$) и 1,2 ($P<0,01$) балла, соответственно; вывод цыплят и выводимость яиц превосходили контроль на 7,52% ($p <0,01$) и 9,33 % ($p <0,01$), соответственно.

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ ГЛЮКОНАТКИНАЗ У ОБЛИГАТНЫХ МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Мустахимов И.И[1], Решетников А.С[2], Бекен М.М[2], Екимова Г.А[2]
[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, Пущино, Россия

Beken.biotech@gmail.com

Анализ геномов *in silico* выявил наличие у некоторых метанотрофов генов, предположительно кодирующих ферменты окисления глюкозы до 6-фосфоглюконата (глюкозодегидрогеназу, глюконолактоназу и глюконаткиназу), что указывает на функционирование у них второго, параллельного пути утилизации внутриклеточной глюкозы, ферменты которого не изучены. Глюконаткиназа катализирует НАДФ-зависимую реакцию фосфорилирования глюконата до 6-фосфоглюконата с восстановлением никотинамидного кофактора. Целью данной работы является получение и биохимическая характеристика рекомбинантных глюконаткиназ у метанотрофов – галоалкалотолерантного *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z и нейтрофильного негалофильного *Methylobacter luteus*.Открытые рамки считывания генов глюконаткиназы (gntK) *Mm. alcaliphilum* 20Z и *M. luteus* клонировали в экспрессионном векторе pET-30. При помощи гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli* и последующей металл-хелатной аффинной хроматографии получили электрофоретически гомогенные препараты рекомбинантных белков GntK. С помощью гель-электрофореза в полиакриламидном геле и гель-фильтрации было показано, что оба белка являются мономерами с молекулярной массой 20 кДа. Активность ферментов определяли спектрофотометрическим методом по образованию НАДФН в сопряженной реакции с 6-фосфоглюконатдегидрогеназой. Показано, что активность обоих ферментов полностью зависела от присутствия АТФ и ионов Mg. Активность глюконаткиназы из *Mm. alcaliphilum* 20Z на 80% ингибировалась в присутствии глюкозо-6-фосфата.Таким образом, показано, что гены gntK *Mm. alcaliphilum* 20Z и *Methylobacter luteus* действительно кодируют глюконаткиназы. Образованный в результате их активности 6-фосфоглюконат поступает далее в окислительный пентозофосфатный цикл с получением энергии, но потерей С-С связи, или распадается до C_3 метаболитов в пути Энтнера-Дудорова. Полученные данные свидетельствуют о метаболическом разнообразии путей вовлечения внутриклеточной глюкозы в центральный метаболизм у нерастущих на сахарах метанотрофов и являются фундаментальной основой для дальнейших исследований.

КОНЦЕНТРАЦИЯ ЛАКТОПЕРОКСИДАЗЫ В МОЛОКЕ КОРОВ В ДИНАМИКЕ ЛАКТАЦИИ

Садовская Т.А., Азарнова Т.О., Орлова Е.С.
ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

Orlofflena2012@yandex.ru

Лактопероксидаза – один из ферментов класса оксидоредуктаз, представляет собой гемсодержащий гликопротеин, который обнаруживается в молоке, слюне, слезной жидкости, на слизистой оболочке дыхательных путей. Лактопероксидаза была впервые

обнаружена в молоке, где ее активность наиболее высокая. Этот фермент обладает бактерицидным действием и другими важнейшими свойствами для обеспечения сохранности молодняка животных и защиты от инфекционных заболеваний.

Экспериментальные исследования динамики лактопероксидазы проводили на коровах черно-пестрой породы животноводческого комплекса АО племзавода Петровское, Московской области. Животные были подобраны по принципу аналогов - возраст, живая масса, продуктивность, срок отела и разделены на четыре группы. Каждая группа сформирована из десяти животных. Материалом исследования служили молозиво и молоко. Отбор проб производился через 1, 3, 5, 7, 9, 15, 24 часа; на пятые сутки и далее отбирали пробы каждый месяц на протяжении всего периода лактации после отела.

Так же, как и в случае общего белка, в молозивный период наблюдалось наибольшее содержание лактопероксидазы в молоке коров. Через 5-7 дней после отела содержание лактопероксидазы в молоке значительно снижалось, далее до двух месяцев плавно снижалось (в среднем в пять раз) и в дальнейшем не изменялось до окончания лактации. Такая зависимость аналогична для всех групп коров. Разница содержания концентрации лактопероксидазы в молозиве и молоке (так же, как и общего белка) объясняется тем, что в молозивный период под влиянием гормональной перестройки животного, проницаемость мембран альвеолярных клеток молочной железы значительно выше, чем в период раздоя. В молозивный период секреция происходит преимущественно по апокриновому типу. В период раздоя осуществляется преимущественно мерокриновый тип секреции.

Для каждой группы коров были выявлены небольшие различия. По нашим данным, решающее значение на содержание лактопероксидазы в молозиве в первый день после отела оказывает месяц отела (оптимально – июнь). По-видимому, это связано с тем, что в рационе коров, отелившихся в июне, значительно преобладали зеленые корма. Столь же важный фактор, как и срок отела, но менее значительный – удой. Наблюдалась обратно пропорциональная зависимость между удоем и содержанием лактопероксидазы. Возможно, это связано с тем, что у высокоудойных коров менее интенсивно синтезируется лактопероксидаза вследствие повышенной нагрузки на молочную железу.

АДСОРБЦИЯ ОНКОМАРКЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АСМ-МИКРОСКОПИИ

Пискарев Д.И., Садовская Т.А., Азарнова Т.О.
ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

tatana123@mail.ru

Разработка методов адсорбции и концентрирования NFAT-белков сыворотки крови как биомаркера патологического процесса имеет важное значение. Благодаря использованию атомно-силовой микроскопии открывается возможность визуализации отдельных клинически важных белковых молекул с высоким разрешением для диагностических целей. Белок NFATc1 – транскрипционный фактор, имеет важное значение для функционирования иммунной системы. Экспрессия этого белка повышается в раковых клетках.

В работе были использованы химические вещества: дитиобис-сукцинимидилпропонат (Dithiobis-succinimidylpropionate, DSP), фосфат калия (KH_2PO_4, КР), диметилсульфоксид (Dimethylsulfoxide, DMSO), 3-аминопропилтриэтоксисилан (3-aminopropyltriethoxysilane, APTES) и белок: ДНК-связывающий фрагмент ядерного фактора активации Т-лимфоцитов - NFATc1.

Для оценки чистоты и размеров используемого раствора целевого белка NFATc1 был проведен эксперимент по АСМ-визуализации адсорбции белка NFATc1 на поверхности свежесколотой слюды. Белок NFATc1 адсорбировался на поверхности подложки в виде компактных объектов с размерами от 1 нм до 3 нм. Визуализированные объекты в эксперименте были идентифицированы как молекулы белка, адсорбированные на поверхности свежесколотой слюды. В данном случае белок нековалентно адсорбировался на поверхности (физическая адсорбция). Полученные данные свидетельствуют о том, что белок NFATc1 сорбируется как в мономерной форме (соответствует максимальной высоте объектов 1 нм), так и в олигомерной форме (максимальная высота объектов составляет 1,8 нм). Высота визуализированных объектов соответствует молекулярной массе белка NFATc1 - 24 кДа.

ВЫБОР КАНДИДАТНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПРОРОСТКОВ ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ И ПОИСКА ДЕТЕРМИНАНТ ЭФФЕКТА ГОРМЕЗИСА

Пишенин И.А., Волкова П.Ю.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

pishenin.ivan@gmail.com

Явление радиационного гормезиса заключается в стимуляции роста проростков γ-облучённых семян сельскохозяйственных культур. Полевое применение эффекта радиационного гормезиса осложнено нестабильностью эффекта облучения и его модификацией погодными условиями. Исследования биохимических и молекулярных основ формирования эффекта радиационной стимуляции представляет самостоятельную ценность для целей биотехнологии растений, предполагая выявление биохимических и молекулярных детерминант, опосредующих ускорение роста растений в результате облучения.

Семена ячменя ярового сорта Нур были облучены стимулирующими дозами (5, 10, 15, 20 Гр) и ингибирующей дозой 100 Гр и пророщены в контролируемых условиях. Проростки необлученных семян использовали в качестве контроля. Показана стимуляция роста побегов облученных в дозах 5-20 Гр растений через семь дней прорастания.

Для метаболомного анализа были отобраны самые большие побеги и корни в 4-х биологических повторностях для одной экспериментальной точки (контроль, 5, 10, 15, 20 и 100 Гр). Пробоподготовка была проведена по Fiehn (2006), затем образцы анализировали методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии.

В результате анализа были получены два набора данных – метаболический профиль побегов и корней, содержащий порядка 900-т метаболитов каждый. Для каждого метаболита был построен график зависимости концентрации от дозы облучения относительно концентрации в необлученных семенах. Был проведен статистический анализ данных для отбора метаболитов, значимо изменяющих свою концентрацию в тканях растения в результате облучения. По итогам работы были отобраны 24 метаболита, включающие в себя свободные аминокислоты, фитогормоны.

Отобранные метаболиты являются объектом исследования дальнейшей работы – поиска детерминант эффектов радиационного гормезиса. Предполагается анализ зависимости концентраций отобранных метаболитов от дозы облучения на широком спектре сортов ячменя с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации метаболических путей, опосредующих стрессовую реакцию растения в ответ на облучение.

IN VITRO ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ГИАЛУРОНИДАЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА НА ФИЛЛЕРЫ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Пономарева Т.И.[1], Слядовский Д.А.[1], Тимченко М.А.[1], Молчанов М.А.[2], Тимченко А.А.[3], Лапаев С.[1], Поздняков Н.В.[1], Бочарова К.А.[1], Филиппов М.В.[1], Согорин Е.А.[1]
[1]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;
[3]ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

tatyanap91875@gmail.com

Возрастающая популярность и относительная доступность контурной пластики с использованием филлеров на основе гиалуроновой кислоты сопровождается увеличением случаев нежелательных эффектов. Иногда введение филлера на основе гиалуроновой кислоты приводит к процессу острого воспаления, что требует быстрого вмешательства и удаления гиалуроновой кислоты, поэтому разработка эффективного способа удаления негативных последствий введения таких филлеров является актуальной задачей косметологии и медицины.

В нашей работе впервые исследована кинетика гидролиза филлеров на основе гиалуроновой кислоты гомогенатом гепатопанкреаса камчатского краба. Турбидиметрический анализ реакционной смеси показал колоколообразную временную зависимость эффективности образования агрегатов. Было показано, что полученный гомогенат проявляет активность, сравнимую с коммерчески доступными препаратами гиалуронидаз животного происхождения. Методом атомно-силовой микроскопии было показано, что гиалуроновая кислота филлеров имеет шарообразную структуру в диапазоне от нескольких до нескольких сотен нм. Под действием гиалуронидаз гомогената камчатского краба данные структуры распадаются на нитеобразные сетчатые структуры. С помощью ядерно-магнитного резонанса изучена кинетика гидролиза гиалуроновой кислоты в течение широкого диапазона времени - от десятков минут до нескольких дней. Оказалось, что максимальная скорость гидролиза в данных условиях происходит в первые часы инкубации, тогда как расщепление гиалуроновой кислоты продолжается в течение нескольких дней.

Главная проблема получения препаратов производственного масштаба из гепатопанкреаса промысловых ракообразных - сложность изъятия из организма, хранения и транспортировки гепатопанкреаса в непростых условиях морского промысла. Решение данной проблемы и доклинические исследования на модельных животных, демонстрирующие безопасность и терапевтическую эффективность гиалуронидазы из гепатопанкреаса камчатского краба, смогут пополнить арсенал препаратов гиалуронидаз в недалёком будущем.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ХЛОРОФИЛЛА

Прокофьева А.А., Ромодин Л.А., Зарудная Е.Н., Лысенко Н.П.
ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

prokofoly3@rambler.ru

Апоптозу, развивающемуся по внутреннему (митохондриальному) пути, с каждым годом уделяется всё большее внимание. Данный процесс зачастую – результат окислительного стресса, обозначающего развитие дисбаланса между оксидантами и

антиоксидантами в пользу оксидантов; причём весомую роль в данном процессе играет пероксидация мембранных липидов.

По предположительным данным, в качестве экзогенного антиоксиданта, способного предотвратить данное состояние, можно использовать хлорофилл, перехватывающий свободные радикалы [3]. По химическому строению хлорофиллы - сложные эфиры дикарбоновой органической кислоты - хлорофиллина (к слову, именно это соединение в силу водорастворимости предпочтительнее использовать в качестве добавки к пище) и двух остатков спиртов - фитола и метанола.

В ходе представляемого исследования методом coumarin-334-активированной хемилюминесценции (ХЛ) был изучен препарат медного хлорофиллина натрия в качестве ингибитора липидной пероксидации (ЛП), катализируемой комплексом цитохрома с с кардиолипином (ЦитС-КЛ). Способность этой супрамолекулярной наночастицы выступать в роли пероксидазы подробно описана в работе Владимирова Ю.А. и др. (Молекулярные механизмы апоптоза. Структура комплекса цитохрома с с кардиолипином (обзор). Биохимия, 2013), а также подтверждена нашими исследованиями. ХЛ пробы, в которой ЦитС-КЛ отсутствовал - показала наименьшую из всех интенсивность.

Хлорофиллин в концентрации 200 мкМ угнетал ЛП на 98%, сохраняя интенсивность ХЛ в 5 раз выше по сравнению с пробой, не содержащей ЦитС-КЛ, а в концентрации 193 нМ - угнетал ЛП на 35%.

Полученные данные свидетельствуют о возможности проявления хлорофиллином свойств антиоксиданта, однако для получения более достоверных данных требуются дополнительные исследования.

РОЛЬ ЭНДОЦИТОЗА В МЕХАНИЗМЕ LPS- ИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВАЦИИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ ДОНОРОВ СЕРОВОДОРОДА И БТШ70

Сабитова Н.Р.[1,2], Юринская М.М.[2], Винокуров М.Г.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

nelik1881@gmail.com

Важную роль в патогенезе грамотрицательного сепсиса и нейродегенеративных заболеваниях играют компоненты клеточной стенки энтеробактерий человека – липополисахариды (LPS). Современные методы лечения не позволяют предотвратить высокую смертность при этих заболеваниях. Недавние исследования показали, что белок теплового шока 70 (БТШ70) и доноры сероводорода снижают активацию клеток человека и животных, вызванную действием LPS. БТШ70 имеет различные функции в условиях стресса: цитопротекторную и сигнальную в отношении иммунных клеток. Другая важная функция этого белка - шаперонная, которая может частично устранить ранние синаптические и аксональные нарушения при болезнях Паркинсона, Альцгеймера и других. Важную роль в воспалительных процессах играет H2S (сероводород). В настоящее время известно, что поступление LPS и БТШ70 в клетки происходит с участием эндоцитоза. Однако механизмы защиты клеток и организма млекопитающих при действии доноров серы и БТШ70 недостаточно исследованы.

Целью нашей работы является исследование роли эндоцитоза в механизме действия доноров сероводорода и БТШ70 на клетки млекопитающих при их активации LPS.

На первом этапе работы было исследовано влияние ингибиторов эндоцитоза (ЭЦ) на продукцию активных форм кислорода (АФК), оксида азота (NO) и TNFα на различные типы клеток (про-моноцитарные клетки THP-1 и клетки нейробластомы SH-SY5Y) при действии LPS и внеклеточного БТШ70. Были использованы ингибиторы: dynasore

(ингибитор клатрин-зависимого ЭЦ); amiloride (ингибитор макропиноцитоза); filipin (ингибитор кавеолин-зависимого ЭЦ); nocodazole (ингибитор тубулин-зависимого ЭЦ); methyl-beta cyclodextrin (MbCD, ингибитор липидных микродоменов). Эксперименты показали, что все использованные ингибиторы ЭЦ снижали LPS-индуцированную продукцию АФК, NO и фактор некроза опухоли (TNFα) клетками THP-1 и SH-SY5Y. Предварительное (перед LPS) добавление вБТШ70 к клеткам снижает LPS-индуцированную их активацию, т.е. защищает клетки от действия LPS. Изучение действия ингибиторов ЭЦ на защиту клеток белком БТШ70 от их активации LPS показало, что в этом случае может происходить как увеличение продукции АФК, NO и TNFα, так и снижение этих показателей по сравнению с пробами, где ингибиторы ЭЦ не использовались. Следующий этап заключался в выяснении влияния GYY4137 на эндоцитоз вБТШ70 и LPS в клетки. С использованием флуоресцентного зонда SF7- AM методом проточной цитометрии было подтверждено, что при действии GYY4137 в клетках THP-1 и SH-SY5Y образуется H2S. Полученные результаты показали, что практически во всех экспериментах (за исключением dynasore при измерении NO в клетках THP-1; MbCD - NO и amiloride - TNFα в клетках нейробластомы) донор активной серы GYY4137 совместно с БТШ70 ингибировал LPS-индуцированную продукцию АФК, NO и TNFα несколько сильнее, чем только один БТШ70 или один GYY4137. Как известно, LPS активирует апоптоз в макрофагах и ингибирует в нейтрофилах человека, чем значительно отягощает патогенез многих воспалительных заболеваний. Проверка влияния GYY4137 на апоптоз клеток THP-1 показала, что GYY4137 снижает LPS-индуцированный апоптоз макрофагов и увеличивает апоптоз нейтрофилов при действии LPS.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-04-00109).

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ГЕКСАДЕКАНОВОЙ, ω-ГИДРОКСИГЕКСАДЕКАНОВОЙ И α,ω-ГЕКСАДЕКАНДИКАРБОНОВОЙ КИСЛОТ КАК ИНГИБИТОРОВ ГЕНЕРАЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ

Семенова А.А., Самарцев В.Н., Дубинин М.В.
ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

sem_al.ru@mail.ru

В настоящей работе исследовано влияние ω-гидроксигексадекановой кислоты (ГПК) и α,ω-гексадекандикарбоновой кислоты (ГДК) на генерацию H_2O_2 митохондриями печени. Эффекты этих жирных кислот сравнивали с действием гексадекановой (пальмитиновой) кислоты – известного ингибитора образования H_2O_2. Хорошо известно, что митохондрии сердца, энергизованные путем окисления сукцината, наиболее интенсивно генерируют H_2O_2 в условиях обратного транспорта электронов, и скорость этого процесса существенно снижается ротеноном. В наших условиях скорость генерации H_2O_2 митохондриями печени, энергизованными путем окисления сукцината, без ротенона и в его присутствии (6 нмоль на 1 мг белка) составляет, соответственно, 622 ± 41 (n=5) и 310 ± 14 (n=7) пмоль H_2O_2 /мин на 1 мг белка. Следовательно, ингибирование обратного транспорта электронов ротеноном в митохондриях печени приводит к уменьшению скорости генерации H_2O_2 в 2 раза, что соответствует известным из литературных источников данным.

В отсутствие ротенона, т.е. в условиях обратного транспорта электронов, гексадекановая кислота уже в концентрации 6 мкМ (30 нмоль на 1 мг белка) ингибирует

генерацию H_2O_2 митохондриями печени на 40%. ГПК приблизительно в той же степени ингибирует генерацию H_2O_2 митохондриями при более высоких концентрациях – 12 мкМ (60 нмоль на 1 мг белка). Аналогичный эффект ГДК наблюдается при концентрациях 30 мкМ (150 нмоль на 1 мг белка). В присутствии ротенона, т.е. при ингибировании обратного транспорта электронов, гексадекановая кислота, ГПК и ГДК в концентрациях 8, 16 и 40 мкМ, соответственно, также снижают генерацию H_2O_2 митохондриями печени.

Гексадекановая кислота уже в концентрации 30 мкМ (25 нмоль на 1 мг белка) эффективно стимулирует дыхание митохондрий (в 2,4 раза) и снижает $\Delta\psi$; ГПК в концентрации 60 мкМ (50 нмоль на 1 мг белка) также эффективно стимулирует дыхание митохондрий (в 3,5 раза) и снижает $\Delta\psi$. В отличие от этого стимуляция дыхания митохондрий ГДК даже в концентрации 200 мкМ (167 нмоль на 1 мг белка) в 3,4 раза не сопровождается снижением $\Delta\psi$. Такое действие ГДК как “десопрягающего” агента может быть обусловлено переключением комплексов дыхательной цепи на холостой режим работы, при котором транспорт электронов не сопровождается векторным переносом H^+ из матрикса в межмембранное пространство. Результаты проведенных исследований позволяют предположить, что ингибиторование генерации H_2O_2 в митохондриях печени может быть обусловлено стимуляцией дыхания как протонофорными и ионофорными разобщителями, так и “десопрягающими” агентами, и, следовательно, может быть не связано со снижением $\Delta\psi$.

СОДЕРЖАНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ЧЕСНОКЕ ОЗИМОМ (ALLIUM SATIVUM L.)

Серединн Т.М.[1], Марчева М.М.[1], Кривенков Л.В.[1], Шумилина В.В.[2]
[1]ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, пос. ВНИИСОК, Россия; [2]ФИЦ ВНИИГР им. Н.И.Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

timofey-seredin@rambler.ru

Чеснок по своему химическому составу является чрезвычайно ценным растением. Луковицы его содержат много полисахаридов, а также около 7% азотистых веществ. Кроме того, в чесноке содержатся эфирные масла, обуславливающие вкус и запах чеснока, а также обладающие бактерицидными свойствами. Количество зависит от времени сбора, сорта и происхождения чеснока. Компонентный состав эфирного масла и количественное содержание различных соединений отличаются в зависимости от почвенно-климатических и генетических факторов. Основными характерными для вида *Allium sativum L.* являются органические дисульфиды. В луковицах чеснока озимого селекции ФНЦО в среднем содержится 0,58% эфирного масла. В условиях выращивания чеснока озимого в Московской области содержание эфирного масла в сортах колеблется от 0,3 до 0,75% (сорт Стрелец и сорт Юбилейный Грибовский соответственно). Сравнительный анализ основных компонентов эфирного масла вида *Allium sativum L.* свидетельствует о том, что содержание амилового эфира уксусной кислоты в среднем накопилось 0,304. Таким образом по содержанию эфирного масла (0,58%) чеснок не уступает основным эфиромасличным и лекарственным растениям, таким как: лаванда, иссоп, тимьян.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ СЕПТИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ У СОБАК

Смирнова Е.Ю., Садовская Т.А., Пискарев Д.И.
ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

seu.bauer7030@gmail.com

Основная защитная реакция живого организма на внедрение чужеродного белка или физического повреждения тканей – это воспаление. При воспалительном процессе высвобождающиеся в кровь медиаторы воспаления стимулируют синтез в эндотелиальных клетках молекул адгезии (например, белка Р-селектина). Взаимодействием этих белков с их лигандами на лейкоцитах обеспечивается адгезия лейкоцитов к эндотелию сосудов, а также перекатывание лейкоцитов и проникновение через сосудистую стенку к очагу воспаления. Для данной работы были сформирована группа собак по принципу аналогов (1-й, 5-й и 10-й день после прободения язвы желудка) с гнойным перитонитом породы немецкая овчарка. Концентрацию бихимических маркеров септического воспаления: прокальцитонина (ПК), интерлейкинов (Il-6 и Il-10) определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов Вектор Бест. Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) исследовали на приборе автоматического анализа ProSpec BN. Концентрацию интерлейкина-2 (Il-2R) и липосахаридсвязывающего белка (ЛПСБ) исследовали на иммунохемилюминесцентном анализаторе IMMULITE 2000 (DPC, США). Результаты исследования концентрации биохимических маркеров свидетельствуют о том, что самые высокие концентрации прокальцитонина, С-реактивного белка и интерлейкинов (Il-10 и Il-2R) в первый день заболевания в крови были обнаружены у собак с летальным исходом. Высокие концентрации интерлейкинов (Il-6 и Il-10) в первые три дня и сохранение этих показателей на том же уровне на пятый день – серьезный прогностический признак и указывает на развитие сепсиса с неблагоприятным исходом. Снижение концентрации Il-2R в три раза, Il-6 в два раза и увеличение Il-10 в два раза к десятому дню заболевания по сравнению с концентрациями в первый день заболевания также является признаком неблагоприятного исхода сепсиса.

ВЛИЯНИЕ ЛИГАНДОВ ТРАНСЛОКАТОРНОГО БЕЛКА (TSPO) НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Сотникова Л.Д., Крестинина О.В., Одинокова И.В., Бабурина Ю.Л.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

linda_sotnikova@mail.ru

Согласно современным представлениям в патогенезе алкогольной зависимости большую роль играет ГАМК-эргическая система мозга. ГАМК имеет сайты связывания для этанола и бензодиазепинов. Бензодиазепины способны связываться как с центральным бензодиазепиновым рецептором, так и с периферическим бензодиазепировым рецептором (PBR), известным в настоящее время как белок-транслокатор (TSPO). Известны данные, демонстрирующие наличие наибольших изменений TSPO при хронической алкоголизации, в частности, в синаптосомальных и митохондриальных мембранах. Обнаруженные изменения характеризуются снижением аффинности для лигандов и повышением плотности TSPO. Поэтому TSPO рассматривают, как важный медиатор в

развитии алкогольной чувствительности и толерантности, которые предшествуют развитию аддикции. В связи с вышесказанным, в настоящей работе исследовали влияние специфичных лигандов TSPO (PK11195, протопорфирина IX), на параметры открытия неспецифической поры митохондрий, изолированных из печени как контрольных крыс, так и при хронической алкогольной интоксикации. Полученные результаты показывают, что TSPO и его лиганды вовлекаются в развитие/модуляцию алкогольной толерантности и зависимости у крыс. Поскольку ранние изменения при алкоголизации связаны с митохондриями, то проницаемость мембран митохондрий может играть важную роль в этих процессах. TSPO – холестерин-связывающий белок, так же известно, что холестерин - ключевой фактор проницаемости мембран. PK11195 и протопорфирин IX влияют на способность TSPO связывать и переносить холестерин, а значит модулировать проницаемость мембран. Поэтому TSPO и его лиганды могут быть рассмотрены как факторы, способные влиять на развитие алкоголизации или как факторы, замедляющие эти процессы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00072.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГИПОТЕРМИИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ В УСЛОВИЯХ НА ФОНЕ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЭКСТРАКТА АСТРАГАЛА ПЕРЕПОНЧАТОГО

Сулейманова М.Н., Бейбалаева А.К., Бабирова Х.Б.
ФБГОУ ВО Дагестанский государственный университет, Дагестан, Россия

maripat1996@gmail.com

Антиоксидантные свойства астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus*) активно изучаются в последние годы в России и других странах. Описаны возможные механизмы биологических эффектов его экстрактов. Целью нашей работы было выявление способности экстракта астрагала перепончатого защищать белки плазмы крови и мембран эритроцитов у крыс от окислительного стресса. Для исследований использовался экстракт, полученный из аптечной марки Астрагал ООО «Азбука трав». Экспериментальные животные получали экстракт вместе с пищей в дозе 50 мг/кг, и перед декапитацией подвергались 30-минутной умеренной гипотермии.

Измеряемым показателем в данном исследовании было содержание карбонильных групп белков, которые являются одним из маркеров окислительной модификации белков. Исследование проводилось методом, основанным на взаимодействии карбонильных групп с 2,4-динитрофенолгидразином.

Измерялся исходный уровень карбонильных групп, а также прирост в среде индуцирования свободнорадикального окисления, содержащей перекись водорода и ионы железа.

Снижение количества карбонильных групп в белках плазмы крови относительно гипотермии без потребления экстракта составляет 63%, относительно контроля – 36%. Исходный уровень карбонильных групп в белках мембран эритроцитов при гипотермии на фоне потребления А. перепончатого не снижается относительно гипотермии без потребления экстракта. Но в инкубируемых в присутствии оксидантов пробах потребление экстракта приводит к значительному снижению количества карбонильных групп в белках мембран эритроцитов крыс, подвергнутых гипотермии.

Антиоксдидантная активность экстракта астрагала возможно связана с повышением активности антиоксидантных ферментов каталазы и супероксиддисмутазы, а также действием антиоксидантных компонентов в составе экстракта. Батоцыренова в своих

исследованиях доказала Fe^{+}–связывающий эффект у экстракта астрагала перепончатого чем и может быть обусловлен наблюдаемый нами эффект.

ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ФЕРРИТИНА ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЛАТЕКС-УСИЛЕННОЙ ИММУНОТУРБИДИМЕТРИИ

Туркменова Д.И.[1,2], Михайлов Р.А.[3,2], Мирзебеков Т.А.[2], Штанчаев Р.Ш.[1]
[1]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; [2]ООО "Антерикс", Пущино, Россия; [3]ООО "ДИАМАБ", Пущино, Россия

turkmenovadilya@mail.ru

Определение сывороточной концентрации железосвязывающего белка ферритина имеет большое значение в диагностике железодефицитных состояний, а также при оценке тяжести и эффективности терапии острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваний. Ранее, на основе фокусированных библиотек фагов с презентированными кроличьими Fab-антителами, мы разработали полноразмерные рекомбинантные антитела (IgG) с высоким сродством к человеческому ферритину (при характеризации их методом ELISA), стабильностью к термическим воздействиям и агрессивным средам. Целью данной работы являлось изучение иммунореактивности полученных IgG методом латекс-усиленной иммунотурбидиметрии в диапазоне физиологических значений и в зоне высоких концентраций ферритина. Для работы использовались 6 экспрессированных в транзиентных клеточных линиях IgG, которые обозначались соответственно порядковому номеру уникальных Fab-презентирующих бактериальных клонов фаговых библиотек – №№ 2, 3, 6, 8, 15 и 18. Для ковалентной иммобилизации антител использовали карбоксилированные полистирольные микрочастицы диаметром 300 нм.

В ходе работы для антител №2 и №6 было показано отсутствие связывания с ферритином в латексном тесте. IgG3 и IgG8 демонстрировали низкий уровень иммунореактивности – оптическая плотность реакционной смеси увеличивалась при нарастании содержания ферритина сверх диагностически значимых диапазонов (>2-5 мг/л). При концентрации ферритина в пробе 10-30 мг/л прирост кривой калибровки приостанавливался, вплоть до незначительного падения оптической плотности. Для IgG15 и IgG18 был показан высокий уровень иммунореактивности – максимальный сигнал регистрировался при концентрации антигена 0,5-1 (IgG15) или 1-2 (IgG18) мг/л. Предварительные испытания показали, что чувствительность латексных реагентов находится в пределах 12-24 мкг/л ферритина. Выход калибровки на плато наблюдался в диапазоне 1-5 мг/л, а эффект прозоны отмечался при концентрации ферритина выше 2-5 мг/л.

Проведенная работа показала, что полученные антитела пригодны для определения концентрации ферритина и могут быть использованы при разработке наборов диагностических реагентов для применения в клинико-лабораторной диагностике. Для достижения этой цели планируется в дальнейшем провести оптимизацию пришивки антител к латексным частицам, состава буфера для хранения латексного реагента и реакционного буфера, а также условий проведения иммунотурбидиметрической реакции.

Работа поддержана Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа Старт-1 №2661ГС2/24355).

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ CYP19A1 (АРОМАТАЗЫ) ДЛЯ СКРИНИНГА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Филиппова Т.А.[1], Гавриченко Я.И.[1], Масамрех Р.А.[1,2], Кузиков А.В.[1,2]
[1]ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия; [2]ФГБНУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

lipivif@gmail.com

Цитохромы Р450 – суперсемейство гем-тиолатных монооксигеназ, осуществляющих метаболизм ксенобиотиков и ряда эндогенных соединений. Цитохромы Р450, участвующие в биосинтезе стероидных гормонов, имеют фармакологическую значимость при разработке препаратов для лечения гормон-зависимых опухолей.

Цитохром Р450 19А1 (CYP19A1, ароматаза) – ключевой фермент биосинтеза эстрогенов. Ингибиторы CYP19A1 являются эффективными препаратами для лечения рака молочной железы. Определение каталитической активности CYP19A1 с помощью реконструированной системы сопряжено с трудоёмким анализом продуктов реакций, что ограничивает высокопроизводительный скрининг ингибиторной активности новых потенциальных противоопухолевых препаратов.

Нами предложен оригинальный подход к определению каталитической активности рекомбинантного CYP19A1, иммобилизованного на печатных графитовых электродах, модифицированных дидодецилдиметиламмония бромидом. Мы показали, что эстрон и β-эстрадиол, образующиеся в CYP19A1-зависимой электрокаталитической реакции по отношению к андростендиону и тестостерону, соответственно, могут быть определены путём их электрохимического окисления на поверхности графитового электрода при E_{ox} = 497 ± 14 мВ (отн. Ag/AgCl) для эстрона и E_{ox} = 483 ± 17 мВ (отн. Ag/AgCl) для β-эстрадиола. С помощью разработанного подхода были определены параметры стационарной кинетики CYP19A1 в электрохимической системе. Значения V_{max} реакций образования эстрона и β-эстрадиола были рассчитаны как 0,86 ± 0,12 $с^{-1}$ и 0,17 ± 0,02 $с^{-1}$, соответственно. Значения K_M CYP19A1 по отношению к андростендиону и тестостерону были определены как 4,2 ± 1,5 мкМ и 3,8 ± 1,3 мкМ, соответственно. Разработанная электрохимическая система на основе CYP19A1 применима для исследования ингибиторной активности новых противоопухолевых соединений для лечения рака молочной железы, как было показано нами на примере препарата экземестана.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг.

ИЗМЕНЕНИЯ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ

Хизриева С.И., Халилов Р.А., Джафарова А.М.
ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Дагестан, Россия

saimat140992@yandex.ru

Гипотермия различной глубины и длительности приводит к развитию патологических или компенсаторно-приспособительных реакций. Было обнаружено, что на начальных этапах гипотермии развивается окислительный стресс в тканях и органах. Триггером окислительных повреждений могут быть изменения биоэнергетических функций митохондрий, вызванные охлаждением. В связи с этим целью данного

исследования является изучение биоэнергетических (респираторных) характеристик митохондрий печени крыс при умеренной гипотермии разной длительности.

Гипотермию вызывали на крысах-самцах линии Вистар. Митохондрии выделены из печени крыс методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Исследование респираторных характеристик проводилось с использованием двух типов субстратов – сукцинат и глутамат.

В результате исследования было обнаружено, что кратковременная умеренная гипотермия (30°С 30 мин) увеличивала скорость сукцинат- и глутамат-зависимого дыхания. При этом такие параметры, как окислительное фосфорилирование, дыхательный контроль, и чувствительность к 2,4 динирофенолу, снижались.

Пролонгированная до 1ч умеренная гипотермия (30°С 60 мин) приводила к дальнейшему увеличению скоростей сукцинат-зависимого дыхания, снижением окислительного фосфорилирования и дыхательного контроля. Однако, пролонгирование гипотермии до 3ч (30°С 180 мин) приводит к нормализации параметров сукцинат-зависимого дыхания. При этом большинство параметров глутамат-зависимого дыхания держались на уровне умеренной кратковременной гипотермии.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ КЛЕТОК BACILLUS SUBTILIS С ПОМОЩЬЮ ФАГОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПЕПТИДАЗ

Цветкова Д.В.[1,2], Чернышов С.В.[1], Микулинская Г.В.[1]
[1]Филиал ФГБУН ИБХ РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

dianatzvetckova@yandex.ru

Bacillus subtilis широко используется в генетической инженерии для эффективной гетерологичной продукции терапевтически важных белков. Однако, выделение ДНК из клеток грамположительных бактерий - непростая задача, поскольку их клеточная стенка, главным компонентом которой является пептидогликан (ПГ), имеет большую толщину и прочность. Для разрушения клеточной стенки при выделении геномной ДНК часто используют катионные или анионные детергенты (SDS, ЦТАБ), а для депротеинизации - неспецифические протеазы. Но ПГ бактерий содержит неканонические и D-аминокислоты, что защищает его от протеолиза.

Литические эндопептидазы колифагов RB43 и RB49 (EndoRB49 и EndoRB43) деградируют ПГ клеточных стенок бактерий, специфически разрушая связь между L-аланином и D-глутаматом. Удельная литическая активность EndoRB49 на клетках *B.subtilis* вчетверо выше, чем у лизоцима куриного яйца (HEWL). В настоящей работе мы использовали EndoRB49 и EndoRB43 для выделения геномной ДНК из клеток бацилл. Гомогенные рекомбинантные ферменты EndoRB49 и EndoRB43 получали с помощью продукции в клетках *E.coli* C41(DE3) и дальнейшей хроматографической очистки.

Был проведен сравнительный анализ различных методов выделения ДНК: 1 - физико-химического (SDS и СВЧ-излучение), 2 - химико-ферментативного с неспецифической протеазой (ЦТАБ и протеиназа К), а также вариантов 3 - специфического ферментативного гидролиза: с помощью HEWL, EndoRB49, EndoRB43, а также их коктейлей в присутствии и в отсутствие детергента (SDS). Депротеинизацию во всех случаях проводили стандартно с помощью фенола и хлороформа. Все полученные образцы ДНК имели размер >23 т.п.н., полностью гидролизовались рестриктазами, служили эффективной матрицей для ПЦР с праймерами к гену 16S РНК. Но методы 2 и особенно 1 давали намного меньший выход ДНК (43 и 3.4 мкг), чем все варианты специфического гидролиза. Наибольшее количество ДНК (до 140 мкг) было получено с

применением HEWL, EndoRB49 или их коктейля, причем как с SDS, так и без него. Отмена детергента экономит время, требуемое на выделение; препараты, полученные без участия SDS, почти не содержат РНК.

Было также показано, что предварительная 20-минутная обработка биомассы *B.subtilis* специфическими пептидогликангидролазами в концентрации 20 мкг/мл увеличивает выход клеточных белков на 25-40% по сравнению с разрушением ультразвуком.

Таким образом, фаговые пептидазы EndoRB49 и EndoRB43 – эффективный инструмент для выделения ДНК и белков из клеток *Bacillus subtilis*, который может быть очень полезен генным инженерам.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-04-00492.

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН СИНАПТОСОМ СУСЛИКОВ В ДИНАМИКЕ ИСКУССТВЕННОГО ПРОБУЖДЕНИЯ

Бейбалаева А.К.[1], Чалабов Ш.И.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Дагестан, Россия; [2]ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

aina.beibalaeva@mail.ru

Липиды синаптических мембран участвуют как в регуляции их физико-химического состояния, так и в липид-зависимых сигнальных системах. У зимоспящих животных липиды мембран участвуют в адаптации к низким температурам тела. Однако нет точных сведений об изменении фосфолипидного состава мембран синаптосом мозга сусликов при выходе из спячки.

Нами изучен состав фосфолипидов (ФЛ) мембран синаптосом из коры головного мозга малых сусликов (*Spermophilus pigmaeus*) в торпидном состоянии (температура тела 4,5^{o}C) и в ходе индуцированного пробуждения. Из гибернации суслики выводились путем переноса их в помещение с температурой 22°C. При достижении температуры тела (ТТ) 10, 20, 25-30, 37°C суслики были взяты в эксперимент. Контролем служили активные в осенний период животные. Липиды экстрагировали по Фолчу. Разделяли на классы методами двумерной тонкослойной хроматографии и определяли их количество по содержанию в них неорганического фосфора (по Фиске и Суббароу).

В торпидном состоянии содержание фосфатидилхолина (ФХ) увеличивается и его уровень остается повышенным на всех этапах пробуждения. Содержание сфингомиелина (СФМ) в торпидном состоянии существенно не изменяется, но в ходе пробуждения значительно снижается. Для сохранения структурно-функциональной полноценности мембран важным является соотношение отдельных классов липидов, особенно ФХ и СФМ, образующих наружный слой мембраны. СФМ содержит преимущественно насыщенные жирные кислоты, и уменьшение его содержания способствует снижению микровязкости липидной фазы мембран, т.е. увеличению ее текучести. В торпидном состоянии обнаружено снижение уровня как фосфатидилэтаноламина (ФЭА), так и его плазмалогенной формы (п-ФЭА). При пробуждении содержание ФЭА линейно увеличивается до ТТ 25°C, превышая контрольные значения, а затем постепенно возвращается к контрольному уровню. Содержание п-ФЭА при выходе из спячки остается сниженным относительно контроля. Содержание фосфатидилсерина (ФС) в торпидном состоянии уменьшается и продолжает снижаться, достигая минимума при ТТ 25°C. Дальнейшее согревание животного приводит к возрастании содержания ФС в мембранах, но после полного согревания его уровень остается значительно ниже контроля.

Таким образом, выявлена специфичность ответа каждого ФЛ на прилагаемое воздействие. Обнаруженные изменения состава ФЛ мембран синаптосом, вероятно, носят адаптивный характер и направлены на регуляцию внутримембранных взаимодействий и обеспечение сохранения функциональности мембран при меняющейся температуре тела.

Работа выполнена в рамках госзадания №АААА-А18-118012290371-3.

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ СОЛЕНОГО ОЗЕРА ГУДЖИРГАНСКОЕ (РЕСПУБЛИКА БУРЯТИЯ): ЭКОФИЗИОЛОГИЯ И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ

Эрдынеева Е.Б.[1], Лаврентьева Е.В.[1], Дунаевский Я.Е.[2]
[1]ФГБУН ИОЭБ СО РАН, Улан-Удэ, Россия; [2]ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

lenae7777@gmail.com

Из содового озера Гуджирганское было выделено 3 чистых галоалкалофильных культур - штаммы Ал-1, А3-2 и Ав. Таксономическую принадлежность выделенных чистых культур микроорганизмов определяли путём сравнения данных секвенирования продуктов амплификации генов 16S рРНК с данными NCBI BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov.) и LPSN (http://www.bacterio.net). Штаммы показали максимальный процент сходства с *Salisediminibacterium halotolerans* (99,79%) – Ал-1 и *Bacillus chagannorensis* (99,65%) – А3-2, а штамм Ав с *Halospina sp.* AK104 (98 %).

Диапазон роста чистых культур от 6,5 до 10,5 с оптимум 8,5 – 9,8, проявляя свойства истинных алкалофилов. По отношению к концентрации хлорида натрия штаммы проявляют свойства экстремальных галофилов, с оптимум 100-120 г/л и диапазоном роста от 5 до 300 г/л. По отношению к температуре штаммы являются мезофилами с оптимум 37-40°С и диапазоном роста от 10 до 65°С.

Выделенные чистые культуры в аэробных условиях способны активно потреблять полипептидные и олигопептидные субстраты: казеин, желатин, триптон, пептон, демонстрируя способность к активной продукции щелочных пептидаз. Показано, что внеклеточные пептидазы чистых культур, секретируют субстрат L-лейцил-паранитроанилид (LpNa). Анализ природы функциональных групп активного центра показал, что ферменты штаммов относятся к металлопептидазам. По кинетическим свойствам пептидазы активны при высоких концентрациях NaCl до 180 г/л и pH до 10,8. По отношению к температуре ферменты являются термотолерантными с сохранением активности до 55°С.

Таким образом, выделенные чистые культуры активно секретируют внеклеточные щелочные аминопептидазы (LpNa), класса металлопептидаз.

Исследования выполнены при поддержке Фонда Содействия инновациям по программе "УМНИК" и проектом РФФИ р_а № 18-44-03002118.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОГО ПРАЙМИНГА С МОЛИБДАТОМ НА СЕМЯНА РАСТЕНИЙ

Айтлесов К.К., Аликулов З.А.
РГП Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

enuter@yandex.kz

Предпосевная затравка семян раствором их солей может сыграть важную роль в обеспечении растений такими элементами. При прорастании семян ионы микроэлементов, накопленные в их тканях, транспортируются к корням и земным частям проростков. Наши предыдущие исследования показали, что при предпосевном грунтовании в растворе молибдата ионы этого металла накапливаются в тканях семян растений злаков Преимущество предпосевного накопления семян молибдат-ионами состоит в том, что это позволяет избежать конкуренции с другими оксоанионами, аналогами молибдата. Однако в случае предпосевного накопления молибдена в семенах растений на ранних стадиях роста и развития растений этот металл не будет поглощаться из почвы, но будет использоваться его пул в семенах.

Наши предыдущие исследования показали, что молибденсодержащие ферменты (Мо-ферменты) играют важную роль в устойчивости растений к засолению, а также к патогенам. В настоящее время у растений хорошо изучены три типа молибдоэнзимов: нитратредуктаза (NR; EC 1.6.6.1), ксантидегидрогеназа (XDH; EC 1.2.1.37) и альдегидоксидаза (AO, EC 1.2.3.1). Ассимиляция нитратов является фундаментальным процессом в царстве растений, и поэтому фермент NR, восстанавливающий нитраты, рассматривается как ограничивающий фактор для роста, развития, производства белка и конечного урожая растений. При катаболизме пуринов XDH окисляет ксантин в мочевую кислоту. Полная деградация пуринов включает в себя следующие стадии превращения: фуериды гипоксантина, ксантина, мочевой кислоты (аллантоин и аллантоевая кислота). Было хорошо установлено, что мочевая кислота и аллантоин, самые сильные антиоксиданты, эффективно нейтрализуют активные формы кислорода (АФК). Кроме того, уреиды являются легко усваиваемой, резервной и транспортной формой азота для растений. Образование уреидов в пероксисомах листьев имеет преимущество в стрессовых условиях, когда доступность азота ограничена. Молибдоэнзим АО катализирует превращение абсцизного альдегида в соответствующий растительный гормон - абсцизовую кислоту (АБК). Известно, что фитогормон АБК играет решающую роль в адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды, то есть участвует в активации антиоксидантных процессов в тканях растений. Также известно, что неблагоприятные условия окружающей среды, такие как засоление, засуха и холод, вызывают окислительный стресс.

Таким образом, взаимодействия молибдоэнзимов играют важную роль в биохимических процессах растений в устойчивости к неблагоприятным условиям окружающей среды, то есть к окислительному стрессу.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ У *BRASSICA OLERACEAVAR. SABELLICA* (L.), ВЫРАЩЕННЫЙ В ПОЧВЕ, ОБОГАЩЕННЫЙ РАЗЛИЧНЫМ МИНЕРАЛЬНЫМИ ПИТАТЕЛЬНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Антех Д. Д.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

joydontwi@gmail.com

Дефицит или избыток минеральных питательных веществ сильно влияет на тип и количество метаболитов, вырабатываемых растениями.

Профилактика заболеваний природными биологически активными веществами путем использования их в рационе питания является одной из интересных областей научных исследований. Антиоксиданты играют жизненно важную роль в профилактике многих патологических заболеваний, связанных с окислительным стрессом.

Объектом исследовании была *Brassica Oleraceavar. sabellica* (капуста кале), принадлежащая к семейству *Brassicaceae*, которое включает листовую капусту, брокколи, цветную капусту и брюссельскую капусту. *Brassica Oleraceavar. sabellica* вносит большой вклад в снижение риска возникновения онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Кале богата антиоксидантными соединениями, такими как флавоноиды, витамин С, каротиноиды и др.

Растения выращивали в полевых условиях. На стадии 3-х листьев растения подкармливали аммиачной селитрой (20 кг / га), NPK (15:15:20, 20 кг / га), препаратами биостим (смесь макро- и микроэлементов, 1л/га), энерген (К-соли гуминовых кислот и микроэлементы, 80г/л), гумат (К, Na - соли гуминовых кислот и микроэлементы, 80г/л),. Анализ биохимического состава проводили через 2-3 месяца. Определяли содержание флавоноидов, каротиноидов, витамина С и общую антиоксидантную активность.

На основании проведенных экспериментов было обнаружено, что гумат и нитрат аммония повышают антиоксидантную активность в капусте на 18% и 19% соответственно, что соответствует наблюдаемому увеличению содержания витамина С и каротиноидовгуматом на 207% и 47% соответственно. Аммиачная селитра увеличивала содержание флавоноидов на 66%.

Несомненно, что манипулирование биологическими молекулами с использованием минеральных питательных веществ, в капусте является весьма перспективным.

Дополнительное внимание к этой области исследований может позволить значительно увеличить питательную ценность этой перспективной культуры.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МУТАНТНЫХ ФОРМ ФОТОРЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА *RHODOBACTER SPHAEROIDES*

Атамас А.А.[1], Селиханов Г.К.[1], Васильева Л.Г.[2], Фуфина Т.Ю.[2], Габдулхаков А.Г.[1]
[1]ФГБУН Институт Белка РАН; [2]ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН – ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

atamasspark@gmail.com

Фотосинтетический реакционный центр *Rhodobacter Sphaeroides* (РЦ) является трансмембранным пигмент-белковым комплексом, состоящим из трех полипептидных цепей: L, M и H. Внутри комплекса располагаются кофакторы, участвующие в формировании электрон-транспортной цепи. Кофакторы представлены димером бактериохлорофиллов, двумя мономерами бактериохлорофиллов, двумя молекулами

бактериофеофитинов, двумя молекулами убихинонов, ионом негемового железа Fe^{2+} и молекулой каротиноида.

На данный момент многие исследования направлены на изучение взаимодействия белковой составляющей комплекса реакционного центра с пигментами и конформационных изменений, влияющих на эффективность фотохимического разделения зарядов. Большинство таких работ основывается на замене определенных аминокислотных остатков в полипептидных цепях L и M. Иногда такие мутации приводят к существенному ухудшению стабильности РЦ. Наша задача повысить устойчивость фотосинтетического центра таким образом, чтобы, при внесении различных мутаций, РЦ оставался достаточно стабильным для проведения исследований.

Были выбраны и промоделированы три пары мутантных форм реакционного центра, в которых в L-субъединице аминокислоты Ala37 и Ser99, Ala53 и Ile64, Ala172 и Leu246 заменялись на цистеин. Мы предполагаем образование дисульфидных связей, которые могут стабилизировать пигментно-белковый комплекс. Аминокислотные замены находятся в различных областях и расположены на расстоянии от кофакторов и не должны напрямую влиять на транспорт электронов.

На данный момент получены три мутантные формы реакционного центра, которые имеют по две цистеиновые замены. Проводится выделение мутантных РЦ *Rhodobacter Sphaeroides* для дальнейшего структурно-функционального исследования.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (18-02-40008_mega) и программы Президиума Российской академии наук «Постгеномные технологии и перспективы решения в биомедицине».

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ФИТОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ *BUPLEURUM AUREUM* ПРОИЗРАСТАЮЩИЙ В РАЗЛИЧНЫХ БОТАНИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ РАЙОНАХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Аттобрах Н.К.
ФГАОУВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

nanaa2brah2487@yahoo.com

Володушка золотистая (*Bupleurum aureum* Fisch. exHoffm.) в последнее время получила широкое распространение при лечении заболеваний печени и желчного пузыря. До настоящего времени *B. aureum*, не использовалась в официальной медицине как лекарственное растительное сырье. Возник вопрос о необходимости стандартизации травы володушки как сырья для производства фитопрепаратов. В надземных частях растений содержатся такие биологически активные вещества (БАВ) как кверцетин, изорамнетин, изокверцитрин, рутин, нарциссин. Трава усиливает секреторную и эвакуаторную функции желудка, имеет выраженный гепатопротективный и желчегонный эффект, а также оказывает нормализующее влияние на патогенное усиление проницаемости капилляров. Поскольку продукты вторичного метаболита играют важную роль при защите растений от стресса, накопление БАВ и качество сырья находится в непосредственной зависимости от условий произрастания. В условиях дефицита в почве влаги и азота в тканях растений отмечается накопление активных форм кислорода (АФК). Фенольные соединения (ФС), действующий как детоксиканты, поглощает АФК из-за их уникальной химической структуры и поэтому являются эффективными антиоксидантами растений.

Целью наших исследований было сравнить морфо-физиологические показатели володушки золотистой, произрастающей в различных районах Республики Татарстан. Изучали ценопопуляции вида, произрастающие в условиях широколиственных лесов на

серых лесных почвах хвойно-широколиственной зоны (Зеленодольский район) и широколиственных лесах на черноземных почвах лесостепной зоны (Алексеевский и Альметьевский районы) Республики Татарстан. В качестве морфологических показателей использовали биомассу надземных частей растений. Количественное содержание суммы ФС определяли спектрофотометрическим методом.

Результат проведенного анализа показал, что у растений минимальные морфологические показатели вегетативной сферы (масса листьев, масса стеблей) и генеративной сферы (масса соцветий) отмечались в условиях лесной зоны. Однако, для этих растений отмечалось максимальное содержание фенольных соединений (мг/г). Концентрация ФС в популяциях из лесостепной зоны во всех частях растений была ниже и статистически не различалась между листьями и цветами растений. Отмечена, отрицательная зависимость между массой листьев и цветов и концентрацией в них ФС.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что при ухудшении эколого-ценотических условий отмечается снижении показателей жизненного состояния особей, однако такие растения характеризуются максимальными показателями концентрации ФС.

ВЛИЯНИЕ КАРОТИНОИДОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ МЕЖДУ КЛАСТЕРАМИ ПИГМЕНТОВ В АНТЕННЕ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Ашихмин А.А.
Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

AshikhminAA@gmail.com

Основой светособирающей антенны пурпурных фотосинтезирующих бактерий являются пигмент-белковые комплексы (LH1 и LH2). В каждом отдельном пигмент-белковом комплексе поглощение энергии квантов света происходит, в основном, молекулами бактериохлорофилла (БХл) и каротиноидов. Цель данной работы – исследование влияния количественного содержания каротиноидов на регуляцию передачи энергии в светособирающей антенне пурпурных бактерий. Было исследовано два параметра: тушение сенсибилизированной флуоресценции (СФ) БХл и эффективность передачи энергии с каротиноидов на БХл. В качестве основных объектов исследования были использованы мембраны и пигмент-белковые комплексы LH2 пурпурных бактерий *Ectothiorhodospira* (Ect.) *haloalkaliphila* и *Allochromatium* (Alc.) *vinosum* с нативным содержанием каротиноидов, а также мембраны и комплексы этих бактерий, для которых с помощью ингибитора каротиноидгенеза, дифениламин (ДФА), был получен набор образцов с содержанием каротиноидов от 12,5 до 100%. С помощью ВЭЖХ было установлено, что в контрольных мембранах и комплексах LH2 из *Alc. vinosum* основным каротиноидом был родопин (70%), а у *Ect. haloalkaliphila* преобладали ангидрородовибрин (28%) и спириллоксантин (24%). В ДФА-образцах обеих культур содержались каротиноиды из более ранних этапов их биосинтеза (нейроспорин, ОН-нейроспорин и ζ-каротин). Показано, что у *Ect. haloalkaliphila* и *Alc. vinosum* в мембранах и комплексах LH2 происходит тушение СФ БХл при их облучении в область поглощения каротиноидов и восстановление СФ БХл в темноте. Степень обратимости тушения СФ БХл зависела от времени освещения. Полная обратимость этого процесса отмечена только при непродолжительном освещении (менее 15 сек). Обнаружена прямая зависимость между уменьшением эффективности тушения СФ БХл и снижением количественного содержания каротиноидов. Обнаружено, что при снижения общего содержания каротиноидов можно повысить их эффективность передачи энергии на БХл. В мембранах

и комплексах LH2 из *Alc. vinosum* эта эффективность возрастала с 30-33% в контроле до 45-47% при 50% содержании каротиноидов. В мембранах *Ect. haloalkaliphila* увеличение эффективности передачи энергии на БХл (с 27 до 39%) отмечено только в комплексах LH2 с 48% каротиноидов. Полученные результаты могут быть полезны для исследований, направленных на повышение эффективности преобразования световой энергии.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 18-04-00684_а).

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ В ОТВЕТ НА ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЕ ЗАВИСИТ ОТ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ГЕНОТИПА К АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЕ

Бабина Д.Д., Подобед М.Ю., Бондаренко Е.В., Празян А.А., Шестерикова Е.М., Волкова П.Ю.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

babinadd@gmail.com

Ионизирующее излучение (ИИ) относится к абиотическим стрессовым факторам, воздействующим на растения в условиях техногенного загрязнения и на территориях с повышенным естественным радиационным фоном. Растения реагируют на абиотические стрессы, регулируя метаболические пути, которые противодействуют повреждению клеток [1]. Как часть реакции на абиотический стресс растения могут производить глутатион, который входит в состав аскорбат-глутатионовой системы, ингибируя генерируемые ИИ активные формы кислорода (АФК) [1]. Восстановленный глутатион используется глутатионпероксидазами (ГП) в качестве субстрата в реакциях нейтрализации пероксида водорода.

Основным гормоном стресса у растений считается абсцизовая кислота (АБК), благодаря её роли не только в процессах роста и развития растений, но и в контроле внутриклеточного ответа на разнообразные стрессовые условия, включая воздействие ИИ [2].

Для изучения влияния ИИ на АФК-опосредованный АБК-сигналинг был выбран модельный организм *A. thaliana*: дикий тип (экотип Col-8) и abi3-8 – линия, невосприимчивая к природной форме S-(+)-АБК. Генотип abi3-8 содержит мутацию в гене ABI3 (C-T транзиция в положении 1297), что препятствует S-(+)-АБК-опосредованному сигналингу.

Семена Col-8 и abi3-8 облучались в дозах 50, 100 и 150 Гр. После облучения семена выдерживались 48 часов в темноте при +4°C, после чего выращивались в режиме длинного дня (16 ч/8 ч) при 21 °C. Оценены площадь поверхности листьев, биомасса и активность ГП [3]. Анализ данных проведён с использованием подходов непараметрической статистики в программах Statistica 8.0 и MS Excel 2019.

Выявлено, что после воздействия ИИ у всех растений снижались значения биомассы и площади поверхности листа относительно контроля. У проростков дикого типа активность ГП с увеличением дозы линейно возрастала, достигая статистически значимого отличия от контроля в дозе 150 Гр, в то время как у abi3-8 влияния ИИ на активность ГП не отмечено, что может указывать на наличие у дефектного по сигналингу АБК генотипа нарушений в системе антиоксидантной защиты.

1. Chen W., Xiangpeng L., Wenying Z., Jinggui F. Glutathione in Plant Growth, Development, and Stress Tolerance, Springer International Publishing AG 2017 p147 M.A. Hossain et al. (eds.) https://doi.org/10.1007/978-3-319-66682-2_7

2. Nakashima K., Yamaguchi-Shinozaki K. ABA signaling in stress-response and seed development // Plant Cell Reports. – 2013. – Vol. 32, Is. 7. P. 959-970.
3. Paglia D. E. and Valentaine W. N., J. Lab. Clin. Med. 70, 158 (1967)

ГИДРОПЕРОКСИДЛИАЗА NtHPL ТАБАКА ОБЫКНОВЕННОГО (NICOTIANA TABACUM): ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЕРМЕНТА И АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ КАТАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Воробьева М.Е.[1], Смирнова Е.О.[2], Горина С.С.[2], Аскарова Е.К.[2], Топоркова Я.Ю.[2], Гречкин А.Н.[2]

[1]ФГАОУВО Казанский (Приволжский) федеральный университет; [2]Казанский институт биохимии и биофизики ФГБУН ФИЦ «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия

mari.vorobeva.1998@mail.ru

Цитохромы P450 семейства CYP74 играют важную роль в липоксигеназном каскаде, результатом функционирования которого является синтез оксилипинов. Данная группа соединений играет ключевую роль в защитных механизмах растений. Ферменты CYP74 – неклассические цитохромы P450, которые катализируют реакции в отсутствии систем переноса электронов и не нуждаются в молекулярном кислороде, то есть не функционируют как монооксигеназы. Непосредственное участие в каталитическом действии данных ферментов принимают гидропероксид-связывающий домен и сайт F/L toggle. В семейство CYP74 входят алленоксидсинтазы (AOC), гидропероксидлиазы (ГПЛ), эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС) и дивинилэфирсинтазы (ДЭС). Было показано, что некоторые ферменты CYP74 могут проявлять разные типы каталитической активности в зависимости от утилизируемого субстрата. Такие ферменты обнаружены в подсемействах CYP74B и CYP74C; так, например, AOC томата (CYP74C3) проявляет дополнительную минорную ГПЛ активность, а AOC моркови – дополнительные минорные ГПЛ и ЭАС активности.

Транскриптомный анализ показал, что при инфицировании растений табака *Nicotiana tabacum* фитопатогеном *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 происходит повышение уровня экспрессии трёх генов, предположительно кодирующих ГПЛ. В данной работе было проведено клонирование гена NtHPL табака обыкновенного (*N. tabacum*), получение соответствующего рекомбинантного фермента и анализ продуктов реакции. Результаты проведенной работы показали, что при инкубации фермента NtHPL с 9-ГПОТ образуется 9-оксононановая кислота – продукт ГПЛ реакции; при инкубации с 9-ГПОД образуются, помимо 9-оксононановой кислоты, эпоксиспирты и тригидрокси-кислоты – продукты ЭАС реакции. При инкубации с 13-ГПОД наблюдался выход ГПЛ и ЭАС продуктов. В отношении 13-ГПОТ исследуемый фермент не проявлял активности. Таким образом, NtHPL является дуалистичным ГПЛ/ЭАС ферментом.

Уровень экспрессия генов ГПЛ повышается при нарушении целостности клеток и тканей. Можно сделать предположение о том, что сочетание разных типов активности у некоторых ферментов CYP74 помогают растению в борьбе с фитопатогенами. И в данном случае дополнительная ЭАС активность фермента NtHPL табака предположительно обеспечивает более эффективный ответ на повреждения. Однако, чтобы подтвердить данную гипотезу, следует провести дополнительные исследования биологических функций эпоксиспиртов – продуктов ЭАС активности фермента NtHPL.

Исследование фермента NtHPL поддержано грантом РФФИ 20-34-70126. Работы по изучению фермента NtHPL проводились при финансовой поддержке государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ СИНТЕЗА МЕЛАНИНА И ДРУГИХ ПИГМЕНТОВ В КОЛОСЕ ЯЧМЕНЯ

Глаголева А.Ю.[1], Шмаков Н.А.[1], Мурсалимов С.Р.[1], Грачева Н.В.[2], Кукоева Т.В.[1], Шоева О.Ю.[1], Хлесткина Е.К.[3]

[1]ФИЦ Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; [2]Волгоградский Государственный Технический Университет, Волгоград, Россия; [3]ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

glagoleva@bionet.nsc.ru

Пигментация колоса ячменя (*Hordeum vulgare L.*) может быть обусловлена синтезом и накоплением соединений различной природы. Помимо зеленого пигмента хлорофилла, в колосе ячменя могут накапливаться пигменты фенольной природы: красно-фиолетовые антоцианы и черные меланины. Путь биосинтеза антоцианов изучен достаточно хорошо, в то время как о меланиновой пигментации известно совсем немного. У ячменя признак черной окраски колоса контролируется локусом Blp, локализованном на хромосоме 1H и включающем 21 ген. Тем не менее, конкретный ген, отвечающий за синтез меланина до сих пор не выделен.

Для изучения признака черной окраски колоса мы использовали почти-изогенные линии ячменя, различные по локусу Blp, и провели ряд сравнительных исследований, включающих траскриптомный, химический и цитологический анализ. Мы показали, что черные пигменты в колосе ячменя действительно относятся к меланинам и накапливаются в хлоропластах клеток перикарпа и цветковых чешуй. Полученные результаты послужили основой для исследования с одной стороны взаимодействия путей биосинтеза соединений фенольной природы – меланина и антоцианов, которые совместно могут накаливаться в клетках перикарпа зерна ячменя, и – взаимосвязи между формированием меланина и синтезом хлорофилла (и фотосинтезом), которые совместно могут присутствовать в хлоропластах клеток перикарпа, с другой стороны. Для этого нами были разработаны с помощью маркер-опосредованной селекции две гибридные линии ячменя: линия, характеризующиеся одновременным накоплением антоцианов и меланина в перикарпе (i:BwBlpAnt1Ant2), а также линия с частичным альбинизмом колоса и меланином в зерне (i:BwBlpalm). В случае с гибридной линией i:BwBlpAnt1Ant2 мы наблюдали появление антоциановой пигментации на более ранней стадии развития колоса, чем появление меланиновой окраски, а также повышенное содержание антоцианов в колосе у гибридной линии по сравнению с родительской. Это позволяет нам предположить, что в биосинтезе антоцианов и меланина участвуют одни и те же соединения-предшественники. Вместе с тем, факт получения линии i:BwBlpalm позволяет предположить, что синтез меланина является хлорофилл/фотосинтез независимым.

Сравнительный транскриптомный и цитологический анализ почти-изогенных линий ячменя были выполнены при поддержке гранта РНФ № 16-14-00086, разработка и анализ линии i:BwBlpalm были выполнены при поддержке гранта РНФ № 19-76-00018, разработка и анализ линии i:BwBlpAnt1Ant2 были выполнены при поддержке гранта РФФИ № 20-316-80016.

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА В ПРОРОСТКАХ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ С РАЗНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Горбатова И.В., **Волкова П.Ю.**
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

gorbatova.irina.96@mail.ru

Облучение семян сельскохозяйственных культур низкими дозами ионизирующего излучения может приводить к возникновению эффекта радиационной стимуляции роста. Это явление выражается в ускорении роста и развития, повышении устойчивости к стрессам различного происхождения, а также в увеличении биомассы растений [1]. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе явления радиационной стимуляции, остаются слабоизученными. Расшифровка сигнальных путей, связанных с увеличением продуктивности и стрессоустойчивости облученных растений, позволит применить эти знания в биотехнологии сельскохозяйственных растений.

Ранее был проведен транскриптомный анализ зародышей облученных в стимулирующих дозах семян ячменя сорта Нур на разных стадиях прорастания, в ходе которого был выявлен ряд дифференциально экспрессирующихся генов, среди которых для последующего анализа были выбраны 23 гена, продукты которых связаны с элиминацией активных форм кислорода, компонентами клеточной стенки, репликацией ДНК, апоптозом, процессами фотосинтеза, а также с сигналингом жасмоната и абсцизовой кислоты [2].

Так как семена первой репродукции отличаются высокой биологической вариабельностью, для более детального изучения молекулярных основ эффекта радиационной стимуляции необходимо использовать элитные или оригинальные семена. Было проведено ранжирование оригинальных сортов ячменя по их радиочувствительности к стимулирующей дозе облучения 20 Гр. В ходе данного эксперимента было выявлено, что доза 20 Гр оказала стимулирующее действие на сорта Фокс, Ратник, Ерёма и Мастер, на сорте Леон показано ингибирование роста, на сортах Грис и Федос не были выявлены значимые отличия от необлученного контроля.

В дальнейшем на сортах с различной радиочувствительностью будет изучена экспрессия 23 выбранных в результате анализа транскриптома генов, что позволит выявить общие для всех сортов молекулярные пути, вовлечённые в формирование эффекта радиационной стимуляции

Список использованной литературы

1. Geras’kin S., Churyukin R., Volkova P. Radiation exposure of barley seeds can modify the early stages of plants’ development // Journal of Environmental Radioactivity. 2017. V. 171. P. 71–83. doi: 10.1016/j.jenvrad.2017.06.008

2. Volkova P.Yu., Duarte G.T. Early response of barley embryos to low- and high-dose gamma- irradiation of seeds triggers changes in the transcriptional profile and an increase of hydrogen peroxide content in seedlings. 2019. Journal of Agronomy and Crop Science. DOI:10.1111/jac.12381

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КАДМИЯ НА РАСТЕНИЯ ЯРОВОГО ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ ПО ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИМ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ В УСЛОВИЯХ ВЕГЕТАЦИОННОГО ОПЫТА

Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

ar.djuna@yandex.ru

Ныне стала актуальна проблема загрязнения агроценозов тяжелыми металлами (ТМ), например, кадмием. Несмотря на существенное значение данной проблемы, особенности воздействия кадмия на живые системы, такие, как сельскохозяйственные растения, требуют дополнительного изучения. Поэтому важно исследовать механизмы ответа сельскохозяйственных растений на действие ТМ, отобрав сорта основных культур, отличающихся повышенной устойчивостью к ТМ. Ячмень – подходящий тест объект для оценки устойчивости растений к действию кадмия на различных уровнях их организации. Таковым ячмень делает то обстоятельство, что он является широко распространенной сельскохозяйственной культурой, хорошо изученной во всех отношениях.

Цель исследований – оценить воспроизводимость результатов лабораторного эксперимента с проростками сортов ячменя различного географического происхождения по исследованию устойчивости их к кадмию на всем жизненном цикле растений по морфометрическим, физиолого-биохимическим показателям и продуктивности.

В процессе исследования был выполнен вегетационный опыт на дерново-подзолистой почве с внесенным туда Cd^{2+} в дозах 25 и 50 мг/кг. Для работы взяты 4 сорта ярового ячменя, контрастные по устойчивости к кадмию (Са 220702, Malva – чувствительные; Местный, Симфония – устойчивые). Оценивались: внешний вид растений, морфометрические параметры (высота растений, биомасса, площадь листьев), физиолого-биохимические критерии (содержание в надземной биомассе пролина и МДА), структура урожая (масса зерна и соломы, масса 1000 зерен).

Установлено, что существуют значимые различия между группами устойчивых и чувствительных сортов по ответу на действие кадмия. По значениям морфометрических параметров и продуктивности в условиях стресса устойчивые сорта значимо превосходят чувствительные. Эти эффекты наглядно проявляются при 50 мг/кг Cd^{2+}, в то время как доза 25 мг/кг оказалась недостаточной для дифференциации сортов на чувствительные и устойчивые. Лишь в случае с физиолого-биохимическими параметрами существенных различий между контрастными сортами выявить не удалось.

Обнаруженная дифференциация сортов ячменя по устойчивости сохраняется на протяжении всего жизненного цикла растений и сказывается на урожайности и других хозяйственно-ценных признаках. Полученные данные полезны для оценки последствий техногенного загрязнения агроценозов, задач селекции сортов основных культур, обладающих высокой устойчивостью к ТМ и дающим безопасную продукцию, а также найти применение при разработке методологии оценки состояния и экологического нормирования загрязнения почв тяжелыми металлами.

ПЕРИОД ПОКОЯ КАК АДАПТИВНО-ЗНАЧИМЫЙ ПРИЗНАК В СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Зарецкая М.В., Федоренко О.М.
ФГБУН Институт биологии ФИЦ «Карельский научный центр» РАН, Петрозаводск, Россия

genmg@mail.ru

Важную роль в адаптации растений к условиям окружающей среды играют признаки время начала цветения и время прорастания семян. Эти два ключевых события должны происходить строго в определенные сроки, чтобы обеспечить выживание всходов и максимальный репродуктивный успех. Особенно это актуально на границах ареалов видов. На *Arabidopsis thaliana* – классическом модельном объекте, показано, что ген FLC (FLOWERING LOCUS C), являющийся ключевым компонентом регуляторной сети инициации цветения, регулирует также и сроки прорастания семян, контролируя их покой. Получены данные, которые указывают на зависимость периода покоя семян и их способность к прорастанию от уровня экспрессии гена FLC в созревающих на материнском растении семенах [Chiangetal., 2009; Chen, Penfield, 2018]. К настоящему времени среди исследователей сложилось мнение, что условия окружающей среды, с которыми сталкиваются материнские растения, влияют на поведение потомства [Marshall, Uller, 2007; Englishetal., 2015; Augeetal., 2017]. В течение репродуктивного развития A. thaliana, материнское растение использует белок FLC для модулирования периода покоя семенного потомства в ответ на температуру, и, таким образом, передает сезонную информацию потомству.

Анализ уровня транскриптов мРНК FLC растений из северных природных популяций (Карелия) до яровизации и после нее (продолжительностью от 10 до 63 дней) показал различия в динамике генной экспрессии по сравнению с данными литературы [Heo, Sung, 2011]. Установлен низкий уровень экспрессии FLC у растений исследованных популяций до холодового воздействия, который увеличивается на 10-й и 20-й день яровизации. Изучение периода покоя свежесобранных семян, влияющего на сроки их прорастания, проводили на материнских растениях, выращенных в лабораторных условиях (при температуре + 22 °С) или в природной среде (при температуре + 12-16 °С). Оказалось, что в природе покой семян выше при 22 °С проращивания их, по сравнению с 10°С. В лабораторных условиях четкость такой зависимости не соблюдалась. По-видимому, растения, выросшие в прохладных условиях северного лета, формируют более сильный покой семян при 22 ºС, по сравнению с 10 ºС, что способствует их прорастанию осенью, а не летом, и цветению после окончания яровизации. В результате проведенного исследования показано, что у *A. thaliana* карельских популяций, расположенных на северной периферии ареала вида, одним из механизмов адаптации растений к холодному климату является адаптивная плейотропия, выражающаяся в особенностях экспрессии гена FLC, контролирующего сроки цветения растений и прорастания семян.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ, ВЫЗВАННЫЙ ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО СВЕТА

Ишембитова К.Р., Смирнова Ю.В.
ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамакский филиал, Стерлитамакск, Россия

karina.ishem@yandex.ru

Положительные свойства бактерий, стимулирующих рост растений, известны достаточно давно. Одними из таких микроорганизмов являются эндофитные штаммы *Bacillus subtilis* (26Д и 11ВМ), для которых известен антистрессовый эффект при воздействии на растения различных абиотических факторов (засоление, водный дефицит, действие тяжелых металлов). Однако мало сведений о влиянии этих бактерий на устойчивость растений к избытку ультрафиолетового света (УФ-света) – одного из наиболее распространенных стрессовых факторов, особенно в последние десятилетия в связи с разрушением озонового слоя планеты. Как и другие стрессоры, действие УФ-света способствует развитию в тканях растений окислительного стресса.

Цель работы – исследование влияния *B. subtilis* на окислительный стресс *Triticum aestivum* L. (сорт Ватан), вызванный действием УФ-излучения.

В экспериментах использовали *B. subtilis* Cohn: 26Д (ВНИИСХМ, №128). Семена калибровали, промывали в мыльной и дистиллированной воде. Обработку семян проводили в стерильных условиях. 1 г семян обрабатывался 20 мкл суспензии бактерий в концентрации 10^6кл./мл. Семена контрольных растений обрабатывали дистиллированной водой. Растения выращивали 30 дней при температуре 18–20 °С при равномерном освещении, затем растения помещали под УФ-лампу (253,7 нм, УФ-С излучение) на 30 мин. Об интенсивности окислительного стресса судили по концентрации в тканях растений продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) МДА согласно методу Costa с соавторами. Отбор проб для определения содержания малоновогодиальдегида (МДА) осуществляли через 2, 4, 6, 12 и 24 часа после действия УФ-света. Пробы отбирали одновременно во всех вариантах опыта.

В тканях необработанных растений, подвергшихся действию УФ-света, наблюдали резкое накопление продукта ПОЛ, особенно интенсивное на 2-6 ч после воздействия. В последующем содержание МДА в тканях пшеницы снижались и через 24 часа после воздействия достоверно не отличалось от контрольных. В тканях обработанных бактериями растений через 2-4 часа после воздействия УФ-света также происходило резкое повышение уровня МДА, затем отмечали плавное снижение уровня МДА до значений собственного контроля через 24 ч. Однако, содержание МДА в тканях обработанных бактериями растений и при воздействии УФ-света, и без воздействия, всегда был ниже, чем у необработанных растений.

Таким образом, инокуляция семян пшеницы клетками *B. subtilis* шт. 26Д уменьшала повреждающий эффект УФ-света, что проявлялось в более низком содержании МДА в сравнении с необработанными бактериями проростками.

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ

Казакова А.Д., Мухаматдинова Е.А.
ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, кафедра физиологии растений и биотехнологий, Томск, Россия

a.kazakova99@mail.ru

Изучение механизмов устойчивости растений к повреждающему действию абиотических факторов является одной из фундаментальных проблем биологии. В настоящее время 25% всех почв земного шара засолены и этот фактор существенно осложняет экологическую ситуацию. Одной из ведущих сельскохозяйственных культур является картофель (*Solanum tuberosum*), который характеризуется относительно низкой устойчивостью к засолению. Повышение устойчивости растений во многом определяется факторами гормональной природы. Стероидные гормоны растений (брассиностероиды) весьма перспективны для создания эффективных и экологически безопасных природных стресс-протекторных регуляторов.

Исследования проводились на растениях-регенерантах *Solanum tuberosum* сорта Луговской. Растения картофеля в возрасте 28 суток переносили на жидкую половинную питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) под люминесцентные лампы в фитотрон с 16-часовым фотопериодом при температуре 20±3 ˚С. После двухнедельного выращивания на гидропонной установке растения подвергали четырехчасовому воздействию брассиностероида 24-эпибрассинолида (ЭБЛ). После гормональной обработки растения выдерживали 20 часов на среде МС и переносили на ½ МС в отсутствии (контрольный вариант) или в присутствии 125 мМ NaCl (опытные варианты). Для выявления протекторного эффекта ЭБЛ были проанализированы не только интенсивность перекисного окисления липидов, но и содержание осмолита и фактора неферментативной антиоксидантной защиты пролина.

В условиях NaCl стресса наблюдалось усиление интенсивности перекисного окисления липидов, что выражалось в увеличении концентрации малоновогодиальдегида в листьях растений на 38%. Гормональная обработка способствовала снижению данного показателя в 1.3 и 1.1 раза в листьях и стеблях соответственно.

Интенсивное засоление вызывало увеличение содержания пролина в 7.8 и 6.8 раз, по сравнению с контролем, в стеблях и листьях растений соответственно, что свидетельствует о развитии стресса у растений. Обработка растений гормоном вызывала снижение содержания пролина, что может быть связано с активацией других стресс-протекторных механизмов.

Таким образом, можно сделать вывод о положительном влиянии 24-эпибрассинолида на развитие защитных механизмов растений картофеля в условиях солевого стресса.

Исследования поддержаны проектом РФФИ № 20-54-00013-Бел_а.

ВЛИЯНИЕ КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ НА ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА У *SOLANUM TUBEROSUM* В УСЛОВИЯХ ДЕСТРУКЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК

Кованов Д.В.
ФГБОУ ВО Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, Орёл, Росссия

kovanov_dmitry@mail.ru

Всё чаще для мониторинга воздействия стрессовых факторов на растительный организм и используют метод индукции флуоресценции. Определенный интерес представляет изучение действия экзогенных фенольных соединений на процесс фотосинтеза растений в зависимости от целостности элементов тубулинового цитоскелета. Известно, что от структурного состояния микротрубочек зависят многие мембранные процессы в клетке. Целью работы было выяснить возможность протекторного действия антиоксиданта кофейной кислоты на показатели флуоресценции хлорофилла у Solanum tuberosum в условиях деструкции тубулинового цитоскелета колхицином. Объектом исследований были растения картофеля сорта Жуковский ранний, выращенные в почвенной культуре. Деструкцию микротрубочек проводили через 15 сут после появления всходов, однократно опрыскивая растения раствором 1 мМ колхицина. В указанной концентрации колхицин связывается с гетеродимером тубулина и предотвращает его полимеризацию, а также вызывает быструю разборку микротрубочек. Варианты опыта включали также совместное применение колхицина и 0.1 мМ раствора кофейной кислоты. Контрольные растения опрыскивали водой. Регистрацию параметров флуоресценции листьев у интактных растений проводили с использованием MINI-PAM (Walz, Германия) через 7 суток после обработки. Деструкция микротрубочек увеличила F_0 и снизила F_m, что свидетельствует о нарушениях в фотосинтетическом аппарате. Расчёт максимальной квантовой эффективности ФС II(F_v/F_m) показал снижение данного параметра на 22% под воздействием колхицина. В этих условиях экзогенная кофейная кислота оказала корректирующий эффект на изученные показатели, а именно – стабилизировала начальную и максимальную флуоресценцию, и уменьшила F_v/F_m до уровня контроля. В то же время кофейная кислота не оказала влияния на возросший под действием фармакологического стресса уровень нефотохимического тушения флуоресценции. Кофейная кислота несколько снижала значительно возросшую под влиянием колхицина скорость потока электронов, что способствовало предотвращению продукции АФК фотосистемой в стрессовых условиях. Таким образом, наблюдалось изменение ряда показателей флуоресценции хлорофилла при воздействии колхицина и кофейной кислоты. Изученные параметры свидетельствуют о развитии фармакологического стресса в ответ на действие колхицина. В этих условиях обработка растений низкомолекулярным антиоксидантом кофейной кислотой вызывала ряд положительных изменений в работе фотосинтетического аппарата.

ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ АУКСИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ГЕНА MAKR4 В КОРНЕ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

Коростелёва А.Л.[1], Новикова Д.Д.[2], Миронова В.В.[2]
[1]Новосибирский государственный университет; [2]Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

kartzeva.kar@gmail.com

Фитогормон ауксин является одним из важнейших регуляторов морфогенеза растений. Локальное повышение концентрации ауксина наблюдается в местах формирования боковых корней. Было показано, что в местах инициации примордиев боковых корней экспрессируется ауксин-чувствительный ген MAKR4 (MEMBRANE ASSOCIATED KINASE REGULATOR 4). Белок MAKR4 накапливается на плазматической мембране клеток перицикла перед их делением и участвует в формировании бокового корня из примордия (Xuanetal., 2015).

Целью данного исследования является изучение механизмов ауксин-чувствительной регуляции транскрипционной активности гена MAKR4. В промоторе гена MAKR4 были обнаружены ауксин-чувствительные цис-регуляторные элементы (AUXIN RESPONSE ELEMENTS; AuxREs), представленные последовательностями TGTCNN. Было показано, что транскрипционные факторы (ТФ) ARF, связывающиеся с AuxRE, могут формировать гомо- и гетеродимеры (Boeretal., 2014). Также был проведен биоинформатический анализ промоторной области гена MAKR4 и обнаружены цис-элементы, связывающие ТФ из других семейств (не ARF). Взаимодействие ТФ ARF с потенциальными партнерами в регуляции транскрипционного ответа на ауксин может объяснить формирование сложного паттерна экспрессии гена MAKR4 в корне *Arabidopsis thaliana*.

Уровень экспрессии гена MAKR4 при обработке экзогенным ауксином значимо изменяется уже через 15 минут, однако максимальная транскрипционная активность наблюдается через три часа обработки. Мы изучили паттерн экспрессии белка GFP на линиях *Arabidopsis*, в которых под интактным промотором гена MAKR4, а также под промоторами с мутированными цис-элементами, экспрессируется ген GFP. Уровень экспрессии белка GFP значимо повышается при трехчасовой обработке ауксином в линиях *Arabidopsis* с интактным промотором гена MAKR4, т.е. наблюдается ответ на ауксин. В линиях *Arabidopsis* с мутированными цис-элементами в промоторе гена MAKR4 явного изменения уровня экспрессии белка GFP при обработке ауксином не происходит. Участие AuxRE в транскрипционном ответе на ауксин было показано неоднократно, однако вопрос участия других цис-регуляторных элементов и способных связываться с ними ТФ в этом процессе до сих пор актуален. В результате данной работы была показана функциональность предсказанных в промоторе гена MAKR4 цис-элементов в ответе на ауксин. Дальнейшее исследование взаимодействующих с исследуемым регуляторным модулем ТФ может внести ясность в понимание регуляции гена MAKR4 и других чувствительных к ауксину генов, в промоторах которых содержатся подобные регуляторные модули.

CLE-ПЕПТИДЫ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ У MEDICAGO TRUNCATULA

Кудряшов А.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А.
ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

a23.10.2012@yandex.ru

Соматический эмбриогенез (СЭ) – особый тип регенерации у растений, который нашёл своё применение в биотехнологии. Его используют в методиках трансформации растений и при получении искусственных семян. В предыдущем исследовании было показано, что ген MtWOX9-1 оказывает влияние на способность к образованию соматических эмбрионов. Так как гены семейства WOX часто регулируются CLE-пептидами, мы предположили, что существует ген CLE, положительно влияющий на экспрессию MtWOX9-1. Нами уже было выявлено влияние сверхэкспрессии MtWOX9-1 на количество мРНК генов MtCLE06, MtCLE08, MtCLE16 и MtCLE18. WOX часто регулируются CLE по принципу обратной связи, поэтому сейчас мы ищем стимулятор экспрессии MtWOX9-1 среди этих четырёх генов. Для этого мы получили трансгенные каллусы с их экспрессией под контролем конститутивного промотора 35S. В данной работе была найдена позитивная корреляция между экспрессией генов MtCLE06, MtCLE08 и MtCLE18 и гена MtWOX9-1. Однако в каллусах редко наблюдалась сверхэкспрессия соответствующих генов, что, возможно, вызвано низкой выживаемостью каллусов с повышенным уровнем мРНК генов MtCLE, поэтому планируется использование дексаметазоновой системы активации экспрессии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СУЩЕСТВОВАНИЯ СУБПОВРЕЖДЕНИЙ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ СИНЕРГИЗМ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ УФ СВЕТА И ГИПЕРТЕРМИИ

Купцова П.С., Переклад О.В., Жураковская Г.П.
МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

polka-monada@yandex.ru

Актуальность. Хорошо известно, что комбинированное действие воздействующих факторов любой природы на биологические объекты может быть синергическим, аддитивным или антагонистическим. Существует предположение, что механизм синергического взаимодействия обусловлен образованием дополнительных летальных повреждений за счет формирования каждым из используемых в комбинации агентов субповреждений, которые не являются летальными при раздельном действии каждого агента. Есть данные, что при последовательном действии интервал времени между агентами должен быть минимальным для сохранения наибольшего синергизма.

Цель. Определить влияние интервала времени между действием УФ света и гипертермии при их последовательном действии на величину синергизма.

Материалы и методы исследования. В экспериментах использован диплоидный штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* дикого типа (XS800). Источником УФ света служил аппарат UVstar 15 Biometra (254 нм, 4,5 Вт/м^2). Температуру 55ºС (±0.1°С) поддерживали водяным лабораторным термостатом ELMI TW-2.

Результаты. Величина коэффициента синергизма одновременного действия УФ света и гипертермии 55ºС, определяемая отношением изоэффективных доз аддитивного и

комбинированного воздействий, k = 1,62±0,08. Интервалы времени при последовательном воздействии УФ света (2 мин) и гипертермии (2, 4 и 6 мин) составляли 15 секунд, 2, 5, 7, 10, 20, 30 и 60 минут. Характер зависимости величины эффекта синергизма от времени между воздействиями был следующим. От минимального, технически возможного, интервала 15 секунд и до 7 минут величина синергизма практически не отличалась от максимальной, продемонстрированной при одновременном действии ультрафиолетового света и гипертермии. При интервале времени 10 минут и больше синергизм резко уменьшается и после 30 минут взаимодействие факторов превращается в аддитивное, а при дальнейшем увеличении интервала между воздействиями переходит в антагонистическое.

Выводы. Для исследованной последовательности действия УФ света и гипертермии выявленная зависимость коэффициента синергического усиления от интервала времени между применяемыми агентами показывает, что субповреждения, индуцируемые УФ светом, способные взаимодействовать с возникающими гипертермическими повреждениями, что и обуславливает возникновение эффекта синергизма, существуют достаточно небольшой временной промежуток. Затем эти повреждения могут перейти в разряд летальных или восстановиться, в зависимости от степени повреждения, что требует своего дальнейшего понимания.

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА И 24-ЭПИКАСТАСТЕРОНА НА МОРФОГЕНЕЗ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ АРАБИДОПСИСА

Кухаренко Н.Е., Ковтун И.С., Ефимова М.В.
ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

natalinkuh@gmail.com

Переключение программы развития растений со скотоморфогенеза (темновое развитие) на фотоморфогенез (световое развитие) зависит не только от света, но обеспечивается эндогенными регуляторами, в частности, стероидными гормонами растений – брассиностероидами (БС). В настоящее время наиболее изучены эффекты лактонсодержащих представителей брассиностероидов (брассинолид и 24-эпибрассинолид (ЭБЛ)), тогда как физиологическое влияние кетонсодержащих представителей данного класса гормонов (кастастерон и 24-эпикастастерон (ЭПК)) изучено недостаточно.

Исследования проводились на проростках *A. thaliana* (L.) Heynh двух линий – родительской Columbia и мутантной формы det2, характеризующейся нарушенным синтезом брассиностероидов и, следовательно, их низким эндогенным содержанием. Для изучения влияния ЭБЛ и ЭПК в период темнового развития проростков Arabidopsis в питательную среду добавляли гормоны в концентрациях 0,01 и 1 мкМ. Контролем служили проростки, выращенные на безгормональной питательной среде.

Мутантные проростки характеризовались формированием укороченного гипокотиля и крупных семядолей. При добавлении в питательную среду БС наблюдалась тенденция к восстановлению фенотипа мутантных проростков до дикого типа, что выражалось в увеличении длины гипокотилей и в сокращении площади и периметра семядолей. Особенно данный эффект выражен при концентрации гормонов 1 мкМ. Корни мутантных проростков показали высокую чувствительность к действию ЭПК во всех исследуемых концентрациях – наблюдалось ингибирование роста. У проростков родительской линии БС вызывали ингибирование роста гипокотиля вне зависимости от концентрации и химического строения, при этом ЭПК оказал ростстимулирующее

действие на корни проростков. При действии БС наблюдалось увеличение линейных размеров семядолей проростков дикого типа – периметра и площади, особенно данный эффект выражен при концентрации гормонов 1 мкМ. Кроме того, мутантные проростки характеризовались значительным накоплением всех исследуемых групп фотосинтетических пигментов в сравнении с родительской линией. 1 мкМ ЭПК способствовал увеличению содержания хлорофиллов на 27 %. У проростков родительской линии экзогенное внесение БС способствовало увеличению содержания пигментов, особенно при концентрации гормонов 0,01 мкМ.

Нами показана физиологическая активность кетонсодержащего брассиностероида наряду с лактонсодержащим в регуляции морфогенеза и пигментного состава проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-34-50076 - мол_нр.

ВЛИЯНИЕ ПРАЙМИНГА МИКРООРГАНИЗМАМИ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ВИНОГРАДА С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К МИЛДЬЮ

Луцкий Е.О., Сундырева М.А.
ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

maxitostyle@gmail.com

Было проведено изучение воздействия различных микроорганизмов на двух сортах и гибридных формах винограда, отличающихся по устойчивости к милдью: BS – *Bacillus sp,* TV – *Trichodérm avíride* – антагонистические микроорганизмы; SC – *Saccharomyces cerevisiae* – винные дрожжи – являются естественными симбионтами винограда, заселяющими его ягоды и вегетативные органы; Vi – *Venturia inaequalis* была выбрана в качестве агента прайминга, так как является несовместимым для винограда грибным патогеном. Через 24 часа после инокуляциии указанными микроорганизмами было проведено заражение совместимым для винограда патогеном *Plasmopara viticola* (PV). На изучаемых сортах винограда наиболее эффективной была обработка SC. Через 48 и 96 часов после инокуляции микроорганизмами были выявлены наиболее яркие изменения в метаболическом профиле двух сортов, характеризующие эффективные и неэффективные системы прайминга. Через 48 часов после инокуляции у сорта Восторг происходило интенсивное накопление пероксида водорода, ответной реакцией стало существенное повышение экспрессии CHS, PR10, PR3. Наиболее эффективная обработка SC стимулировала экспрессию аналогичного набора генов при заражении совместимым патогеном *Plasmopara viticola*. Обработка Vi, способствовавшая повышению поражаемости листовых дисков сорта Восторг при сочетании с PV ингибировала экспрессию большинства защитных генов. Слабоустойчивый сорт Мускат белый имел тенденцию к понижению содержания H_2O_2 вместе с ростом активности антиоксидантных ферментов и метаболитов во всех вариантах опыта. Применение SC, существенно снизившее поражаемость милдью у сорта Мускат белый, стимулировало высокий уровень экспрессии защитных генов аналогично PV. Обработка листьев этого сорта Vi, не оказавшая положительного эффекта, приводила, как и в случае с сортом Восторг, к ингибированию экспрессии большинства защитных генов, как отдельно, так и в сочетании с PV. Через 96 часов после инокуляции у двух сортов экспрессия большинства генов возрастала при заражении патогеном и его сочетании с Vi, когда проявилось интенсивное вторичное спороношение милдью. Таким образом, можно предположить, что на вторые сутки после инокуляции всеми изучаемыми микроорганизмами имеет место рецепция со стороны винограда и запуск ответных реакций, но для снижения поражаемости требуется

эффективный антагонистический агент биоконтроля милдью, которым, вероятно, является использованные в работе *Saccharomyces cerevisiae*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-016-00210А

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОПУЛЯЦИЙ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Манухина Я.А.[1], Казакова Е.А.[2], Волкова П.Ю.[2]

[1]Обнинский институт атомной энергетики — филиал ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; [2]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

yana.manuhina@yandex.ru

Авария на ЧАЭС привела к значительному радиоактивному загрязнению огромных территорий, с находящимися на них природными экосистемами. Изучение последствий радиационного воздействия для популяций, обитающих на этих территориях, даёт возможность получить уникальные данные о механизмах адаптации к условиям многолетнего хронического облучения.

Целью данной работы был анализ состояния антиоксидантной системы хронически облучаемых популяций травянистых растений из зоны отчуждения ЧАЭС и оценка её роли в адаптации к стрессовым условиям.

Нами проведено определение содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) (восстановленного и окисленного глутатиона, аскорбиновой кислоты) и малоновогодиальдегида методом ВЭЖХ, а также активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT), аскорбатпероксидазы (APX) и гваяколовойпероксидазы (POX) методом спектрофотометрии в хронически облучаемых популяциях *Capsellabursa-pastoris, Trifolium repens, Taraxacum officinale, Dactylis glomerata* и *Aquilegia vulgaris*, произрастающих в ПГРЭЗ (Республика Беларусь).

На 2-х контрольных и 3-х радиоактивно загрязнённых участках были отобраны листья каждого из пяти видов исследуемых растений, а также почва для оценки радиационной обстановки.

Установлено, что на загрязнённых участках мощность поглощенной дозы (МПД) варьировала от 36 до 301 мкГр/сут, на контрольных участках от 4,8 до 14,7 мкГр/сут.

Результаты оценки концентраций НМАО и активности ферментов свидетельствует об ответе антиоксидантной системы популяций пяти видов травянистых растений на облучение. Выявлена различная выраженность и характер изменений изучаемых показателей, зависящие от вида растения, величины радиационного воздействия, а также, по-видимому, радионуклидного состава загрязнения. Так, например, в популяциях клевера ползучего установлена наиболее выраженная реакция антиоксидантной системы на радиоактивное загрязнение: статистически значимо увеличивалась концентрация аскорбата на двух загрязнённых участках (121 и 131 мкГр/сут) по сравнению с контролем (6,9 мкГр/сут) ($p=0,049$); CAT, POX статистически значимо ($p<0,05$) увеличивали свою активность на участке с МПД 131 мкГр/сут, а активность APX была выше ($p = 0,009$) на участке с уровнем загрязнения 121 мкГр/сут по сравнению с контролями.

Таким образом, работа антиоксидантной системы популяций травянистых растений из зоны отчуждения ЧАЭС модифицирована в результате действия хронического облучения в низких дозах.

При поддержке РФФИ № 18-34-20012.

РАЗНООБРАЗИЕ РОСТОВЫХ РЕАКЦИЙ ARABIDOPSIS В ОТВЕТ НА СЛАБЫЙ СОЛЕВОЙ СТРЕСС

Крытынская Е.Н., Нагай М.Я., Черкас О.М.
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

masha_19_02@mail.ru

Засоление представляет собой серьезную угрозу для современного сельского хозяйства, вызывая модификации роста и развития растений. Корень является первым и непосредственным органом, реагирующим на уровень NaCl. Ответная реакция корневой системы на солевой стресс является динамичной и сложной по своей природе. Она может проявиться по-разному, в зависимости от уровня (клеточный, тканевый, организменный), степени, химизма засоления среды, длительности воздействия стрессора (легкий, тяжелый, острый стресс). Поэтому для количественного определения и характеристики NaCl-индуцированных ростовых ответов используют разные тест-объекты, подходы и методы. Среди которых чашечный агаровый метод – не исключение. Последний позволяет оценивать ростовые реакции основных, латеральных корней глиофита *Arabidopsis thaliana*, плотность популяции корневых волосков, длину и диаметр отдельных корневых волосков, что важно с позиции выбора правильной стратегии противодействия солевому стрессу.

В этой связи целью работы служило изучение вызванных солью различий в динамике роста корней двух экотипов *A. thaliana* WS-0 и Col-0 (S35), их корневой архитектуре. По результатам исследований установлено: слабый солевой стресс (20-40 ммоль NaCl), индуцированный у асептических проростков *A. thaliana* (Ws-0) еще до стратификации, на протяжении 3-6 суток стимулировал рост первичных корней, не влияя на количество латеральных. К 6-7 суткам абсолютная длина корней возросла в 1,4-1,7 раза относительно контроля (МС-среда). Визуальных изменений в гравитационном ответе обнаружено не было. В то же время исследование клеточных основ ростостимулирующих эффектов методом светопольной микроскопии выявило индуцированную NaCl в концентрациях 30 и 40 ммоль стимуляцию роста корневых волосков, модификацию диаметра корня в зонах роста и всасывания, соотносимую с увеличением длины клеток кортекса.

В отношении экотипа Col-0 (S35) слабый солевой стресс индуцировал несколько иную реакцию. Наряду с отмеченной стимуляцией роста первичных и латеральных корней (до 10 ммоль NaCl), при 27 ммоль NaCl регистрировали сокращение абсолютной длины. Ингибирующий эффект проявился на 1 сутки экспозиции, к 7 суткам он был достоверным и слабым. Изменения коснулись высоты корневого чехлика (расстояния от апекса до покоящегося центра), ширины корня в зрелой зоне (на уровне первого зрелого корневого волоска). Сделан вывод о различии в ответах *A. thaliana* WS-0 и Col-0 (S35) на слабый солевой стресс. S35 пострадал от соли больше: отмечали начальное сокращение числа и длины корней. Концентрация 20 ммоль NaCl признана «пороговым» уровнем.

ВЛИЯНИЕ ГАММА–ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ARABIDOPSIS THALIANA ДИКОГО ТИПА И ЛИНИИ, ДЕФЕКТНОЙ ПО СИНТЕЗУ АБК

Подобед М.Ю., Бабина Д.Д., Бондаренко Е.В., Подлуцкий М.С., Горбатова И.В., Волкова П.Ю.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

podobedmyu@gmail.ru

Ионизирующее излучение (ИИ) относится к абиотическим стрессовым факторам и используется для изучения неспецифического стрессового ответа растений. ИИ обусловливает генерацию активных форм кислорода (АФК) [1] и может влиять на фотосинтетический аппарат [2]. Было показано, что низкодозовое гамма-облучение семян *Arabidopsis thaliana* приводит к накоплению АФК и абсцизовой кислоты (АБК), что способствует стимуляции роста и развития растений [3]. Интересно, что после облучения семян ячменя стимулирующими рост дозами гамма-излучения было обнаружено снижение концентраций АБК в проростках [4].

В данной работе была изучена реакция растений *A. thaliana* дикого типа Col-8 и линии aba3-1 (любезно предоставлена IJPB, Франция), дефектной по синтезу АБК, на острое гамма-облучение семян (источник ^{60}Co, установка ГУР-120 в ФГБНУ ВНИИРАЭ) в дозах 50, 100 и 150 Гр при мощности дозы 463 Гр/ч. После облучения и 48-ми часовой вернализации семена переносили в фитотрон (21 °C, влажность 55% и плотность фотосинтетического фотонного потока 80 мкмоль/м^{2}с). В процессе исследования оценивали динамику прорастания, площадь поверхности листьев (программа Easy Leaf Area), биомассу и параметры фотосинтеза (флуориметр Junior-PAM, Walz, Германия).

Статистически значимое снижение биомассы и площади поверхности листьев было отмечено у линии aba3-1 в дозе облучения 150 Гр. Также для этой дозы были получены высокие значения коэффициентов фотохимического тушения (qP, qL) и низкий уровень эффективного фотохимического квантового выхода фотосистемы II (ФС II) в условиях светового насыщения Y(II), что может свидетельствовать о снижении эффективности работы ФС II. Таким образом, доза 150 Гр является ингибирующей для этой линии. Следует отметить повышенные после облучения значения Y(II) для дикого типа, что указывает на возможную роль АБК в эффективной работе ФС II после облучения.

1. Sewelam N., Kazan K., Schenk P.M. Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road // Frontiers in Plant Science. – 2016. – Vol. 7. 187.
2. Ashraf M., Harris P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: an overview // Photosynthetica. – 2013. – Vol. 51. P. 163–190.
3. Qi W., Zhang L., et al. ROS and ABA signaling are involved in the growth stimulation induced by low-dose gamma irradiation in Arabidopsis seedling // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2015. – Vol. 175, Is. 3. P. 1490-1506.
4. Битаришвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А. Влияние γ-облучения семян на фитогормональный статус проростков ячменя // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, №3. С. 223-232

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ФИТОГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ЯПОНСКОЙ КРАСНОЙ СОСНЫ

Битаришвили С.В., Празян А.А., Гераськин С.А., Пишенин И.А.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

prazyana@yahoo.com

Авария на АЭС Фукусима-1 стала причиной выброса радионуклидов в окружающую среду. Являясь экологическим стрессором, хроническое облучение способно негативно влиять на природные популяции растений и изменять течение биохимических и физиологических реакций. Изучение последствий хронического облучения на природные популяции представляет особый интерес для понимания механизмов адаптации растений в ответ на стрессовое воздействие.

Поддержание нормального функционирования растений в неблагоприятных условиях опосредовано работой различных функциональных систем. Ключевая роль в этих процессах принадлежит гормональной системе.

Фитогормоны регулируют проницаемость клеточной мембраны, активность ферментов, работу вторичных метаболитов, что опосредует рост и развитие растений.

В качестве объекта исследования выбрана японская красная сосна, которая является распространенным видом на изучаемых территориях и обладает высокой радиочувствительностью.

Таким образом, целью нашей работы явилась оценка содержания основных классов фитогормонов в природных популяциях японской красной сосны, обитающих на радиоактивно загрязненных территориях.

В данной работе исследовали популяции, произрастающие на 4-х участках с различным уровнем радиоактивного загрязнения в результате аварии на АЭС Фукусима-1, и на одном контрольном участке.

Для исследования отбирали хвою с 20-30 деревьев на каждом участке, после чего лиофилизировали.

Качественный и количественный анализ гормонов производился на приборе Shimadzu LC-30 Nexera (Япония) с диодно-матричным детектором SPD-M20A (Shimadzu) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, для разделения смеси веществ использовали аналитическую колонку с обращенной фазой.

Состояние гормональной системы сосны оценивали по содержанию пяти основных фитогормонов в хвое: индолилуксусной кислоте (ИУК), индолилмасляной кислоте (ИМК), зеатина, гиббереллина и абсцизовой кислоте (АБК).

Показано, что в хвое исследуемых сосен, повышены уровни основного ауксина ИУК на загрязненных участках. Концентрации фитогормона росли с увеличением мощности дозы. Содержание АБК также было увеличено по сравнению с контрольным.

Обнаружено повышение концентраций зеатина на загрязненных участках и снижение уровня гиббереллина на тех же участках. Выявлена слабая отрицательная связь между содержанием этих двух фитогормонов.

Содержание АБК коррелировало с уровнями зеатина ($r=0,98$).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-54-50003).

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА *RHODOBACTER SPHAEROIDES* МЕТОДОМ СЕРИЙНО-ПОТОЧНОЙ КРИСТАЛЛОГРАФИИ

Селиханов Г.К.[1], Фуфина Т.Ю.[2], Васильева Л.Г.[2], Габдулхаков А.Г.[1]
[1]ФГБУН Институт Белка РАН; [2]ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН – ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

selikhanov@vega.protres.ru

Фотосинтетический реакционный центр (РЦ) бактерий *Rhodobacter sphaeroides* представляет собой крупный (около 100 кДа) мембранный пигмент-белковый комплекс. Он принимает участие в начальных этапах процесса фотосинтеза. Реакционные центры состоят из трех белковых субъединиц и нескольких молекул пигментов. Они преобразуют солнечную энергию в энергию химических связей через серию реакций переноса электрона и протона. Квантовая эффективность преобразования энергии света в РЦ близка к 100 %.

Для изучения механизма функционирования РЦ важны данные о его пространственной структуре. В то время как существует множество кристаллических структур реакционных центров, находящихся в статическом состоянии, мы не располагаем информацией о пространственных конфигурациях интермедиатных состояний этих комплексов. Для получения кристаллических структур интермедиатов необходимо использование метода серийно-поточной кристаллографии с временным разрешением.

Серийно-поточная кристаллография требует большого количества небольших и качественных кристаллов. Нами были подобраны условия для кристаллизации реакционного центра с использованием мезофазной кристаллизации, позволившие получить образцы, применимые для поточного рентгеноструктурного анализа. Были проведены успешные эксперименты на синхротроне PETRAIII и Европейском рентгеновском лазере на свободных электронах (EuXFEL) с использованием силиконовых микрочипов Roadrunner для подачи образцов, как в криогенных условиях, так и при комнатной температуре. Решены и уточнены кристаллические структуры с высоким разрешением (до 1,8 Å).

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума Российской академии наук «Постгеномные технологии и перспективы решения в биомедицине» и Российского фонда фундаментальных исследований (18-02-40008_mega).

ИССЛЕДОВАНИЕ H^+/OH^--ПРОВОДИМОСТИ НА КЛЕТКАХ NITELLA FLEXILIS МЕТОДОМ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОТВЕДЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ

Крытынская Е.Н., Скипор И.А., Ян Х.
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

krylena@inbox.ru

Гипотеза о существовании H^+/OH^- каналов в плазматической мембране *Chara australis* подтверждается «щелочным состоянием». M. A. Bisson, Beilby и AlKhazaaly регистрировали относительно контроля гиперполяризацию плазматической мембраны. Последнюю фиксировали при условиях быстрого защелачивания наружной среды, т.е. отклонениях pH выше критического значения 10,5. Отмеченная гиперполяризация, рост сопротивления характеризовали третье состояние мембраны, заявленное для *Characeae*.

Это состояние обусловлено увеличением пассивной проницаемости для OH^- (H^+) ионов при pH 9-12 и признано нейтрализовать заряд, поддержать $pH_{цит}$. Защелачивание одновременно способствовало падению калиевой проводимости. Действие ингибитора (ДЦКД) поляризацию не отменяло, следовательно, активная компонента была нивелирована, а пассивная H^+/OH^- - проводимость выделена. Подобное предположение было выдвинуто и в отношении *Nitella flexilis* в связи с соотносимым характером pH-полос, однако количественных подтверждений нами найдено не было.

В этой связи целью работы стало изучение H^+/OH^- -канальной проводимости на интернодальных клетках *Nitella flexilis*. В работе использовали микроэлектродную технику, метод внутриклеточного отведения потенциала от мембраны темновых клеток. Кислотность искусственной прудовой воды (ИПВ) смещали в щелочную область (9-11, NaOH) относительно 7, длительность эксперимента не превышала 15 минут. Установили: сдвиг кислотности ИПВ в щелочную область выше критического уровня 9,0 вызывает первоначальный эффект (в течение 4-6 минут) в виде гиперполяризации плазматической мембраны, степень которой со временем снижается. Выраженная гиперполяризация имела место быть при pH 11, на фоне низкого (0,1 ммоль/л) и на фоне высокого (3 ммоль) калия. На фоне низкого калия начальные отклонения от контрольного уровня в среднем составили 38,8±1,2 мВ (pH 11), 25±2,1 мВ (pH 10) и 10±4,2 мВ (pH 9). На фоне высокого – 26,3±2,3 и 7,2±1,5 мВ, соответственно. В отношении pH 9 достоверных сдвигов при той же тенденции не отмечали. Регистрировали рост проводимости. Реакция, индуцированная сдвигом pH, была быстротечна (2-8 мин) с последующим выходом на стационар (в течение 12-14 мин) и качественно подобна описанной на клетках *Chara australis*. Повышение кислотности ИПВ до 11 стимулировало поляризацию мембраны. На фоне 3 ммоль/л K^+ отмеченная проводимость вносила меньший клад. Таким образом, при pH выше критического уровня плазматическая мембрана клеток *Nitella flexilis* приобретает новые электрические свойства, требующие дальнейшего изучения.

РОЛЬ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В РАЗВИТИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Мудрилов М.А.[1], Гришина А.И.[1], Агеева М.Н.[2], Гринберг М.А.[1], Воденеев В.А.[1]
[1]Department of Biophysics, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; [2]Department of Biochemistry and Biotechnology, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

mtengri@yandex.ru

Будучи прикрепленными малоподвижными организмами, растениями был выработан широкий спектр механизмов, обеспечивающих адекватную реакцию в ответ на многочисленные внешние стимулы. Особую роль в жизнедеятельности растений играет адекватная и своевременная регуляция фотосинтеза, для оптимальной его адаптации к изменяющимся условиям среды. Возможным сигналом, способным обеспечить подобную регуляцию, может выступать вариабельный потенциал (ВП), генерируемого в ответ на раздражители, чьи параметры, такие как вероятность возникновения, амплитуда и скорость распространения, проявляют определенную зависимость от типа раздражителя. ВП при этом способен вызывать изменения pH в клетках растений, что может привести к изменению фотосинтетической активности. Целью работы является выявление связи ВП и фотосинтетического ответа, индуцированного различными раздражителями.

Объектом исследования выступали 2–3-х месячные растения табака (*Nicotiana tabacum* L.). Раздражение наносилось путем локального ожога и нагрева участка листа.

Электрическую активность регистрировали внеклеточно. Определение внутриклеточных значений pH клеток листа табака, трансформированного флуоресцентным pH-сенсором Pt-GFP, оценивали методом флуоресцентного имиджинга. Анализ фотосинтетических параметров производился при помощи PAM-флуориметра.

Локальное воздействие вызывало генерацию ВП и его распространение по листу растения. Были показаны различия в параметрах ВП, выраженные в более высоких амплитудах ВП в близлежащих к месту раздражения участках при ожоге и ярко выраженном декрементом по мере распространения. Наряду с генерацией ВП раздражение вызывало изменения pH в клетках. Фотосинтетический ответ был представлен в виде снижения квантового выхода фотосистемы II (YII) и роста уровня нефотохимического тушения (NPQ). Динамика изменений pH, YII и NPQ проявляли схожую с ВП динамику, в виде высоких начальных амплитуд при ожоге и быстром спаде по мере распространения, в отличие от нагрева, где динамика была более плавной. Таким образом, можно заключить, что ВП может выступать регулятором фотосинтетических параметров в растениях табака, посредством изменений уровня pH в цитоплазме.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 19-34-90175).

СВОЙСТВА МУТАНТНЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ *RHODOBACTER SPHAEROIDES* С ТРЕМЯ АМИНОКИСЛОТНЫМИ ЗАМЕЩЕНИЯМИ H(L173)L+I(L177)H+F(M197)H

Третчикова О.А.[1,2], Фуфина Т.Ю.[2], Васильева Л.Г.[2]

[1]ФГБОУВО Пущинский государственный естественно-научный институт; [2] ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН – ФИЦПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

olyatretchikova@yandex.ru

В процессе фотосинтеза энергия света трансформируется в энергию химических связей. Начальные стадии этого процесса происходят в фотосинтетических реакционных центрах (РЦ) с квантовым выходом близким к 100%. РЦ пурпурной бактерии *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides* состоит из трех субъединиц (L, M и H) и десяти кофакторов и является пигмент-белковым комплексом, локализованном в клеточной мембране. Пигмент-белковые взаимодействия важны для обеспечения эффективной трансформации энергии в процессе фотосинтеза, поэтому они являются объектом изучения в данной работе. РЦ Rba. sphaeroides утвердили себя в качестве хорошей модели для подобных исследований, так как они относительно просто устроены и хорошо изучены. Кроме того, для них создана генетическая система для направленного мутагенеза.

В данной работе были сделаны аминокислотные замещения His на Leu в позиции L173, Ile на His в позиции L177 и Phe на His в позиции M197 в РЦ *Rba. sphaeroides*. Были подобраны условия для выделения и очистки комплекса из мембран и установлено, что удельный выход при очистке полученных мутантных РЦ составил 2,34 ODV_{800} на литр культуры. Выявлено, что тройная мутация приводит к изменениям в спектре поглощения мутантного РЦ – полоса Q_YP при комнатной температуре отсутствует, а полоса Q_YB БХл смещена на 7 нм в длинноволновую область в сравнении со спектром РЦ дикого типа. В области поглощения БФео значимых изменений не произошло. В коротковолновой области полоса поглощения всех БХл сместилась на 3 нм, в области поглощения всех БФео значимых изменений не произошло. Пигментный состав мутантного РЦ отличается от такового в РЦ дикого типа. Показано, что соотношение БХл:БФео в мутантном РЦ составляет 1,34, в РЦ дикого типа оно равно 2.

Благодаря интересным спектральным характеристикам, РЦ H(L173)L+I(L177)H+F(M197)H представляет собой перспективный объект для

исследования роли пигмент-белковых взаимодействий в обеспечении высокой эффективности первичных процессов фотосинтеза.

ИЗМЕНЕНИЕ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ВИНОГРАДА ПРИ ВЫХОДЕ ИЗ СОСТОЯНИЯ ПОКОЯ

Федорович С.В., Сундырева М.А.
ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

Havok11.F@gmail.com

Период зимовки для растений винограда имеет весьма большое значение. В этой связи изучение биохимических показателей морозоустойчивых сортов является актуальным. Объектами исследования являлись гибриды винограда: ТАНА 33 (внутривидовой гибрид *V. vinifera*), ТАНА 42 (межвидовой гибрид *V. vinifera* и *V. amurensis*), ТАНА 68 (межвидовой гибрид *V. vinifera* и американских видов). Наиболее устойчивым к морозам гибридом является ТАНА 42, наименее устойчивым – ТАНА 33. Исследования проводились в период выхода растений из состояния покоя. Для определения углеводного и пигментного профиля использовались ткани зимующих побегов. Была определена способность накапливать и расщеплять углеводы, что является крайне важным фактором для морозоустойчивости сорта. Так ТАНА 42, ТАНА 68 показали высокие концентрации крахмала и растворимых сахаров, что соответствует гипотезе о их морозостойкости. Растворимые сахара не редко были выше именно у ТАНЫ 33, что может говорить об повышении интенсивности процессов клеточной регенерации. Наиболее высокими показателями концентрации хлорофилла обладала ТАНА 68. Так же была выявлена зависимость между фотосинтетической активностью в лозе винограда и метаболизмом сахаров. Была выявлена прямая зависимость между изменениями концентрации каротиноидов и концентрацией моносахаров у всех трёх гибридов. В целом, наиболее чувствительной к изменению температур была ТАНА 33. Выход из состояния покоя для всех гибридов сопровождался резким повышением концентрации крахмала, усреднением концентрации растворимых сахаров и снижением концентрации пигментов. Резкие изменения температур пагубно влияли на пигментный состав. Изменение концентрации каротиноидов находилось в обратной зависимости с концентрацией сахарозы. Все эти данные наталкивают на мысль о взаимосвязи фотосинтеза в тканях лозы винограда и метаболизме углеводов. Возможно, синергическая работа двух метаболических систем является секретом морозоустойчивости.

Работа проведена при поддержке РФФИ 18-04-00079 А

ВЛИЯНИЕ ФИТОХРОМОВ НА ДЕЙСТВИЕ УФ-Б РАДИАЦИИ НА ФА В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ

Шмарев А.Н.
ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН – ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

shurik_bx_04@mail.ru

Растения имеют несколько систем фоторецепции. Одна из них - фитохромная система, поглощающая преимущественно свет в красной области спектра. Она представляет собой набор различных фитохромов (Фх) работающих вместе с сигнальными системами. Фитохромная система регулирует широкий спектр физиологических процессов от прорастания семян до цветения и плодоношения. Ответные реакции растений на действие повреждающих факторов так же находятся под контролем фитохромной системы. В данной работе рассмотрим различное влияние соотношения красного/ дальнего красного света (КС/ДКС) на устойчивость ФА к действию УФ-излучению.

Эксперименты проводили на 10-дневных проростках пшеницы (Triticum aestivum L), выращенных на песке с питанием Кнопа при температуре 22/18ºС на белом свету (16 часов, 200 мкмоль квантов/($м^2$ с), а так же с добавлением красного/ дальнего красного света. Для изменения соотношения активной/ неактивной формы фитохрома использовали матрицу светодиодов, излучающих свет в красной области спектра (КС, λ = 656 нм, $\lambda 1/2$ = 26 нм) и излучающих дальний красный свет (ДКС, λ = 737 нм, $\lambda 1/2$ = 30 нм). Растения кратковременно (1 ч) облучали УФ-В (5 кДж/ $м^2$). Затем с помощью PAM-флуориметрии и JIP-теста оценивали активность фотосистемы 2 (ФС2), а также максимальный индекс производительности. Измеряли содержание фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов (УФПП), содержание МДА в листьях растений пшеницы. А также смотрели морфологические параметры.

При соотношении КС/ДКС 4/1 и 8/1 по отношению к контролю максимальный квантовый выход, содержание фотосинтетических пигментов и содержание МДА практически не менялись. Было заметно увеличение эффективного квантового выхода при увеличении доли ДКС. На 15% увеличилась толщина листа (КС/ДКС 4/1). УФ-излучение уменьшало максимальный и эффективный квантовые выходы флуоресценции Хла намного быстрее у растений выращенных на БС, чем с добавлением КС/ДКС. Содержание фотосинтетических и УФПП после облучения УФ-Б излучением так же возрастало в варианте увеличения доли ДКС в соотношении КС/ДКС. Содержание МДА было выше на 25% в варианте, выращенных на БС. Можно предположить, что увеличение доли ДКС в паре КС/ДКС (4/1) ведет к снижению пагубного воздействия УФ-Б радиации на ФА в листьях растения пшеницы.

УЧАСТИЕ БЕЛКА CAH3 В СТАБИЛИЗАЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ВОДООКИСЛЯЮЩЕГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ 2

Шукшина А.К., Терентьев В.В.
ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН – ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

sshukshinka@gmail.com

Имеются данные о возможном участии карбоангидраз (КА) в функционировании фотосистемы 2 (ФС2), повышении ее активности и устойчивости к стрессовым факторам. Альфа-КА CAH3 из *Chlamydomonas reinhardtii* является на данный момент единственной идентифицированной КА, которая ассоциирована с ФС2.

Мы предполагаем, что CrCAH3 может участвовать в стабилизации структурно-функциональной организации водоокисляющего комплекса (ВОК) ФС2. Целью работы было изучить влияние CrCAH3 на фотосинтетическую активность ФС2 при действии стрессовых факторов. Для этого исследовалось: влияние повышенных концентраций Cl^-, фотоинактивации, термоинактивации на фотосинтетическую активность ФС2 в мембранных препаратах, обогащенных ФС2, изолированных из дикого типа (ДТ) зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, и из мутанта cia3, с отсутствующей CrCAH3 в люмене тилакоида.

При оптимальных условиях (pH 6,5, 35 мМCl^-) O_2-выделяющая активность ФС2 была одинаковой у препаратов из ДТ и cia3 (100%). При повышении концентрации ионов Cl^- наблюдалось более сильное ингибирование O_2-выделяюшая активности ФС2 из cia3 по сравнению с ФС2 из ДТ. При 100 мМCl^-она составляла 90% у ФС2 из ДТ и 70% у ФС2 из cia3. Дополнительное инкубирование с ионами Cl^-увеличивало разницу ингибирования O_2-выделяющей активности у ФС2 из ДТ и cia3 до 80% и 50%, соответственно.

При фотоинактивации ФС2 красным светом (1200 мкмоль фотонов $м^{-2}с^{-1}$), препараты из ДТ и cia3 характеризовались разной скоростью потери O_2-выделяющей активности: время полуспада кривой составляло около 60 и 37 мин у ДТ и cia3, соответственно. Об участии CrCAH3 в поддержании активности ФС2 из ДТ свидетельствовало снижение активности ФС2 до уровня cia3 в присутствии ингибитора КА этоксизоламида. Термоинактивация препаратов ФС2 также показала меньшую стабильность ВОК в препаратах из cia3. Так, при 40°C потеря 50% активности отмечалась у ДТ примерно за 25 мин, а у cia3 за 7 мин. Инкубация препаратов при 50°C приводила к более критическому подавлению фотосинтетической активности ФС2. Через 1 мин ФС2 из ДТ теряла около 30% своей O_2-выделяющей активности, а ФС2 из cia3 уже около 70%. При этом, через 5 мин инкубации наблюдалась полная потеря O_2-выделяющая активность препаратов в обоих случаях.

Таким образом, мы предполагаем, что отсутствие субъединицы CrCAH3 может быть причиной дестабилизации белкового комплекса ВОК, в результате чего воздействие стрессовых факторов приводит к более высокому ингибированию O_2-активности ФС2.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90056.

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗДОРОВЛЕННЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ SOLANUM TUBEROSUM L. СОРТА ЛУГОВСКОЙ В УСЛОВИЯХ ГИДРОПОНИКИ

Сатканов М.Ж.[1], Кадырбаев М.К.[2], Головацкая И.Ф.[2]
[1]Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева; [2]Национальный исследовательский Томский государственный университет

Kadyrbaev.maks@mail.ru

Растительные гормоны брассиностероиды (БС) относятся к соединениям стероидной природы. Они находятся почти во всех частях растений и характеризуются широким спектром действия на генетическом, молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Они обладают высокой рост-регулирующей активностью, поэтому применяются в очень низких концентрациях. Показана высокая активность 24-эпибрассинолида (24-ЭБЛ) в процессах роста и развития [1]. В настоящее время недостаточно изучено влияние БС на жизнедеятельность растений регенерантов картофеля в условиях гидропоники. В связи с этим целью исследования явилось изучение действия 24-ЭБЛ на продуктивность оздоровленных регенерантов картофеля *Solanum tuberosum* L. среднеспелого сорта Луговской. В качестве объекта исследований были выбраны предварительно оздоровленные методом апикальной меристемы растения-регенеранты картофеля, которые выращивали на 50% агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) на белом свету (200–230 мкмоль / $м^2с$) при 16-ч фотопериоде и температуре 20–22°С [2]. После 25 суток культивирования растения переводили на жидкую 50% питательную среду МС, далее на 50% среду Прянишникова. По истечению двухнедельной адаптации растений их корни обрабатывали в течение 16 ч 1 нМ 24-ЭБЛ в составе МС (опыт). Контрольные растения выдерживали тоже же время в МС, не содержащую гормон. Далее отмывали корни от гормона и высаживали растения на 50% среду Прянишникова в гидропонную установку КД-10 («Картофельное дерево»). На 42 сутки оценивали продуктивность растений.

Обработка гормоном 1 нМ 24-ЭБЛ корней *S. tuberosum* ускоряла ростовые процессы растений, повышая массу побега на 28% за счёт роста стебля и листьев по сравнению с контролем. Под действием гормона увеличивалась на 35% поверхность листьев. Таким образом, предобработка 1 нМ 24-ЭБЛ корней увеличивает продуктивность оздоровленных растений регенерантов *S. tuberosum* среднеспелого сорта Луговской в условиях гидропоники.

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ СУПРОДИТ М И ГУМИТОН НА ПОСТУПЛЕНИЕ ТМ и 137Cs В РАСТЕНИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕНЕЗА

Баланова О.Ю., Ратников А.Н., Свириденко Д.Г., Арышева С.П., Петров А.Н.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск

animaleco15@rambler.ru

В современной аграрной науке все больше уделяется изучению вопросов теоретического обоснования и практического использования органоминеральных комплексов на основе торфа для производства гуматсодержащих препаратов. В настоящее время в ФГБНУ ВНИИРАЭ проводятся успешные испытания агромелиорантов высокоэффективных как в отношении повышения продуктивности и качества сельскохозяйственных культур, так и получения экологически безопасной продукции растениеводства на техногенно загрязненных территориях. Такими препаратами являются: СУПРОДИТ М и ГУМИТОН. Препараты защищены патентами Российской Федерации.

СУПРОДИТ М представляет собой смесь комплексного сорбента и органической фракции. Удобрение предназначено для сохранения плодородия почвы, повышения продуктивности с/х культур, снижения поступления в растения из почвы ТМ (Cd, Cu, Zn, Pb) и радионуклидов (^{137}Cs) техногенного происхождения, и получения экологически безопасной продукции. Препарат обладает пролонгированным действием. Элементный состав СУПРОДИТа М: N (азот общий)–11,4%; P_2O_5–12,0%; K_2O–18,0%, органическое вещество -30%. Содержание Mg–0,32%; микроэлементов: B–1200; Mo–1400 мг/кг. СУПРОДИТ М содержит гуматы калия. Эффективность применения СУПРОДИТа М включает: улучшение сорбционных свойств почвы; повышение урожайности: ячменя – на 15-40%, овса – на 20-40%, яровой пшеницы – до 30%; снижение перехода Cd в зерно ячменя в 1,5-4,4; Cd, Pb, Ni – в зерно овса – в 2,0-2,2 раза; повышение содержания B и Mo в зерне ячменя – в 1,3-1,7 раза; снижение перехода ^{137}Cs в зерно ячменя в 1,5-5,5 раза, в зерно пшеницы – до 2,4 раза.

ГУМИТОН представляет собой комплексный жидкий концентрат с содержанием азота (N) – 10-12%, фосфора (P_2O_5) – 20-24%, калия (K_2O) – 27-30%. Содержание органического вещества 20%, в том числе гуматов калия 11-14%. Препарат ГУМИТОН предназначен для предпосевной обработки семян, а также для поверхностной обработки вегетирующих растений 1-2 раза за вегетационный период. Эффективность применения ГУМИТОНА заключается в повышении урожайности яровых зерновых культур на 15-25%; снижении накопления ^{137}Cs зерном ячменя в 1,2 раза; снижении накопления ТМ (Cd) зерном ячменя в 1,4-1,7 раза, повышении урожайности озимых зерновых культур на 15-25%.

Применение органоминеральных препаратов СУПРОДИТ М и ГУМИТОН обеспечивает наибольшую прибавку урожая зерновых культур и получение зерна с наименьшим содержанием ТМ и ^{137}Cs по сравнению с другими промышленными комплексными удобрениями.

УСТОЙЧИВОСТЬ ПУСТЫННО-СТЕПНЫХ КАШТАНОВЫХ ПОЧВ И СОЛОНЦОВ К АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЛИТОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ

Дубовик Е.В.[1], Каширская Н.Н.[2]
[1]ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

2-70-84-86@mail.ru

Выпас скота на пастбищах относится к основным антропогенным факторам, способствующим деградации сельскохозяйственных угодий в Терско-Кумской низменности.

Целью данной работы было оценить устойчивость пустынно-степных каштановых почв и солонцов к антропогенной нагрузке в зависимости от литологических условий их формирования. В задачи исследования входило сравнить биологическую активность песчаных и глинистых почв (объекты Кочубей и Буйнакск) и выявить почвы, наиболее устойчивые к антропогенному влиянию. Среди пастбищных почв, подверженных интенсивному выпасу, но сохранивших верхний горизонт, на терско-кумских песках присутствовали как солонцы, так и каштановые почвы, а на майкопских глинах были обнаружены только солонцы. Было выявлено, что интенсивный выпас привел к заметному снижению биологической активности: в солонце, сформированном на глинах, как фосфатазная, так и уреазная активность верхнего почвенного горизонта снизились в 1.5 раза по сравнению с каштановой почвой, где была отмечена незначительная степень деградации. В песчаных почвах умеренная деградация привела к такому же уменьшению уреазной активности, как и на глинах, при этом фосфатазная активность верхнего горизонта резко снижалась - в 4 раза в каштановой почве и в 17 раз в солонце. В нарушенных почвах со сбитым верхним горизонтом (максимальная деградация) как на песках, так и на глинах сохранялась высокая уреазная активность верхнего слоя. Пониженная фосфатазная активность верхнего слоя нарушенной песчаной почвы была сравнима с фосфатазной активностью верхних горизонтов песчаных почв умеренной деградации. В глинистой почве нарушение привело к неожиданному возрастанию фосфатазной активности, по нашим предположениям, за счет внесения навоза в экспонированный верхний слой иллювиального горизонта, что повлияло на изменения в структуре микробных сообществ.

БИОМАССА И КАТАБОЛИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ЗАПОВЕДНОГО УЧАСТКА И ПАШНИ (ЗАПОВЕДНИК «БЕЛОГОРЬЕ»)

Душанова К.С.[1], Лисецкий Ф.Н.[2], Украинский П.А.[2], Хомутова Т.Э.[1]
[1]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино
[2]Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

kamilla.dushchanova@gmail.com, khomutova-t@rambler.ru, liset@bsu.edu.ru, pa.ukrainski@gmail.com

Исследовано состояние микробных сообществ в верхнем (0-10 см) слое серых лесных почв разной степени оподзоленности на лесовидных суглинках под многолетней дубравой в заповеднике «Белогорье» Белгородской области (участок «Лес на Ворскле») и агросерых смытых и намытых почв антропогенно-преобразованной экосистемы (пашня) за его пределами. Разрезы закладывали на водораздельных участках, в средней и нижней

части склона. Почвенные образцы отбирали по катенам, располагавшимся на склоне южной экспозиции с одинаковым уклоном местности и с однотипными литологическими условиями: катена «Лес» на участке «Лес на Ворскле» и катена «Пашня». Живую микробную биомассу оценивали по содержанию почвенных фосфолипидов с пересчетом в единицы органического углерода. Функциональное разнообразие микробных сообществ оценивали методом мультисубстратного тестирования дыхательной активности. Дыхательными индукторами были соединения 3х групп: аминокислот (глицина, аланина, аргинина, гистидина, тирозина и цистеина), натриевых солей карбоновых кислот (аскорбиновой, лимонной, молочной, уксусной, щавелевой и янтарной) и углевода – глюкозы.

В почвенных образцах катены «Лес» на водоразделе и нижней части склона живая биомасса составляла около 2300 мкг С/г, 70 % которой была активной и давала дыхательный отклик на внесение глюкозы. В средней части склона живая микробная биомасса была в два раза ниже. В катене «Пашня» наибольшая живая микробная биомасса была выявлена в нижней части склона - около 1200 мкг С/г, а на водоразделе и средней части склона она составляла 55 и 48% от этого уровня. Т.о. активность микробиологических сообществ снижалась, вероятно, в результате аккумулятивно-эрозионных процессов на склонах.

На основании мультисубстратного тестирования дыхательных откликов микробных сообществ оценено их функциональное разнообразие, которое оказалось специфичным в исследованных экосистемах. Дыхательные отклики микробных сообществ катены «Пашня» были существенно ниже таковых катены «Лес». Самые высокие отклики микробных сообществ обеих экосистем были получены на внесение аскорбиновой кислоты, а самыми вариабельными оказались отклики на внесение янтарной кислоты и аминокислот: аланина и глицина. На обеих катенах распределение дыхательных откликов на аскорбиновую, молочную и янтарную кислоты, а также аминокислоту гистидин соответствовало распределению микробной биомассы, т.е. на эти индукторы приходится отклик большей части микробного сообщества, а на внесение остальных реагируют отдельные группировки сообществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-50067 «мол_нр»

ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПРИБРЕЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ БАРЕНЦЕВА МОРЯ

Исакова Е.А., Корнейкова М.В.
ФИЦ КНЦ РАН, ФГБУН Институт проблем промышленной экологии Севера, Апатиты

ya.kristina-i2014@yandex.ru

Для оценки экологической безопасности среды обитания человека большой интерес представляют потенциально патогенные (ППГ), или оппортунистические, грибы, способные вызывать заболевания человека и животных с иммунодефицитами. Микромицеты этой группы нередко колонизируют кожу и слизистые оболочки, находятся в кишечнике, но способны и к длительному существованию во внешней среде. ППГ характеризуются определенными свойствами патогенности: способностью роста при температуре человеческого тела, повышенной способностью к адгезии, мицелиально-дрожжевым диморфизмом, меланизацией клеток, капсуляцией, способностью к экстраклеточной секреции протеиназ и фосфолипаз и рядом других свойств. От выраженности этих признаков зависит степень патогенности микроскопических грибов.

Целью данной работы было выявление ППГ в прибрежных грунтах Кольского залива Баренцева моря и оценка их потенциальной патогенности на основе анализа ферментативной активности. Всего в исследуемых грунтах было выделено 39 видов микроскопических грибов, из которых 26 (66% от общего количества видов) принадлежали к группе ППГ. Грибы анализировали на наличие протеазной и фосфолипазной активности, а также на способность роста и выживаемости при температуре 37°С. Протеазная активность была выявлена у 17 штаммов (62 %) микромицетов. Коэффициент протеазной активности изменялся от 0 до 1,8. Наибольшие значения коэффициента (1,5–1,8) отмечались у 3-х штаммов: *Paecilomyces farinosus, Penicillium martensii, P. chrysogenum*. Фосфолипазная активность обнаружена у 23 изолятов (88%). Величина коэффициента фосфолипазной активности изменялась от 1,1 до 2,3. Наиболее существенные значения коэффициента (1,5–2,3) отмечались у 8 штаммов: *P. martensii, P. decumbens, P. canescens, Trichoderma koningii, P. miczynskii, P. simplicissimum, Purpureocillium lilacinum, Acremonium st2*. При температуре 37° С рост отмечался у 12 (46%) из 26 тестируемых видов.

Наибольшую опасность для человека могут представлять 7 штаммов микроскопических грибов: *Aspergillus flavus, A. flavus st.2, A. niger, P. farinosus, P. glabrum, P. janthinellum, P. purpureogenum*. Они имели наибольшие значения коэффициентов ферментативной активности, а также обладали способностью роста при 37 °С, что свидетельствует о высокой степени их патогенности.

Таким образом, микроскопические грибы, выделенные из территорий Кольского залива Баренцева моря, могут представлять опасность для здоровья человека. Необходимо проводить регулярные мониторинговые исследования с целью выявления потенциально-опасных видов микроскопических грибов.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА МИКРОБИОМА ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ СМЕСЕЙ И ИХ КОМПОНЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТАВОМ ГАЗОННЫХ ТРАВ

Ковалева Ю.Н., Ворошихина Т.В.
ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва

love.peace.awful.things@gmail.com

Функциональная структура микробиома почвы определяет направленность многих биохимических процессов в экосистемах. Применение различных органоминеральных смесей при создании городских газонов может влиять на функциональную структуру микробного сообщества почвоподобных конструкций. Важную роль в функционировании микробиома может оказывать и видовой состав газонных трав. Поэтому работа нацелена на выявление особенностей функциональной структуры микробного сообщества органоминеральных компонентов и их смесей при выращивании бобовых и злаковых растений. В сосуды с торфом (Т), дерново-подзолистой почвой (ДП, 0-10 см слой) и их смесью в разных пропорциях 70%ДП / 30%Т (I) и 70%Т / 30%ДП (II) высевали *Trifolium repens, Lolium perenne* и их травосмеси, которые выращивали в течение 2-х месяцев. Контролем служили варианты без растений. По завершении эксперимента были отобраны образцы смесей и их компонентов для оценки функциональной структуры микробиома методом MicroResp, который основан на регистрации его дыхательного отклика (продукция CO_2) при внесении разных органических субстратов: аминокислоты, углеводы, карбоновые кислоты и амиды.

Функциональная структура микробиома ДП и изученных смесей значительно не различалась и характеризовалась доминированием группы микроорганизмов, утилизирующих карбоновые кислоты (вклад в общее дыхание 40%). В торфе преобладали

группы микроорганизмов, потребляющие углеводы и карбоновые кислоты. Вклад отклика микробиома на внесение N-ацетилглюкозамина (амид, мономер хитина) был значительно выше в компонентах, чем их смесях. Эффект растительности на функциональную структуру микробиома отличался специфичностью для каждой смеси и компонента. Например, отклик на карбоновые кислоты был значимо ниже в ДП с *Lolium perenne* (1.6 мкг С $г^{-1}$ $ч^{-1}$), чем в контроле. В торфе *Lolium perenne* и *Trifolium repens* способствовали снижению в 2.6 раза активности микроорганизмов, утилизирующих углеводы. В смесях с растительностью вклад микробного отклика на N-ацетилглюкозамин был в среднем на 5-10% выше контроля.

Показано, что функциональная структура микробиома изученных смесей приобретает характерные особенности, свойственные почве. Очевидно, влияние газонных трав на функциональную структуру микробного сообщества почвоподобных конструкций будет в большей степени определяться свойствами составляющих их смесей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ №19-77-30012.

ФОСФОР И ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНОГО СЛОЯ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА ЭПОХИ БРОНЗЫ КСИЗОВО-1 (XXII-XXIV В.В. ДО Н.Э.) (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ)

Кожемякина Ю.Н.[1], Потапова А.В.[2]
[1]ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

kozhyulya.57@gmail.com

Археологическая наука тесно связана с методами почвоведения и с другими смежными естественными науками. И именно широкое их применение в археологии позволяет увидеть целую картину жизнедеятельности. Важность становится неоспоримой при исследовании формирования культурного слоя памятника, реконструкции инфраструктуры поселений и организации пространства на территории археологических памятников и за его пределами.

В данной работе представлены результаты исследования модельного участка поселения Ксизово-1 среднедонской катакомбной культуры (XXIV–XXIII вв. до н.э.) в лесостепной зоне. Памятник расположен в верхнем течении Дона на высокой первой террасе р. Сновы в окрестностях с. Ксизово Задонского района Липецкой области. Задачей исследования была оценка варьирования химических и микробиологических характеристик культуросодержащих отложений в профиле и в плане по всей площади раскопа. В ходе раскопок проводился отбор почвенных образцов из каждого квадратного метра культурного слоя на четырех уровнях зачистки. В отобранных образцах проведено определение фосфатазной активности, а также раздельное определение органических и минеральных форм фосфатов. Оценка содержания фосфора относится к числу наиболее информативных и достоверных методов, используемых в археологической практике. Как известно, фосфаты в культурном слое могут иметь биологическую природу и накапливаться в результате поступления в почву остатков пищи, бытовых отходов, экскрементов и других органических субстратов (“органический” фосфор), либо поступать с золой и костями (“минеральный” фосфор). Определение валового фосфора не позволяет получить представление о его природе и, соответственно, искажает истинную картину жизнедеятельности древнего человека.

Сравнение полученных данных с распределением археологических объектов и находок на территории раскопа позволило установить особенности химических и

биологических свойств культурного слоя, соответствующего основному периоду функционирования и финалу существования поселения.

ВЛИЯНИЕ ПРМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА СТРУКТУРУ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ Г. СЕРПУХОВА

Лоза А.Д. [1], Каширская Н.Н.[2]
[1] МБОУ СОШ №18, Серпухов, Россия; [2] ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

loza11.08.03@mail.ru nkashirskaya81@gmail.com

Промышленное загрязнение почвы приводит к нарушению многих физических, химических и биологических почвенных процессов. Тяжелые металлы, выбрасываемые в атмосферу в результате деятельности промышленных предприятий, оседают на земной поверхности и растительности. В почве соединения металлов прочно связываются с органическим веществом и глинистыми минералами.

Целью данной работы было оценить состояние микробных сообществ верхнего слоя серпуховских почв, отобранных с промышленных территорий. Образцы отбирались в пределахследующих предприятий города Серпухов: Металлист, Кожевенный завод, ТВИНТОС, УРСА, Химволокно, Электромеханический завод. В качестве контроля были отобраны лесная почва в окрестностях города и почвы чистых городских территорий – Соборной Горы и Высоцкого монастыря.

Во всех образцах была проведена оценка численности микроорганизмов, растущих на почвенном агаре и на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде. На почвенном агаре, приготовленном из каждого отдельно взятого образца анализируемой почвы, учитывали численность олиготрофных микроорганизмов этой почвы. На глюкозо-пептонно-дрожжевой среде учитывали численность сапротрофных микроорганизмов, которыеиспользуютв качестве источника питания органическое вещество, поступающее в почвупри органическом загрязнении в результате заселения территории человеком. Рассчитывали индекс органического загрязнения почв – отношение численности сапротрофных микроорганизмов, растущих на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде, к численности олиготрофных микроорганизмов, растущих на почвенном агаре.Кроме того, проводилась микробиологическая индикация городских почв.Для этого на почвенный агар, приготовленный изверхних слоев городских почв, делали посев микроорганизмов изверхних горизонтовэталонной почвы заповедника Аркаим (Челябинская область), занесенной в Красную Книгу почв. Отдельно учитывались колонии бактерий и колонии актиномицетов. В качестве сравнения была проведена фитоиндикация городских почв: исследовалось их влияние на рост чувствительных к загрязнению растений – фасоли и гороха.

Почва Высоцкого монастыря, испытывающая с древних времен антропогенную нагрузку поселенческого типа, отличалась высокими показателями роста фасоли и гороха, а также высоким индексом органического загрязнения. Почва, отобраннаяс территории электромеханического завода, по микробиологическим показателям была близка к лесной почве и почве Соборной Горы. При диагностике почв, отобранных с территорий заводов ТВИНТОС и Металлист,были выявлены увеличение индекса органического загрязнения и сравнительно высокаядоля колоний актиномицетов в общей численности микробных колоний при посеве почвы заповедника на агар, приготовленный из анализируемых почв.Именно в этих почвах показатели ростачувствительных к загрязнению растений – фасоли и гороха – были значительно меньше, чем в контрольных образцах.

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВ СТЕПНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ВЫПАСА СКОТА

Лягузина Е.А.[1], Каширская Н.Н.[2]
[1]ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

katya.lyaguzina.98@mail.ru

Нерегулируемый выпас скота является наиболее агрессивным фактором в процессе деградации почв, который ускоряет процессы опустынивания сухостепных ландшафтов. В данной работе представлены результаты исследования биологической активности почв сухостепной зоны в зависимости от интенсивности пастбищной нагрузки. Район исследования приурочен к западному склону Ергенинской возвышенности. Климат территории умеренно-континентальный со среднегодовым количеством осадков 350 мм. Почвенный покров представлен каштановыми почвами в комплексе с солонцами. В растительном покрове преобладают полынно-злаковые ассоциации.

Для изучения ферментативной активности почв были выбраны три основные площадки, расположенные в различной удаленности от скотоводческой фермы. В контрольной каштановой почве, расположенной в зоне эпизодического выпаса скота, фосфатазная активность в верхнем слое 0-30 см снижалась от 241 до 70 мкг P_2O_5 / г почвы час, а уреазная активность - от 305 до 150 мкг P_2O_5 / г почвы час. В нижележащих слоях величины данных показателей уменьшались с глубиной в 2.5-5 раз (уреазная активность) и в 80-270 раз (фосфатазная активность). В свою очередь, в зоне умеренного выпаса фосфатазная активность верхнего горизонта почвы уменьшилась до 109 мкг P_2O_5 / г почвы час, то есть, более, чем в 2 раза по сравнению с зоной эпизодического выпаса. Уреазная активность наоборот увеличилась на 30%. В зоне умеренного выпаса скота были выявлены солонцы, как результат антропогенной деградации, здесь в верхнем горизонте 0-10 см фосфатазная и уреазная активность ниже на 30 и 15% соответственно, нежели в каштановой почве этой же зоны. В каштановой почве зоны интенсивного выпаса скота фосфатазная и уреазная активность выше на 44% и 50% соответственно, чем в зоне эпизодического выпаса. Фосфатазная активность верхнего горизонта солонца в зоне интенсивного выпаса увеличилась в 4 раза по сравнению с предыдущей зоной, а уреазная активность изменилась незначительно. Мы полагаем, что резкое увеличение ферментативной активности на участке с интенсивным выпасом скота связано с органическим загрязнением почвы, вследствие постоянного поступления навоза в верхние почвенные слои.

АНАЛИЗ СОСТАВА ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ МЕТОДОМ ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПЦР РВ

Нечаева А.И., Бояршин К.С., Клюева В.В., Батлуцкая И.В.
ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

nechayeva@list.ru

Функционирующие в почве микробные сообщества являются важным фактором её плодородия. Среди их функций выделяют: разложение сложных органических веществ, фиксацию атмосферного азота, перевод фосфатов в растворимую форму, выработку биоактивных веществ, подавление фитопатогенных организмов. Анализ структуры этих

сообществ важен для понимания перспектив сельскохозяйственного использования почв и подбора перечня мер, необходимых для повышения их плодородия.

Предметом данного исследования является таксономический состав бактериальной микрофлоры чернозёмного грунта долины р. Оскол в условиях интенсивного применения органических удобрений. Опытный образец чернозёма был отобран с глубины 5 см после оттаивания в марте. Суммарная ДНК микробного сообщества была выделена из образца почвы массой 150 мг при помощи набора diaGene фирмы «Диа-М». Для количественной детекции бактерий, относящихся к различным таксонам, мы использовали набор праймеров, включающий пары, специфичные к 6 типам и одному классу бактерий, а также в целом к домену Bacteria.

В исследовании была применена таксон-специфическая ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ). Данный метод характеризуется относительно невысокой стоимостью проведения анализа, простотой пробоподготовки, а также обработки и интерпретации результатов.

Для проведения ПЦР РВ использовали реактивы ЗАО «Синтол» (каталожный номер #M-427). Реакции велись с использованием рекомбинантной ДНК-полимеразы SynTaq с детекцией продукта по флуоресценции красителя SYBR Green I. Реакцию проводили в термоциклере для ПЦР РВ CFX96 Touch фирмы «Bio-Rad».

Согласно полученным данным, в изученном образце присутствовали в наибольших количествах представители типов *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. В меньшем количестве были представлены тип *Actinobacteria* и класс *Gammaproteobacteria*. Также присутствовали бактерии, относящиеся к типу *Verrucomicrobia*. Типы *Deferribacteres* и *Tenericutes*, пары праймеров, специфичные к ДНК которых также были использованы, детектированы не были.

Значительная доля бактерий, относящихся к типам *Bacteroidetes, Actinobacteria* и классу *Gammaproteobacteria* согласуется с данными, представленными в литературных источниках, посвящённых структуре почвенных микробных сообществ. При этом, необычно высокой выглядит доля представителей типа *Firmicutes*, наиболее распространённых среди микрофлоры ЖКТ сельхозживотных, что может быть связано с регулярным использованием органических удобрений.

СТРУКТУРА БИОМАССЫ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЧВ СЕВЕРА НОВОЙ ЗЕМЛИ

Никитин Д.А.[1,2], **Лысак Л.В.**[2], **Мергелов Н.С.**[3], **Долгих А.В.**[3], **Горячкин С.В.**[3]
[1]Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва
[2]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
[3]ФГБУН Институт географии РАН, Москва

dimnik90@mail.ru

Несмотря на относительно небольшую удаленность от цивилизации, природа архипелага Новая Земля до сих пор остается практически не исследованной из-за ограниченного доступа. Уже более 70 лет здесь не проводится изучение почвенного покрова, а более ранние работы носят не системный характер. Кроме того, актуальность исследования местных почв постоянно возрастает из-за обостренной реакции полярных экосистем на глобальные изменения климата. Поскольку наземные экосистемы Новой Земли характеризуется разомкнутостью и слабым развитием растительного покрова, роль биоты, наиболее активно участвующей в биогеохимических циклах и почвообразовании, берут на себя микроорганизмы. Отметим, что полярные экосистемы характеризуются относительно небольшим количеством компонентов, поэтому удобны для изучения

почвенного микробиома и позволят выявить наиболее простые экологические закономерности.

В почвах севера архипелага Новая Земля – пелоземах (Alisol Cutanic), криоземах (Oxyaquic Cryosols) и карбопетроземах (Leptic Skeletic Cryosol) – проведено исследование численности клеток и биомассы микроорганизмов, а также длины гиф мицелиальных форм прокариот и грибов. Количество прокариот изменяется от 4.3×10^6 клеток/г почвы в минеральных горизонтах пелоземов до 1.6×10^8 клеток/г почвы в поверхностных органогенных слоях петроземов. Длина мицелия актиномицетов и грибов относительно мала, составляя от единиц до десятков метров на грамм почвы соответственно. Минимальная биомасса грибов (0.022 мг/г почвы) выявлена в нижних горизонтах пелоземов, а максимальная (0.372 мг/г почвы) – в поверхностных слоях криоземах под камнеломками (Saxifraga) и крупками (Draba). Более половины биомассы (54-68%) грибов приходится на мицелий только в органогенных горизонтах, тогда как в остальных случаях преобладают споры и дрожжи, а доля гиф составляет от 4 до 45%. Около 65% мицелия микобиоты представлено тонкими формами до 3 мкм в диаметре, что, вероятно, является следствием воздействия сурового климата высокой Арктики. Для каждого горизонта численность грибных пропагул составляет от 10^4 до 10^5 шт/г почвы, причем до 75% спор диаметром 2 мкм.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00328.

ОСОБЕННОСТИ ПОЧВООБРАЗОВАНИЯ НА АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКАХ ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

Овчинников А.Ю.
ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

ovchinnikov_a@inbox.ru

На территории Нижнего Заволжья в Саратовской области исследована нео-энеолитическое археологическое поселение “Орошаемое”, возраст которого составляет примерно 5–7 тыс. лет до н.э. Изучены светло-каштановые карбонатные почвы (Eutric Cambisol (Loamic, Protocalcic, Ochric), в археологическом раскопе представленные антропогенно-преобразованным вариантом. Применялся комплекс методов, включающий: почвенно-археологический, палеопочвенный, морфологический, методы определения физических и химических показателей, метод магнитной восприимчивости, метод радиоуглеродного датирования, микробиоморфный метод.

В результате проведенного исследования получена и уточнена информация о смене периодов увлажненности и аридизации территории, об этапах почвообразования и осадконакопления, определена растительность в разные этапы голоцена. Получено, начиная с 7,5 тысяч лет назад и по настоящее время происходила периодическая смена аридных условий к гумидным и наоборот. В периоды аридизации происходило короткопериодичное осадконакопление, что было связано с высокой скоростью выветривания и переноса отложений. В периоды гумидизации шло интенсивное осадконакопление с процессами почвообразования. Показано, что последние 5 тысяч лет происходило нарастание и усиление процессов гумидизации климата. Проведены расчеты скорости осадконакопления и почвообразования в голоцене для исследуемой территории. Скорость формирования почвы варьировалась от 35 до 0.8 см/100 лет. Дополнена и реконструирована природно-климатическая обстановка исследуемой территории и разных частей Нижнего Поволжья. Уточнена существующая в литературе хронология

ландшафтно-климатических изменений в голоцене для южных аридных регионов Восточно-Европейской равнины.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 0191-2019-0046, экспедиционные и лабораторные исследования осуществляли при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-29-05178мк).

ЗАПАСЫ УГЛЕРОДА В ПОДЗОЛАХ НА СЕВЕРО-ВОСТОКЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ (РЕСПУБЛИКА КОМИ).

Осипов А.Ф.[1], Машков П.Ф.[2], Дымов А.А.[1,2]
[1]ФГБУН Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар
[2]Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар

a.f.osipoff@gmail.com

Почвенное органическое вещество (ПОВ) является крупнейшим наземным пулом углерода. Его запасы в лесных почвах бореального пояса могут рассматриваться как крупный, долговременный резервуар и поглотитель парниковых газов. Анализ литературных данных показал, что общие запасы ПОВ характеризуются значительной вариацией по оценкам разных авторов. Для того, чтобы снизить диапазон варьирования оценок ПОВ при перерасчете на крупные территории необходим комплексный подход к его оценке, т.е. соотнесение почвенных и растительных карт. Также особую значимость приобретает оценка средних значений запасов углерода, как для отдельных типов, так и групп типов почв для снижения неопределённостей при дальнейших расчетах. Цель работы оценить средние запасы ПОВ в различных горизонтах подзолов на северо-востоке европейской части России.

Подзолы на территории Республике Коми занимают 4213 тыс. га, что составляет 10% площади. Для расчета мы использовали результаты собственных исследований и описания почвенных разрезов, приведенные в литературе для региона. Из доступных источников нами обнаружено 29 описаний почвенных профилей подзолов. Однако, основными недостатками, препятствующими их дальнейшему использованию, являются отсутствие сведений по объемному весу и концентрации углерода/гумуса в отдельных горизонтах. Применив собственные данные по объемному весу горизонтов, мы рассчитали средние величины, которыми затем оперировали при оценках ПОВ подзолов. Всего для анализа было использовано 15 описаний из литературных источников и девять собственных. Основное внимание было уделено следующим слоям: лесная подстилка, слой 0−30 см, 0−50 см и 0−100 см включая лесную подстилку.

Запасы углерода в лесной подстилке варьируют от 0.2 до 2.5 кг/м^2, в среднем – 1.10±0.06 кг/м^2. Для глубины 0−30 см значения изменялись от 0.8 до 6.1 (в среднем 2.16±0.07) кг/м^2. В верхних 50 см почвенного профиля содержится 1.2–8.6 (в среднем 2.78±0.08) кг/м^2. Запасы ПОВ в одном метре колеблются в пределах 1.6–11.0 (в среднем 3.60±0.10) кг/м^2, из которых 30 % приходится на лесную подстилку. Следует отметить, что меньшие величины отмечаются в почвах сосняков лишайниковых, большие – почвах лесов зеленомошной группы типов на севере региона. Полученные сведения можно применять для расчета пула углерода крупных территорий, используя почвенные карты. Однако, для снижения погрешностей оценок, возможно их сочетание с картами растительности, что подтверждают наши данные, фиксирующие большой разброс значений ПОВ в зависимости от типа леса, под которым формируется почва.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 19-29-05111-мк.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПИРОКСЕНОВОГО ОБОГАЩЕНИЯ ОТХОДОВ ДОБЫЧИ ФЛОГОПИТА ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ТЕХНОГЕННОЙ ПУСТОШИ В СУБАРКТИКЕ

Петрова А.Г.[1], Слуковская М.В.[2,3], Марковская Е.Ф.[1], Корнейкова М.В.[4], Кременецкая И.П.[3]

[1]Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск

[2]Лаборатория природоподобных технологий и техносферной безопасности Арктики КНЦ РАН, Апатиты

[3]Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева КНЦ РАН, Апатиты

[4]Институт проблем промышленной экологии Севера КНЦ РАН, Апатиты

petrova_anna93@mail.ru

Добыча и переработка многих полезных ископаемых неизбежно связана с образованием и складированием отходов производств, а также зачастую приводит к загрязнению ландшафтов вследствие атмосферных выбросов предприятий. Особенно острой эта проблема является для Субарктики и Арктики в связи с высокой уязвимостью экосистем высоких широт. Современным подходом к решению таких проблем является утилизация горнопромышленных отходов в качестве материалов природоохранного значения.

Проведен камеральный и полевой эксперименты по изучению влияния внесения материалов с преобладанием пироксена, полученных из отходов добычи флогопита, на продуктивность злаковых растений (*Festuca rubra* L., *Lolium perenne* L.) и химические свойства высоко загрязненной торфяной почвы импактной зоны медно-никелевого комбината (Мурманская обл., г. Мончегорск).

В 21-дневном камеральном эксперименте была измерена продуктивность, фотосинтетическая активность и ФС пигменты в растениях при различных объемных соотношениях между органической (загрязненный торф) и минеральной частями почвосмесей. Наилучшие результаты по изученным показателям были получены в вариантах с добавлением 25-62% пироксена.

В полевом эксперименте была изучена продуктивность растений, а также численность микроорганизмов. Результаты первого вегетационного сезона показали, что в варианте с соотношением пироксена и торфяной почвы 1:1, растительный покров имел наибольшую продуктивность, а микробное сообщество – максимальную численность бактерий и микромицетов.

Таким образом, проведение работ по ремедиации наиболее токсичной торфяной почвы техногенной пустоши путем перемешивания минеральных материалов в пропорции 1:1 с последующим формированием растительного покрова из злаковых растений является реалистичным, экономически рентабельным и эффективным способом восстановления растительности на территориях с загрязненным и деградировавшим почвенным покровом.

Исследование проведено в рамках темы НИР 0186-2019-0011, полевые работы выполнены в рамках гранта РНФ 19-77-00077.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВОГРУНТОВ КРЕМИРОВАННЫХ ЗАХОРОНЕНИЙ В ЗОНЕ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ

Петросян А.А.[1], Плеханова Л.Н.[2]
[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

Alisa_mayakovskaya@bk.ru, dianthus1@rambler.ru

Объектом исследования послужили кремации могильника у с. Кременье, суммарно около 50 образцов включая фоновую почву на курганной насыпи одного с кремациями возраста. Определялись pH почв, гумус, железо по Тамму, подвижный фосфор по Кирсанову, магнитная восприимчивость прибором КТ-5 по общепринятым методикам (Аринушкина, 1970), и фосфор по Сендерсу и Вильямсу (1955).

В исследованных нами образцах кремированных захоронений показатели pH водной вытяжки все лежат в слабокислой и нейтральной области, варьируя от 5,7 до 6,95, что характерно для почв с лесным типом почвообразования. Пределы варьирования гумуса в исследованном массиве лежат от 0,26 до 1,13%, при фоновых значениях на глубине залегания кремаций (от 20 до 40 см) по гумусу составляют 0,2-0,3%. Максимальное значение содержания гумуса зафиксировано в погребении 8 (тело кремации-1,3%), что в 6 раз превышает фоновые показатели для этой глубины.

При распределении железа были выявлены пределы варьирования от 0,01% до 0,11%, что в 3-4 раза превышает фоновые (0,03%). При сравнениях с минимальным значением в 0,01%, наибольшее значение наблюдается в погребении 50 (тело) - 0,11%, что в 10 раз выше минимального и в 3-4 раза выше фонового. Данные кремированных образцов по магнитной восприимчивости варьируют от 0,02 до 0,13 $с \cdot 10^{-5}$ ед СИ на фоне значений 0,1-0,2 $с \cdot 10^{-5}$ ед СИ. В образцах наблюдается два пика в погребении 10 (контакт) и погребении 50 (тело, 0,13).

При изучении фосфора по Кирсанову данные варьируют от 1 до 83 мг/100 г почвы, что в основном выше фоновых значений в пределах 1-5 мг/100 г почвы. При сравнении кремаций с фоном можно сделать вывод, что почти все образцы выше фоновых значений в 10-20. Наибольшее значение наблюдается в погребении 50 (тело).

При определении фосфора по методу Сендерса и Вильямса в минеральном фосфоре пределы от 0,1 до 3,1 мг/100 г почвы, а в органическом фосфоре от 0 до 0,2 мг/100 г почвы, сравнивая с фоновыми показателями в пределах 0-0,12 мг/100 г почвы мы наблюдаем повышение показателей в 10-20 раз.

За 800 лет прошедших после погребения изученных нами кремированных захоронений в одном образце из тела кремации погребения 50 достоверно увеличено содержание железа в 3-4 раза, фосфора по Кирсанову 10-20 раз, магнитная восприимчивость в 5-6 раз. Также выявлен один случай увеличения магнитной восприимчивости в 5 раз в погребении 10 на контакте кремации и фоновой почвы, который может быть объяснен только древним пирогенным воздействием.

ОЦЕНКА КОЭФФИЦИЕНТОВ ДИФФУЗИИ 90SR НА ТЕРРИТОРИИ, ПРИЛЕГАЮЩЕЙ К БЫВШЕМУ ХРАНИЛИЩУ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

Подлуцкий М.С.[1,2], Удалова А.А.[2]

[1]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск

[2]Обнинский институт атомной энергетики НИЯУ МИФИ, Обнинск

mikhail,podlutskii@gmail.com

В результате аварии, произошедшей на севере Калужской области в 1998 г. и вызванной разгерметизацией емкости хранения радиоактивных отходов, в окружающую среду поступили радиоактивные материалы. Несмотря на то, что аварийная ситуация была ликвидирована, а хранилище было выведено из эксплуатации, в грунтовых породах на прилегающей территории сформировался объемный источник радиоактивного загрязнения. С течением времени происходит миграция радионуклидов в прилегающие геосистемы, преимущественно с грунтовыми водами. Ранее уже отмечалось, что основным значимым радионуклидом на данной территории является ^{90}Sr.

В качестве миграционной модели использовалась квазидиффузионная модель, учитывающая концентрацию радионуклидов в почве; время, прошедшее с момента аварии; радиоактивный распад радионуклида, а также плотность радиоактивных выпадений.

В качестве параметра миграционной способности ^{90}Sr при разовом попадании был выбран коэффициент диффузии, способный описать количество радиоактивного вещества, прошедшего через почвенный слой за время, прошедшее от момента аварии до отбора проб почвы в 2017 г. Коэффициент подбирался с помощью обобщенного метода минимизации функционала.

Почвенный профиль рассматривался как совокупность нескольких слоев для того, чтобы учесть неоднородность по глубине. В пределах выбранных слоев свойства почв считались одинаковыми. На границах между элементарными слоями принимали утверждение об отсутствии поглощения или выделения радионуклида, то есть его выходящее количество равно количеству, поступающему в следующий элементарный слой.

Изучение закономерностей миграции ^{90}Sr на изучаемой территории показало, что значения коэффициента диффузии по глубинному распределению лежат в диапазоне $(0{,}22\text{-}6{,}87)*10^{-3}$ м^2/с. Учитывая то, что ^{90}Sr на изучаемой территории находится в осажденной форме в верхних слоях почвы (0-30 см) и образует неконтролируемый радиоактивный источник, рассматриваемый коэффициент вертикальной диффузии лежит в диапазоне $(4{,}27\text{-}4{,}50)*10^{-4}$ м^2/с. В будущем планируется также рассмотреть конвективно-диффузионную модель миграции радионуклидов. В данной модели дополнительным определяемым параметром, кроме коэффициента диффузии, является коэффициент конвективного переноса. С учетом полученных данных, планируется сравнить рассчитанные показатели для конвективно-диффузионнаой и квазидиффузионной моделей и выбрать наиболее способную к описанию процессов вертикальной миграции для дальнейшего использования в моделировании миграционных процессов.

ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПАХОТНЫХ И ЗАЛЕЖНЫХ ПОЧВ ЛЕВОБЕРЕЖЬЯ ДОНА

Распопова К.А.[1], Каширская Н.Н.[2]
[1] МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка;
[2] ФИЦ ПНЦБИ РАН,г. Пущино

kseniaraspopova2005@icloud.com nkashirskaya81@gmail.com

Ферменты в почве катализируют многообразные биохимические реакции и решают множество задач. Они участвуют в разложении растительных, животных и микробных остатков, осуществляют синтез гумуса, обеспечивают минеральное питание растений, обезвреживают ядовитые вещества, попадающие в почву.Фосфатазная активность почвы является одним из важнейших показателей почвенного плодородия, она регулирует содержание доступного минерального фосфора в почве исвязана с обилием почвенных микроорганизмов. Целью нашей работы было сравнить плодородие пахотных и залежных песчаных почв села Русская Буйловка по фосфатазной активности и содержанию органического вещества.

Село Русская Буйловка располагается на юге Воронежской области, в Павловском районе, на высокой надпойменной террасе левобережья Дона. Объектами исследования были пахотные почвы сельских огородов и залежные огородные почвы, заброшенные 10 лет назад. Образцы отбирались из верхнего слоя 0-10 см, после осенней вспашки. Для определения содержания органического вещества оценивались потери веса почвыпри прокаливании; температура прокаливания составляла 900˚С. Фосфатазную активность с помощью модифицированного метода Галстяна – Арутюнян, адаптированного к школьным условиям, оценивали в баллах. За 1 балл принимали 10 мкг фенолфталеина, образованные из фенолфталеинфосфата натрия в течение определенного времени в присутствии 1 грамма почвы.Время определения фосфатазной активности составляло 1 час – для оценки скорости работы почвенных ферментов и 1 сутки – для приблизительной оценки активности микроорганизмов, ответственных за поступление фосфатазы в почву.

Содержание органического вещества варьировало в пахотных почвах от 3.7 до 6.7%, а в залежных почвах составляло 5.3 – 5.9%. Фосфатазная активность, выявленная в течение 1 часа, варьировала в пахотных почвах от 2.4 до 9.2 балла; в течение 1 суток – от 6 до 15 баллов. В залежных почвах значения фосфатазной активности,выявленные как в течение 1 часа, так и в течение 1 суток, были в 2 – 10 раз выше, чем в удобряемых пахотных почвах. По-видимому, в залежных почвах микроорганизмы активно вырабатывают фосфатазу, испытывая недостаток фосфатов, тогда как в удобряемых пахотных почвах, с избытком доступного минерального фосфора, такой необходимости нет.Однако наиболее низкие значения фосфатазной активности были отмечены в почве приусадебного участка, где минеральные удобрения не вносились. Здесь же было отмечено наименьшее содержания органического вещества. В почве с максимально высокой нормой внесения минеральных удобрений содержание органического вещества и значение фосфатазной активности, выявленное в течение 1 суток, не превышали среднего уровня. При этом фосфатазная активность, определяемая в течение 1 часа, здесь былазначительно выше, чем в почвах с умеренным внесением минеральных удобрений. Таким образом, по соотношению показателей фосфатазной активности, полученных в течение 1 часа и 1 суток, почва с избытком минеральных удобрений значительно отличалась от почв, где их внесение было умеренным.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВ ВДОЛЬ ВЫСОТНОГО ГРАДИЕНТА (СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ КАВКАЗ)

Селезнёва А.Е[1,2,3], Иващенко К.В.[2,3], Сушко С.В.[2,3], Журавлева А.И.[2], Овсепян Л.А.[2]
[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино
[3]ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва

alexandra_seleznyova@mail.ru

Почвенные микроорганизмы играют ключевую роль в функционировании экосистем: круговорот биофильных элементов, минерализация органического вещества почвы, образование парниковых газов. В настоящее время недостаточно сведений о функционировании микробиома почвы в условиях высотной поясности, в отличие от выявленных закономерностей распределения ее основных химических свойств. Поэтому основная цель исследования – оценить изменения интенсивности биохимических процессов и дыхательной активности разных функциональных групп микроорганизмов почвы вдоль высотного градиента.

Изучены почвы смешанного, хвойного, лиственного лесов, субальпийского и альпийского лугов северо-восточного склона горы «Ткачиха», расположенные на высотах 1270, 1960, 2080, 2230 и 2480 м н.у.м. соответственно. В каждой экосистеме случайным образом выбрано 12 точек исследования (0.25 м^2), в которых были отобраны образцы почвы (0-10 см). В почвенных образцах определяли pH, общий C и N. Интенсивность биохимических процессов почвы оценивали через активность ферментов, участвующих в циклах C, N и P (β-глюкозидаза, хитиназа, лейцинаминопептидаза и фосфатаза). Анализ физиологического профиля микробиома позволил определить активность микроорганизмов, специализирующихся на потреблении различных органических субстратов (углеводы, амино-, карбоновые и фенольне кислоты).

Содержание общего C и N увеличивалось с высотой в среднем в 3 и 4 раза. В почве смешанного леса и альпийского луга величина pH была наименьшей, для остальных изученных экосистем она значимо не различалась. Показано, что активность хитиназы, фосфатазы, β-глюкозидазы увеличивалась с высотой от 1960 до 2230 м. Активность лейцинаминопептидазы увеличивалась вдоль градиента высот лесного пояса – от смешанного до лиственного леса, и отдельно для лугового – от субальпийского до альпийского луга. Во всех изученных экосистемах выявлено преобладание группы микроорганизмов, окисляющих углеводы. Причем, отмечено ускорение их дыхательной активности в условиях высотной поясности в среднем в 2 раза. Также вдоль высотного градиента лесных экосистем выявлено увеличение активности микроорганизмов, потребляющих аминокислоты.

При незначительном изменении высоты отмечена существенная интенсификация процессов гидролиза хитоолигосахаридов, β-глюканов и фосфоэфиров. Возможно, в условиях высотной поясности ускорение этих почвенных процессов обусловлено температурным режимом. Интенсивность гидролиза лейцина и окисления аминокислот микроорганизмами почвы определялась в основном типом растительности.

Исследование выполнено в рамках проекта РФФИ № 20-34-70121.

ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА КУРИЛОВКА

Слюсарева Н.В.[1], Плеханова Л.Н.[2]
[1]ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

natslyusareva@rambler.ru, dianthus1@rambler.ru

Археологический памятник Куриловка представляет собой многослойный объект, с наложенными друг на друга профилями почв, образованными в результате многократного использования территории для строительства поселений. Располагаясь на территории Суджанского района Курской области, памятник занимает низкую надпойменную террасу реки Псёл. Наиболее ранние слои памятника относятся к раннеславянскому времени IV-VI вв. н.э., более поздние слои датируются VIII – XI вв. н.э.

Фоновые почвы в окрестностях поселения Куриловка представляют собой результат наложения почвенных профилей черноземного этапа почвообразования на почвенные профили лесного этапа. О более древнем лесном этапе почвообразования свидетельствует специфичный набор горизонтов в нижней части современного профиля. Здесь наблюдаются мощные гумусово-глинистые кутаны, сформированные в почвенных порах и ходах тонких корней. Эти кутаны, свидетельствуют о потечном гумусе – характерном признаке лесного почвообразования. В верхней части профиля фиксируется второй, черноземный этап почвообразования, соответствующий современным климатическим условиям степи-лесостепи. В большинстве случаев почвы имеют мощный горизонт дернины, что свидетельствует об отсутствии современных нарушений антропогенного характера. Объясняется это удаленностью территории памятника от городов и расположенностью на границе с Украиной в режиме приграничной территории. На разрезах культурных слоев поселения в сравнении с типичным разрезом фоновой почвы были определены: содержание органического углерода по Тюрину; карбонаты, гипс, фосфаты подвижные по Мачигину; содержание общего, минерального и органического фосфора по Сэндерсу – Вильямсу. Особенностью данной работы является определение ферментативной активности на примере фосфатазной активности методом Галстяна - Арутюнян (Хазиев, 2005). В фоновой почве величины фосфатазной активности снижались по профилю от 60 до 0,4 мкг P_2O_5 / г почвы час. Максимальная величина фосфатазной активности была обнаружена в верхней части профиля на участке, расположенном над хозяйственной ямой. Здесь значение данного показателя достигало 130 мкг P_2O_5 / г почвы час. В целом, активность фосфатазы во всех исследованных разрезах соответствовала современным условиям почвообразования.

РОЛЬ ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ В ДЕСТРУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОПАДА ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ КОЛЬСКОГО СЕВЕРА

Сошина А.С., Корнейкова М.В., Зенкова И.В.
ФГБУН ФИЦ КНЦ РАН, Институт проблем промышленной экологии Севера, Апатиты

anastasiya.soshina97@yandex.ru

В деструкции растительных остатков активно участвуют микроскопические грибы и беспозвоночные животные. Исследование их взаимодействий представляет интерес для понимания функциональной структуры трофических сетей в почве. Цель исследования – изучение динамики количественных и качественных показателей грибных сообществ при

деструкции растительного опада в лесных экосистемах и оценка их вклада в зоомикробные связи.

Полевой опыт с листьями березы, помещенными в сетчатые мешки размером 20х15 см, был заложен в сосняке кустарничково-разнотравном вблизи г. Апатиты в июне 2017 г. Варианты опыта: мешки с размером ячеек 2 мм – контроль (беспозвоночные разных размерных групп); 0,1-0,2 мм (микрофауна без крупных хищников-многоножек); 0,1-0,2 мм (микрофауна с подселением многоножек); 50 мкм (микробиологическая деструкция, фауна отсутствует). Выемку сетчатых мешков и микологический анализ проводили через 3 и 15 месяцев. Численность и видовое разнообразие микромицетов определяли методом глубинного посева на среду сусло-агар с добавлением молочной кислоты для подавления роста бактерий.

В варианте с микробиологической деструкцией спустя 15 месяцев численность микромицетов достоверно ($F = 13,06$, F критическое $= 4,41$ при Р-значении $= 0,002$) увеличилась в 9 раз по сравнению с первым сроком отбора, а, следовательно, возросла активность микроорганизмов–деструкторов. Это в свою очередь привело к увеличению скорости деструкции опада. Однако потери массы опада максимальны в контроле, что свидетельствует о наибольшей эффективности деструкционного процесса на фоне не очень высокой численности микромицетов.

В ходе эксперимента произошла смена структуры доминирования сообщества микромицетов. В контроле и варианте с микробиологической деструкцией структура сообщества наиболее выровненная. В вариантах с микрофауной после 3 месяцев деструкции произошла смена структуры сообщества на полидоминантную, а спустя 15 месяцев отмечалось супердоминирование двух видов р. *Trichoderma*. В варианте с многоножками эта тенденция проявлялась наиболее ярко. Возможно, микробофаги выедают грибы, подавляющие развитие микромицетов р. *Trichoderma*, тем самым контролируя конкурентные взаимоотношения между грибами разных родов.

Таким образом, выявлены основные различия в численности и структуре сообщества почвенных микромицетов на разных стадиях разложения растительного опада. В целом, в условиях северо-таежной зоны двухлетний период для деструкции является недостаточным.

ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ НА СВОЙСТВА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ГЛЕЕВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ АРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА

Узорина М.И[1,2], Михедова Е.Е.[3], Васильева Г.К.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино

[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

[3]Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина, Москва

uzorina.maria@mail.ru

В регионах Крайнего Севера добывается значительное количество углеводородов, соответственно проблема нефтезагрязненных земель стоит крайне остро.

Как показали, более ранние исследования: внесение в почву натуральных сорбентов положительно влияет на процесс биоремедиации среднесуглинистой серой лесной почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами за счет снижения токсичности и гидрофобности почв, загрязненных нефтью. При этом наибольший эффект оказывало внесение смешанного сорбента на основе гранулированного активированного угля и диатомита. В задачу данного исследования входило изучение возможности разработки сорбционно-

биологического метода очистки нефтезагрязненных глеево-подзолистых почв, широко распространенных в арктическом регионе РФ.

На данном этапе были заложены модельные эксперименты с глеево-подзолистой почвой, отобранной из незагрязненного участка под лесом вблизи Уренгойского нефтегазоконденсатного месторождения. Почва песчаная, $C_{орг}$ 1,2%, pH 6,3, емкость катионного обмена 6,9 ммоль-экв/100 г, содержание биофильных элементов 8,8 мг P_2O_5/100 г и 15,8 мг K_2O/100 г. Почва была поверхностно загрязнена сырой нефтью из того же месторождения и оставлена на 2 дня для выветривания легкой фракции (около 30%). Исходная суммарная концентрация углеводородов в почве составила 40 г/кг. В почву вносили биопрепарат «Микробак», полученный в ИБФМ РАН, в дозе 10^7 КОЕ/г., азофоску для обеспечения соотношения C:N:P:K=100:1:0,5:0,7 и доломитовую муку (100 мг/кг) для оптимизации pH почвы. Через 3 месяца удобрение и известь вносили повторно. Кроме того, в почву вносили сорбенты 3 классов: минеральные (цеолит, диатомит, вермикулит, каолинит), органические (торф, спилсорб и растительные остатки) и углеродистые (гранулированный активированный уголь (ГАУ) и биококс (биочар на основе осадка сточных вод) в различных дозах: от 0,2 до 5% по весу. В ходе эксперимента определяли суммарное содержание углеводородов методом ИК-спектрометрии, pH, фитотоксичность по всхожести клевера белого и длине корней проростков пшеницы, а также численность бактерий-нефтедеструкторов методом высева на агаризованную среду с парами дизельного топлива в качестве источника углерода.

Показано, что практически все сорбенты, внесенные в оптимальные дозах, положительно влияют на скорость биоремедиации почвы, однако в данном случае наибольшее положительное влияние оказывают торф, СпилСорб и растительные остатки, которые наилучшим образом снижают плотность почвы и повышают ее влагоемкость, что обеспечивает оптимальные условия для жизнедеятельности нефтедеструкторов.

МИКРОБНЫЕ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВ В ЛЕСОПАРКАХ ГОРОДОВ РАЗНЫХ БИОМОВ

Хатит Р.Ю.[1], Сушко С.В.[2], Селезнева А.Е.[3]
[1]ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино
[3]Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино

dr.rkhatit@yandex.ru

Лесопарки создают облик природного каркаса города, улучшают качество окружающей среды, выполняют экологические функции, однако, в отличие от естественных лесов, функционируют в условиях повышенного антропогенного воздействия. Работа нацелена на изучение функционирования микробного сообщества почв городских лесопарков, расположенных в разных биоклиматических условиях.

Объектом исследования служили городские парки (четыре в каждом городе) Санкт-Петербурга (С-П), Москвы (МС), Воронежа (ВР) и Краснодара (КР), расположенные в растительных подзонах: южная тайга, подтайга и лесостепь. В каждом парке выбирали ровную площадку (10×10м), на которой отбирали образцы почвы из верхнего 10-ти см слоя (апрель 2019 г.), затем их смешивали. В каждом парке была диагностирована доминирующая растительность и почва (прикопка, 40 см). В образцах определяли pH_{H2O}, содержание общего углерода (С) и азота (N), подвижные формы фосфора (Р) и калия (К) и скорость базального дыхания (БД). Рассчитывали отношения C/N, $C_{мик}$/C и БД/$C_{мик}$,

первые два из которых характеризуют качество органического вещества почвы, третье - удельное дыхание микробной биомассы (qCO_2) или затраты на ее поддержание.

Выявлено, что содержание С составило в среднем 2.0-4.0%, N – 0.1-0.3%, P и K – 87-175 и 72-285 мг $кг^{-1}$, pH 4.9-7.7 в С-П, МС, ВР и КР соответственно, причем наибольшие значения N, K и pH отмечены в КР. Отношения C/N и $C_{мик}$/C в почве изученных лесопарков составили 10.6-16.6 и 0.87-3.39%. Величина $C_{мик}$ достигала в среднем 762, 752, 350 и 1108 мкг С $г^{-1}$, а БД –1.02, 0.58, 0.63 и 0.87 мкг CO_2-С $г^{-1}$ $ч^{-1}$в С-П, МС, ВР и КР соответственно. Оказалось, что величины БД разных городов не различались значимо, а $C_{мик}$ – значимо высокой в КР. Кроме того, в почве лесопарков ВР, в трех из которых доминировала Pinus sylvestris, показатели C/N и qCO_2 были в среднем наибольшие, а $C_{мик}$ – меньшее по сравнению с таковыми других городов, что может свидетельствовать о низком качестве ее органического вещества и высоких энергетических «затратах» микробиома. Почва лесопарков в КР характеризовалась, напротив, низкими C/N и qCO_2, но высоким $C_{мик}$/C. К тому же, почва лесопарков КР (степная зона) характеризовалась высокими показателями $C_{мик}$, качества органического вещества и элементов питания. Показано, что изменение изученных свойств почв вдоль географического градиента совпадают с таковым для естественных экосистем.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ №20-04-00148.

СЛЕДЫ ДРЕВНЕГО АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В ПОЧВО-ГРУНТАХ ПОСЕЛЕНИЯ ЭПОХИ БРОНЗЫ В ТАЕЖНО-ЛЕСНОЙ ЗОНЕ

Хундерякова С.А.[1], Плеханова Л.Н.[2]
[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино
[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, ИФХиБПП РАН, Пущино

skhunderyakova@gmail.com

Установление закономерностей эволюции почв и выявление следов деятельности древнего человека относятся к основным задачам археологического почвоведения в последней четверти XX столетия. Для их решения используются как подкурганные почвы, так и почвы поселений. Их преимущество состоит в том, что помимо датируемых артефактов они имеют выраженную стратификацию почвенной толщи, где главную роль играют культурные слои, позволяющие установить характер антропогенного влияния на почву и особенности дальнейшего естественного ее развития, определяемые интенсивностью антропогенного следа.

Изучалось поселение эпохи бронзы на территории, занятой смешанными редкостойными лесами северотаежных ландшафтов. По административному районированию поселение расположено в пределах Ямало-Ненецкого автономного округа, где на песчаных и супесчаных отложениях под редкостойными хвойными и смешанными лесами с кустарничковым подлеском формируется подзол иллювиально-железистый. Химические анализы образцов почв и почво-грунтов проводились по общепринятым методикам: гумус по Тюрину, фосфаты по Кирсанову, железо полуторных окислов по Тамму, pH, влажность, магнитная восприимчивость.

Установлено, что культурный слой формируется как результат преобразования почвы производственной деятельностью человека, в сочетании с естественными процессами почвообразования. В процессе деятельности человека культурный слой обогащается органическим веществом и фосфором, что происходит за счет многочисленных неоднородных включений, где содержание гумуса и фосфора заметно выше, чем в окружающих почвах. Фосфор, поступивший в слой в составе органического

вещества, минерализуется и закрепляется в виде фосфатов кальция, которые сохраняются в течение длительных хроноинтервалов и формируют зоны накопления. Применение фосфатного метода используется для установления мест древних поселений, для уточнения их внутренней инфраструктуры. Увеличение содержания фосфора в 2-3 раза по сравнению с фоном отмечается в слоях памятников таежно-лесной зоны Западной Сибири, наши исследования укладываются в эти пределы, за исключением отдельных образцов.

В разновозрастных культурных слоях отражена динамичная взаимосвязь общественных и природных процессов, что дает возможность проследить эволюцию преобразованных человеком почв в условиях меняющегося климата и оценить их регенеративную способность по времени восстановления прежних свойств и функций.

ВЛИЯНИЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА НА ФОРМИРОВАНИЕ ГРИБНОЙ МИКРОБИОТЫ КОРНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

Цыганова Н.Ф., Акосах Й.А., Гритчина Т.Е., Марданова А.М.
ФГАОУ Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань

akosah2005@gmail.com

Распространение фузариозного увядания растений картофеля и сухой гнили клубней при хранении является актуальной проблемой для Республики Татарстан. Целью исследования является характеристика формирования и изменения грибной микробиоты корней картофеля на разных стадиях вегетации. Картофель сорта Жуковский ранний выращивали на серых лесных почвах и отбирали образцы почвы (ПВ), ризосферы (РС) и ризопланы (РП) в различные вегетационные периоды (начало июля и середина сентября). Тотальную ДНК выделяли с помощью коммерческого набора FastDNA® SPIN Kit for Soil по протоколу производителя и проводили высокопроизводительное секвенирование (Illumina Hi-seq) ампликонов консервативных ITS участков 5.8S генов рРНК. Сравнительный анализ микробиоты корней картофеля летних и осенних образцов показал, что грибное сообщество ПВ, РС и РП представлено преимущественно (99%) 5-ю филумами: *Ascomycota* (88.4%), *Basidiomycota* (5.4%), *Zygomycota* (3.6%), *Chytridiomycota* (0.4%) и *Glomeromycota* (0.1%). Согласно анализу сходства по метрикам Брея-Кертиса и UniFrac структура микробиоты четко кластеризуется на микробиомы ПВ и РП, а микробиомы РС занимают промежуточное положение между ними. Оценка альфа-разнообразия по индексам Шеннона и Chao1 свидетельствует о том, что в разнообразие видов выше в РС, чем в ПВ и РП. Во всех трех компартментах доминировали представители класса *Sordariomycetes* (~58.7%). На уровне родов, представители *Fusarium* spp. являлись доминирующими. Однако их представленность значительно варьировала в зависимости от вегетационного периода. Летом их доля в среднем составила от 12.05-12.94% (ПВ и РС) до 31.05% (РП). Осенью доля фузарий во всех компартментах снижалась до 7.99–8.83%. Выявлены значительная разница в структуре грибных сообществ в различных компартментах, а также сезонные изменения. Установлено, что летние условия благоприятствуют повышению доли *Fusarium* в прикорневой зоне картофеля, что в свою очередь, может обусловить возникновение фузариоза в растении картофеля. Исследования показали, что формирование сообщества Fusarium в РП в таком огромном количестве может быть связано с их важной ролью в круговороте веществ и взаимодействии с наземными растениями (т.е. влияние на рост и развитие растения–хозяина). В связи с этим, при борьбе с фузариозом, необходимо применять меры,

направленные на сохранение полезных видов, включая био-контрольные методы, севооборотные подходы и ряд других экологических безопасных методов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ [проект №. 19-316-90028].

СТОК УГЛЕРОДА И ЭМИССИЯ CO2 ИЗ РАЗНЫХ ПОЧВЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ В УСЛОВИЯХ МОСКОВСКОГО МЕГАПОЛИСА

Чупятов Е.А.[1], Кириленко В.К.[2], Гавричкова О.[3], Ярославцев А.М.[1], Васенёв В.И.[2]
[1]ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва
[2]ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва
[3]Институт наземных экосистем, Порано, Италия

Zhenya3096@yandex.ru

Интенсивное развитие зеленой инфраструктуры мегаполиса предполагает совершенствование подходов к созданию почвенных конструкций. Свойства их компонентов должны не только соответствовать санитарно-эпидемиологическим нормативам, но и обеспечивать выполнение экологических функций в урбоэкосистемах (продуктивность, газообмен и т.д). Поэтому цель нашего исследования – сравнительная оценка эмиссии CO2 и продуктивности разных по составу почвенных конструкций. Изучены шесть вариантов почвенных конструкций, различающихся по составу верхнего 10-см слоя. Верхний слой конструктоземов (К) представлен следующими смесями: торф и агро-дерново-подзолистая почва (К1, соотношение 25/75%); торф, компост, верхний слой городской почвы (К2, 20/20/60%); торф, суглинок и супесь (К3, 33/33/34); верховой торф, песок, верхний слой городской почвы (К4, 20/10/70%); низинный торф, осадок станции водоподготовки, песок и верхний слой городской почвы (К5, 40/40/10/10%). Конструкция 6 была создана с применением технологии: 2-см слой песка, покрывающий 8-см слой торфа. Конструкции были созданы в октябре 2018 года на территории ТСХА им. Тимирязева в Москве и засеяны газоном *Lolium perenne* в апреле 2019. Измерение эмиссии CO2 из почвенных конструкций, температуру и влажность их верхнего 10-см слоя и измерение прироста растительной биомассы (продуктивность) проводили в течение вегетационного периода (Июль-Сентябрь, 2019).

Эмиссия CO2 из почвенных конструкций за наблюдаемый период составила от 0.21 до 2.33 г·м-2·ч-1 и определялась в основном их температурой (R2=0.3-0.4). Наибольшая эмиссия CO2 усредненная за вегетационный период отмечена для К5 и К1 (0.98 и 0.94 г·м-2·ч-1), а наименьшая – для варианта К2 (0.53 г·м-2·ч-1). Различия усредненной эмиссии CO2 между конструкциями связаны в большей степени с химическими свойствами их составляющих смесей (содержание C и N, R2=0.3-0.4), а также с их влагоудерживающей способностью. Вариант К1 характеризовался наибольшей продуктивностью, для которого надземная биомасса в среднем составила 122 г м-2 за наблюдаемый период. Продуктивность других почвенных конструкций составила от в среднем от 29 г м-2 (К2) до 83 г м-2 (К6). Продуктивность почвенных конструкций зависела от содержания азота их составляющих смесей (R2=0.7).

Учитывая продуктивность и эмиссионную активность CO2, конструкции К1, К3 и К6, оказались наиболее оптимальными для функционирования в условиях мегаполиса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ №17-77-20046.

ONE-POT BIOCATALYTIC TRANSFORMATION OF ADIPIC ACID TO 6-AMINOCAPROIC ACID AND 1,6-HEXAMETHYLENEDIAMINE USING CARBOXYLIC ACID REDUCTASES AND TRANSAMINASES

Fedorchuk T.P.

ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение, Пущино, Россия
University of Toronto, Canada

fedor4uk.t@gmail.com

Production of platform chemicals from renewable feedstocks is becoming increasingly important due to concerns on environmental contamination, climate change, and depletion of fossil fuels. Adipic acid (AA), 6-aminocaproic acid (6-ACA) and 1,6-hexamethylenediamine (HMD) are key precursors for nylon synthesis, which are currently produced primarily from petroleum-based feedstocks. In recent years, the biosynthesis of adipic acid from renewable feedstocks has been demonstrated using both bacterial and yeast cells. Here we report the biocatalytic conversion/transformation of AA to 6-ACA and HMD by carboxylic acid reductases (CARs) and transaminases (TAs), which involves two rounds (cascades) of reduction/amination reactions (AA → 6-ACA → HMD). Using purified wild type CARs and TAs supplemented with cofactor regenerating systems for ATP, NADPH, and amine donor, we established a one-pot enzyme cascade catalyzing up to 95% conversion of AA to 6-ACA. To increase the cascade activity for the transformation of 6-ACA to HMD, we determined the crystal structure of the CAR substrate-binding domain in complex with AMP and succinate and engineered three mutant CARs with enhanced activity against 6-ACA. In combination with TAs, the CAR L342E protein showed 50-75% conversion of 6-ACA to HMD. For the transformation of AA to HMD (via 6-ACA), the wild type CAR was combined with the L342E variant and two different TAs resulting in up to 30% conversion to HMD and 70% to 6-ACA. Our results highlight the suitability of CARs and TAs for several rounds of reduction/amination reactions in one-pot cascade systems and their potential for the bio-based synthesis of terminal amines.

ПРОДУКЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА Е2 ВИРУСА ДИАРЕИ КРС В СОСТАВЕ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Адамонис Я.В., Сауткина Н.В., Кудин К.В., Прокулевич В.А.
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

sovgirnv@gmail.com

Вирус диареи крупного рогатого скота (*Bovine Viral Diarrhoea Virus*, BVDV) вызывает желудочно-кишечные, респираторные и репродуктивные заболевания животных, приводящие к значительным экономическим потерям. Липидная оболочка вириона вируса BVDV 2-го типа содержит гликопротеин Е2 – иммунодоминантный антиген, обеспечивающий образование нейтрализующих антител, который потенциально может использоваться при создании субъединичной вакцины для профилактики болезни.

Фрагмент открытой рамки считывания генома BVDV размером 1023 п.н., обозначенный как e2p и кодирующий соответственно белок E2p внешней оболочки вириона, ранее был клонирован в векторе pET-24b(+) по сайтам рестрикции NdeI и XhoI с целью введения в белок С-концевой гистидиновой метки. Рекомбинантную плазмиду, несущую ген e2p, обозначили как pBVDV. Установлено, что целевой белок E2p накапливается в клетках *E. coli* преимущественно в нерастворимой форме, и его доля достигает 30 % от общего клеточного белка, а также то, что снижение температуры культивирования до 20 °С не приводит к повышению растворимости белка.

Целью работы являлось получение рекомбинантного антигена E2 в составе гибридных полипептидов с белками, способными повышать растворимость конъюгированных белков-партнёров.

Для выполнения поставленных задач в качестве фьюжн-партнёров целевого белка использовали углевод-связывающий модуль фермента ксиланазы 10A бактерий *Thermotoga maritima* (далее CBMT) и малый убиквитин-подобный модификатор дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (далее SUMO), снабженный гистидиновой меткой. Оба анионных белка при оптимальной для *E. coli* температуре культивирования 37 °С растворимы, и, согласно литературным данным, способствуют повышению растворимости «сшитых» с ними белков.

Последовательности CBMT (660 п.н.) и SUMO (430 п.н.) клонировали в составе рекомбинантного вектора pBVDV в клетках штамма *E. coli* XL-1 Blue по сайту рестрикции NdeI и трансформировали полученными плазмидами клетки штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Ген e2p не оптимизирован для экспрессии в бактериальных клетках, но штамм CodonPlus содержит плазмиды, кодирующие редкие для *E. coli* гены тРНК для аминокислот аргинина, изолейцина, пролина и лейцина.

Далее проводили индукцию экспрессии клонированных гибридных генов с помощью ИПТГ (0,5 ммоль/л) при 37°С в течение 4 ч с последующим денситометрическим анализом окрашенных полиакриламидных гелей. Результаты анализа показали, что массовая доля фьюжн-белка CBMT-E2p (64,3 кДа) в клетках трансформантов составляет около 25 %, а фьюжн-белка SUMO-E2p (54,2 кДа) – около 35 %.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА СПОСОБНОСТЬ ПЕРСПЕКТИВНОГО ШТАММА BACILLUS SUBTILIS BZR 336g СИНТЕЗИРОВАТЬ АНТИГРИБНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Аллахвердян В.В., Сидорова Т.М., Гырнец Е.А., Асатурова А.М.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар, Россия.

lera_arm@mail.ru

В настоящее время в связи с активно развивающейся индустрией органической продукции наиболее безопасной альтернативой химическим пестицидам служат биологические препараты на основе микроорганизмов (Асатурова, 2008).

Штаммы *Bacillus subtilis* обладают высокой антагонистической активностью в отношении возбудителей микозов растений (Азизбекян Р.Р., 2013; Сидорова Т.М. и др., 2018). Целью настоящей работы является определение влияния добавок к составу питательной среды при культивировании перспективного штамма *B. subtilis* BZR 336g на способность синтезировать антигрибные метаболиты. Штамм агент *B. subtilis* BZR 336g был взят из биоресурсной коллекции ФГБНУ ВНИИБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов». Выявление активных фракций метаболитов было

проведено методом биоавтографии. В качестве тест-гриба использовался *Fusarium oxysporumvar. orthoceras*.

Исследовали следующие варианты добавок к оптимальной питательной среде (в различных концентрациях и соотношениях): лимонная кислота, кукурузный экстракт, микроэлементы.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что лимонная кислота в концентрации 20 г/л, растворяя осадок, делает его доступным для синтеза новых метаболитов, обладающих антифунгальной активностью, что в свою очередь достоверно предотвращает снижение фунгицидного действия биопрепарата.

Оптимальная концентрация кукурузного экстракта – 3,3 г/л. Она достоверно повышает титр экспериментального образца биопрепарата, а также имеется тенденция по повышению антифунгальной активности. Микроэлементы способствуют выработке новой фракции метаболитов, которая, однако, не обладает фунгицидным действием. В процессе реализации работ использовалась материально-техническая база УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (реестровый № 671367).

Список литературы:

1. Асатурова, А. М. Изучение кинетики роста штаммов бактерий-антагонистов возбудителей фузариоза при периодическом культивировании // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК. – Краснодар, 2008. – Вып. 1 (138). – С. 79-82.

2. Азизбекян Р. Р. Использование спорообразующих бактерий в качестве биологических средств защиты растений// Биотехнология, 2013, № 1. – С. 69-70.

3. Сидорова Т. М., Асатурова А. М., Хомяк А. И., Козицын А. Е. Биологически активные метаболиты Bacillus subtilis и их роль в контроле фитопатогенных микроорганизмов // Сборник трудов Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем». Краснодар, 2018. С. 285-288.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССА БИОМИМЕТРИЧЕСКОГО ОСАЖДЕНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ КАЛЬЦИЙФОСФАТНОГО СЛОЯ НА ТРЁХМЕРНЫХ ОБРАЗЦАХ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ

Баранов О.В., Тетерина А.Ю., Радькова Е.А., Комлев В.С.
ФГБУН Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва, Россия

Einlied.1@gmail.com

Создание матриксов с заданной архитектурой и свойствами, предназначенных для регенерации тканей методами тканевой инженерии, является одной из актуальнейших междисциплинарных задач биомедицинского материаловедения. Композиционные материалы (КМ) на основе полимеров и фосфатов кальция (ФК) в наибольшей степени соответствуют требованиям, предъявляемым к материалам, которые используются в инженерии тканей. Полимер формирует каркас матрикса, а ФК армирует этот каркас. Полимерная составляющая придает матриксу эластичность, а ФК-наполнитель - биоактивность, остеокондуктивность и возможную остеоиндуктивность, а также упрочняет полимерный каркас [1,2].

Метод биомиметического осаждения фосфатов кальция позволяет использовать физиологические температуры. Это позволяет функционализиовать материалы разной природы, инкорпорировать биологические агенты (белки, факторы роста), сохраняя их биологическую активность. Так же, несомненным плюсом является возможность

применения такого метода для имплантатов сложной геометрии, в частности на 3D – материалах [3].

В ходе выполнения работы проведены эксперименты по осаждению фосфатов кальция на трехмерные композиционные материалы на основе полисахарид - фосфат кальция. Исходные образцы предварительно обрабатывали тремя видами карбоновых кислот: молочной, янтарной и лимонной. Впоследствии модифицированные материалы выдерживали в одно- (1 М), двух- (2 М) и трехкратном (3 М) растворах SBF при температуре 37°С с ежедневным обновлением раствора.

Методами СЭМ-микроскопии и ИК-спектроскопии выявлены оптимальные условия осаждения ФК на полимерном матриксе. Изучена микроструктура полученных матриксов. Методом РФА определен фазовый состав получаемых ФК.

Работа выполнена благодаря финансовой поддержке гранта РФФИ 18-33-00955 мол_а.

Список литературы:

1. Teterina A.Yu., Fedotov A.Yu., Pereloma I.S., Baranov O.V., Komlev V.S., Barinov S.M. Surface modification of ceramic structures for highly effective infiltration of osteogenic factors // IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series. 2018. V. 1134. P. 012057

2. Rodriguez Garcia M., Naves Diaz M., Cannata Andia J.B. Bone metabolism, vascular calcifications and mortality: Associations beyond mere coincidence // J. Nephrol. 2005. V. 18. № 4. P. 458–63.

3. Y. Liu, E.B. Hunziker, P. Layrolle, C. Van Blitterswijk, P.D. Calvert, and K. de Groot. Remineralization of demineralized albumin-calcium phosphate coatings // J. Biomed. Mater.Res. Part A – 2003 – V. 67 – P. 1155-62.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫРАБОТКИ БИОГАЗА ПРИ СБРАЖИВАНИИ СУБСТРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШЕСТИРЕАКТОРНОЙ УСТАНОВКИ

Беспалова О.С., Бояршин К.С., Клюева В.В., Батлуцкая И.В.
ФГАОУ ВО НИУ БелГУ, Белгород, Россия

olga9078@mail.ru

Производство биогаза является перспективным направлением переработки органических отходов, позволяющим достигнуть как эффективного снижения их объёмов, так и получения ценного газообразного топлива. Разнообразие субстратов диктует необходимость в подборе условий их эффективного сбраживания, включая способ предобработки, температуру, гидравлическое время удержания, использование химических и биологических добавок. Для проведения экспериментов такого рода необходимы наборы одинаковых реакторов с функцией измерения объёмов выделяемых газов, а также с возможностью пробоотбора без внесения в объём реактора атмосферного воздуха.

В ходе проведённых опытно-конструкторских работ на первом этапе нами были выбраны габаритные характеристики установки, позволяющие помещать её в полость суховоздушного термостата ТСО-1/80 СПУ для обеспечения поддержания постоянной температуры. Выбранные габариты определили выбор в качестве газосборных емкостей 250-миллилитровых мерных цилиндров, подключаемых к реакторам через гидрозатвор. Объём реакторов был подобран таким образом, чтобы при интенсивном выделении газа исключить возможность переполнения газосборных емкостей с попаданием взрывоопасного метана в полость термостата. С учётом этих соображений был выбран объём 0,33 л, позволяющий разместить в термостате 6 реакторов с гидрозатворами и

газосборными емкостями. Откачка и пробоотбор выделенного газа без попадания в реакторы атмосферного воздуха проводятся через резиновые трубки с запорным механизмом.

Таким образом, установка позволяет проводить периодическое культивирование метаногенных микробных сообществ с анаэробным разложением и сбраживанием органических субстратов в шести идентичных реакторах, что позволяет эффективно проводить подбор оптимальных технологических параметров процесса. Анализ проб выделенного газа может проводиться с использованием газового хроматографа и другого аналитического оборудования.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТРАНСМЕМБРАННОГО РЕГУЛЯТОРА ПРОВОДИМОСТИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ПАЦИЕНТА С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ДИАГНОЗОМ F508DEL / C.1735G> T (P.ASP579TYR)

Булатенко Н.В., Ефремова А.С., Бухарова Т.Б., Петрова Н.В., Каширская Н.Ю., Кондратьева Е.И., Мельяновская Ю.Л., Гольдштейн Д.В.
ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова, Москва, Россия

bnv695@gmail.com

Муковисцидоз (МВ) является распространенным летальным заболеванием, поражающим примерно 1 из 3000 новорожденных. Его основной этиологией являются мутации гена CFTR. В спектр нарушений, связанных с дисфункцией белка CFTR, входят острый рецидивирующий и хронический панкреатиты, болезни органов дыхания, аберрантное нейтрофильное воспаление. Для правильной диагностики МВ важна тщательная оценка функции CFTR. Генетический вариант c.1735G> T представляет собой однонуклеотидную замену в положении 1735, относится к миссенс мутациям, класс не установлен.

Цель - изучение активности CFTR канала у больного МВ с генетическим диагнозом F508del/ c.1735G> T (p.Asp579Tyr) для подбора персонифицированной терапии.

Материалы и методы. Для анализа форсколин-индуцированного набухания (FIS) кишечные органоиды, полученные из ректальных биоптатов, высевали на 96-луночные планшеты, через 24 ч прижизненно окрашивали 0.84 мкМ Calcein AM и спустя час стимулировали форсколином (5, 0.8, 0.128 и 0.02 мкМ). Корректор VX-809 (5 мкМ) добавляли на стадии посева, а потенциатор VX-770 (5 мкМ) - одновременно с форсколином. Через определенные интервалы времени (0-60 мин) проводили съемку «фиксированных» полей. В качестве контролей использовали культуры органоидов здорового донора и пациента с МВ (F508del/ F508del). Все этапы культивирования проводили в толще Matrigel, при 37ºС и 5% CO_2.

Результаты. Для генотипа c.1735G> T/F508del было показано, что функция канала CFTR полностью утрачена, поскольку отсутствует ответ на форсколин. Инкубация кишечных органоидов с корректором VX-809 или потенциатором VX-770 приводит к их умеренному набуханию (не более чем на 30% при различных концентрациях форсколина), по сравнению с действием одного только форсколина. При комбинированном применении VX-809 и VX-770 эффект возрастает – органоиды увеличиваются на 70-80%. Полученная культура морфологически имеет сходство с кишечными органоидами с генотипом F508del/F508del, что служит маркером дисфункции канала CFTR на апикальной мембране клеток. Полученные данные соответствуют тяжелому клиническому проявлению заболевания: высокие показатели потовой пробы, бронхоэктазы, полипоз с тяжелой грамотрицательной инфекцией.

Заключение. Полученные результаты доказывают эффективность коррекции «тяжелого» генотипа c.1735G> T/F508del при комплексном использовании потенциатора и корректора. Представленные результаты являются уникальными, поскольку мутация c.1735G> T редкая и ранее не была исследована на модели кишечных органоидов.

Работа выполнена за средства Госзадания для ФГБНУ "МГНЦ".

МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КОВАЛЕНТНО СШИТЫМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ: ДИЗАЙН И СИНТЕЗ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕНОСИМОСТИ, СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И КОНТРАСТНЫХ СВОЙСТВ

Бычкова А.В.[2], Якунина М.Н.[4], Лопухова М.В.[2], Абдуллина М.И.[2], Покровский В.С.[1,4],Мотякин М.В.[2,3], Дегтярев Е.Н.[2,3], Коварский А.Л.[2], Хачатрян Д.С.[5]

[1]ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва; [2]ФГБУН Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН, Москва; [3]ФГБУН ФИЦ химической физики имени Н. Н. Семёнова РАН, Москва;[4]ФГБУ НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва; [5]ФГУП Институт химических реактивов и особо чистых химических веществ НИЦ «Курчатовский институт» (НИЦ "Курчатовский институт" – ИРЕА), Москва, Россия

anna.v.bychkova@gmail.com

Одним из перспективных направлений нанобиотехнологии является разработка наносистем на основе магнитных наночастиц (МНЧ). Наносистемы с устойчивым биосовместимым покрытием из сывороточного альбумина могут быть использованы для гипертермии, магнитно-резонансных исследований опухолевых тканей, для векторной доставки биологически активных и лекарственных веществ.

С использованием совокупности физико-химических методов (методов электронного магнитного резонанса, спектрофотометрии УФ/видимой области, динамического светорассеяния) нами была проведена оценка генерации гидроксил-радикалов поверхностью МНЧ и получены наносистемы с диаметрами от 20 до 50 нм на основе МНЧ с устойчивым покрытием из человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). Покрытия из ЧСА на МНЧ получали путем свободнорадикального ковалентного сшивания адсорбированных молекул ЧСА на поверхности магнитных наночастиц по реакции Фентона. Устойчивость покрытия подтверждена путем детекции конкурентных адсорбционных процессов на поверхности магнитных наночастиц с участием белка крови иммуноглобулина G.

Нами была проведена оценка переносимости, специфической активности и контрастирующих свойств наносистем при в/а введении. Ингибирование роста опухоли определяли на основании индекса прироста в группах (ИПО= V_t/V_0) на 4, 7, 10, 13, 16 и 20 сутки после начала лечения (V_t), для чего определяли $V_{ср}$ опухолей перед началом (V_0) и на сутки наблюдения. Показано двухкратное ингибирование роста опухоли при в/а введении крысам с РС-1. КТ исследование опухолевого узла показало выраженное контрастирование сосудистого русла опухоли с плотностью сосудов от - 47 до -80 HU при плотности ткани опухоли от -24 до -26 HU. Сохранение контрастирования регистрировано через 13 суток после в/а введения. Локальных и системных токсических эффектов не отмечали.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ УФ- В НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ПЕРЕМЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А И ПРОГРАММНАЯ ОЦЕНКА СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Васильева А.Г.[1,2], Сивашева Т.Н.[1,2], Креславский В.Д.[3]

[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино; [2]ФИЦ ПНЦБИ Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пущино; [3]ФИЦ ПНЦБИ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

arkaim1996@yandex.ru

Для оценки изменения активности фотосинтетического аппарата (ФА) в стрессовых условиях на практике часто необходимо провести сравнение большого количества различных параметров переменной флуоресценции хлорофилла а, полученных при обработке результатов JIP-теста и PAM-флуориметрии. Для обеспечения исследователей эффективным способом сравнительного анализа параметров флуоресценции в среде LabVIEW была разработана программа расчета этих параметров, которая позволяет представить их графически, в виде «паутинной» диаграммы, являющейся удобным инструментом их визуализации.

Исследовано действие УФ-В (максимум 311 нм, 1 ч) на активность ФА растений арабидопсиса дикого типа (ДТ) и мутантов, дефицитных по фитохрому А (PhyA) и фитохрому В (PhyB), выращенных на белом и красном свету (возраст растений – 25 дн.). УФ-В снижал эффективный Y(II) и максимальный Fv/Fm квантовые фотохимические выходы фотосистемы 2 у всех указанных вариантов растений. Причем у мутанта с дефицитом PhyB более существенно падали величины этих квантовых выходов по сравнению с ДТ. Мутант по PhyA занимал промежуточное положение. Однако при этом возрастало значение квантового выхода нерегулируемой энергии диссипации Y(NO) у всех указанных вариантов растений.

Также были проведены аналогичные эксперименты по исследованию воздействия УФ-В на ФА растений арабидопсиса ДТ и двойного мутанта, дефицитного по криптохромам 1 и 2. Проведенный анализ показал, что существенных различий между параметрами ДТ и мутанта нет.

Таким образом, из сравнения устойчивости к УФ-В радиации дикого типа и мутантов, дефицитных по фитохромам А и В, следует, что PhyB мутант был наименее устойчив по сравнению с ДТ, тогда как PhyA мутант занимал промежуточное положение. Обнаружено, что при выращивании растений на красном свету разница между этими вариантами выражена в большей степени, чем при выращивании на белом свету.

При условии отсутствия активности криптохромов дефицит по PhyB наиболее сильно снижает устойчивость фотосинтетического аппарата к УФ-В радиации, тогда как дефицит как по PhyA, так и по основным криптохромам существенно не влияет на его устойчивость.

АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 СЛИТОГО С ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ FcIgG1

Васильева О.О.[1,2], Евдокимовская Ю.В.[2], Кононов А.В.[1,2], Агеев С.А[1,2], Евдокимов С.Р.[1,2], Соловьев В.В.[1,2]

[1]ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]ЗАО «BIOCAD», Любучаны, Россия

vasilyevaoo@biocad.ru

Цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) играют важную роль в осуществлении специфического иммунного ответа организма против опухоли. Однако, активированные CTL а процессе уничтожения раковых клеток постепенно утрачивают свою цитотоксическую активность, или истощаются. В то же время, известно, что препарат на основе модифицированного интерлейкина-10 (IL-10) – пегилированного IL-10 – приводит к увеличению числа внутриопухолевых CTL, при этом доля активированных CTL растет, а истощенных – наоборот, уменьшается. Предполагается, что такой эффект обусловлен повышенной экспрессией на активированных CTL рецептора IL-10. Интерлейкин-10 способен повышать в клетках продукцию важного противоапоптотического белка bcl-2, влияющего позитивно на выживаемость клеток в условиях стресса.

Целью данного исследования являлась проверка эффективности нового перспективного терапевтического препарата на основе IL-10, а именно – invitro исследование функциональной активности пролонгированной формы IL-10 – иммуноцитокина Fc-IL-10 производства ЗАО «Биокад». Эта молекула имеет в своём составе Fc-фрагмент человеческого иммуноглобулина (lgG1), что обеспечивает пролонгированность действия препарата.

Для оценки влияния иммуноцитокина Fc-IL-10 на цитотоксические Т-лимфоциты нами была смоделирована сверхактивация CTL. Такая модель позволила нам оценивать способность Fc-IL-10 повышать выживаемость активированных CTL. Если подробнее, то CTL из крови здоровых доноров активировали антителами aCD3 и aCD28, культивировали 72 часа, затем повторно активировали aCD3 в присутствии Fc-IL-10, в контроле Fc-IL-10 отсутствовал. Подсчет клеток выполняли на 3-й и 6-й день после повторного активирования. Общий результат – Fc-IL-10 действительно способствует пролиферации и выживанию CTL. В течение трех дней все клетки CTL пролиферировали, но количество клеток, инкубированных с Fc-IL-10, увеличилось в 1.5 раза по сравнению с контролем; в последующие три дня количество клеток контроля снизилось до исходного уровня, тогда как количество клеток, инкубированных с Fc-IL-10, не изменилось.

Вывод – иммуноцитокин Fc-IL-10 способен стимулировать пролиферацию CTL и повышать выживаемость в условиях сверхактивации, имеющей место в опухолях. Что свидетельствует о перспективности данной молекулы для дальнейшей разработки в качестве терапевтического агента для лечения злокачественных новообразований у человека.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА КОК-САГЫЗА (TARAXACUM KOK-SAGHYZ)

Вербицкая А.А., Иванова А.С., Гапоненко А.К.
ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

timoshenko.alekseevna@gmail.com

Натуральный каучук является важным стратегическим сырьем для производства широкого спектра промышленной продукции. *Taraxacum kok-saghyz* может стать альтернативным источником НК и в дальнейшем заменить основной коммерческий продуцент гевею (*Hevea brasiliensis*). Основной задачей является повышение процента содержания каучука в корнях кок-сагыза. Эта задача может быть решена путем создания и внедрения конструкций длясверх экспрессии 1-FEH фермента фруктан-1-экзогидролаза, который катализирует деградацию инулина и увеличивает синтез НК.

Целью работы является создание методики генетической трансформации кок-сагыза (*Taraxacum kok-saghyz*) для редактирования генома с целью увеличения выхода НК и разработка эффективной методики микроклонального размножения для размножения отредактированных клонов. Для популяций кок-сагыза нами была разработана эффективная система регенерации растений *in vitro* из корневых эксплантов, с частотой более 80%, и система регенерации растений *in vitro* из листовых эксплантов для системы редактирования генома хлоропластов в протопластах кок-сагыза и последующей регенерации до целостного растительного организма. Оптимальные условия для получения протопластов растительных клеток индивидуальны для различных и видов растений, и даже тканей. Наиболее адекватная составу клеточной стенки комбинация ферментов обеспечивает успех выделения протопластов. Чтобы получить протопласты с высоким выходом и качеством, мы изучали несколько факторов, таких как: время осмотического воздействия, применение вакуума, оптимальная продолжительность инкубации протопластов в растворе ферментов. Нам удалось получить среднюю урожайность протопластов 5×10^6 мл, а жизнеспособность протопласта - до 89,05%. Также была разработана методика редактирования генома кок-сагыза с помощью агробактериальной трансформации. Оптимизация методики трансформации осуществлялась при использовании генетической конструкции, которая содержит селективный ген hph устойчивости к гигромицину B и маркерный ген uidA, кодирующий β-глюкуронидазу, в результате чего удалось достичь эффективности трансформации 10%. Подтверждением эффективности использованной методики трансформации корней кок-сагыза стала наблюдаемая экспрессия маркерного гена uidA, которая проявилась в виде синего окрашивания тканей растения, после инкубации в растворе с X-Gluc. Достигнутый результат позволяет использовать разработанные методики микроклонального размножения и трансформации корней для дальнейших работ по редактированию генома и увеличению количества каучука в кок-сагызе.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ АБИРАТЕРОНА И ГАЛЕТЕРОНА СО СТЕРОИД 21-МОНООКСИГЕНАЗОЙ (CYP21A2)

Гавриченко Я.И.[1], Филиппова Т.А.[1], Масамрех Р.А.[1,2], Кузиков А.В.[1,2], Щербаков К.А.[2]

[1]ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ; [2]ФГБНУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

yar-12@mail.ru

Эффективным принципом лечения рака предстательной железы является как использование ингибиторов ключевого фермента биосинтеза андрогенов–цитохрома Р450 17A1 (CYP17A1), так и антагонистов андрогеновыхрецепторов опухолевых клеток. Недавно было показано, что препарат абиратерон, являющийся эффективным ингибитором CYP17A1 и использующийся в клинической практике, а также препарат галетерон, находящийся на стадии клинических испытаний, в организме окисляются под действием 3β-гидроксистероиддегидрогеназы до соответствующих 3-кето-Δ4метаболитов (D4A и D4G, соответственно), фармакологическая активность которых превышает таковую абиратерона и галетерона, что позволяет рассматривать их в качестве перспективных агентов для лечения рака предстательной железы. Поскольку данные метаболиты являются кето-стероидами, имеется высокая вероятность их взаимодействия с ключевыми ферментами биосинтеза кортикостероидных гормонов, что может обуславливать их побочные действия.Целью работы явилось исследование механизмов взаимодействия D4A и D4G с одним из ключевых ферментов биосинтеза кортикостероидных гормонов –стероид 21-монооксигеназой (CYP21A2).Взаимодействие D4A и D4G с активным центром CYP21A2 было исследовано методами абсорбционной спектроскопии, кинетического анализа с использованием реконструированной монооксигеназной системы, а также молекулярного докинга.Методом дифференциальной абсорбционной спектроскопии показано, что D4A индуцирует спектральные изменения, характерные для ингибиторов, aD4G –для субстратов цитохрома Р450. На основании спектральных изменений были рассчитаны значения констант диссоциации комплексов CYP21A2 с D4A и D4G.Кинетический анализ выявил, что D4A ингибирует 21-гидроксилазную активность CYP21A2 по конкурентному/смешанному типу. Также было показано, что в отличие от галетерона, ингибирующего CYP21A2 по конкурентному типу, D4G не проявляет ингибиторных свойств по отношению к ферменту. На основании данных кинетического анализа были определены соответствующие значения констант ингибирования CYP21A2.Полученные данные расширяют представления о возможных побочных эффектах фармакологически активных кето-метаболитов абиратерона и галетерона.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 19-315-70003.

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ РИМАНТАДИНА ИНГИБИРУЮТ ИНФЕКЦИЮ, ВЫЗВАННУЮ ВИРУСОМ ГРИППА H1N1 НА МОДЕЛИ ГРИППОЗНОЙ ПНЕВМОНИИ МЫШЕЙ

Глубокова Е.А.[1], Махмудова Н.Р.[1], Фалынскова И.Н.[1], Кузнецов Н.Ю.[2], Ленева И.А.[1]
[1]ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; [2]ФГБНУ Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

eaglubokova@yandex.ru

Актуальность: ВОЗ в дополнении к вакцинации как основной стратегией борьбы с гриппозной инфекцией рекомендует применение этиотропных препаратов прямого вирусспецифического действия, одним из которых является римантадин, показавший свою высокую эффективность в клинических испытаниях и в практической медицине. Однако, на данный момент у всех циркулирующих штаммов вируса гриппа А выявлена резистентность к препарату римандадин. В связи с вышесказанным поиск аналогов и изомеров данного препарата, эффективных в отношении резистентных к римантадину вирусов гриппа, является актуальным.

Целью работы: изучение на модели вирусной гриппозной пневмонии мышей эффективности исследуемых соединений при различных дозах и пероральном введении.

Материалы и методы: мышей BALB/c инфицировали вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009. Патогенез инфекции и эффективность препаратов оценивались по клиническим признакам (выживаемость, продолжительность жизни, уменьшение снижения массы животных) и титру вируса в лёгких животных.

Результаты: В контрольной группе животных, зараженных вирусом гриппа и не получавшей лечения, наблюдалась гибель 90% животных. Прилечение соединением 39 в дозах 20 и 40 мг/кг/день выжило 80 и 70% мышей соответственно, и потеря массы тела ниже первоначального не отмечалось. Лечение соединением 41 в дозе 15 мг/кг/день защищало от гибели 70% животных, в дозе 20 мг/кг/день полностью защищало животных от гибели, а потеря массы тела в обеих группах ниже первоначального не отмечалось. Применение обоих соединений в исследуемых дозах ингибировало размножение вируса, титр вируса в этих группах составлял 1,16±1,6-2,6±2,3lg ТЦИД50, что заметно ниже, чем титр вируса в легких нелеченных животных (6,1±0,3 lg ТЦИД50). Эти данные соответствуют клиническим параметрам эффективности лечения, полученных для этих соединений. В проведенных экспериментах по всем изученным параметрам лечение соединениями 39 и 41 было более эффективно, чем лечение римантадином в тех же дозах и по такой же схеме. Кроме того, изучение вируса из лёгких заражённых мышей, леченных соединениями 39 и 41, в культуре клеток показало, что вирус чувствителен к данным соединениям в отличие от римантадина, резистентность к которому возникает на 3 день приема препарата.

Выводы: Пероральное лечение соединениями 39 и 41 эффективно на модели гриппозной пневмонии мышей, снижая гибель животных, предотвращая потерю ими массы тела и увеличивая продолжительность жизни по сравнению с контрольной группой нелеченных животных. Пероральное лечение данными соединениями не приводило к возникновению резистентности к ним.

СКАФФОЛД НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНОВОГО ГИДРОГЕЛЯ ДЛЯ 3D КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ РОГОВИЦЫ

Гречаная Ю.С.[1,2], Машель Т.В.[1,3], Журенков К.Э.[1,4], Хорольская Ю.И.[1], Александрова О.И.[1]

[1]ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; [2]ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; [3]ФГАОУ ВО национальный исследовательский институт ИТМО, Санкт-Петербург; [4]ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

julia.grechanaya@yandex.ru

В настоящее время в регенеративной медицине для восстановления повреждённых органов или тканей активно разрабатываются подходы к созданию биоинженерных конструкций (БИК) с использованием клеточных технологий. Поиск биосовместимых и биодеградируемых структур в качестве материала для создания БИК является одним из актуальных направлений. Перспективными в этом направлении являются 3D скаффолды на основе коллагена, являющегося основным белком соединительной ткани организма. БИК на основе коллагенового гидрогеля и культивируемых стволовых клеток (СК) могут быть использованы для восстановления различных тканей: хрящей, костной ткани, лёгких, кожи, роговицы и др.

Целью настоящей работы является исследование возможности использования коллагенового гидрогеля в качестве скаффолда для 3D клеточного культивирования в целях создания БИК для тканевой инженерии роговицы.

Для приготовления скаффолдов использовали препарат «Коллаген I типа желирующий» (ИНЦ РАН), концентрированную (10х) среду 199 (Gibco, США) и стерильный 0.34Н раствор NaOH (Sigma, США) с достижением конечной концентрации коллагена 2 мг/мл. Для приготовления БИК в полученную смесь добавляли суспензию клеток в концентрации 200 тыс. кл/мл коллагенового гидрогеля. В качестве клеточного компонента были использованы СК слизистой оболочки ротовой полости кролика. СК слизистой оболочки ротовой полости наряду со СК роговичного лимба используют для реэпителизации роговицы.

Для лучшей визуализации использовали флуоресцентно меченые клетки, полученные при помощи вирусной трансдукции генетической конструкции, слитой с геном зеленого флуоресцентного белка. Клетки культивировали внутри коллагеновых скаффолдов в течение двух месяцев. Жизнеспособность клеток оценивали по их морфологии, способности к контракции гидрогелей и миграции из них, а также пролиферативной и метаболической активности с использованием ферментативной деградации БИК коллагеназой и последующего подсчёта общего количества клеток, и Alamar Blue-теста.

Проведённое исследование показало высокую биосовместимость и принципиальную возможность применения коллагенового гидрогеля для 3D культивирования СК слизистой оболочки ротовой полости, что делает его перспективными для использования в регенеративной медицине, в частности при репарации роговицы.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ IN VITRO КУЛЬТУРЫ TARAXACUM KOK-SAGHYZ RODIN

Гумерова Г.Р., Кулуев Б.Р., Князев А.В.
ФГБНУ ОСП Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

gulnar.yas@mail.ru

На сегодняшний день трудно найти отрасль науки и промышленности, в которой не использовался бы натуральный каучук и его производные. Более 90% этого сырья получают из гевеи бразильской, однако эти плантации находятся под серьезной угрозой заражения опасным фитопатогеном. Среди всех эффективных каучуконосных растений, альтернативных гевее, именно кок-сагыз *Taraxacum kok-saghyz Rodin* является наиболее пригодным для выращивания в умеренной климатической зоне. Однако полевое возделывание кок-сагыза даже на сегодняшнем этапе развития агротехники связано с большим количеством сложностей. Поэтому становится особенно актуальным подбор оптимальных условий для *in vitro* культивирования кок-сагыза с целью решения различных фундаментальных и прикладных задач.

В экспериментах по подбору условий стерилизации семян кок-сагыза в качестве стерилизующего агента были использованы различные концентрации сулемы ($HgCl_2$) и гипохлорита натрия (NaClO). После стерилизации водным раствором сулемы (0.05%, 0.025% и 0.01%) семена постепенно темнели под его токсическим влиянием и не давали проростков. В случае с гипохлоритом натрия наилучшие результаты получались при использовании концентраций до 2.5% и при выдерживании не более 10 минут. В связи с тем, что семена кок-сагыза требуют обязательный этап стратификации холодом, также было необходимо подобрать соответствующие условия. Для решения этой задачи стерильные семена выдерживали при +3°C в течение различного времени, затем переносили в климатические камеры на +25-27°C для непосредственного проращивания. Наиболее высокую всхожесть (45-60%) наблюдали при стратификации холодом в течение 2-2.5 недель. После соблюдения этих условий проростки появлялись спустя 7-10 дней. Однако эти условия не являются идеальными для стерилизации и проращивания семян кок-сагыза и требуют дальнейшего изучения.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ КРЕМНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Дуденкова А.С.
ФГАОУВО ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия

alinaddnkv@gmail.com

При помощи целенаправленной транспортировки лекарственного средства в зону органа-мишени возможно повысить эффективность терапевтического процесса, снизить введенную дозу и минимизировать нежелательные побочные явления от применения лекарства. Таким средством доставки препаратов являются наночастицы.

Целью работы было исследование влияние наночастиц кремния на выживаемость клеток человека опухолевого и неопухолевого происхождения.

В качестве образца опухолевых клеток использовали линию MCF-7 –клеток аденокарциномы молочной железы человека. Образцом здоровых являлась линия HEK 293 – клеток эмбриональной почки человека, трансформированные E1-областью

аденовируса человека серотипа 5. Для проведения исследования по цитотоксичности кремниевых наноструктур были использованы наночастицы трех типов размером 5 нм, 75 нм и 110 нм.

Для оценки цитотоксичности кремниевых наночастиц на основании проведенного литературного анализа был выбран МТТ-тест, основанный на способности живых клеток к восстановлению желтого бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-тетразолия (МТТ) в пурпурно-синие кристаллы МТТ-формазана, находящиеся внутри клеток и растворяющиеся в ДМСО. Оптическая плотность – показатель жизнеспособности клеток при проведении МТТ-теста.

Клетки культивировали 72 часа в 96-луночном планшете с добавлением к культуре клеток методом раститровки 80 мкл растворов наночастиц в концентрациях (0, 50, 100, 200, 400, 800 мг/мл). После истечения времени культивирования в каждую лунку вносили по 40 мкл рабочего раствора МТТ. Инкубировали еще 2 часа в условиях CO2-инкубатора. Через 2 часа доставали планшет из CO2-инкубатора, заменяли в каждой лунке раствор МТТ на 80 мкл раствора ДМСО.

С помощью планшетного ридера (Multiscan FC, США) определяли оптическую плотность в каждой лунке при 450 нм с учетом фонового поглощения при 620 нм [1]. Для получения фоновых значений оптической плотности для каждой концентрации наночастиц проводили все те же самые манипуляции, только без внесения клеток [1].

При взаимодействии наночастиц размером 5 нм с клетками MCF-7 значимые отличия от контроля зафиксированы во всех исследуемых концентрациях. Для наночастиц 75 нм и 110 нм эффект менее выражен и проявляется с концентрации 100 мг/мл. Кремниевые наночастицы обладают цитотоксическим действием на клетки линии HEK 293. Максимальный эффект наблюдается у частиц размером 5 нм и 110 нм. Частицы среднего размера в концентрации 200 мг/мл, возможно, обладают стимулирующим эффектом.

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КОНДИЦИОНИРОВАННЫХ СРЕД, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ И ГЛИАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МОЗГА У КРЫС

Дьяконов А.С.[1], Салихова Д.И.[1,4], Мокроусова В.О.[1], Петухова А.В.[1], Леонов Г.Е.[1], Бухарова Т.Б.[1], Наместникова Д.Д.[3], Черкашева Э.А.[3], Фатхудинов Т.Х.[2], Ярыгин К.Н.[4], Гольдштейн Д.В.[1]

[1]ФГБНУ Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, [2]ФГБНУ Научно-исследовательский институт Морфологии человека; [3]ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России; [4]ФГБУН Научно-исследовательский институт Биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

diana_salikhova@bk.ru

Наибольшее медико-социальное значение имеют острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), что обусловлено их высокой долей в структуре заболеваемости и смертности населения. Существующие методы терапии таких заболеваний являются недостаточно эффективными. Перспективным инструментом для восстановления повреждённой ткани мозга могут быть многокомпонентные кондиционированные среды, полученные при культивировании нейрональных и глиальных предшественников (НП и ГП).

Целью работы является изучение и сравнение терапевтического эффекта кондиционированных сред, полученных из НП и ГП (КС-НП и КС-ГП), при внутриартериальном введении крысам с моделью экспериментального инфаркта мозга.

Ключевые слова: кондиционированные среды, нейрональные и глиальные предшественники, ишемия мозга.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на крысах линии Wistar. Всем животным (n=36) моделировали инфаркт мозга путем эндоваскулярной окклюзии правой мозговой артерии (90 минут). Через 24 часа вводили 1 мл КС-НП/КС-ГП (n=12) в правую внутреннюю сонную артерию. В группе контроля (n=12) вводили 1 мл DMEM/F12. В течение 14 суток у животных оценивали неврологический дефицит (НД) по шкале mNSS, выживаемость и объем очага инфаркта мозга методом МРТ.

Результаты. В работе было показано, что введение КС-ГП вызывало уменьшение неврологического дефицита в 1,5 раза на 14-е сутки по сравнению с группой контроля. Разницы по терапевтической эффективности между группами КС-НП и контролем выявлено не было. При этом нами не было выявлено значимого влияния на выживаемость, скорость набора массы тела и изменение объема очага инфаркта мозга у лабораторных животных в терапевтических группах. Таким образом, внутриартериальное введение КС-ГП эффективнее улучшает функциональное восстановление неврологического статуса при экспериментальном инфаркте мозга.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 14.604.21.0184 RFMEFI60417X0184).

ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИЯ ЦЕЛОЙ ПОЧКИ КРЫСЫ КАК ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Евстратова Е.С., Филимонова А.Н., Шегай П.В.
ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

ekevs7240@mail.ru

Недавние достижения в области регенеративной медицины свидетельствуют о том, что существует возможность создания искусственных органов. Используемые в настоящее время биоматериалы могут создавать трехмерный каркас, в котором клетки будут прикрепляться, расти и формировать новые ткани с соответствующей структурой и функцией. Одним из перспективных путей создания такого каркаса является процесс децеллюляризации – удаление с помощью различных физических и химических агентов всей клеточной составляющей из органа донора. При этом остается межклеточный матрикс, представляющий собой ячейки из коллагеновых волокон. При его последующем заселении можно создать аналогичный нативному органу «неоорган» с правильной архитектоникой и функциональностью, состоящий полностью из клеток реципиента.

Мы проводили децеллюляризацию почек крыс линии Wistar. Извлечение почек вместе с сосудами проводили по собственной методике с промыванием органов раствором гепарина. Для децеллюляризации использовали перистальтический насос и промывали почку следующими растворами: гепаринизированный PBS, 1% SDS, деионизированная вода, 1% Triton X-100, PBS. Для морфологических исследований были взяты 2 вида почек: интактная (контроль), которая была зафиксирована сразу после изъятия, и децеллюляризованная. После фиксации образцов в 10% буферном формалине проводили стандартную окраску гематоксилином-эозином для оценки основных клеточных элементов. Также проводили окраску по Ван Гизону и по Массону для оценки

коллагенового и эластинового компонента в оставшемся после децеллюляризации каркасе почки.

При окраске гемотоксилином-эозином видно, что в контрольной почке клеточные ядра окрасились в синий цвет, цитоплазма в фиолетовый. В децеллюляризированной почке отсутствуют эти компоненты, видно только межклеточное вещество в виде пустых ячеек фиолетового цвета. При окраске по Ван Гизону коллагеновые волокна окрашиваются в розовый цвет. Видно, что после децеллюляризации остался только коллагеновый каркас. При окраске по Массону видны в контроле ярко-красные эластиновые и мышечные волокна, розовая цитоплазма клеток, темно-коричневые ядра. Эта окраска также позволила увидеть, что после децеллюляризации остался только синий коллагеновый каркас в виде ячеек.

После проведенной многоплановой гистологической оценки можно сделать вывод, что процесс децеллюляризации прошел успешно. При децеллюляризации были полностью удалены клеточные компоненты органа, а межклеточное вещество осталось на месте, сохранив структуру.

РАЗРАБОТКА НОВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА, ВЫСТУПАЮЩЕГО В РОЛИ ОНКОМАРКЕРА

Еремеева Е.А.[1,2], Грузнова О.А.[1], Сологуб В.К.[1], Яббаров Н.Г.[1], Фомичева М.В.[1], Фаустова М.Р.[1], Сокол М.Б.[1], Никольская Е.Д.[1]

[1]Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, Россия; [2] ФГБОУ ВО Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

elenanikolskaja@gmail.com

За последние 20-летие определение альфа-фетопротеина (АФП) стало очень актуальным в диагностике онкозаболеваний, таких как рак печени, рак яичников и рак яичек. Детекцию АФП часто осуществляют с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), принцип которого основан на иммунологической реакции «антиген-антитело». В настоящее время на рынке представлено большое количество тест-систем для проведения ИФА. Однако важной задачей остается изучение особенностей уже существующих вариантов, и разработка новых тест-систем.

В данной работе были изучены различные виды тест-систем нескольких фирм («Human GmbH», «Хема», «Алкор Био», Roche «Cobas Core AFP EIA», «DPC Immulite2000») и проанализированы их достоинства и недостатки.

Методом гибридомной технологии были получены новые клоны моноклональных антител (Мат), специфичные к нативному АФП (коммерчески доступный). Некоторые из них: 3F1, 2H5, 4F5, 1D12, были охарактеризованы в сравнении с коммерчески доступными МАт – 4A3 и 5H7). Была доказана их способность связываться с нативным и рекомбинантным АФП (получен в ОАО ВНЦМДЛ как опытный образец). Следующий этап исследований заключался в расчете константы связывания полученных МАт с АФП (по методу Клотца) и подбору пар «захват/детекция» для дальнейшей разработки прототипа тест-систем.

Было установлено, что высоко аффинными являются МАт – клон 3F1 (K_d = 8.5×10^{11} - 3.2×10^{13} для нативного и рекомбинатного АФП, соответственно). Подобранные пары: 3F1, 2H5, 4F5 – как МАт захвата, 5H7-HRP (конъюгат 5H7 с пероксидазой хрена (HRP)) как МАт детекции проявили чувствительность от 56.7±0.78 и 57.2±0.66 нг/мл в отношении нативного и рекомбинатного АФП, соответственно. Вариант – 1D12-захват/5H7-HRP –

0.51±0.31 и 0.49±0.52 нг/мл; в то время как рекомендованная пара коммерчески доступных МАт: 4A3-захват/5H7-HRP-детекция (была использована в качестве контроля) проявила чувствительность 0.90±0.23 и 0.87±0.20 нг/мл, для нативного и рекомбинантного АФП, соответственно.

Таким образом, была подобрана одна пара МАт, позволяющая определять АФП в концентрациях, примерно в 2 раза ниже, чем коммерчески доступные клоны. Тем не менее, существует необходимость проведения дальнейшего анализа новых клонов, еще не прошедших полную характеризацию, что в результате может стать потенциальной основой для создания высокочувствительных систем анализа АФП.

ВЛИЯНИЕ ЭСТРАДИОЛА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-Р IN VITRO

Ерохина П.Д., Абаленихина Ю.В., Черных И.В., Щулькин А.В.
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

hippopotamus-cat-19@yandex.ru

Гликопротеин-Р (Pgp) – АТФ-зависимый белок-транспортер, обеспечивающий выведение экзогенных и эндогенных веществ из клеток в биологические жидкости и просвет кишечника. [2].

Цель исследования – оценить влияние эстрадиола на функционирование Pgp invitro.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на клетках линии Caco-2, гиперэкспрессирующих Pgp. Активность белка-транспортера оценивали по транспорту субстрата Pgp – фексофенадина (150 мкМ) в специальной трансвелл-системе. Трансвелл-система состоит из двух камер: апикальной и базолатеральной, разделенных полупроницаемой мембраной. Транспорт фексофенадина из базалотеральной камеры в апикальную осуществляется за счет работы Pgp. Концентрацию фексофенадина определяли методом ВЭЖХ-УФ [2]. Количество Pgp оценивали методом ИФА. Были выполнены следующие серии экспериментов. Контроль – интактные клетки Caco-2, рифампицин 10 мкМ (контроль индукции), эстрадиол 1 мкМ и 10 мкМ. На каждый эксперимент приходилось по три повторения (n=3). Длительность преинкубации с тестируемыми веществами составила 30 мин и 3 суток. Полученные результаты обрабатывали дисперсионным анализом.

Результаты. Рифампицин и эстрадиол в дозах 1 мкМ и 10 мкМ при инкубации в течение 30 мин достоверно не влияли на активность и синтез Pgp. В тоже время при инкубации в течение 3 суток рифампицин увеличивал активность белка-транспортера на 58,6% ($p<0,05$), а эстрадиол 10 мкМ – на 26,2% ($p<0,05$). При этом рифампицин повысил синтез Pgp – на 52,7% ($p<0,05$), эстрадиол 1 мкМ – на 35,9% ($p<0,05$), 10 мкм – на 49,6% ($p<0,05$).

Выводы. Эстрадиол в концентрации 10 мкМ при инкубации в течение 3 суток повышает активность и синтез белка-транспортера Pgp.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-415-623001р_мол_а.

Список литературы:

1. Якушева Е.Н., Черных И.В., Щулькин А.В., Попова Н.М. Гликопротеин-Р: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности Попова // Успехи физиологических наук. 2014, Том 45, №4, С. 89-98.

2. Якушева Е.Н., Щулькин А.В., Черных И.В., Попова Н.М., Котлярова А.А., Слепнев А.А. Метод анализа принадлежности лекарственных веществ к субстратам и

ингибиторам белка-транспортера гликопротеина-P in vitro // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019, Том 17, №1, С. 71-78.

СОЗДАНИЕ ПАНЕЛИ CIS-РЕГУЛЯТОНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ РАЗЛИЧНОЙ СИЛЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕСТОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ

Загоскин А.А.[1,2], **Евдокимовская Ю.В.**[2], **Басовский Ю.И.**[1,2]
[1]ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]ЗАО «BIOCAD», Любучаны, Россия

zagoskin@biocad.ru

При разработке тест-систем на культурах клеток млекопитающих, предназначенных для анализа биологической активности терапевтических белковых молекул, может возникнуть необходимость обеспечить скоординированную экспрессию нескольких генов. Для решения этой задачи нами были сконструированы вектора, содержащие ген люциферазы *Renilla reniformis* под управлением различных промоторов, и ген люциферазы *Photinus pyralis* под управлением различных IRES-элементов. IRES-элементы в составе мРНК за счет вторичной структуры образуют внутренний сайт связывания с рибосомой, с которого инициируется трансляция по кэп-независимому пути.

Цель: Создать панель плазмидных векторов для обеспечения связанной экспрессии двух генов, с возможностью выбирать уровень экспрессии каждого за счет различных вариантов промоторов и IRES-элементов.

Методы: Синтез последовательностей промоторов и IRES-элементов осуществляли методом DA&OE ПЦР. Сборку плазмид проводили с использованием эндонуклеаз рестрикции и лигазы фага T4, а также методом клонирования SLIC. Мутагенез промоторов осуществляли с использованием набора JBS Error-Prone Kit. Векторами, содержащими исследуемые промоторы и IRES-элементы трансфецировали клеточную линию CHO-K1, адаптированную к суспензионному культивированию. Процедуру трансфекции проводили с использованием полиэтиленимина. Подсчёт количества клеток осуществляли с использованием проточного цитометра Guava easyCyte HT. Для измерения уровня люминесценции использовали ридер ecan spark. Уровень люминесценции нормализовали на количество клеток.

Результаты и обсуждение: По уровню силы инициации транскрипции, промоторы расположились в следующем порядке, от самого слабого к самому сильному: GTX, Ubc21_mut, hPGK20_mut, mPGK, Ef1a, SV40, Ubc, hPGK. Сила инициации транскрипции между GTX и hPGK отличалась в 32 раза. По уровню силы инициации трансляции, IRES-элементы расположились в следующем порядке, от самого слабого к самому сильному: PSIV, EMCV, gypsy_env, XIAP, GBV_B. Сила инициации трансляции между PSIV и GBV_B отличалась в 38 раз.

Выводы**:** Была создана панель промоторов и IRES-элементов, обеспечивающая уровень экспрессии генов в широком диапазоне. Теперь, при разработке тест-систем на основе репортерных клеточных линий, появилась возможность выбирать уровень экспрессии каждого гена на необходимом уровне. Созданная линейка векторов, обеспечит разработку высокочувствительных методик скрининга лекарственных кандидатов с высокой разрешающей способностью.

ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТВОРИМОЙ ФОРМЕ ПРИ ПОМОЩИ ХЕЛПЕРНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ В E.COLI

Звездова Д.С.[1,2], **Евдокимов С.Р.**[2], **Нагорных М.О.**[2]
[1]ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]ЗАО «BIOCAD», Любучаны, Россия

darya_1905@bk.ru

Экспрессия рекомбинантных белков в *E.coli* часто приводит к образованию неактивных агрегатов, так называемых телец включения. Для восстановления активных белков из телец включения проводят рефолдинг, но этот процесс не оптимизирован, а выход белка – низкий. Известно, что на экспрессию рекомбинантных белков в бактериях оказывают влияние такие факторы, как температура, состав среды, а также особенности экспрессионного штамма. Также показано, что высокорастворимые N-концевые хелперные полипептиды трансляционно слитые с целевыми белками могут предотвращать образование неактивных агрегатов для получения растворимых препаратов белка.

Целью данной работы было создание линейки векторов с хелперными полипептидами для бактериальной экспрессии рекомбинантных белков в растворимой форме. Была сконструирована линейка экспрессионных векторов с полипептидами, повышающими растворимость (SUMO, MBP, GST, YrhB, Tig, Tsf, FH8, Trx и ppiB) на основе коммерческой плазмиды pET. Для аффинной очистки на N-конце хелперного полипептида добавлена полигистидиновая метка, а для последующего удаления хелперного полипептида перед последовательностью целевого белка введен TEV-сайт для разрезания протеазой. Такая универсальная линейка векторов позволяет быстро клонировать ген-мишень и проверить экспрессию в различных условиях. В качестве модельной мишени был выбран рекомбинантный белок интерлейкин 31, экспрессия которого в *E. coli* при стандартных условиях приводит к образованию агрегатов.

Для проверки работоспособности созданной линейки векторов было получено 9 генетических конструкций, включающих комбинации из генов хелперных полипептидов и интерлейкина 31. В качестве контроля использовался вектор pET, содержащий только ген целевого белка. Этими генетическими конструкциями был трансформирован бактериальный штамм BL21(DE3), затем проведена пробная экспрессия при различных температурах. Клетки разрушали и центрифугировали для разделения растворимой и нерастворимой фракции. Фракции были проанализированы методом гель-электрофореза в ПААГ. Было показано, что при ко-экспрессии интерлейкина 31 с полипептидами MBP, Tsf и ppiB при низких температурах, целевой белок переходит в растворимую фракцию. Данная линейка векторов может быть пригодна для скрининга условий экспрессии рекомбинантных белков в *E.coli.*

В настоящий момент ведутся работы по экспрессии других рекомбинантных белков. Также планируется проведение сравнительного анализа по влиянию оптимизирующих факторов (ко-экспрессия с шаперонами, экспрессионные штаммы) на получение растворимых форм целевых рекомбинантных белков в *E. coli*.

РОЛЬ ГЕНА D174_24070 В ДЕГРАДАЦИИ БОКОВОЙ ЦЕПИ СТЕРИНОВ У MYCOLICIBACTERIUM NEOAURUM NRRL B-3805

Ивашина Т.В.[1,2], Зобнина Д.С.[3], Довбня Д.В.[1,2], Шутов А.А.[1,2], Донова М.В.[1,2]
[1]ООО «Фарминс»; [2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино; [3]МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

dariyazbn@gmail.com

Модификация биохимических путей катаболизма стеринов в актинобактериях является основой конструирования штаммов-продуцентов ценных стероидных прекурсоров [1]. Быстрорастущий сапротрофный штамм *Mycolicibacterium neoaurum* NRRL B-3805 полностью окисляет боковую цепь стеринов при С17 с накоплением андрост-4-ен-3,17-диона. Полногеномное секвенирование NRRL B-3805 [2] позволило идентифицировать ряд генов, предположительно участвующих в окислительной деградации боковой цепи стеринов, в том числе ген D174_24070, предположительно кодирующий β-гидроксиацил-КоА дегидрогеназу/редуктазу, относящуюся к семейству FabG-подобных белков. С целью установления функции D174_24070 проведён его направленный мутагенез у штамма *M. neoaurum* NRRL B-3805.

Для введения мутации на основе суицидного вектора pEX18Tc [3] сконструирована плазмида, содержащая делеционный вариант гена D174_24070 (666 п.о.) с окаймляющими последовательностями геномной ДНК, обеспечивающими эффективность гомологичной рекомбинации. Делецию в гене маркировали FRT-кассетой (Gm^ReGFP) из плазмиды pPS858 [3]. Введение рекомбинантной плазмиды pEXΔfabG-FRT в клетки M. neoaurum NRRL B-3805 проводили методом электропорации. В результате первичной селекции отобраны трансформанты с фенотипом $Suc^STc^RGm^R$, свидетельствующем об интеграции плазмиды в хромосому и образовании меродиплоидных клонов. На втором этапе отобраны $Suc^RTc^SGm^R$-клоны, в которых произошёл двойной обмен между мутантным и диким аллелями гена D174_24070. Наличие мутаций подтверждено методом ПЦР и секвенированием. Для комплементации мутации на основе челночного вектора *E. coli* – *Mycobacterium* pSMT3-MN получена плазмида, содержащая полноразмерную ОРС исследуемого гена под контролем промотора Hsp_{60}.

Полученные мутанты *M. neoaurum* NRRL B-3805ΔfabG накапливали продукты неполной деградации боковой цепи стеринов, содержащие 22 атома углерода в молекуле. Таким образом, установлено, что продукт гена D174_24070 необходим для окисления боковой цепи стеринов на уровне C_{22}-интермедиатов.

Работа выполнена в рамках международного проекта ЭРА КоБиоТех: Синтетическая биология для промышленного производства стероидов (акроним Syntheroids) при исключительной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (уникальный идентификатор проекта RFMEFI58818X0008).

Список литературы:

[1] Donova M.V. // Methods Mol. Biol., 2017, V. 1645, P. 1-13.
[2] Rodriguez-Garcia A. et al. // J. Biotechnol., 2016, V. 224, P. 64-65.
[3] Hoang T.T. et al. // Gene, 1998, V. 212, P. 77-86.

ВАКЦИНАЦИЯ ГЕМАГГЛЮТИНИН-СОДЕРЖАЩИМИ ВИРУСОПОДОБНЫМИ ЧАСТИЦАМИ (НА- ВПЧ) ЗАЩИЩАЕТ ЛЕГКИЕ МЫШЕЙ ОТ ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СУПЕРИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ: ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Карташова Н.П.[1], Глубокова Е.А.[1], Фалынскова И.Н.[1], Джалилова Д.Ш.[2], Ленёва И.А.[1]

[1]ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова, Москва; [2]ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

nadezdakartasova10571@gmail.com

Вирус гриппа – опасный возбудитель острых респираторных вирусных заболеваний, а основная причина смертности во время вспышек гриппа связана со вторичными бактериальным инфекциям. Противогриппозные вакцины - эффективное средство предотвращения вторичных бактериальных пневмоний, а создание вирусоподобных частиц (далее ВПЧ) - один из перспективных подходов, используемых в современной вирусологии.

Цель данной работы – изучение влияния ВПЧ, несущими гемагглютинин вируса гриппа, на состояние легких мышей при постгриппозной бактериальной пневмонии, вызванной *Streptococcus pneumoniae*.

Мышей BALB/c вакцинировали вирусоподобными частицами, содержащими гемагглютинин (далее НА), а через 21 день инфицировали вирусом гриппа A/PR/8/34 (H1N1) и через 5 дней после вирусного заражения S. pneumoniae. Контрольную группу животных иммунизировали частицами, не содержащими НА. Состояние легких оценивали по морфологическому состоянию, по вирусологическим (титр вируса в легких) и микробиологическим (содержание бактерий в легких) характеристиками и подтверждали клиническими данными (выживаемость, изменение массы тела).

При морфологическом исследовании легких всех мышей была выявлена бронхопневмония. У мышей контрольной группы бронхопневмония была обширная, а микроабсцессы - множественные. В легких вакцинированных мышей, бронхопневмония была очаговая, а микроабсцессы – единичные. По данным морфометрического исследования, в группе вакцинированных мышей относительная площадь воспалительных очагов была статистически значимо меньше относительной площади очагов воспаления в контрольной группе, а относительная площадь воздушных альвеол, наоборот, больше, что свидетельствуют о более легком протекании инфекционного процесса. Морфологическое состояние легких было подтверждено вирусологическими характеристиками (отсутствие вируса в легких вакцинированных мышей и его наличие у мышей контрольной группы), а также микробиологическими (содержание бактерий в легких мышей контрольной группе было выше, чем в группе вакцинированных) и клиническими данными (выживаемость вакцинированных мышей была выше, а снижение веса меньше).

Иммунизация ВПЧ, содержащими НА, уменьшает воспаление в легких, ингибируя размножение патогенов, что приводит к положительному исходу заболевания.

Работа выполнена при поддержке РНФ, международный грант № 18-45-05002. НА-ВЧП предоставлены руководителем австрийской стороны Miriam Klausberger (Department of Biotechnology, University of Natural Resources and Life Sciences,Vienna)

ОПТИМИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ ИНФЕКЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СКРИНИНГЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Карташова Н.П.[1], Глубокова Е.А.[1], Яровенко С.Ю.[1], Потемкин И.А.[1], Карлсен А.А.[1], Ленева И.А.[1], Кюрегян К.К.[1], Ряховский А.А.[2]
[1]ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва; [2]ЦВТ "ХимРар", Химки, Россия

svetyalana@gmail.com

Хронический гепатит В (ХГВ) является широко распространённой инфекцией. По оценкам ВОЗ количество больных ХГВ на 2015 год в мире достигло 257 млн. человек, а смертность от этого заболевания ежегодно составляет 800-900 тысяч. Существующие противовирусные терапии, направленные на лечение ХГВ, не позволяют добиться полного излечения от гепатита В. Поэтому большинство пациентов вынуждены принимать лечение в течение всей жизни. Разработка новых лекарственных препаратов от вируса гепатита В (ВГВ) затруднена из-за ограниченной доступности экспериментальных моделей ввиду ткане- и видоспецифичности вируса. Разработка и оптимизация клеточной модели инфекции значительно бы ускорила скорость поиска соединений, направленных против ВГВ.

В данной работе была проведена оптимизация модели инфекции ВГВ, включающая в себя стадию получение вирусного препарата с помощью линии гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2-AD38, а также заражение клеток гепатомы, чувствительных к инфекции ВГВ (HepG2-NTCP). Количество ВГВ определялось ПЦР в реальном времени, а уровень заражения оценивался с помощью ИФА на количество HBeAg.

В результате была показана эффективная продукция ВГВ клетками HepG2-AD38, начиная с 17 дня сбора культуральной жидкости. При этом увеличение времени инкубирования вплоть до двух месяцев не приводило к снижению продукции вируса. Полученные сконцентрированные образцы обладали способностью инфицировать HepG2-NTCP, что подтверждалось наличием HBeAg в заражённых лунках. При этом наблюдалась прямая дозовая зависимость концентрации HBeAg как от количества внесенного вирусного препарата, так и времени инкубации инфекции. Помимо этого была установлены минимальные эффективные концентрации препарата ВГВ ($2{,}1x10^5$ и $4{,}2x10^5$ копий вируса на 6 тысяч клеток в лунке) и оптимальное время для развития инфекции (7 дней). Также было обнаружено, что заражение ВГВ в суспензию клеток HepG2-NTCP по эффетивности сопоставимо с заражением в монослой клеток. Использование данного наблюдения, а также оптимизированных условий позволяет сократить необходимое время, а также повысить эффективность тестирования потенциально активных соединений на данной системе.

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ ФЕТАЛЬНОГО ТИМУСА НА АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ И НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ

Кахоров Б.А., Бобокулова Н.Н. қизи, Мажидова К.А. қизи
Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека, Ташкент,Узбекистан

qaxorov@mail.ru

Экстракты тимуса, в т.ч. тимозин используют при лечении раковых, аутоиммунных заболеваний, многих хронических инфекционных процессов. Важнейшим механизмом действия тимических пептидов является усиление функциональной активности Т-

лимфоцитов, однако многоэтапный процесс развития иммунной реакции включает активацию не только клеточных, но и гуморальных факторов иммунитета, способствуя усилению продукции специфических антител, цитокинов, факторов воспаления и др.

Материалом для исследования бластогенеза лимфоцитов служили мононуклеары периферической крови 32 больных хроническим вирусным гепатитом В в возрасте 20-49 лет. В опытные образцы к лимфоцитам (1 млн/мл) добавляли модифицированные и не модифицированные пептиды в конечной концентрации 0,01 мкг/мл. Планшет инкубировали при 37°С - 1 час, после чего вносили в лунки соответствующий митоген. В контрольные образцы лимфоцитов добавляли только митоген. При изучении спонтанной бласттрансформации лимфоцитов митоген не использовали. Через 48 часов в образцы вносили 3Н-тимидин в концентрации 1 мкКюри/мл. Результаты реакции учитывали через 72 часа после начала культивирования.

Было установлено, что среднее значение спонтанной РБТЛ у больных гепатитом в контрольной группе 1 (без инкубации с митогеном и иммуномодулином) составляло 280±14 имп/мин с размахом индивидуальных колебаний от 153 до 404 имп/мин. В присутствии иммуномодулина (контроль 2) показатели спонтанного бластогенеза достоверно увеличились в среднем по группе до 351 ±26 имп/мин с размахом индивидуальных колебаний от 207 до 673 имп/мин. Индекс воздействия препарата на спонтанную РБТЛ составил +25,3% ($P<0,05$). Введение в культуру модифицированного цинком пептида повышало показатели спонтанной трансформации Т-лимфоцитов в среднем до 415±36 имп/мин. С размахом индивидуальных колебаний от 248 до 650 имп/мин. Индекс воздействия препарата на спонтанную РБТЛ составил +48% ($P<0,05$ с контролем 2 и $P<0,001$ с контролем 1).

Следовательно, модифицированный иммуномодулин оказал достоверное стимулирующее влияние на ФГА - индуцированную бластную трансформацию Т-лимфоцитов. Таким образом, отмечен костимулирующий эффект модифицированного иммуномодулина на ФГА-индуцированный пролиферативный ответ Т- лимфоцитов.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ

Козицын А.Е., Сидорова Т.М., Асатурова А.М.
ФГБНУ ВНИИ Биологической защиты растений, Краснодар, Россия

KozicinAlexander@gmail.com

Целью работы являлась оптимизация и масштабирование процесса культивирования штаммов-продуцентов антигрибных соединений бактерий *Bacillus subtilis* BZR 336g и *B. subtilis* BZR 517, перспективных агентов для защиты растений от экономически значимых заболеваний, вызываемых фитопатогенными грибами.

В ходе работы подбирались оптимальные параметры глубинного культивирования штаммов в пилотных биореакторах по следующим параметрам: температура культивирования, оптимальная кислотность питательной среды, оптимальная степень аэрации. Так же исследовалась динамика синтеза антигрибных соединений и ростовых характеристик штамма *B. subtilis* BZR 336g при 32 последовательных пересевах в течение 10 месяцев поддержания культуры.

В качестве объектов исследования использовались перспективные бактериальные штаммы из БРК «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» ФГБНУ ВНИИБЗР: *B. subtilis* BZR 336g, *B. subtilis* BZR 517, а также тест-культуры фитопатогенных грибов *Fusarium graminearum* Schwabe и *F. oxysporum* var. orthoceras App. et Wr., *Venturia inaequalis*.

В ходе исследования устанавливалась оптимальная температура культивирования штаммов *B. subtilis* BZR 336g и *B. subtilis* BZR 517 в пилотном биореакторе. Наилучшие ростовые характеристики продемонстрировали образцы, культивированные при температуре +25°С.

Определялась степень влияния аэрации в процессе культивирования штаммов *B. subtilis* BZR 336g и *B. subtilis* BZR 517 в условиях пилотных биореакторов. Для всех исследуемых штаммов наиболее оптимальный расход проходящего через культуру стерильного воздуха составил 0,6 $м^3$/ч, при этом расходе было зафиксировано как наибольшее количество жизнеспособных клеток, так и максимальная антифунгальная активность.

Исследовался оптимальный водородный показатель для штаммов *B. subtilis* BZR 336g и *B. subtilis* BZR 517. Оптимум pH находился в диапазоне от 7 до 8. В данном диапазоне кислотности наблюдалось наибольшее количество жизнеспособных клеток по окончанию цикла пилотного культивирования.

Определялся синтез антигрибных соединений и количество колоний образующих единиц штамма *B. subtilis* BZR 336g при 32 последовательных пересевах в течение 10 месяцев обновления культуры исследуемого штамма. У штамма *B. subtilis* BZR 336g не обнаружено тенденции к вырождению культуры и снижению синтеза антигрибных соединений в процессе многократного пересева культуры на богатых питательных средах в лабораторных условиях.

РАЗРАБОТКА НАНОРАЗМЕРНЫХ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ОКСИДА ГАФНИЯ

Колманович Д.Д.[1], Попова Н.Р. [1], Таран Г.О. [2], Попов А.Л. [1], Иванов В.К. [2]
[1] ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино;
[2]ФГБУН Институт общей и неорганической химии Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

kdd100996@mail.ru

Одним из наиболее успешных методов лечения онкологических заболеваний является лучевая терапия. Несмотря на широкое использование рентгеновского и гамма-излучения для терапии онкологических заболеваний, данный подход имеет ряд ограничения, недостаточную эффективность и ряд побочных эффектов. На сегодняшний день основной тенденцией развития технологий лучевой терапии является использование новых источников излучения (ионы углерода, протоны, нейтроны и т.д.), которые обладают более высокой эффективностью и точностью воздействия, что значительно снижает побочные эффекты облучения. Однако создание линейных ускорителей протонов или генераторов нейтронов требует больших капиталовложений, что ограничивает возможность массового использования и масштабирования данной технологии.

Еще одним подходом к совершенствованию лучевой терапии является использование радиосенсибилизаторов, веществ способных эффективно поглощать излучение и, используя накопленную энергию, многократно усиливать эффект воздействия. Хорошими кандидатами для синтеза таких соединений являются highZ-элементы, в частности гафний. Однако для повышения эффективности также существует необходимость адресной доставки таких соединений непосредственно в зону опухолевого роста.

Нами был синтезирован нанокомпозит на основе нанокристаллического оксида гафния, функционализированного рибофлавин мононуклеотидом. Выбор функционального агента обоснован тем, что некоторые виды опухоли, такие как

плоскоклеточный рак легкого или рак груди гиперэкспрессируют белки-транспортеры рибофлавина.

Проведенный анализ радиосенсибилизирующих свойств накомпозита на культурах нормальных (линия NCTCL929) и трансформированных (линия MCF-7) выявил ярко выраженный эффект селективного действия такого композита на раковые клетки, снижая их жизнеспособность более чем на 50% в концентрации по данным МТТ-теста. Анализ количества жизнеспособных клеток с помощью флуоресцентных красителей подтвердил наличие большого количества мертвых клеток после облучения рентгеновским излучением в дозе 15 Гр. Таким образом, результаты исследований *invitro* подтверждают перспективность использования данного органо-неорганического нанокомпозита в качестве таргетного радиосенсибилизатора.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук № МК-518.2019.3.

ОПТИМИЗАЦИЯ МОДЕЛИ ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС SD

Кондрахина А.Е.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино; [2] Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия

kondrahina.alexandra@mail.ru

Проблема повышения устойчивости сердца к действию ишемии и реперфузии является одной из наиболее важных задач современной кардиологии, экспериментальной и клинической фармакологии. Актуальным является поиск препаратов, предупреждающих развитие ишемических и реперфузионных повреждений при инфаркте миокарда. Целью данной работы явилась оптимизация модели инфаркта миокарда. Развитие экспериментального инфаркта миокарда у крыс вызывали окклюзией нисходящей ветви левой коронарной артерии методу Г. Селье. Протокол исследования включал 3 серии экспериментов. В первой серии у животных проводили окклюзию левой коронарной артерии без последующей ее реперфузии (последующим возобновлением коронарной перфузии). Продолжительность окклюзионного периода в группах была различной и составляла 25, 40, 60 и 120 минут. Во второй серии были выполнены опыты окклюзии-реперфузии с 25-минутным периодом ишемии и различной продолжительностью реперфузионного периода - 5, 15, 30, 60 и 120 минут соответственно. В третьей серии продолжительность окклюзии составляла 25 и 40 минут, а продолжительность реперфузионного периода – 120 минут. Анализ зоны инфаркта при 25, 40, 60 и 120 минутной продолжительности окклюзионного периода без наличия реперфузии выявил незначительную гибель кардиомиоцитов в зоне риска, и составил 8,9±1,6%, 5,3±1,1%, 10,6±1,9% и 15,7±3,3% соответственно. Анализ зоны инфаркта при 25-минутной окклюзии с различной продолжительностью реперфузионного периода показал, что длительная реперфузия оказывает значительное влияние на увеличение зоны инфаркта. Если при 5, 15, 30 и 60 минутах она составляла 16,3±4,4%, 27,4±6,6%, 26,1±2,6%, 33,0±5.8% соответственно, то при 120 минутах она достигала 42,9±2,7%. Анализ зоны инфаркта по третьей серии экспериментов показал, что при ишемии 25 и 40 минут со 120-минутной реперфузией, зона инфаркта составляет 42,9±2,7% и 55,2±2,5% соответственно. Следовательно, при остром инфаркте миокарда у крыс CD гибель кардиомиоцитов в большей степени происходит не в период острой ишемии, а в реперфузионном периоде, что необходимо учитывать при интерпретации результатов оценки кардиопротекторных

свойств препаратов. Таким образом, удалось установить, что продолжительность реперфузионного периода не влияет на размер зоны инфаркта, тем не менее наличие данного периода необходимо для тестирования эффективности различных терапевтических подходов для уменьшения ишемических повреждений.

ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ ИБУПРОФЕН И ЛАКТОФЕРРИН СНИЖАЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кочеткова О.Ю., Кобякова М.И., Антонова О.Ю.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

The-kocha@rambler.ru

Биодеградируемые гибридные микрокапсулы (гПЭМК) были получены в результате модификации методов гелеобразования *in situ* и методики layer-by-layer (LbL). В качестве биодеградируемых полиэлектролитов были использованы: декстрана сульфат, поли-L-аргинин; в качестве носителей для гидрофобных молекул (красный нил (NR) и ибупрофен (IBU)): PLGA, CGP (сополимер хитозана и полимолочной кислоты), OLL и OLD (олиго-L/D-лактид). Исследование эффективности загрузки NR в гидрофобный слой показало, что максимальное количество (60%) включалось в гПЭМК, имеющие в составе OLL. При использовании PLGA, CGP и OLD процент включения NR составлял до 40%. Независимо от состава полиэлектролитной оболочки, гибридные микрокапсулы демонстрировали высокую стабильность при хранении.

Исследование ультраструктурной организации биодеградируемых гПЭМК методом просвечивающей электронной микроскопии показало, что микрокапсулы со структурой PLGA/CGP/OLL/OLD$(PAr/DS)_2$ не имеют регулярной оболочки. Образующийся гидрофобный слой хорошо различим, что подтверждается результатами включения NR.

Было проведено исследование влияние инкапсулированных ибупрофена и лактоферрина (ЛФ) на окислительный стресс у фагоцитов млекопитающих. Ибупрофен и Лактоферрин инкапсулировали в микрокапсулы имеющие структуру OLL $(PAr/DS)_2$. Полученные результаты показали, что 16 часов инкубация нейтрофилов человека с гПЭМК в присутствии ЛПС приводила к значительному снижению продукции АФК в клетках (~ 50%) по сравнению с контролем. Исследование влияния инкапсулированных IBU и ЛФ на ЛПС индуцированную продукцию NO у перинеальных макрофагов крыс, так же показало значительное снижения генерации. Так же было показано что, комбинация двух противовоспалительных агентов IBU и ЛФ, показывала защитный эффект, сравнимый с действием не инкапсулированного IBU и ЛФ, снижая уровень ЛПС-индуцируемой продукции TNF-α до 38 пг/мл.

Полученные результаты демонстрируют эффективность и перспективы использования полученных гПЭМК для совместной доставки противоспалительных препаратов разной природы для комплексной терапии.

Работа выполнена при поддержке РФФИ мол_а 18-315-00429\19.

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ S-15176 НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ КРОВИ МЫШЕЙ С ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Лебедева Е.А.[1], Старинец В.С.[1], Дробот Г.П.[1], Белослудцева Н.В.[2], Белослудцев К.Н.[1,2]
[1]ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола; [2]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

ekaterina.lebedeva.1999@mail.ru

Среди эндокринных заболеваний сахарный диабет 2 типа (СД2) считается самой распространенной патологией в мире. Он характеризуется нарушениями функционирования β-клеток поджелудочной железы, резистентностью к инсулину и усиленной на этом фоне гипергликемией.

Известно, что на фоне данного заболевания и сопутствующих ему воспалительных процессов наблюдаются изменения в клеточном составе крови. Прежде всего под влиянием патологии наблюдается увеличение уровня моноцитов, которые играют важную роль в процессинге и представлении антигенов лимфоцитам в ходе клеточных и гуморальных иммунных реакций и способствуют координации сложных взаимодействий в интегрированном иммунном ответе. Также наблюдается увеличение доли базофилов.

Одним из способов коррекции СД2 является снижение активности карнитин пальмитоил-трансферазы 1 (CPT1). Недавно был синтезирован новый ингибитор данного фермента является соединение S-15176. Помимо влияния на CPT1, S-15176 является антиоксидантом, разобщителем и ингибитором митохондриальной поры. В настоящей работе было исследовано, как данное соединение влияет на изменения лейкоцитарного состава крови.

Сахарный диабет II типа был смоделирован у мышей линии C57BL/6 посредством использования высокожирового питания (около 60% калорийности) в течение месяца с последующим введением малых доз стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг (в течение 5 дней). После этого, в течение 2 недель производилась терапия больных мышей с помощью S-15176 в дозе 1 мг/кг веса. Введение данного препарата не привело к снижению уровня сахара в крови больных мышей. Вместе с тем, установлено, что исследуемый препарат приближает лейкоцитарный состав крови (уровень моноцитов и лимфоцитов) при диабете к референсным значениям. Однако, при введении S-15176 здоровым мышам, значения лейкоцитарной формулы крови сильно отклоняются от нормы. Наблюдается моноцитоз, нейтрофилия и лимфопения. Таким образом, S-15176 влияет на индуцированный сахарный диабет, возвращая некоторые параметры крови, в частности структуру лейкоцитарной формулы, к норме. В то же время, данное соединение негативно влияет на здоровый организм. Обсуждаются механизмы действия S-15176 на изменения лейкоцитарной формулы крови у диабетических и здоровых животных.

Работа поддержана грантами РФФИ (19-015-00117_а и 19-315-50032 мол_нр).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИИ H828Q В МЕДЬ-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕЙ АТФАЗЕ C. ELEGANS CUA-1 НА ИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ИОНАМ МЕДИ

Мехова А.А.[1], Catalano F.[2], Орлов Ю.А.[3,4]

[1]ФГАОУ ВОСанкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; [2]TIGEM; [3]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург; [4]ФГБОУ ВО РГПУ им. А.И.Герцена, Санкт-Петербург, Россия

alex.mekhova@gmail.com

Медь (Cu) в качестве каталитического и структурного кофактора необходима жизненно важным ферментам. Также она участвует в контроле транскрипции, сигналинга, неоваскуляризации и нейротрансмиссии. Однако свободные ионы Cu провоцируют образование активных форм кислорода по механизму реакции Фентона. Это несоответствие разрешается работой метаболической системы меди (МСМ), участники которой связывают Cu в координационных сферах и передают их друг другу в ходе прямых белок-белковых взаимодействий. С врожденными дефектами МСМ связан ряд наследственных заболеваний человека, из которых самой распространенной является болезнь Вильсона (БВ), характеризующаяся накоплением токсичной Cu в печени и мозге, приводящей к циррозу и нейродегенерации. За развитие БВ ответственны мутации в гене ATP7B, которые фенотипически проявляются в снижении содержания церулоплазмина в сыворотке крови, и нарушенной экскреции Cu через желчь. Наиболее частая (>50%) замена в ATP7B у европейской популяции - H1069Q, локализованная в эволюционно консервативном нуклеотид связывающем сайте. Кроме того, известно, что гетерозиготное носительство гена БВ может стать причиной развития болезни Паркинсона. Учитывая роль дефектов гена ATP7B в развитии нейродегенеративных заболеваний, актуально создание животных моделей для изучения особенностей метаболизма Cu при нарушениях его работы. Такой моделью может быть нематода *C. elegans*, продукт гена CUA-1 которой гомологичен ATP7B человека по доменной организации, а остаток H828 в нём – функциональный аналог H1069. Цель работы - характеристика фенотипа *C. elegans* H828Q (H828Q), полученных из IBBR-CNR (Неаполь, Италия), и изучение роли CUA-1 в поддержании гомеостаза Cu. В работе нематод культивировали на средах с различными концентрациями Cu (0-100 мкМ). Все эксперименты повторены несколько раз, для получения адекватной статистической выборки. Показано, что при физиологических концентрациях Cu, фенотип H828Q не отличается от дикого. При поступательном повышении концентрации Cu в среде у H828Q, по сравнению с диким штаммом замедляется скорость развития личинок, падает двигательная активность, снижаются продолжительность жизни и объём яйцекладки. При всех рассмотренных концентрациях Cu, мутантный штамм накапливал достоверно больше Cu. Таким образом, исследованные нематоды демонстрируют фенотип БВ, выражающийся в повышенной аккумуляции Cu и сниженных физиологических параметрах в условиях её избытка. Работа поддержана РФФИ N18-515-7811, Итал_т.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ САХАРНОГО ДИАБЕТА ТИПА 2, ИНДУЦИРОВАННАЯ У МЫШЕЙ C57BL ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТОЙ

Михайлов Е.С.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино;
[2]Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия

mikhaylov@bibch.ru

Актуальной проблемой современной фармакологии продолжает оставаться разработка антидиабетических препаратов, важнейшим этапом при создании и изучении которых является использование экспериментальных моделей сахарного диабета, позволяющих достоверно выявлять наличие фармакологической активности лекарственных средств.

Целью данной работы являлось создание адекватной биомодели, пригодной для исследования веществ, обладающих антидиабетическим потенциалом.

В исследовании использовались самцы мышей линии C57BL/6J, возрастом 7-8 недель и массой тела к началу исследования ~ 21 г. Экспериментальную модель сахарного диабета 2 типа индуцировали путем содержания животных на высокожировой диете (ВЖД) в течение 12 недель общей калорийностью 516 ккал/100 г. Контролем служила группа, содержащаяся на стандартной диете калорийностью 306 ккал/100г. На протяжении эксперимента у всех животных регистрировали массу тела. На 6-ой и 12-ой неделе определяли концентрацию глюкозы в крови. На 12-ой неделе исследования проводили тест на толерантность к глюкозе. В конце исследования животных подвергали некропсии, осматривали органы брюшной полости, из нижней полой вены забирали кровь на биохимический и иммуноферментный анализ, извлекали и взвешивали жировую ткань, окружающую придатки семенников.

Масса тела животных на ВЖД увеличилась в среднем на 40%, тогда как в контрольной группе прибавка массы тела относительно исходных значений составила 21%.

Также в группе на ВЖД наблюдалась достоверная гипергликемия относительно контрольной группы. При выполнении глюкозотолерантного теста у животных на ВЖД наблюдалось нарушение метаболизма глюкозы. Биохимический анализ показал значительное увеличение уровня холестерина и триглицеридов относительно контрольной группы. Масса жировой ткани у животных на ВЖД достоверно превышала массу жировой ткани у животных контрольной группы.

В результате проведенного исследования была сформирована биомодель сахарного диабета 2 типа. Данная модель может быть применена для изучения фармакологической активности антидиабетических препаратов и разработки стратегий для лечения сахарного диабета 2 типа.

ПРИРОДНАЯ СТРУКТУРА КАРДИОМАРКЕРА SST2 ЯВЛЯЕТСЯ ОПРЕДЕЛЯЮЩИМ УСЛОВИЕМ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Михеева О.О.[1], Домогатский С.П.[2], Ефремов Е.Е.[2], Есипов Р.С.[1]
[1]ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; [2]ФГБУ НМИЦ кардиологии министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

olga.mikheeva.92@mail.ru, esipov@ibch.ru

Сердечной недостаточностью страдает примерно 23 миллиона человек во всем мире. Применяемые на данный момент клинико-инструментальные методы обследования не дают полной информации о прогнозе и риске больного сердечной недостаточностью, поэтому ранняя диагностика этого заболевания имеет важное значение. Введение в клиническую практику биомаркеров, отражающих различные патофизиологические процессы, значительно расширяют возможности в стратификации риска. На данный момент высокоспецифичным кардиомаркером для диагностики сердечной недостаточности является sST2 – член семейства рецепторов интерлейкина-1 (IL-1). Доказано, что концентрация sST2 находится в прямой зависимости от тяжести заболевания, повышается задолго до возникновения болезни и не зависит от физиологических показателей. Поэтому диагностика sST2 у больных сердечной недостаточностью имеет клиническое и прогностическое значение.

Синтез гена был осуществлен химико-ферментативным способом с использованием частично-перекрывающихся олигонуклеотидов. Синтезированный ген был клонирован в плазмидные вектора для экспрессии в клетках *E.coli* и *K.lactis*. На основе белка sST2, выделенного из клеток *E.coli* были получены моноклональные антитела с использованием стандартной гибридомной технологии. Оба белка sST2 были протестированы с помощью вестерн-блоттинга при использовании коммерческих поликлональных антител Rabbit IgG ST2 polyclonal antibody (Thermo Fisher, США). Коммерческие поликлональные антитела обладали аффинностью и к sST2, выделенным из *E.coli,* и из *K.lactis*. При тестировании созданных моноклональных антител против sST2, выделенного из *E.coli* на сыворотках крови больных с помощью иммуноферментного анализа связывания антител не наблюдалось, хотя эти сыворотки предварительно были протестированы с помощью набора Presage® ST2 Assay EIA Test Kit (Critical Diagnostics), который в настоящее время является золотым стандартом в лабораторной практике для определения sST2 у больных сердечной недостаточностью. После иммунизации животных моноклональные антитела к sST2, полученного при использовании прокариотической системы экспрессии, тестировали с помощью вестерн-блоттинга на способность реагировать как с sST2 из *E.coli*, так и из *K.lactis*. Моноклональные антитела обладали аффинностью только к sST2, полученным из клеток *E.coli*, но не к sST2, полученным с помощью дрожжевой системы экспрессии. На основании этого можно сделать вывод, что получение кардиомаркера sST2 с помощью эукариотической системы экспрессии является необходимым условием для успешного создания тест-системы для диагностики сердечной недостаточности.

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ADAMTS1, RBFOX2, THBS1 И WHSC1 КАК МАРКЕР ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Мурашкина А.А.[1], Савченко Р.Р.[2], Васильев С.А.[2]
[1]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск; [2]ФГБНУ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия

anastasiya.murashkina.97@mail.ru

Изучение генов, определяющих индивидуальную радиочувствительность, – важная задача в современной лучевой терапии. Целью настоящего исследования стал анализ взаимосвязи между экспрессией генов ADAMTS1, RBFOX2, THBS1, WHSC1 и частотой микроядер в лимфоцитах периферической крови человека после воздействия ионизирующего излучения в условиях *in vitro*.

Материалом являлись лимфоциты периферической крови здоровых индивидов (20 мужчин в возрасте 32,80 ± 9,69 лет и 38 женщин в возрасте 37,42 ± 14,22 лет). Для каждого индивида частота микроядер оценивалась в 1000 двухъядерных клеток. Уровень микроядер оценивали с помощью FISH с панцентромерными ДНК-зондами, уровень экспрессии генов – с помощью ПЦР в реальном времени. Часть клеток подвергали воздействию γ-излучения ^{60}Co в дозе 2 Гр, другая часть была контрольной.

В необлученных клетках частота центромеро-позитивных микроядер была значимо выше у мужчин, чем у женщин (4,3 ± 4,1 ‰ против 1,4 ± 1,6 ‰, p = 0,006). В облученных клетках, наоборот, у мужчин была значимо ниже по сравнению с женщинами частота центромеро-негативных микроядер (63,9 ± 25,4 ‰ против 81,1 ± 23,6 ‰, p = 0,022) и суммарная частота микроядер (65,4 ± 25,8 ‰ против 82,4 ± 23,8 ‰, p = 0,027).

По уровню экспрессии между мужчинами и женщинами значимо отличался только ген RBFOX2: у женщин ниже в среднем в 1,3 раза по сравнению с мужчинами (p = 0,006).

В необлученных клетках с частотой центромеро-негативных микроядер уровень экспрессии гена ADAMTS1 значимо коррелировал только у мужчин (R = -0,52, p = 0,033). Частота центромеро-позитивных микроядер значимо коррелировала с уровнем экспрессии гена THBS1 у мужчин (R = -0,59, p = 0,027) и WHSC1 у женщин (R = -0,37, p = 0,032). После облучения оставалась значимой корреляция между уровнем экспрессии гена THBS1 и частотой центромеро-позитивных микроядер у мужчин (R = -0,53, p = 0,033). Она же сохранялась и в объединенной группе мужчин и женщин (R = -0,40, p = 0,010).

Анализ с помощью логистической регрессии показал, что на основе уровней экспрессии всех четырех анализируемых генов можно построить модель, позволяющую выделить группу индивидов с наибольшей суммарной частотой радиационно-индуцированных микроядер (выше верхнего квартиля).

Таким образом, использование уровней экспрессии всех четырех генов позволяет классифицировать исследуемую выборку индивидов по частоте микроядер и, следовательно, – индивидуальной радиочувствительности лимфоцитов периферической крови *in vitro*.

Исследование выполнено при поддержке Гранта Президента РФ № МК-5944.2018.4.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТОК ЯИЧНИКОВ И ГЕПАТОПАНКРЕАСА ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД IN VITRO

Назарова А.А., Гурков А.Н., Верещагина К.П., Щапова Е.П., Тимофеев М.А.
ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

annazarova1995@gmail.com

Озеро Байкал - это крупнейший пресноводный водоём, населённый разнообразной фауной беспозвоночных с высоким уровнем эндемизма, в которой особое место занимают эндемичные амфиподы (*Amphipoda, Crustacea*). Первичные клеточные культуры являются важным инструментом для детального изучения молекулярных основ функционирования любого многоклеточного организма, однако, несмотря на уникальные свойства байкальских амфипод, их высокое разнообразие и важность для экосистемы Байкала, работ по получению их клеточных культур практически не проводилось.

Целью данного исследования являлась отработка методик содержания в первичной культуре клеток гепатопанкреаса и яичников эндемичного вида амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858), типичного обитателя литорали Байкала. Выделение клеток яичников проводили эксплантационным методом, а клеток гепатопанкреаса - методом ферментативной дезагрегации с использованием 0,25%-ного раствора трипсина в течение 15 минут. Для содержания клеток были протестированы питательные среды на основе среды Лейбовича (L-15), двойной среды Лейбовича (2L-15) или среды Грейса. Каждую из этих сред тестировали как непосредственно, так и с добавлением 5%, 10% или 15% фетальной бычьей сыворотки (ФБС). Оценку выживаемости клеток яичников проводили через 4 часа инкубации, а клеток гепатопанкреаса через сутки инкубации с помощью окрашивания 0,4%-ным трипановым синим.

Было выявлено, что выживаемость клеток яичников в питательных средах на основе базовой среды L-15 (как с добавлением, так и без добавления ФБС) в среднем составляла 60%, что оказалось выше по сравнению со средами на основе 2L-15 (50%) и среды Грейса (30%), а наибольшее значение наблюдали при комбинации L-15 с 10% ФБС. В случае гепатопанкреаса в средах L-15 и 2L-15 с разными концентрациями ФБС средняя выживаемость клеток не превышала 80%. В среде Грейса с добавлением 15% ФБС выживаемость клеток гепатопанкреаса составила в среднем 45%, с добавлением 5% ФБС - 65%, тогда как при добавлении 10% ФБС средняя выживаемость клеток достигла 90%, что является наибольшим значением для всех проверенных вариантов питательных сред. Таким образом, на основании полученных результатов для содержания клеток яичников и гепатопанкреаса байкальских амфипод следует рекомендовать применения соответственно среды Лейбовича и среды Грейса при комбинации каждой из них с 10% ФБС.

Настоящее исследование проведено при поддержке гранта РФФИ (№ 19-54-04008), а также гранта для научно-исследовательской работы аспирантов и молодых сотрудников ИГУ (№ 091-19-235, руководитель Назарова А.А.).

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА ФИЦИНА С НАНОЧАСТИЦАМИ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНОГО И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНОВ

Ольшанникова С.С., Щербатых М.С., Коньшина Ю.И., Редько Ю.А., Панкова С.М., Нехаев И.С., Сакибаев Ф.А., Королева В.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.
ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

olshannikovas@gmail.com

С каждым годом возрастает интерес к созданию комплексов фермента с нерастворимыми полимерами. Благодаря биосовместимости, высокой биологической активности хитозан является перспективным полимером.

Фицин (КФ 3.4.22.3) – протеолитический фермент, выделенный из плодов и листьев растений рода *Ficus.* Энзим проявляет активность в широком диапазоне значений pH (6.5-9.5).

Целью нашего исследования было получение комплексов фицина с наночастицами хитозана без и с добавлением аскорбиновой кислоты для дальнейшего применения в биомедицине и ветеринарии.

В качестве объекта исследования был выбран фицин (Sigma), субстратом для гидролиза служил азоказеин (Sigma), наночастицы получали из кислоторастворимого среднемолекулярного (200 кДа) и высокомолекулярного (350 кДа) хитозанов, синтезированных ЗАО «Биопрогресс».

Получение наночастиц хитозана осуществляли следующим образом: 300 мг хитозана растворяли в 100 мл 0.3% раствора уксусной кислоты при механическом перемешивании, далее добавляли 3% раствор NaOH со скоростью 5 мл/мин при постоянном перемешивании до образования осадка белого цвета и значения pH выше 11. Раствор пропускали через фильтр (размер пор 0.45 мкм), фильтрат промывали дистиллированной водой до нейтрального значения pH раствора, на который воздействовали ультразвуком на дезинтеграторе Qsonica Sonicators (Япония) в течение 5 мин (20 кГц). При синтезе наночастиц хитозана с аскорбиновой кислотой в методику была внесена следующая модификация: после раствора уксусной кислоты в систему добавляли 50 мг аскорбиновой кислоты.

Размеры наночастиц измеряли на приборе Nano Zetasizer ZS (Malvern Instruments, США). Обратный рассеянный свет от He/Ne-лазера мощностью 4 мВт (632.8 нм) собирали под углом 173ºC.

Комплекс фицина и наночастиц хитозана получали следующим образом: раствор фицина (2мг/мл в 50 мМ глициновом буфере, pH 10.0) смешивали в равных объемах с раствором наночастиц хитозана и выдерживали при комнатной температуре в течение 2 ч.

Стабильность комплексов фермента и наночастиц оценивали при 37ºC в течение 7 суток с последующим измерением ферментативной активности через определенные промежутки времени (0, 1, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144 и 168 ч). Каталитическую активность фицина измеряли спектрофотометрически по количеству окрашенного продукта реакции в результате расщепления азоказеина.

В ходе выполнения эксперимента по определению стабильности фицина в комплексе с наночастицами наблюдалось снижение активности комплекса в течение семи дней. Комплекс наночастиц и фицина с добавлением аскорбиновой кислоты показал более высокий уровень активности фермента. Исследования проведены при финансовой поддержке программы «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («УМНИК») Федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Фонд содействия инновациям)». Договор (Соглашение) № 14421ГУ/2019.

О РЕГЕНЕРАЦИИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР КЛЕЩЕВИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ РАЗНЫХ СОРТОВ ЗАНЗИБАР ГРИН И ИМПАЛА БРОНЗОВАЯ

Петров Н.Р.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

nikolas-1997@mail.ru

Клещевина (*Ricinus Communis* L.) является технической культурой, из которой получают касторовое масло. Отходы масличного производства богаты протетном. Однако содержащиеся в них токсины ограничивают производство кормовых добавок из клещевины. Детоксификация данных ядов проводят путем термических обработок, ухудшающих качество белка. Необходим поиск новых путей детоксификации. Перспективным является использование технологии геномного редактирования CRISPR/Cas9. Данная работа представляет собой часть реализации этой технологии, и заключается в оптимизации методов регенерации тканей клещевины *in vitro*.

В качестве экспланов использовались гипокотили, черешки и пластинки семядольных листьев двух сортов клещевины – Занзибар Грин и Импала Бронзовая. Культивация проводилась на питательных средах (MS) с добавлением регуляторов роста: 1) 1 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК, 2) 2 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК, 3) 0,25 мг/л ТДЗ/0,1 мг/л ИУК, 4) 0,5 мг/л ТДЗ/0,1 мг/л ИУК, 5) 2,5 мг/л 6-БАП/0,1 мг/л ИУК, 6) 5 мг/л 6-БАП/0,1 мг/л ИУК. Опыт проводился в 3-кратной повторности.

Было выявлено, что при культивировании эксплантов с разными регуляторами роста на 6-7 сутки в местах срезов гипокотилей и черешков появлялись каллусные ткани. В вариантах с пластинками семядольных листьев каллусообразование наблюдалось на нижней поверхности. Средняя частота калусообразования на гипокотилях составляла 90-100%, на семядолях – 70-90%, на черешках – 50-60%.

На 11-13 сутки у черешков и гипокотилей начиналась регенерация. На средах 1 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК и 2 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК частота регенерации у черешков сорта Импала Бронзовая составляла 30-50%. На средах 0,25 мг/л ТДЗ/0,1 мг/л ИУК частота регенерации варьировала в пределах 20-30%, при этом на средах с концентрацией 0,5 мг/л ТДЗ/0,1 мг/л ИУК наблюдалось снижение до 10%. Частота регенерации на средах 2,5 мг/л 6-БАП/0,1 мг/л ИУК колебалась в пределах 10-20%.

Частота регенерации у черешков сорта Занзибар Грин на средах 1 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК и 2 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК в среднем составляла 10-20%. На средах 0,25 мг/л ТДЗ/0,1 мг/л ИУК и 2,5 мг/л 6-БАП/0,1 мг/л ИУК значение данного показателя не превышало 10%.

В вариантах с использованием в качестве эксплантов гипокотилей регенерация была получена на средах 1 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК и 2 мг/л Зеатин/0,1 мг/л ИУК и составляла 10% у обоих сортов. На пластинках семядольных листьев регенерации выявлено не было.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, проект № 19-76-00040 «Создание перспективного материала для селекции клещевины на отсутствие рицина».

МЕТАБОЛИЗМ ТОКСИЧНЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ РОДОКОККАМИ

Поливцева В.П.[1], Иминова Л.Р.[2], Анохина Т.О.[1], Есикова Т.З.[1], Пунтус И.Ф.[1], Соляникова И.П.[1]

[1]ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН; [2]ПущГени, Пущино, Россия

uzdleila90@gmail.com

В настоящее время важной биотехнологической задачей является очистка стоков и обезвреживание отходов нефтеперерабатывающих и нефтехимических предприятий. Одним из путей решения этих проблем является использование биопрепаратов на основе высокоэффективных и устойчивых к воздействиям неблагоприятных факторов микроорганизмов-деструкторов.

Из нефтезагрязненных и «чистых» почв было выделено более 60 штаммов бактерий, относящихся к различным таксономическим группам. Отобранные культуры бактерий проверяли на способность утилизировать различные ароматические, алифатические и хлорсодержащие соединения, которые добавляли в синтетическую минеральную среду в качестве единственного источника углерода и энергии. Определение биодеградативного потенциала показало, что некоторые штаммы активно использовали широкий спектр токсичных соединений в качестве единственного ростового субстрата. По этому признаку было отобрано три штамма, относящихся к роду *Rhodococcus*, которые были способны разлагать фенол в высоких, до 1,5 г/л, концентрациях. Иммобилизация клеток на поликапроамидном волокне увеличивала их устойчивость к токсичному воздействию фенола. Иммобилизованные клетки разлагали фенол в концентрации до 2,5 г/л, что позволяет отнести эти штаммы к лучшим бактериальным деструкторам фенола. Было определено также, что у родококков при утилизации фенола в качестве основного метаболита образуется пирокатехин, орто-расщепление которого приводит к снижению концентрации токсичных соединений в среде культивирования. Показано, что присутствие фенола в ростовой среде приводит не только к индукции ферментов, отвечающих за его утилизацию, но и к повышению уровня активности ферментов защиты от окислительного стресса. Помимо фенола, исследуемые штаммы в разной степени способны осуществлять трансформацию сырой нефти (НПЗ «Москва-Капотня») и ее компонентов. Особое внимание обращает на себя способность данных бактерий осуществлять частичную деструкцию нефтешламов. Так, использование одного из штамма-деструктора привело к снижению суммарного углерода на 72% при использовании нефтешлама из Азербайджана с общим содержанием нефтепродуктов 36%.

Таким образом, проведенное исследование не только позволило выявить особенности деструкции токсичных соединений бактериями рода *Rhodococcus*, но и показало перспективу их использования для создания высокоэффективных биопрепаратов для деструкции токсичных поллютантов, присутствующих в отходах нефтехимических производств.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 19-54-80003.

ТЕРАНОСТИКИ НА ОСНОВЕ РЕДОКС-АКТИВНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ С СИНЕРГЕТИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ ДЕЙСТВИЯ

Попов А.Л. [1], **Колманович Д.Д.**[1], **Попова Н.Р.** [1], **Ермаков А.М.**[1] , **Иванов В.К.** [2]
[1] ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино; [2] ФГБУН Институт общей и неорганической химии Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

antonpopovleonid@gmail.com

Нанокристаллические оксиды металлов все чаще находят свое практическое применение в биомедицинских целях. Ультрамалые размеры таких агентов придают им новые уникальные свойства, которые не могут иметь более крупные микроразмерные их аналоги, что позволяет создавать на их основе новые технологии и подходы в лечении и диагностике социально-значимых заболеваний. Такие агенты имеют не только самостоятельную терапевтическую активность, но и способны усиливать действие известных лекарственных препаратов. Между тем системы внутриклеточной доставки таких агентов не обладают достаточной эффективностью и требуют доработки с целью увеличения эффективности загрузки эффекторного препарата, обеспечения их направленности и пролонгированного действия. Одним из наиболее перспективных систем для внутриклеточной доставки являются нано- и микроразмерные тераностики на основе полисахаридных гидрогелей, загруженных терапевтическим агентом и функционализированные наночастицами оксидов металлов. Такие системы обладают высокой степенью биосовместимости, способностью обеспечить пролонгированное высвобождение препарата и возможностью интеграции металлических наночастиц для их визуализации в клетке или кровотоке.

Методом послойной адсорбции на кальций-карбонатную сферическую подложку разнозаряженных полисахаридов (альгинат и хитозан) нами синтезирована тераностическая система, которая включает в себя доксорубицин и цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия, допированные гадолинием. Проведенный анализ физико-химических характеристик методом флуоресцентной микроскопии подтвердил загрузку доксорубицина и наночастиц в структуру гидрогеля. Размер гидрогелевого носителя составил 3-4 мкм. Гидродинамический радиус в культуральной среде ДМЕМ/Ф12, содержащей 5% сыворотку составил 4,3±0,7 мкм.

Таким образом, нами показана возможность совместной загрузки интеркаллирующего агента и наночастиц оксида церия, допированных гадолинием, в комплексную структуру гидрогеля, которая сочетает в себе и терапевтические и диагностические свойства.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-70069.

КОМПЛЕКС C115H МГЛ С ДАЙДЗЕИНОМ ДЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ IN SITU

Ревтович С.В., **Лебедева Л.А.**, **Коваль В.С.**, **Коваль В.С.**
ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

svetla21@mail.ru

Получены комплексы мутантной формы метионин–гамма-лиазы (КФ 4.4.1.11, МГЛ) с заменой цистеина 115 на гистидин из двух бактерий рода *Clostridium* (*Clostridium novyi* и *Clostridium sporogenes*) с дайдзеином (C115H-D), природным аналогом эстрадиола, для

направленной доставки к рецепторам эстрогена гиперэкспрессированным на поверхности некоторых раковых клеток. Конъюгаты специфически связываются с клетками рака молочной железы MCF7 и рака яичника SCOV и при добавлении пролекарств (сульфоксидов S-(алкен/алкенил)-L-цистеина), эффективно вырабатывают тиосульфинаты *in situ*. Оценена цитотоксичность конъюгатов на эти клеточные линии в присутствии сульфоксидов S-замещенного L-цистеина (сульфоксидов S-аллил-L-цистеина (аллиин), S-метил-L-цистеина (метиин), S-этил-L-цистеина (этиин), S-пропил-L-цистеина (пропиин)). Показано, что конъюгаты C115H-D в присутствии сульфоксидов S-замещенного L-цистеина, цитотоксичны для тестируемых опухолевых клеток. Сами по себе конъюгаты C115H-D не оказывают цитотоксического действия на клетки даже при использовании больших концентраций конъюгатов.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект №18-04-00916 а).

ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНОГО ШТАММА M. NEOAURUM N 3-15, ОБЛАДАЮЩЕГО ВЫСОКОЙ СТЕРОИДТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Рожков А. Я.[1], Карпова Н.В.[2], Стыценко Т.С.[2], Ядерец В.В.[2]
[1]ФГБОУ ВО Московский политехнический университет; [2]ФИЦ Биотехнологии, Институт биоинженерии РАН, Москва, Россия

anatolybridge@gmail.com

Стероиды нашли широкое применение в медицине как средства для профилактики и лечения онкологических заболеваний, антиаллергические и противовоспалительные препараты, а также лекарственные вещества, применяемые в заместительной гормональной терапии. Производство стероидных препаратов из стеринов становится экономически выгодным только при наличии эффективного способа микробиологического окисления стеринов до основных интермедиатов – андростендиона (АД), андростадиендиона. Это достигается за счет окисления боковой цепи стеринов штаммами бактерий вида *Mycobacterium*. Несмотря на имеющиеся достижения, по-прежнему остается актуальным создание штаммов, обладающих высокой стероидтрансформирующей активностью и оптимизация процессов культивирования для получения целевых продуктов с высокими экономическими показателями. Цель работы заключалась в создании мутантного штамма *M. neoaurum*, обладающего высокой трансформационной активностью. Проведен химический мутагенез с использованием N-нитрозо-N-метилмочевины с последующим отбором изолированных колоний, обладающих измененными морфологическими признаками, и контролем активности выбранных изолятов. В результате получен штамм *M. neoaurum* N 3-15, отличающийся от исходного по цвету и формой колонии. Мутант имел сильно-морщинистые колонии бежево-розового цвета с неровным краем, тогда как колонии исходной культуры слегка морщинистые ярко-оранжевого цвета. Для штамма *M. neoaurum* N 3-15 установлена высокая трансформационная активность. В результате трансформации фитостерина с нагрузкой 10 г/л наблюдалось полное превращение исходного субстрата за 65 ч по сравнению с контролем (78 ч). Определены оптимальные температуры роста культуры и работы ферментов, трансформирующих стерины до АД (25 и 30°C соответственно). Опираясь на данные литературы, проведено исследование влияния экзогенных факторов в ростовой среде (циклодекстринов и поверхностно-активных веществ) на активностью клеток. Установлено, что присутствие в среде метил-β-циклодекстрина, гидроксипропил-β-циклодекстрина и Твин-80 стимулировало накопление клеточной биомассы по сравнению с контролем. Однако существенного влияния на активность культуры выявлено не было.

Ведется работа по оптимизации состава питательной среды, которая позволит получить клетки с максимальной активностью для проведения процесса с повышенными нагрузками стероидных субстратов.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ШЕФЕРИНА II В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ

Сауткина Н.В., Кабышко Е.С., Прокулевич В.А.
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

sovgirnv@gmail.com

В последние десятилетия широкое использование антибиотиков вызвало появление мультирезистентных «супербактерий». В этом контексте актуально изучение антимикробных пептидов (АМП) животных, растений и грибов как новых антибактериальных агентов. Катионный АМП шеферин II, обнаруженный в корнях пастушьей сумки обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.)Medik.), обладает широким спектром противомикробной и антифунгальной активностей, состоит из 38 аминокислотных остатков, богат глицином и гистидином.

Ген shepherin-oII длиной 134 п.н., оптимизированный для экспрессии в клетках *E. coli* и кодирующий антимикробный пептид шеферин II, ранее был клонирован в составе вектора pET-24b(+) по сайтам рестрикции NdeI и EcoRI. Однако в результате индукции экспрессии этого гена в бактериальных клетках и последующей окраски полиакриламидного геля серебром целевой пептид массой 3,2 кДа не был зафиксирован.

Для решения возникшей проблемы в данной работе АМП шеферин II получали в клетках *E. coli* в составе фьюжн-белков, а в качестве фьюжн-партнёров пептида использовали анионные белки: малый убиквитин-подобный модификатор дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (далее SUMO) и углевод-связывающий модуль (далее CBMT) фермента ксиланазы 10A бактерий *Thermotoga maritima*.

На первом этапе работы последовательности SUMO (430 п.н.) и CBMT (660 п.н.) клонировали в клетках штамма *E. coli* XL-1 Blue по сайту рестрикции NdeI в составе рекомбинантного вектора pSheph-oII, содержащего ген shepherin-oII. Затем рестрикционным анализом ампликонов определяли правильность ориентации вставок SUMO и CBMT и трансформировали рекомбинантными плазмидами pSUMO-Shepherin-oII и pCBMT-Shepherin-oII клетки штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Далее индуцировали экспрессию гибридных генов ИПТГ в конечной концентрации 0,5 ммоль/л при 37 °C в течение 4 ч. Согласно денситометрическому анализу окрашенных полиакриламидных гелей в клетках *E. coli* доля фьюжн-белков CBMT-Shepherin-oII (28 кДа) и SUMO-Shepherin-oII (17,8 кДа) составляет около 35 % и около 30 % соответственно. Белок SUMO снабжён гистидиновой меткой, что позволит очистить фьюжн-белок SUMO-Shepherin-oII путём металл-хелатной хроматографии, а белок CBMT эффективно связывается с сорбентами из микрокристаллической целлюлозы, что также позволит очистить фьюжн-белок CBMT-Shepherin-oII в результате аффинной хроматографии. Кроме того в полученных гибридных белках между партнёрами находится сайт узнавания TEV протеазы для возможности отделения пептида от фьюжн-партнёров.

ПЕРСПЕКТИВА ПОЛУЧЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПУТЕМ

Сенченков В.Ю.[1], Ляховченко Н.С.[1], Мягков Д.А.[1], Сиротин А.А.[1], Батлуцкая И.В.[1], Староверов В.М.[2], Соляникова И.П.[1]

[1]ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород; [2]ООО "НПФ Диа-Фарм", Белгород, Россия

vladiksenchencov@gmail.com

Производство каротиноидов и их применение в качестве красителей и провитаминов в составе кормовых добавок для нужд сельскохозяйственной отрасли с каждым годом только растет. Несмотря на то, что добавки на основе каротиноидов уже производятся в России, доля их импорта все еще остается значительной.

В настоящее время основным источником получения каротиноидов являются растения (лепестки бархатцев, перец паприка, селекционные сорта помидоров). Однако сезонность, неблагоприятные погодные условия, действие фитопатогенов и пестицидов, большие площади для выращивания делают данный способ получения экономически невыгодным, что также влияет на цену продукта. Решение данной проблемы возможно путем биотехнологического синтеза каротиноидов при помощи мицелиальных грибов, способных синтезировать большой спектр биологически активных веществ, с применением в качестве сырья побочных продуктов и отходов пищевых производств (растительныхэкстрактов, гидролизатов, глютена и пр.), что позволит сделать данную продукцию дешевой и доступной.

Целью настоящих исследований являлся поиск эффективных продуцентов с последующей сравнительной характеристикой способности биосинтеза каротиноидных компонентов. Гетероталличный гриб порядка *MucoralesBlakesleatrispora* является сверхпродуцентом β-каротина, также обладает способностью к синтезу ликопина. Гетероталлизм выражаетсяв образовании раздельнополого (+) и (-) мицелия, при слиянии которого образуется зигота. Максимальный синтез пигментов наблюдается при совместном культивировании данных форм гриба. Для исследования применялись 13 штаммов данного гриба – ВКМ F 3758(+), ВКМ F 901(-), ВКМ F 903(-), ВКМ F 812(+), ВКМ F 811(-), ВКМ F 921(-), ВКМ F 3759(-), ВКМ F 902(+), ВКМ F 1201(+), ВКМ F 904(+), ВКМ F 986(+), ВКМ 989(-) ВКМ 666(+), полученных из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Способность к синтезу каротиноидов проверялась путем формирования из данных штаммов пар с дальнейшим их культивированием в жидкой и агаризованной среде в разных условиях и при разных режимах, вследствие чего было выбрано 9 лучших пар. β-каротин выделяли путем экстракции ацетоном из мицелия, фильтрацией, и дальнейшим реэкстрагированием в гексан с добавлением насыщенного раствора NaCl для лучшего разделения слоев. Из ацетонового и гексанового экстрактов были отобраны аликвоты для спектрофотометрического анализа, который показал наличие пиков β- каротина. Исходя из значения оптической плотности сделан расчет концентраций β- каротина в экстрактах, благодаря чему были выявлены наиболее продуктивные пары ВКМ F 903(-) х ВКМ F 904(+) и ВКМ F 901(-) х ВКМ F 812(+).

СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЛИГНИН-ПОДОБНЫХ ПОЛИМЕРОВ

Смирнов И.В.[1], Лисов А.В.[2], Казаков А.С.[3], Звонарев А.Н.[2], Земскова М.Ю.[2]
[1]ФГОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; [2] ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Скрябина, Пущино; [3] ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биологического приборостроения, Пущино, Россия

ivan_cmirnov_98@mail.ru

Традиционные варианты лечения рака фармакологическими препаратами имеют определенные ограничения, включая низкую селективность действия, недостаточную концентрацию лекарственного средства при достижении опухолевых тканей. Наночастицы рассматриваются как одни из важнейших вариантов решения этих проблем.

В последние годы активно развиваются способы получения лигниновых наночастиц. Были получены и охарактеризованы биоразлагаемые наночастицы на основе лигнина [1]. Опубликованы работы, в которых такие частицы были использованы для доставки лекарственных препаратов в раковые клетки [2, 3].

Целью работы являлось получение стабильных наночастиц на основе лигнин-подобных полимеров, синтезированных ферментативным и химическим путем из фенольных мономеров.

Было показано, что наиболее оптимальными размерами (в пределах 100 нм) и физико-химическими свойствами (дзета-потенциал, монодисперсность) обладают наночастицы, полученные из полиферуловой и полигентизиновой кислот, синтезированные с помощью фермента-лакказы. Такие наночастицы стабильны при инкубировании в физиологических и белковых растворах. Наночастицы, сформированные из полимеров, полученных в ходе химического синтеза, имеют большую вариабельность по размеру и нестабильны.

При исследовании интернализации наночастиц в опухолевые клетки было показано, что частицы после 6- часового инкубирования проходят через клеточную мембрану и концентрируются в определенных компартментах клетки, предположительно в центросоме.

На основе предлагаемых средств доставки противораковых агентов возможна разработка новых подходов к противоопухолевой терапии: комплексная терапия с использованием смесей наночастиц, несущих разные фармакологические соединения; целевая доставка лекарств в клетки опухоли.

Список литературы:

[1]. Frangville C, Rutkevičius M, Richter AP, Velev OD, Stoyanov SD, Paunov VN. Fabrication of environmentally biodegradable lignin nanoparticles.Chemphyschem., 2012, 13(18), 4235-43.

[2]. Figueiredo P, Lintinen K, Kiriazis A, Hynninen V, Liu Z, Bauleth-Ramos T, Rahikkala A, Correia A, Kohout T, Sarmento B, Yli-Kauhaluoma J, Hirvonen J, Ikkala O, Kostiainen MA, Santos HA. In vitro evaluation of biodegradable lignin-based nanoparticles for drug delivery and enhanced antiproliferation effect in cancer cells. Biomaterials, 2017, 121, 97-108.

[3]. Figueiredo P, Sipponen H, Lintinen K, Correia A. Preparation and characterization of dentin phosphophoryn derived peptide-functionalized lignin nanoparticles for enhanced cellular uptake. Small, 2019, 1901427.

ВЛИЯНИЕ S-15176 НА РАЗВИТИЕ ДИСФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ С ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

Старинец В.С.[1], Белослудцева Н.В.[2], Таланов Е.Ю.[2], Теньков К.С.[1], Дубинин М.В.[1], Белослудцев К.Н.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола; [2]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

vlastar@list.ru

Сахарный диабет II типа (СД2) является одной из самых распространенных эндокринных патологий во всем мире. Его развитие опосредовано нарушениями функционирования β-клеток поджелудочной железы, резистентностью к инсулину и усиливающейся на этом фоне гипергликемией.

Являясь метаболическим заболеванием, на клеточном уровне СД2 тесно связан с дисфункцией митохондрий, которая в клетках возбудимых тканей выражается в нарушении митохондриального биогенеза и митохондриальной динамики (слияния/деления), повышенной генерации активных форм кислорода и снижении скорости энергетического метаболизма. Еще одним проявлением дисфункции органелл при СД2 может быть нарушение митохондриального Ca^{2+} гомеостаза и, в частности, индукции митохондриальной Ca^{2+}-зависимой МРТ поры, которая связана с развитием окислительного стресса и клеточной гибелью. Все это делает МРТ пору и модуляцию ее образования потенциальной терапевтической мишенью для лечения СД2. В связи с этим в данной работе было исследовано действие одного из ингибиторов МРТ поры – соединения S-15176 на структурно-функциональные изменения митохондрий печени мышей при индукции СД2. Помимо ингибирующего эффекта на открытие МРТ поры S-15176 обладает разобщающим и антиоксидантным действием, а также ингибирует карнитинпальмитоил трансферазу 1.

Сахарный диабет II типа был смоделирован у мышей линии C57BL/6 посредством использования высокожирового питания (около 60% калорийности) в течение месяца с последующим введением малых доз стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг (в течение 5 дней). После этого в течение 2 недель производилась терапия больных мышей с помощью S-15176 в дозе 1 мг/кг веса. При оценке развития сахарного диабета было показано, что S-15176 не снижает уровень глюкозы в крови мышей с индуцированным СД2. Показано, что при развитии СД2 в гепатоцитах происходят процессы деления митохондрий, которые усиливались в присутствии S-15176. Продемонстрировано, что S-15176 достоверно снижает уровень малонового диальдегида, выступающего маркером перекисного окисления липидов и окислительного стресса, у диабетических животных. Установлено увеличение кальциевой емкости митохондрий печени мышей с СД2, что говорит об увеличении резистентности органелл к открытию МРТ поры, при этом S-15176 усиливал этот эффект.

Работа поддержана грантами РФФИ (19-015-00117-А и 19-315-50032 мол_нр).

ТКАНЕВЫЕ ЭКВИВАЛЕНТЫ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Фетисова В. Э.[1], Тетерина А. Ю.[1], Соловьёва Е. А.[2], Михеева П. В.[1], Комлев В. С.[1]
[1]ФГБУН Институт металлургии и материаловедения им. А. А. Байкова РАН; [2]ФГБУ НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия

victoria.phetisova@yandex.ru

Поскольку лечение обширных кожных дефектов требует использования искусственных эквивалентов, в последние годы были проведены многочисленные исследования в области применения и разработки материалов для замещения и восстановления кожных покровов на основе полимеров различной природы. Так, в настоящее время, значительный интерес вызывают материалы на основе полимеров растительного происхождения. Для подобных целей наиболее интересным кажется альгинат натрия, который обладает уникальными свойствами, позволяющими ему образовывать матриксы различных структур и широко применяться для регенерации тканей. Но недостаточно создать «полимерный матрикс» для восстановления кожных покровов, в современной медицинской практике необходим универсальный носитель для клеточных структур и лекарственных препаратов. Это связано с тем, что в случае заболеваний, связанных с нарушением кожного покрова, наблюдается слабый регенеративный потенциал пациентов, а также склонность к появлению инфекций в ранах. В качестве наиболее часто используемых препаратов для функционализации кожных эквивалентов можно назвать антибиотики. Однако появление у микроорганизмов резистентности к антибиотикам часто затрудняет выбор препарата и требует индивидуального подхода в каждом клиническом случае.

На основании этого, в данной работе был выбран другой способ достижения антибактериального эффекта в тканевых эквивалентах. Функционализация разработанных матриксов была проведена с использованием парабенов – сложных эфиров с антисептическими свойствами. Они препятствуют размножению бактерий в ране, но при этом не вызывают устойчивой резистентности. В данной работе были разработаны двухслойные матриксы на основе альгината натрия, в состав которых были включены парабены - нипагин (метиловый эфир параоксибензойной кислоты) и нипазол (пропиловый эфир параоксибензойной кислоты) в концентрациях 0.1 и 0.01 масс. % соответственно. Парабены вводились в состав материалов в объёмных долях 1, 3, 5, 7 и 10%. На основе полученных материалов были проведены комплексные исследования микроструктуры, прочностных характеристик, антибактериальных и биологических свойств в зависимости от количества и вида введённого парабена.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ 19-33-70042 мол_а_мос).

МЕТОД ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИ ДИАФРАГМЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Филимонова А.Н., Евстратова Е.С., Шегай П.В.
ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

filimonowa.af@gmail.com

Каждый год миллионы людей испытывают острую потребность в донорских органах для пересадки, в то время как найти доноров становится все сложнее. Перспективным методом является децеллюляризация органов и тканей – процедура очистки аллографтов от клеточного компонента различными способами (физическими, ферментативными и химическими) с целью получения неиммуногенной, эффективной и безопасной конструкции на основе естественного внеклеточного матрикса (ВКМ).

Для проведения исследования использовали диафрагмы беспородных мышей и крыс линии Wistar. Для щадящей децеллюляризации и уменьшения чрезмерного растяжения при фиксации был разработан специальный метод фиксирования диафрагмы без повреждения ткани и биореактор, который включал в себя сменные емкости для различных детергентов. При децеллюляризации диафрагмы применяли модифицированный метод: 2 цикла обработки детергент-энзиматическим методом (деионизированная вода 200 мл – 30 мин; дезоксихолат натрия 4% 200 мл – 3 часа; PBS 200 мл – 10 мин; EDTA 800 мкл + 200 мл деионизированной воды – 30 мин); PBS 200 мл – 12 ч. Для оценки качества децеллюляризации было исследовано параллельно три диафрагмы (1 – нативная, 2 – децеллюляризованная, 3 – контрольная диафрагма, находящаяся в растворе PBS на протяжении всего времени децеллюляризации).

При окраске гематоксилином и эозином нативная ткань показала выраженные структуры поперечно-полосатой мышечной ткани диафрагмы. Гистология децеллюляризированной ткани не показала наличия ядер и других клеточных элементов. Более того, взаимная ориентация волокон ВКМ не отличилась от контроля (нативная ткань), отсутствовали признаки деградации коллагена, сохранялась адвентициальная оболочка мелких сосудов. Гистологическая оценка второй контрольной диафрагмы, находящейся в растворе PBS на протяжении всего времени децеллюляризации, практически не отличалась от нативной ткани, наблюдался лишь пикноз ядер, с сохранением той же структуры, характерной для данного вида ткани.

В результате проведенных исследований можно сделать вывод о том, что применяемый метод обеспечивает достижение поставленной задачи, выражающейся в повышении качества децеллюляризации диафрагмы для последующей иммобилизации клеток реципиента. Метод является воспроизводимым и промышленно применимым, так как может быть использован для получения экстрацеллюлярных матриксов органов и тканей с целью последующего использования в реконструктивной хирургии для замены или протезирования функций пораженных органов и тканей.

МИГРАЦИЯ КЛЕТОК ИЗ ТЕЛА ТРЕХМЕРНЫХ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ НА РАЗЛИЧНЫХ ПОДЛОЖКАХ

Шабалина Е.Ю., Петерсен Е.В., Скорова Е.Ю.
ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия

evgenyashb@mail.ru

Двумерные клеточные модели раковых опухолей, несмотря на простоту исполнения и использования, не учитывают трехмерное микроокружение клеток опухоли in vivo. Этот недостаток моделирования компенсируют трехмерные клеточные модели, к которым относятся 3D многоклеточные сфероиды.

Важной характеристикой опухолевых клеток является миграция клеток, поэтому целью данной работы было изучение процесса миграции клеток из тела многоклеточного 3D сфероида. Сфероиды были получены из клеточной линии A549 (аденокарцинома человека) методом агарозных микромолдов. В качестве подложки тестировались культуральный пластик и коллагеновый гель. Состояние сфероидов отслеживалось в течение 36 часов. Окрашивание резазурином позволяло следить за активностью метаболизма клеток.

В процессе миграции клеток из тела сфероида удалось выделить несколько зон: центральная, представляющая собой тело сфероида, кольцо клеток с высокой плотностью и жизнеспособностью более низкой, нежели клетки наружного кольца, активно расползающиеся. Графики изменения площадей этих зон при миграции клеток из тела сфероида имеют общий тренд. Площадь внутреннего кольца выползших клеток в случае обеих подложек постоянна, что говорит в пользу теории о слабой активности и жизнеспособности этих клеток. Клетки внешнего кольца активно мигрируют и вносят больший вклад в увеличение площади сфероида в целом. Также эксперимент показал, что сфероиды, расползавшиеся по коллагену, заняли в итоге меньшую площадь, нежели при расползании по пластику. Этот результат подтвердился параллельным окрашиванием резазурином. Оно показало, что клетки, мигрирующие из тела сфероида на коллагене, вели менее активный метаболизм, что в свою очередь могло привести к уменьшению площади миграции.

Таким образом, активность миграции клеток зависит от подложки. В дальнейшем планируется в качестве подложки протестировать децеллюляризированный крысиный матрикс, а также провести серию МТТ-тестов для оценки жизнеспособности клеток.

Данное исследование было поддержано грантом РНФ (№18-15-00391).

ВЛИЯНИЕ БЕТУЛИНА И БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Шарапов В.А.[3], Ильзоркина А.И.[3], Хорошавина Е.И.[3], Выдрина В.А.[2], Яковлева М.П.[2], Белослудцев К.Н.[3], Пеньков Н.В.[1], Дубинин М.В.[3]
[1] ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биофизики клетки РАН, Пущино; [2] ФГБНУ УФИ Уфимский Институт химии РАН, Уфа; [3]ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

dubinin1989@gmail.com

Одной из актуальных задач современной биологии и медицины является поиск новых лекарственных молекул, обладающих высокой эффективностью. К таким соединениям, сочетающим доступность и высокую биологическую активность, относятся растительные тритерпеноиды. Данные, накопившиеся за последние 30 лет, позволяют полагать, что к наиболее перспективным из них относятся тритерпеноиды лупанового ряда, в частности, бетулин и его производные. Известно, что бетулин и его производные бетулоновая и бетулиновая кислоты проявляют выраженные цитотоксические свойства, в том числе к раковым клеткам различных линий. Учитывая гидрофобную природу этих агентов, неудивительно, что их основной мишенью в клетке являются мембранные структуры, в частности, мембраны митохондрий. Следует отметить, что, несмотря на значительный прогресс в этой области, результаты исследования эффектов бетулина и его производных на функционирование митохондрий и проницаемость их мембран имеют фрагментарный характер и демонстрирует последствия воздействия, но не раскрывают молекулярные мишени и механизмы действия этих агентов. В настоящей работе нами изучено влияние бетулина и его производного бетулоновой кислоты на параметры дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий печени крыс. Нами установлено, что вне зависимости от используемого субстрата окисления (сукцинат или глутамат-малат) бетулоновая кислота и, в меньшей степени, бетулин, активируют дыхание органелл в состояниях V2 и V4 и, напротив, снижают скорость дыхания в состоянии V3 (ADP-стимулированном) и максимальную скорость дыхания, индуцированную добавлением разобщителя 2,4-динитрофенола. При этом действие бетулоновой кислоты также сопровождается значительным снижением значения параметра дыхательного контроля и ADP/O. Выяснено, что в основе действия указанных соединений на дыхание органелл лежит, с одной стороны, их способность разобщать дыхание по протонофорному механизму и, с другой стороны, подавлять активность комплексов дыхательной цепи. Показано, что бетулин ингибирует активность комплекса IV дыхательной цепи митохондрий и суммарную активность комплекса II+III, не влияя на активность других комплексов. Бетулоновая кислота также не оказывала влияния на активность комплексов I и II, но значительно ингибировала активность комплексов III, IV и суммарную активность комплексов II+III.

Работа поддержана грантом РФФИ (№20-015-00124) и грантом Президента Российской Федерации (№ МК-61.2019.4).

РОЛЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МИЕЛОИДНЫХ СУПРЕССОРНЫХ КЛЕТОК

Шардина К.Ю[1], Заморина С.А.[1,2], Тимганова В.П.[1], Бочкова М.С.[1], Ужвиюк С.В.[1,2]
[1]ФГБУН ИЭГМ УрО РАН, филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь; [2]ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Shardinak@gmail.com

В процессе беременности иммунная система матери подвергается аллоиммунизации фетоплацентарными антигенами, в результате чего формируется состояние иммунной толерантности, в поддержании которого важную роль играют белки беременности. Альфа-фетопротеин (АФП) - белок, синтезируемый эмбриональными тканями, который выполняет как транспортную, так и иммуномодулирующую функции. Несмотря на то, что иммуносупрессивные эффекты АФП известны, его роль в регуляции ключевой популяции клеток, отвечающей за иммуносупрессию – миелоидных супрессорных клеток (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) не изучена. MDSC - гетерогенная популяция незрелых клеток миелоидного происхождения, которые при патологических состояниях приобретают супрессорный фенотип, подавляющий иммунный ответ. Целью работы являлось изучение роли АФП в нативной и рекомбинантной форме в регуляции дифференцировки MDSC.

Для генерации MDSC *in vitro* мононуклеарные клетки из периферической крови добровольцев-доноров сепарировали путем центрифугирования на градиенте плотности 1,077 г/см3 (Ficoll-Hypaque, Sigma-Aldrich). Затем полученные клетки культивировали в 96-луночном планшете в концентрации $1x10^6$ клеток/мл в ППС с внесенными в среду цитокинами IL-6 (20 нг/мл), GM-CSF (40 нг/мл) в течение 7 суток при 5 % CO2 и 37 ^{0}C. Замена среды в культуре производилась на 4 сутки, тогда же вносили АФП в физиологических концентрациях (10, 50, 100 МЕ/мл), а для рекомбинантного АФП дополнительно и в фармакологических концентрациях (200 и 400 МЕ/мл). В культурах оценивали уровень M-MDSC ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD11b^+CD14^+CD66b^-$) и G-MDSC ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD11b^+CD14^-CD66b^+$) методом проточной цитометрии (CytoFlexS (Beckman Coulter)) при помощи антител “R&D Systems” по стандартной методике.

Установлено, что в культурах мононуклеаров с нативным АФП в концентрациях 50 и 100 МЕ/мл наблюдалась увеличение количества G-MDSC, в то время как процент M-MDSC не изменялся. Данный результат можно интерпретировать как фетопротективный эффект АФП, поскольку повышение уровня G-MDSC связывают с подавлением иммунного ответа на патернальные антигены. Помимо этого, показано увеличение общего количества MDSC и процента M-MDSC в культурах с рекомбинантным АФП в концентрациях 200 и 400 МЕ/мл, что теоретически может расцениваться как благоприятный для иммунофармакологического применения АФП эффект. Таким образом, мы впервые продемонстрировали влияние АФП на процесс дифференцировки MDSC.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-415-590001.

ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ В ТЕРАПИИ РЕДКИХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОЖИ

Широкова А.А.[1,2], Гершович П.М.[1,2], Ломунова М.А.[1], Тютюнник А.[1], Григорьева А.А.[1]

[1]ЗАО Биокад, Санкт-Петербург; ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

anna.shirokova@spcpu.ru

Тканевая инженерия кожи является одним из подходов регенеративной медицины, который помогает восстановить форму и функцию утраченной или поврежденной кожи. Понимание молекулярных и генетических механизмов, лежащих в основе дисфункции кожных покровов, привело к появлению альтернативных подходов и методов терапии,

которые могут предоставить новые возможности для лечения пациентов. Одним из таких подходов является ex vivo терапия врождённого буллёзного эпидермолиза, основанная на генетической модификации фибробластов и кератиноцитов пациентов и создании многослойного эквивалента кожи с целью его последующей трансплантации. На основе данного подхода в данном исследовании был продемонстрирована разработка для лечения группы редких тяжёлых наследственных заболеваний – буллёзного эпидермолиза. Данное заболевание характеризуется нарушением целостности кожных покровов при минимальных механических воздействиях, также наблюдается образование пузырей, эрозий, развитие инфекций и риск возникновения рака. Причинами данных клинических проявлений служит нарушение синтеза или отсутствие ключевых белков базальной мембраны: коллагены VII и XVII типов, кератины 5 и 14, десмоплакин, плакофилин-1, плектин, интегрин α6β4, ламинин 332, киндлин. Для восстановления дермоэпидермального соединения, восстановления целостности кожных покровов необходимо обеспечить экспрессию данных белков в клетках кожи. Для решения этой задачи необходимо было оценить возможность и эффективность трансдукции данного вида клеток кожных тканей рекомбинантным лентивирусным препаратом, содержащим последовательность, кодирующую репортный белок GFP. Для этого были выделены фибробласты и кератиноциты из образцов кожи здоровых доноров и подобраны оптимальные условия трансдукции: концентрация вирусных частиц и трансдуцирующего агента (протамин сульфата). Результаты эксперимента показали, что при MOI $8x10^4$ и концентрации протамина сульфата 10ug/ml наблюдалась максимальная эффективность трансдукции (более 90%) с сохранением жизнеспособности как фибробластов, так и кератиноцитов. Для формирования многослойного эквивалента был получен гидрогель на основе плазмы крови с инкапсулируемыми в его структуру фибробластами. На поверхность геля была нанесена суспензия кератиноцитов, таким образом формируя структуру, имитирующую кожу человека на границе среда/воздух. Таким образом, данный подход может быть использован для создания графтов кожи из клеток, экспрессирующих целевой белок, работу которого необходимо восстановить при том или ином типе буллезного эпидермолиза.

СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ДЕТЕКЦИИ СИГНАЛА В ИММУНОАНАЛИЗЕ

Шляпников Ю.М., Канев И.Л., Шляпникова Е.А.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

ribboni@yandex.ru

Чувствительность аналитической тест-системы в значительной степени определяется способом детекции сигнала. Чтобы повысить чувствительность иммуноблоттинга, мы предложили для детекции сигнала использовать суперпарамагнитные частицы в ламинарном потоке и магнитном поле. Мы сравнили чувствительность обнаружения сигнала магнитными частицами с флуоресцентной и хемилюминесцентной детекцией, которые обычно используются в иммуноанализе. В качестве модельного белка использовали IL-1β - информативный биомаркер воспаления в различных биологических образцах. В качестве малоадгезивной и оптически прозрачной подложки вместо нитроцеллюлозы или поливинилиденфторида, обычно применяемых при иммуноблоттинге, использовали мембрану из регенерированной целлюлозы [1]. Поверхность мембраны предварительно модифицировали фоточувствительными азидофенильными группами. После нанесения на мембрану известных количеств IL-1β и последующей фотоиммобилизации белка под действием УФ, мембрану инкубировали в

растворе биотинилированных антител против IL-1β, промывали соответствующим буфером и анализировали следуюшими способами:

1) путём сканирования поверхности мембраны магнитными частицами, покрытыми стрептавидином, в ламинарном потоке и магнитном поле.

2) инкубацией мембраны в растворе Cy5-стрептавидина с последующей промывкой и визуализацией флуоресцентной метки с помощью биоимиджера Typhoon FLA 9500 (GE Healthcare).

3) инкубацией в растворе конъюгата стрептавидин-пероксидаза с последующей промывкой, обработкой в растворе ECL и визуализацией сигнала с помощью биоимиджера Typhoon FLA 9500.

Показано, что значение предела детектирования (LOD) в первом случае составляет 0,3 фг. Если вместо магнитных частиц, покрытых стрептавидином, использовали флуоресцентную детекцию с помощью меченного Cy-5-стрептавидина, значение LOD увеличивалось до 10 пг. Для хемилюминесцентного определения с помощью конъюгата стрептавидин-пероксидаза и люминола LOD составил 1 пг. Наконец, чтобы сравнить настоящий метод с существующими, мы провели дот-блот-анализ IL-1β, следуя общему протоколу на нитроцеллюлозной мембране, и получили значение предела детектирования 1 пг. Хотя лучшая чувствительность может быть достигнута с некоторыми другими коммерческими хемилюминесцентными наборами, тем не менее, предложенная методика является более чувствительной, по меньшей мере, на два порядка.

Работа поддержана грантом РНФ №19-75-10025.

Литература:

[1] Shlyapnikov, Y. M.; Kanev, I. L.; Shlyapnikova, E. A. Rapid Ultrasensitive Gel-Free Immunoblotting with Magnetic Labels. Anal. Chem. **2020**, DOI: 10.1021/acs.analchem.0c00314.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРОИДОВ У NOCARDIOIDES SIMPLEX ВКМ Ac-2033Д ПРИ ИНДУКЦИИ ХОЛЕСТЕРИНОМ

Штратникова В.Ю.[1], Фокина В.В.[2], Щелкунов М.И.[3,4], Брагин Е.Ю.[2], Донова М.В.[2]

[1]НИИ институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозёрского, ФГБОУ ВПО Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва; [2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино; [3] АНОО ВО Сколковский институт науки и технологий, Москва; [4] ФГЬУН Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

vtosha@yandex.ru

Штамм актинобактерий *Nocardioides simplex* ВКМ Ac-2033Д является эффективным биокатализатором, осуществляющим 1(2)-дегидрирование 3-кетостероидов, что определяет его практическую значимость для получения фармацевтически ценных 1(2)-дегидроаналогов. Штамм минерализует стерины и холаты и осуществляет другие реакции трансформации стероидов. С целью улучшения биокаталитических свойств штамма методами генетической инженерии необходима идентификация ключевых генов катаболизма стероидов.

Ранее нами секвенирован и собран полный кольцевой геном *N. simplex* ВКМ Ac-2033Д, определены организация и возможная регуляция генов катаболизма стероидов. В настоящей работе исследовали дифференциальную экспрессию генов в условиях индукции холестерином.

Штамм *N. simplex* ВКМ Ac-2033Д растили в содержащей метилированный циклодекстрин (активатор биоконверсии стероидов) среде в присутствии холестерина и

без него (контроль). РНК из бактерий получали набором Qiagen RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany). Библиотеки для секвенирования получали с помощью набора R3000 Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit (Zymo Research, USA). Высокопроизводительное секвенирование осуществляли на HiSeq 4000 (Illumina, USA). В ответ на холестерин наблюдали увеличение экспрессии 228 генов, в том числе – 42 ортологов стероидного катаболизма из кластеров генов, контролируемых транскрипционными факторами KstR и KstR2.

Увеличение экспрессии гена холестериноксидазы KR76_09550 при отсутствии в геноме гена 3-гидроксистероиддегидрогеназы предполагает ключевую роль этого фермента в окислении 3ß-гидрокси группы стеринов. Одновременно значимо увеличили экспрессию два гена из кластера A: kshA KR76_14170 и kshB KR76_14160, кодирующие субъединицу A (оксигеназа) и субъединицу B (редуктаза) 9α-гидроксилазы, соответственно. Из пяти гомологов 3-кетостероид-Δ^1-дегидрогеназы (3-КСД) увеличивали экспрессию два гена kstD. При этом один гомолог kstD - KR76_14500 расположен в кластере A, другой - KR76_02655 - вне кластеров. Полученные результаты согласуются с высоким уровнем 3-КСД активности *N. simplex* ВКМ Ac-2033Д и способностью к накоплению стенонов при росте на стеринах.

Результаты расширяют представления об особенностях генетического контроля катаболизма стеринов у актинобактерий и могут быть использованы при создании штаммов - продуцентов терапевтически ценных стероидов с улучшенным биокаталитическим потенциалом.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №A-19-04-00126.

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС

Абрамова О.В.[1], Зубков Е.А.[1], Зоркина Я.А.[1], Морозова А.Ю.[1], Чехонин В.П.[1,2]
[1]Отдел фундаментальной и прикладной нейробиологии, ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского Министерства Здравоохранения РФ, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

abramova1128@gmail.com

Целью нашего исследования было изучение действия эмоционального хронического стресса в пренатальный период на физическое развитие и поведение крыс в возрасте до 1 месяца.

Эксперимент был проведен на 14 самках крыс линии Wistar. Самок из экспериментальной группы (n=8) после оплодотворения отсаживали в индивидуальные клетки и подвергали эмоциональному стрессу, вызванному хроническим воздействием ультразвука (УЗ) переменных частот 20-45 кГц на протяжении всего периода беременности (20 дней). Контрольных самок (n=6) содержали в стандартных условиях вивария в индивидуальных клетках. Потомство от экспериментальных самок, состояло из 26 самцов и 24 самок (УЗ-потомство). От контрольных самок было получено 25 самцов и 26 самок. Были проведены наблюдения за физиологическим развитием потомства (определялись сроки появления волосяного покрова, прорезывания нижних резцов, открытие ушного прохода и глаз). Также были проведены наблюдения за развитием сенсорно-двигательных рефлексов в течение первых 3 недель после рождения. Для оценки тревожного поведения с потомством проводился тест открытое поле на 21 день после рождения. Для исследования социального поведения на 22 и 34 дни после рождения проводился тест Т-образный лабиринт в котором оценивалось предпочтение потомства в общение с матерью или чужой нелактирующей самкой.

Пренатальный стресс не действует на физическое развитие и на сроки созревания сенсорно-двигательных рефлексов потомства крыс, но изменяет поведение. В тесте открытое поле самцы из экспериментальной группы реже пересекали центр (2(2;1) для контрольных самцов, 0(0,1) для УЗ самцов) и больше тратили время на груминг (24,3(3,7;8,1) для контрольных самцов, 37±3 для УЗ самцов) по сравнению с контрольными самцами. Не было найдено отличий между самками в данном тесте. В тесте Т-образный лабиринт не обнаружено отклонений в социальном поведении у УЗ-потомства. Однако самцы и самки из УЗ-потомства показали гиперактивное поведение на 34 день после рождения. Количество пересеченных квадратов составляло 68,5±2,2 для контрольных самцов, 66±2,8 для контрольных самок, 78±3,2 для УЗ самцов, 78,8±2,5 для УЗ самок.

Результаты исследования показали влияние пренатального стресса на поведение потомства. Стресс во время беременности усиливает тревожность у самцов, и вызывает гиперактивное поведение у самцов и самок.

ВЛИЯНИЕ ГАЗОМЕДИАТОРОВ НА РЕЦИРКУЛЯЦИЮ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ ПРИ АЛЛОКСАНОВОЙ МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Альбова П.Е., Ярмиев И.З., Яковлева О.В.
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

albova.polina96@gmail.com

Сахарный диабет (СД) – это группа эндокринных заболеваний, возникающих из-за нарушения секреции и/или действия инсулина. Развитие патологий при СД, связывают, в том числе и с нарушением работы систем газомедиаторов, участвующих в регуляции физиологических функций. Оксид азота (NO) участвует в расслаблении гладких мышц стенок сосудов, активации нейронов. Сероводород (H_2S) принимает участие в регуляции сократимости миокарда, нервной передаче и секреции инсулина, может реагировать с реакционноспособными кислородом или азотом. Целью работы явилось исследование роли NO и H_2S в регуляции рециклизации синаптических везикул в двигательном нервном окончании мыши при моделировании СД.

Для создания модели СД лабораторным мышам внутрибрюшинно вводился аллоксан (200мг/кг веса) после 24 часов голода. Эксперименты проводили на 45 сутки на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы. Препараты выдерживались в растворах, содержащих блокаторы ферментов синтеза NO и H_2S - L-NAME и AOAA, субстраты синтеза - L-аргинин и L-цистеин и экзогенные доноры - SNAP и NaHS. Использовался флуоресцентный маркер FM 1-43, который обратимо связывается с пресинаптической мембраной и во время эндоцитоза синаптических везикул оказывается внутри нервной терминали («загрузка»), а во время экзоцитоза освобождается из пресинаптичского окончания («разгрузка»). Регистрацию свечения проводили с помощью микроскопа AxioScope A1 (CarlZeiss, Германия).

У животных с СД добавление SNAP приводило к снижению свечения по всем трем протоколам загрузки и ускорению обесцвечивания нервных терминалей при разгрузке относительно контрольных значений. При обработке препарата растворами L-аргинина и L-NAME свечение и значения скорости обесцвечивания нервных терминалей достоверно не отличались от контрольных значений.

Добавление в раствор NaHS и L-цистеина приводило к снижению свечения нервных терминалей по первым двум протоколам загрузки, усилению по третьему, при этом наблюдалось замедление обесцвечивания нервных терминалей при разгрузке. Добавление AOAA не приводило к достоверным изменениям уровня свечения и скорости обесцвечивания нервных терминалей.

Таким образом, мы наблюдали, что у мышей с аллоксановым СД сохраняются эффекты экзогенных доноров NO и H_2S на эндо- и экзоцитоз синаптических везикул. Но отсутствие эффектов на рециклизацию синаптических везикул субстрата синтеза и блокатора NO-синтаз свидетельствует о нарушении работы ферментов синтеза NO при СД. При этом субстрат синтеза H_2S сохранял свои эффекты, что говорит о сохранении работы ферментов синтеза H_2S при моделировании СД.

МОРФО-КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПЕРЕСТРОЙКИ РУБЦОВОЙ ТКАНИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ КОЖИ

Андреева А.А., Жданова А.В., Петрова И.М., Хацко С.Л., Жданов А.В., Глухарева Т.В.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

ans.andreeva@mail.ru

В работе проводился морфо-количественный анализ перестройки рубцовой ткани в условиях заживления линейной раны кожи при местном лечении мазью, содержащей 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазин (триазол). В качестве экспериментальных животных использовали 20 белых лабораторных крыс, самцов, которым моделировали линейную кожную рану, объединенных по 5 в 2 группы: контроль, лечение триазолом. Животных выводили из эксперимента на 7-е и 14-е сутки. Для гистологического исследования кожи использовали стандартные гистологические методики с изготовлением срезов 3 мкм, окрашиваемых гематоксилином и эозином. Проводили морфо-количественный анализ структурной перестройки рубцовой ткани с помощью микроскопа Olympus при увеличении в 200 раз. С помощью программ ToupView и Image J измеряли площадь рубца, а также толщину слоев кожи: эпидермиса, дермы. Статистическую обработку результатов проводили в программах «Microsoft Excel» и «Статистика 6.0», используя критерий Манна-Уитни.

С увеличением срока регенерации происходит уменьшение площади рубца. На 7-е сутки рана у животных в обеих группах обширная, что связано с наличием выраженной воспалительной реакции. К 14-м суткам площадь раны уменьшается: в группе «контроль» на 27,627±3,823%, а в группе «триазол» на 75,061±5,983% (что, вероятно, указывает на ранозаживляющее действие тестируемого вещества).

На 7-е сутки эксперимента в группе «контроль» эпителизация произошла не полностью, что сказывается на меньшей толщине эпителия, сам дефект не эпителизирован. В группе «триазол» наблюдается увеличение толщины эпидермиса, связанное с явлением акантоза. Однако, уже к 14-м суткам эксперимента толщина эпителия уменьшается, сам эпидермис выравнивается и приобретает структуру здоровой ткани. На 7-е сутки эксперимента дерма имеет значительную толщину. Это связано с наличием выраженного интерстициального отека: в дерме отмечаются инфильтраты, полнокровные сосуды. При нанесении на рану триазола воспаление протекает менее интенсивно, отек не выражен, это связано, вероятно, с наличием противовоспалительного действия исследуемого вещества. На 14-е сутки эксперимента в дерме обеих групп наблюдается сформированный рубец с преобладанием клеточного компонента. Однако, увеличивается и количество волокон. Толщина дермы во всех группах уменьшается, воспалительные процессы носят умеренный характер, соединительная ткань уплотняется, приобретая признаки нормального строения.

ГАЛЛОПРОИЗВОДНЫЕ КАТЕХИНОВ ЗЕЛЁНОГО ЧАЯ УВЕЛИЧИВАЮТ АКТИВНОСТЬ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В АОРТЕ КРЫС

Аникина В.А., Корыстов Ю.Н.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

viktoriya.anikina@list.ru

Потребление зелёного чая снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и подавляет развитие атеросклероза. Основными факторами инициации и развития атеросклероза является увеличение активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и образования активных форм кислорода (АФК) в сосудах. Снижение развития атеросклероза при потреблении чая связывают с входящими в его состав флавоноидами. Чай содержит две группы флавоноидов: флавонолы и катехины. Ранее было показано, что флавонолы ингибируют активность АПФ и образование АФК в аорте. Основными катехинами зелёного чая являются галлопроизводные эпикатехина: (–)-эпигаллокатехин галат (ЭГКГ) и (–)-эпигаллокатехин (ЭГК). Влияние этих флавоноидов чая на активность АПФ и образование АФК в сосудах in vivo не изучалось. В работе исследовали действие ЭГКГ и ЭГК на активность АПФ и образование АФК в аорте крыс.

Активность АПФ в аорте определяли по гидролизу субстрата АПФ гиппурил-гистидил-лейцина, а образование АФК измеряли по окислению дихлордигидрофлуоресцеина.

Показано увеличение активности АПФ и образования АФК в аорте после введения крысам обоих галлопроизводных эпикатехина. Дозы, при которых активация АПФ была равна половине максимальной (EC50) при внутрибрюшинном введении для галлопроизводных эпикатехина были почти одинаковы: 0.06 – 0.07 мкг/кг. При внутрижелудочном введении ЭГКГ EC50 на порядок больше: 0.8 мкг/кг. При дозе 3 мкг/кг ЭГКГ и ЭГК увеличивают образование активных форм кислорода в 1.5 – 2 раза через три часа после внутрибрюшинного введения.

Таким образом, две группы флавоноидов из зелёного чая оказывают противоположные эффекты на активность АПФ в аорте, и суммарным результатом их действия при потреблении зелёного чая может быть, в том числе, и подавление активности АПФ в сосудах, но за этот эффект будут ответственны не галлопроизводные эпикатехина.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА SALMONELLA TYPHIMURIUM MDC1759

Арутюнян А.А.[1], Тимотина М.И.[1], Габриелян Л.С.[1,2], Трчунян А.А.[1,2]
[1]Российско-Армянский университет, Ереван, Армения; [2]Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

anih9818@gmail.com

Представители рода *Salmonella* - патогенные микроорганизмы, вызывающие острые кишечные инфекции человека. Растущая резистентность к антибиотикам среди патогенных бактерий требует разработки новых альтернативных подходов. В связи с этим повышается интерес к наночастицам (НЧ), проявляющим антибактериальное действие. Поиск НЧ с широким спектром терапевтического действия имеет важное значение для практической медицины.

В данной работе исследовано действие наночастиц серебра на рост и выживаемость грамотрицательной бактерии *Salmonella typhimurium* MDC1759. Средний размер НЧ серебра составлял 29±0.08 нм. Бактерия выращивалась в в анаэробных условиях при 37 ^{o}C и pH 7.5. Скорость роста (μ) определяли по формуле. $\mu = (\ln ОП_t - \ln ОП_0)/t$, где $ОП_0$ – начальное значение оптической плотности ($ОП_{600}$); а $ОП_t - ОП_{600}$ через t часов. Подсчет жизнеспособных бактерий проводили методом посева соответственно разведенной в определенном объеме бактериальной культуры на твердую питательную среду в чашки Петри, а затем подсчитывали количество сформированных колоний.

Обнаружено антибактериальное действие НЧ серебра на *S. typhimurium* MDC1759, выражающееся в снижении скорости роста и уменьшении количества жизнеспособных бактериальных колоний. Обнаружено, что интенсивность воздействия данных НЧ зависит от их концентрации. НЧ серебра проявляли антибактериальный эффект при низких концентрациях. Установлено, что минимальная ингибирующая концентрация НЧ серебра - 10 мкг/мл. При этом, удельная скорость роста и количество жизнеспособных колоний *S. typhimurium* снижались примерно в 3 раза, указывая на бактерицидное действие НЧ серебра. Для выявления механизмов действия данных наночастиц был также исследован перенос протонов через бактериальную мембрану. В присутствии НЧ перенос протонов через мембрану *S. typhimurium* подавлялся даже при добавлении ингибитора N,N'-дициклогексилкарбодиимида, свидетельствуя о том, что антибактериальное действие НЧ серебра может быть связано с активностью протонной АТФазы.

Таким образом, наночастицы серебра оказывают выраженное бактерицидное влияние на *S. typhimurium* MDC1759 при низких концентрациях, и, следовательно, могут применяться в биомедицине при лечении различных инфекционных заболеваний.

ИНТЕРФЕРОНИНДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ СОЧЕТАНИЯ ПРЕПАРАТОВ САНОГЕНА И БЕТАЛЕЙКИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ

Кахоров Б.А., Ахмедова Ш.А., Сафарова Н.К.
Гулистанский государственный университет, Гулистан, Узбекистан

mkahorov@yandex.com

Важнейшим механизмом действия тимических пептидов является усиление функциональной активности Т-лимфоцитов, однако многоэтапный процесс развития иммунной реакции включает активацию не только клеточных, но и гуморальных факторов иммунитета, способствуя усилению продукции специфических антител, цитокинов, факторов воспаления и др. С научной точки зрения представляет интерес, что синтетический трипептидный аналог фетального тимуса саногена и беталейкина обладает индукторными свойствами. Известно, что пептиды тимуса обладают выраженным плейотропным действием иммуномодулирующим, гемопоэтическим, нейроэндокринным, дифференцирующим, детоксицирующим, регенераторным, интерфероиндуцирующим и др. Среди известных тимусных пептидов определенный интерес представляет препарат, полученный из фетальных овечьих тимусов. Для определения влияния субстанции из пептидных соединение и оценки специфичности фармакологической активности на иммунную кроветворную систему, необходимо определить состояние иммунной системы организмов животных в их иммунодефицитном состоянии по различной форме.

В данной серии экспериментов использовали беспородных мышей. Для индукции гепатита мышам трех дней вводили 20% масленый раствор четыреххлористого углерода (CCl_4) по 0,2 мл внутрибрюшинно. При вторичном иммунодефецитном состоянии ,

определить глубокую зараженность животных и их использование для определения влияния на антителообразуюшие клетки селезенки животных и определить кроветворную систему организмов, для каждого эксперимента выделены пять групп по 10- шт животных.Одновременно животных иммунизировали эритроцитами барана в дозе 2 х 10^8. Через семь дней проводили забой животных и получали результаты. Для коррекции иммунодефицитного состояния мышам вводили 2мг/кг веса пептидных соединение.

Результаты наших исследований по исследованию активности антителоообразуюших клеток селезенки показали, что в случае предварительной совместной инкубации саногена и беталейкина с эффекторными клетками усиливается количества клеток . Ранее нами было показано, что под влиянием саногена и беталейкина значительно усиливается интерфероногенез в культуре лимфоцитов . Возможно, влияние саногена и беталейкина на ЕК может быть обусловлено также активацией Т-лимфоцитов через специфические рецепторы, что, в свою очередь, приводит к повышению продукции IFN-γ, IL-2, IL-12, IL-15 и с одновременным появлением рецепторов к ним на других субпопуляциях лимфоцитов.

ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕПАРАЦИЮ ДНК В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ IN VITRO

Балакин Г.Ю.[1], Синельникова В.А.[1], Щербатюк Т.Г.[1,2], Гапеев А.Б.[3,2]
[1] ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]МГОУ; [3]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

cobra.balakin@yandex.ru

Озонотерапия (ОТ) относится к группе методов окислительной терапии, в которую входят как широко используемые (гипербарическая оксигенация, ультрафиолетовое облучение крови, лазерное облучение низкой интенсивности), так и новые методы, применяемые в последнее десятилетие (фотодинамическая терапия, синглетно-кислородная терапия). Тканеспецифические и индивидуальные особенности ответа биологической системы на внешнее воздействие и АФК-зависимые внутриклеточные механизмы его реализации необходимо учитывать при использовании методов окислительной терапии вообще и ОТ, в частности.

Цель работы заключалась в определении концентраций озона, способных оказывать генотоксическое действие на различные типы нормальных и опухолевых клеток.

С использованием метода современной генотоксикологии «комета-теста» исследованы уровни спонтанных и индуцированных повреждений ДНК и эффективность систем репарации ДНК в лейкоцитах периферической крови интактных крыс и животных-опухоленосителей при воздействии in vitro различных концентраций озона в озонированном физиологическом растворе (ОФР).

В ходе экспериментов не обнаружено специфичности ответа различных клеток (лейкоциты периферической крови интактных крыс и крыс-опухоленосителей) на действие озона *in vitro*. Уровень повреждений ДНК практически линейно зависел от концентрации озона в озоно-кислородной смеси для всех типов использованных клеток. Однако более высокий уровень спонтанных повреждений ДНК в лейкоцитах крови опухоленосителей определяет более высокий уровень повреждений ДНК при действии озона в различных концентрациях. Таким образом, озон в концентрациях до 1 мг/л в озоно-кислородной смеси не обладает специфическим действием и дозозависимо увеличивает уровень повреждений ДНК в различных клетках. Оптимальная длительность инкубации клеток с ОФР *in vitro* для достижения значимого генотоксического эффекта

составляет 20 мин, что, вероятно, связано со временем жизни озона и продуктов озонолиза. Оценка репарации ДНК в лейкоцитах периферической крови крыс показала, что эффективность систем репарации ДНК при действии озона в концентрации 1 мг/л in vitro в лейкоцитах крови животных-опухоленосителей оказывается сниженной приблизительно на 30% по сравнению с лейкоцитами крови интактных животных. Наблюдаемый эффект, вероятно, связан со снижением активности ферментов репарации ДНК в лейкоцитах крови животных-опухоленосителей.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-02-00667.

ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Болобан А.М.[1], Боровкова Л.В.[2], Щербатюк Т.Г.[3]

[1]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; [2]ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия; [3]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

boloban-nastya@mail.ru

В организме человека в процессе его жизнедеятельности постоянно идут процессы свободнорадикального окисления (СРО) с образованием химически активных молекул - свободных радикалов. Эти молекулы необходимы для нормального функционирования организма. Однако, их накопление приводит к оксидативному повреждению клеток, развитию различных патологических процессов и, следовательно, к изменению работы антиоксидантной системы организма. Поэтому выяснение особенностей процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты важно для понимания особенностей развития адаптивных реакций на клеточном уровне. Роль СРО в канцерогенезе привлекает внимание исследователей на протяжении нескольких десятилетий с появления гипотезы Н.М. Эмануэль, однако до сих пор нет четкого понимания ни зависимости свободнорадикальной активности в опухоли и организме-опухоленосителе от роста и развития опухоли, ни регуляторных механизмов этих процессов.

Цель исследования - оценка свободнорадикального окисления в организме женщин с доброкачественными опухолями.

В исследовании приняли участие 40 женщин с доброкачественными новообразованиями – кистомами яичников. Контрольную группу составили 9 условно здоровых женщин. Объектом исследования служила плазма крови и гемолизат эритроцитов. Оценку состояния свободнорадикального окисления и работу антиоксидантной системы проводили методом индуцированной перекисью водорода и сульфатом железа хемилюминесценции в плазме крови и по активности супероксиддисмутазы в эритроцитах.

В результате исследования установлено, что в плазме крови женщин с кистомой яичников статистически значимо возрастает показателей Imax, отражающий интенсивность хемилюминесценции и снижается интегративный параметр общей антиоксидантной активности на 41,06% и 32,49%, соответственно. Это говорит об активации процессов свободнорадикального окисления и недостаточной работе антиоксидантных систем. При этом наблюдалось компенсаторное увеличение активности супероксиддисмутазы в эритроцитах больных женщин в 1,23 раза по сравнению с условно здоровыми женщинами.

Дальнейшие исследования позволят оценить диагностическое и прогностическое значение параметров свободнорадикальных процессов при опухолевом росте.

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ В ЭНДОТЕЛИНОВОЙ МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ КОРЫ МОЗГА.

Бурханова Г.Ф.[1], Чернова К.А.[1], Шерозия М.Г.[1], Захаров А.В.[1], Хазипов Р.Н.[1,2]
[1] ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;
[2]Средиземноморский институт нейробиологии, г. Марсель, Франция

gulshat2205@mail.ru

Ишемия головного мозга является одной из наиболее значимых проблем современного здравоохранения. Актуальной проблемой является создание реалистичных методов нейропротекции раннего действия. Поскольку единственным из известных на сегодня методов уменьшения чувствительности нейронов к гипоксии является гипотермия, нами была исследована эффективность локальной гипотермии ишемизированного участка коры в качестве нейропротектора при фокальной ишемии.

Для тестирования нейропротекторного действия гипотермии были исследованы её эффекты на нейрональную активность в соматосенсорной коре в условиях ишемии, вызванной эндотелином-1 (ЭТ-1). Нейрональная активность регистрировалась под уретановым наркозом в бочонковой коре крыс посредством 16-ти канальных проб на кремниевой основе одновременно со стимуляцией основной вибриссы. Температура поверхности коры мозга поддерживалась на определенном значении с помощью металлической пластины, прикреплённой к элементу Пельтье. В течение эксперимента 1 группе животных температуру постоянно удерживали на уровне 39°С, в группе 2 - опускали до 28°С в момент эпипиальной аппликации ЭТ-1, в группе 3 - с задержкой 10 минут, в группе 4 - через 1 час после подачи ЭТ-1. После эксперимента рассчитывался объём вызванного ишемией очага по размерам поражения в последовательных срезах мозга.

Обнаружено, что в 2/3-м кортикальных слоях, наиболее близких к месту аппликации ЭТ-1, в результате снижения температуры до 28°С появлялась тенденция к восстановлению спонтанной нейрональной активности после ишемии в отличие от контрольных экспериментов (Т 39°С, n=6), где спонтанная активность в 2/3-м слоях не восстанавливалась даже частично. В более глубоких 4-м и 5-м слоях коры наблюдалось достоверно более эффективное восстановление спонтанной активности, когда температуру снижали одновременно с аппликацией ЭТ-1 (n=5) или через 10 мин (n=6). При создании гипотермии через 1 час после аппликации ЭТ-1 постишемическое восстановление активности не было достоверным. Гистологический анализ срезов коры головного мозга животных в 2, 3 и 4 группах выявил значительное уменьшение размера, вызванного ишемией повреждения кортикальной ткани по сравнению с группой 1. При этом ранняя гипотермия с задержкой 0 и 10 мин после начала аппликации ЭТ-1 наиболее эффективно уменьшала объём ишемического очага.

Таким образом, гипотермия оказывает выраженное нейропротекторное действие в ЭТ-1-модели ишемического поражения коры мозга.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 17-15-01271 и в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета.

ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ КОСТНОГО МОЗГА В КУЛЬТУРЕ

Бурханова С.Д., Улитко М.В.
ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

s.burkhanova@list.ru

Согласно современным представлениям, эритропоэз в костном мозге млекопитающих и человека протекает в эритробластических островках (ЭО), представляющих собой ассоциацию макрофагальной и эритроидной линий клеток. Изучение влияния различных факторов, в том числе лекарственных препаратов на морфофункциональное состояние центральных макрофагов ЭО, представляется актуальным, так как от их функциональной активности зависит скорость пролиферации, дифференцировки и созревания эритроидных клеток в «короне» ЭО.

Целью данной работы было исследование влияния иммуномодулирующего препарата аминодигидрофталазиндиона натрия на морфофункциональное состояние центрального макрофага и развитие эритроидных клеток в культуре эритробластических островков костного мозга.

Выделение ЭО из костного мозга бедренной кости крыс линии Wistar, их культивирование, количественная оценка и морфологическое исследование проводились по методу Ю.М. Захарова в модификации А.Г. Рассохина. Для оценки функционального состояния центральных макрофагов ЭО применяли методику цитохимического выявления активности неспецифической эстеразы в макрофагах в модификации G.Gomori. С целью изменения функционального состояния макрофагов, ЭО культивировали в питательной среде с добавлением аминодигидрофталазина натрия в концентрациях 5 мкг/мл и 10 мкг/мл. Показатели морфофункционального состояния ЭО определяли на первые и третьи сутки.

В результате исследования было установлено, что под влиянием иммуномодулятора аминодигидрофталазина натрия в культуре ЭО костного мозга крыс происходит дозозависимое подавление процесса формирования ЭО на основе контакта свободных макрофагов костного мозга с КОЕэ (эритропоэз de novo). При этом наблюдается ускорение созревания эритробластов в уже существующих островках, а также активация процесса реконструкции, то есть увеличение интенсивности повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз, в основе которого лежит адгезия КОЕэ, к макрофагам, уже участвующим в поддержании развития эритроидных клеток.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ УДАЛЕНИЯ CA2+ НА СИНХРОНИЗАЦИЮ ВЫБРОСА МЕДИАТОРА

Вазетдинова А.А., Рахматуллина Ф.Ф., Розов А.В.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, НИЛ Нейробиология, Казань, Россия
alina-vazetdinov@mail.ru

Высвобождение нейромедиатора из пресинаптического нервного окончания в центральных синапсах синхронизировано с потенциалами действия (ПД). При некоторых патологических состояниях мозга может наблюдаться переход от синхронного выброса нейромедиатора в асинхронный. Однако, в гиппокампе существует особый класс холецистокинин-экспрессирующих (ССК+) интернейронов для которых в норме характерен асинхронный выброс тормозного нейромедиатора, сохраняющийся в течение

десятков миллисекунд до десятков секунд после генерации ПД или пачки ПД. Несмотря на то, что молекулярный механизм, участвующий в генерации асинхронного выброса нейромедиатора относительно хорошо изучен, источник Ca2+, обеспечивающий длительное слияние везикул, остается неясным.

В наших экспериментах основными источниками Ca2+ рассматривались кальций проницаемые NMDA-каналы, пресинаптические ванилоидные рецепторы первого типа (TRPV-1), а так же высвобождение Ca2+ из внутриклеточного депо посредством активации рианодиновых рецепторов. Эксперименты проводились на срезах гиппокампа мышей обоих полов (P14-21). Парная патч-кламп регистрация синаптически связанных нейронов (интернейрон-пирамида) проводилась в конфигурации «целая клетка» в режиме фиксации тока и потенциала. В ходе экспериментов нами было показано, что не один из выше упомянутых кандидатов не влияет на параметры асинхронного выброса нейромедиатора. Полученные нами данные показывают, что асинхронное высвобождение нейромедиатора, по-видимому, является результатом временного прерывания или замедления вывода Ca2+ из пресинаптических нервных окончаний. Так как контроль над базальной концентрацией кальция ведут кальций-транспортирующие белки плазматической мембраны, мы оценили вклад Ca2+-АТФазы плазматических мембран, а так же Na+/Ca2+-обменника плазматической мембраны и их возможную роль в инициации асинхронного выброса нейромедиатора.

Было показано, что функциональная экспрессия Ca2+-АТФазы снижена в изучаемых терминалях, что естественно приводит к замедлению вывода Ca2+. Более того блокада реверсированного входа Ca2+ через Na+/Ca2+-обменник существенно снижала длительность и интеграл асинхронного выброса нейромедиатора. Таким образом, асинхронный выброс нейромедиатора в ССК+ синапсах запускается Ca2+ остающемся в терминалях после пачки ПД, а необходимая для выброса медиатора концентрация поддерживается за счёт снижения скорости вывода Ca2+ и за счёт реверсивного входа Ca2+ через Na+/Ca2+-обменник.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-75- 10061).

ЗНАЧЕНИЕ КАППА-ТРОПОМИОЗИНА ДЛЯ АКТИН-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ

Васильева Д.[1,2], Берг В.Ю.[1,2], Кочурова А.М.[1,2], Матюшенко А.М.[3], Копылова Г.В.[1], Щепкин Д.В.[1,2]

[1]Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; [2]Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; [3]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

valeoupi@gmail.com

В миокарде млекопитающих экспрессируются изоформы тропомиозина (Tpm) Tpm1.1 и Tpm1.2 или κTpm, которые являются продуктами гена TPM1. В миокарде человека содержится до 7% κTpm, и его распределение в регионах сердца является неоднородным [Peng etal., J Muscle Res Cell Motil. 2013]. Функциональное значение κTpm слабо изучено. Показано, что увеличение экспрессии κTpm в миокарде мышей приводит к дилатационной кардиомиопатии [Rajan etal., Circulation. 2010; Karam etal. JMuscleResCellMotil. 2011]. Мы изучили эффект κTpm на взаимодействие с актином и кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия в миокарде. Для этого мы сравнили аффинность κTpm и Tpm1.1 к актину и характеристики кальциевой зависимости скорости скольжения регулируемых тонких нитей, реконструированных из актина,

тропонина и Tpm1.1 или κTpm, в invitro подвижной системе по миозину предсердий и желудочков.

Обнаружено, что κTpm и Tpm1.1 по-разному взаимодействуют с сердечной и скелетной изоформами актина. κTpm образует менее стабильный комплекс с сердечным актином, чем Tpm1.1, что может иметь значение для миофибриллогенеза. Фосфорилирование значительно увеличивает аффинность κTpm к сердечному актину. В invitro подвижной системе максимальная скорость скольжения тонких нитей, содержащих κTpm, статистически не значимо выше, чем тонких нитей с Tpm1.1. Скорость нитей по миозину предсердий составила 5.3±0.1 мкм/с с Tpm1.1 и 5.8±0.2 мкм/с с κTpm, а по миозину желудочков – 3.6±0.1 мкм/с с Tpm1.1 и 3.8±0.2 мкм/с с κTpm. Кальциевая чувствительность скорости скольжения нитей, содержащих Tpm1.1 или κTpm, не различалась. В миокарде взрослого человека Tpm фосфорилирован на 20-30%. Мы проверили, влияет ли фосфорилирование κTpm на регуляторные свойства тропомиозина, используя его псевдофосфорилированную форму с аминокислотной заменой S283D. Фосфорилирование κTpm не значимо увеличивало кальциевую чувствительность скорости тонких нитей: значения pCa_{50} составили 6.33±0.05 для κTpm и 6.41±0.04 для его псевдофосфорилированной формы.

Экспрессия κTpm может служить тонкой настройкой работы сократительного аппарата кардиомиоцитов в изменяющихся условиях функционирования при патологических состояниях миокарда.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН, поддержано РФФИ (гран № 18-34-20085) и Программой АААА-А18-118020590135-3.

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ И СПЕРМАТОГЕНЕЗ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Власова А.А.[1,2], **Храмцова Ю.С.**[1,2]
[1]ФБГУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; [2]ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

vlasova.9@mail.ru

Несмотря на многочисленные исследования причин мужского бесплодия, тенденции к его снижению не отмечается. Давно известно, что в регуляции работы репродуктивной системы активно участвуют эндокринная и нервная системы, в то время как роль иммунной системы только изучается. Тучные клетки (ТК), являясь ее частью, могут выступать в качестве регуляторного звена репродуктивной функции и оказывать влияние на функциональную активность органов мужского полового тракта. В предыдущих исследованиях нами было показано, что существует корреляция между числом ТК в семеннике и его функциональной активностью. В связи с чем встает вопрос о подобной зависимости в семенных пузырьках и придатках семенника.

Цель данной работы – изучить морфофункциональные показатели ТК и органов мужской репродуктивной системы у крыс разного возраста.

Работа выполнена на интактных крысах самцах линии Wistar возрастом 4, 12 и 24 месяца. Из семенных пузырьков и придатков готовили гистологические препараты, которые окрашивали толуидиновым синим, альциановым синим – сафранином и гематоксилином – эозином по стандартным методикам. На препаратах определяли число ТК, степень их грануляции, средний гистохимический коэффициент, индекс дегрануляции и зрелость ТК. Для определения функционального состояния семенных пузырьков на препаратах измеряли высоту эпителиальных клеток, толщину собственной пластинки и объем ядер эпителиоцитов. На препаратах придатков определяли большой и малый диаметры просвета протока, высоту эпителия и толщину собственной пластинки.

Сравнение групп выполняли с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

Изначально предполагалось, что с возрастом происходит увеличение числа ТК в органах половой системы самцов крыс, приводящее к угнетению репродуктивной функции. Однако, результаты исследований опровергли данную гипотезу. Было выяснено, что при старении число ТК в органах не изменяется, но происходит их активация: усиление функциональной активности в семенных пузырьках и придатках, и одновременное снижение синтетической в семенных пузырьках. Так же были выявлены изменения градиента зрелости ТК. В зрелом репродуктивном периоде (1 год) тучноклеточная популяция смещается в сторону молодых ТК, в молодом (4 мес.) и старческом (2 года) периодах – в сторону зрелых. Однако, на фоне отмеченных преобразований ТК, морфометрический анализ не показал значительных изменений в структурах исследуемых органов. Данные результаты свидетельствуют об усилении местной регуляции сперматогенеза ТК в старческом возрасте, что по-видимому способствует поддержанию нормальной репродуктивной функции в данном репродуктивном периоде.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ БИОМАССЫ S.FRADIAE CNMN-AC-11 И S. MASSASPOREUS CNMN-AC-06 НА ВЫРАБОТКУ ОБОРОНИТЕЛЬНЫХ УСЛОВНЫХ РЕФЛЕКСОВ У БЕЛЫХ КРЫС

Гарбузняк А.А., Шептицкий В.А.
Приднестровский государственный университет им. Т.Г. Шевченко,
Тирасполь, Молдавия

11_lav_11@mail.ru

Среди микроорганизмов одной из наиболее продуктивных групп в отношении получения биологически активных веществ различной химической природы и сферы применения являются стрептомицеты. В последние годы получены данные, свидетельствующие о значимом влиянии метаболитов определенных штаммов стрептомицетов и их компонентов на ультраструктурную и функциональную организацию клеточных элементов различных нейрональных образований головного мозга, в том числе, участвующих в процессах памяти и обучения. В результате проведенных исследований было выявлено, что у крыс, получавших в качестве пищевой добавки к стандартному рациону питания высушенную биомассу штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, выращенную на комплексной питательной среде, число условно-рефлекторных реакций намного выше, чем у животных контрольной группы. В динамике условно-рефлекторной деятельности их доля в процентном отношении достоверно выше у крыс опытной группы с 4-го по 6-й и с 8-го по 10-й дни эксперимента. Особенно существенные различия между животными опытной и контрольной групп зафиксированы на 4-й и 5-й дни эксперимента, когда количество условно-рефлекторных побежек у крыс, потреблявших данную биомассу, выше в 1,5 – 2,5 раза. При исследовании крыс, получавших в качестве пищевой добавки высушенную биомассу штамма *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, обнаружено, что число условно-рефлекторных реакций также намного выше, чем у животных контрольной группы. В динамике условно-рефлекторной деятельности их доля в процентном отношении достоверно выше у крыс опытной группы со 2-го по 11-й день эксперимента. Особенно существенные различия между животными опытной и контрольной групп зафиксированы на начальном этапе обучения – со 2-го по 6-й дни эксперимента, когда количество условно-рефлекторных побежек у крыс, потреблявших биомассу штамма *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, было выше в 2–5 раз.

Таким образом, длительное потребление биомассы штаммов *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 и *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 оказывает заметное позитивное влияние на процесс формирования условно-рефлекторных связей, способствуя существенной интенсификации процесса обучения навыку активного избегания у самцов белых крыс. Сравнительный анализ показывает, что у крыс, получавших в рацион биомассу штамма *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, число условно-рефлекторных реакций и количество условно-рефлекторных побежек заметно выше, чем при потреблении животными биомассы штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРОВ СЛЕДОВЫХ АМИНОВ В ЛОКОМОТОРНОЙ И ВЕСТИБУЛЯРНОЙ ФУНКЦИЯХ

Горяинова А.В., Калинина Д.С.
Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

asya.goryainova@mai.ru

Следовые амины структурно и метаболически схожи с классическими моноаминовыми нейротрансмиттерами, играющими большую роль в общей регуляции поведения и моторных функций человека и животных путем изменения реактивности нейронных цепей в мозге млекопитающих (Gainetdinov et al. 2018). Однако функции следовых аминов и их рецепторов (TAAR) в контроле локомоторной и постуральной устойчивости остаются мало изученными. На данный момент известно 15 типов рецепторов к следовым аминам и в данной работе исследовалось участие рецепторов 5-ого типа TAAR5 в модуляции локомоторной и постуральной функций.

Исследование было выполнено на мышах с нокаутом гена (TAAR5-KO), кодирующего экспрессию этого рецептора (n=7) и мышах дикого типа WT (n=7). Для постуральных функций были проведены следующие тесты. Static rod проводился на круглых рейках разного диаметра (20, 15 и 10 мм) длиной 100 см, закрепленных на лабораторной полке на высоте 80 см с затемненной коробкой (в качестве укрытия для мышей). Мышей сажали на противоположный конец рейки и измеряли время ориентации (разворота мыши по направлению к укрытию) и прохождения рейки. Для усложнения задачи, а также чтобы минимизировать эффекты, обусловленные страхом, использовалась вестибулярная стимуляция, представляющая собой вращение мышей с частотой 3 Гц в течение 25 сек в непрозрачной камере, после чего мышь сажали на рейку диаметром 15 мм и фиксировали время прохождения.

Для определения двигательно-координационных нарушений применялся тест Rotarod (Neurorobotics, Россия) с ускорением вращения от 10 rpm до 30 rpm в течение 1 минуты и оценивалось время, в течение которого мышь способна поддерживать равновесия на вращающемся стержне. Также оценивались параметры ходьбы по ровному коридору (длительность переноса, опоры и цикла шага) и активность мышц *vastus* и *tibialis* (электрофизиологический анализ ЭМГ). Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Показано, что тесте «static rod» мышам WT требуется достоверно больше времени на прохождение рейки ($p<0,05$), чем TAAR5-KO (19,27±3,765 сек и 8,887±0,9835 соответственно), как и после вестибулярной стимуляции (11,68±1,735 сек. и 7,42±0,4598 сек, $p<0,05$), что может свидетельствовать как о гиперактивности, показанной ранее, так и о модуляции вестибулярных функций. В поддержку последнего свидетельствуют характеристики ходьбы по прямой и тест «Rotarod» - изменения параметров цикла шага и

двигательно-координационных нарушений не выявлено (60,85±8.756 сек. WT и 53.16±3,379 TAAR5-KO).

ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО КОМПОНЕНТА СЕМЕННИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ

Гребенкина П.В.[1,2], Храмцова Ю.С.[1,2]
[1]ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; [2]ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

grebenkinap@gmail.com

В настоящее время растет число пар с диагностированным бесплодием, причем в половине случаев имеет место мужской фактор. В регуляции сперматогенеза, безусловно, задействованы эндокринная и нервная системы, однако в последнее время активно изучаются факторы местной регуляции, которые находятся в соединительнотканном компоненте семенника и могут влиять на фертильность.

Целью исследования является морфофункциональная оценка компонентов соединительной ткани семенника на разных стадиях онтогенеза. Работа проводилась на самцах крысы линии Вистар, выведенных из эксперимента в возрасте 4, 12, 18, 24 месяца. Из семенников готовили гистологические препараты, которые окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином (по Ван-Гизону), толуидиновым синим по стандартным методикам. С помощью программы “ImageJ” на препаратах оценивали следующие показатели: диаметр семенных канальцев, толщину белковой оболочки, количество фибробластов, фиброцитов и тучных клеток, число клеток Лейдига в интерстициальном пространстве. Анализ данных проводили в пакете программ статистического анализа “Statistica 10.0” непараметрическим критерием Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p<0,05$.

В ходе работы были получены следующие результаты. С возрастом большая часть компонентов соединительной ткани семенников крыс подвергается изменениям. Так, толщина белковой оболочки увеличивается у 1,5-годовалых и 2-летних животных. При этом количество фиброцитов в соединительной ткани семенников не меняется в течение всей жизни, а число фибробластов резко снижается у 2-годовалых крыс. Тучные клетки являются важным регуляторным звеном сперматогенезом, и их число с возрастом падает. Однако их функциональная активность возрастает. Клетки Лейдига играют значимую роль в стероидогенезе и поддержании концентрации тестостерона в крови. С возрастом их число падает, вместо них в интерстициальной появляется большое число волокон. При всех изменениях соединительнотканного компонента с возрастом объем семенных канальцев остается неизменным. Полученные данные свидетельствуют о том, что изменения соединительнотканного компонента семенника в онтогенезе необходимо для поддержания фертильности на протяжении всей жизни.

ГАЗООБМЕН КЛЕЩЕЙ ОТРЯДА IXODIDA В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВНЕШНЕЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И МАЛОПОДВИЖНОГО ОБРАЗА ЖИЗНИ

Саидова Д.Э[1]., Маликов И. Р. [2], Умркулова С.Х. [2]
[1]Ташкентский фармацевтический институт, Ташкент, Узбекистан; [2]Ташкентский государственный стоматологический институт, Ташкент, Узбекистан

dilfuza_saidova92@mail.ru

В исследования проведено сравнительное изучение газообмена у трех видов иксодовых клещей (*Hyalomma asiaticum, Hyalomma anatolicum, Hyalomma plumbeum*), распространенных на территории Узбекистана.

Проведенное сравнительное изучение газообмена у данных видов клещей показало, что интенсивность газообмена у этих клещей заметно отличается. Среди них *Hyalomma anatolicum* обладает наибольшим уровнем газообмена, а *Hyalomma asiaticum*, напротив, имеет наименьший уровень обмена. Хотя изучаемые виды клещей принадлежат к одному роду, тем не менее имеют определенные градации в интенсивности обмена веществ, что, по все вероятности, определяется биологическими особенностями этих клещей. Одним из главных абиотических факторов, влияющих на клещей, является внешняя температура, которая колеблется в широком диапазоне в разные сезоны года, причем сильно снижается в период зимовки и повышается в другие периоды года. Поэтому нами была выполнена серия опытов по определению газообмена у клещей при содержании их при различных температурных условиях внешней среды (10^0, 20^0, 30^0 С). В каждом опыте использовали по 10 экз. имаго клещей с общим весом около 0,3-07 г. Жизнедеятельность клещей, в основном, протекает на кожной поверхности хозяина, средняя температура которой составляет примерно 20^0 С. Поэтому данные, полученные в лабораторных условиях при этой температуре, нами приняты в качестве контроля. При сравнении степени изменения уровня газообмена, можно отметить большую изменчивость газообмена обмена к снижению температуры среды. Так при повышении температуры среды от 20^0 С до 30^0 С газообмен увеличивается около двух раз. Однако при снижении температуры среды от 20^0 до 10^0 С отмечается примерно в 7-9 раз подавление газокислородного обмена. При этом более выражено снижается метаболизм у *H. anatolicum* и *H. asiaticum*. Полученные результаты свидетельствуют о лабильности газообмена у клещей, который регулируется температурой среды. Такая лабильность может иметь важное биологическое значение, так как снижение окружающей температуры может сигнализировать о наступлении холодов. В период зимовки, сочетающийся также с голоданием, этим насекомым выгодно резкое подавление обменных процессов для целей экономии энергорасходов. Также следует отметить, что малоподвижный образ жизни иксодовых клещей обусловливает у них более низкий уровень газообмена, который способствует снижению затраты энергетических ресурсов на их жизнедеятельность, усиливая этим жизнеустойчивость клещей к экстремальным факторам.

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДА ДЕФЛАЗАКОРТА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ ДЮШЕННА

Дубинин М.В.[1], Старинец В.С.[1,2], Теньков К.С.[1], Белослудцева Н.В.[2], Белослудцев К.Н.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия; [2]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

Dubinin1989@gmail.com

Нервно-мышечные заболевания, в частности, обусловленные генетическими дефектами миопатии, являются наиболее частыми и нередко фатальными наследственными заболеваниями человека. Одной из таких патологий является прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна (МДД). К настоящему времени применяются лишь общие подходы к коррекции этого заболевания, связанные с физикальной терапией и применением ортопедических аппаратов. Одним из путей коррекции этого заболевания является применение кортикостероидов. Кортикостероиды используются для коррекции МДД по всему миру, однако первым препаратом, официально утвержденным FDA для терапии данного заболевания, стал дефлазакорт (или эмфлаза). Действие этого препарата направлено на уменьшение воспалительной реакции и снижение активности иммунной системы. Большой интерес в исследовании патогенетического механизма миодистрофии Дюшенна представляют митохондрии. Известно, что при мышечной дистрофии Дюшенна эти внутриклеточные органеллы претерпевают значительные изменения, способствующие развитию деструктивных процессов. В настоящей работе нами изучено влияние дефлазакорта на состояние скелетных мышц дистрофин-дефицитных мышей линии C57BL/10ScSn-Dmdmdx (mdx мыши) и мышей C57BL/10 «дикого типа», использованных в качестве контрольных животных. Установлено, что введение дефлазакорта в концентрации 1 мг/кг массы тела в течение 4 недель (раз в 2 дня) приводит к достоверному увеличению мышечной силы дистрофин-дефицитных животных. Показано, что скелетные мышцы дистрофин-дефицитных животных, подвергнутых действию дефлазакорта, характеризуются увеличением содержания АТР по сравнению с контрольными mdx мышами, что, в том числе, может быть обусловлено активацией комплекса III дыхательной цепи митохондрий и увеличением активности H^+-АТР-синтазы органелл. Также отмечается, что введение дефлазакорта дистрофин-дефицитным мышам приводит к существенному увеличению скорости поглощения ионов кальция органеллами. Предполагается, что это может быть обусловлено перестройками в системе кальциевого унипортера органелл, а именно увеличением соотношения субъединиц MCU и MCUb вследствие уменьшения уровня последней. В то же время показано, что дефлазакорт не влияет на устойчивость митохондрий к индукции Ca^{2+}-зависимой МРТ поры. Обсуждается влияние дефлазакорта на гомеостаз ионов кальция в митохондриях скелетных мышц при дистрофии Дюшенна.

Работа поддержана грантом РНФ №18-75-00011.

ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАКРИННОЙ АКТИВНОСТИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОТ СТЕПЕНИ КОНТАКТНОЙ КОММУНИКАЦИИ

Ездакова М.И., **Андреева Е.Р.**
Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

ezdakova.mi@gmail.com

В настоящее время мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) рассматриваются как один из ключевых типов клеток, вовлеченных в репаративное ремоделирование тканей. МСК *in vivo* локализованы в различных тканевых нишах, таких как периваскулярная. В состоянии покоя МСК в таких областях контактируют друг с другом, формируя сеть. Считается, что под воздействием различных сигналов МСК могут быть мобилизованы из тканевых депо, активироваться и мигрировать в области повреждения. Мы предположили, что утрата гомотипических контактов МСК-МСК приводит к изменению функциональной активности. Ранее было показано, что плотность посадки МСК *in vitro* влияет на их способность к дифференцировке, а также профиль экспрессии генов.

В настоящей работе исследовано влияние степени контактной коммуникации при культивировании на профиль паракринной и ангиогенной активности МСК.

В экспериментах использовали МСК из жировой ткани человека 3-4 пассажа после остановки клеточных делений с помощью митомицина С. Для моделирования различной степени контактной коммуникации МСК рассевали из расчета 300, 1500, 7000 кл/см^2 и культивировали в течении 96 часов. Концентрацию цитокинов в кондиционированной среде (КС), определяли с помощью иммуноферментного анализа (IL-6, -8 (BD, США) и VEGF, MCP-1, TGF-b (R&D, США)). Влияние КС от МСК на рост кровеносных сосудов in vivo оценивали на хориоаллантоисной оболочке (ХА) яиц японского перепела (*Coturnix coturnix japonica*).

Анализ паракринного профиля МСК показал, что в КС от МСК с высокой степенью контактной коммуникации содержание фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), интерлейкинов (IL)-6, -8, моноцитарного хемоатрактантного белка-1 (MCP-1), трансформирующего ростового фактора (TGF) было существенно выше, чем при малой плотности клеток. При добавлении образцов КС от МСК с высокой степенью контактной коммуникации к ХА отмечено достоверное увеличение новообразования сосудов. Однако, при пересчете на клетку продукция растворимых медиаторов, а также число новых сосудов были значительно выше в случае МСК с низкой плотностью. Следовательно, при снижении контактных взаимодействий МСК более активно продуцировали растворимые медиаторы, что подтверждает предположение о том, что потеря межклеточных контактов и выход МСК из сети приводят к их активации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00075 и при поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-808.2020.4.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ КОРКОВОЙ ДЕПРЕССИИ В УСЛОВИЯХ IN VIVO У КРЫС С ВРОЖДЕННОЙ И ПРИОБРЕТЕННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

Еникеев Д.Р., Герасимова Е.В., Чернопольская Д.В.
ФГАОУ ВО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

danielveenik@gmail.com

Гомоцистеин (Гц) – аминокислота, образующаяся в процессе метаболизма метионина в повышенных концентрациях вызывает гипергомоцистеинемия.

Повышение уровня гомоцистеина может являться фактором риска возникновения мигрени. Согласно современным представлениям в возникновении мигрени участвуют центральные и периферические механизмы. Центральным триггером болевой импульсации является кортикальная распространяющаяся депрессия (РКД), лежащая в основе мигрени с аурой, частота возникновения которой ассоциируется с ГГц.

Целью нашего исследования является определение чувствительности к РКД у крыс с врожденной и приобретенной ГГц.

Исследования проводилось на самцах и самках крыс линии Вистар в возрасте P=50-60, весом 180-350 г. К. гр. (n=11) – здоровые животные (Гц в плазме 6.6±0.9 мкМ); ГГц гр. (n=8) – животные с пренатальной гипергомоцистеинемией (ГЦ в плазме 18.1±0.8 мкМ); 3) Мет гр. - животные, получавшие метионин с пищей в дозе 7.7 мкг/кг в течение 4-х недель (n=8) (Гц в плазме 17.1±1.3мкМ).

Хирургия животных проводилась под изофлурановой анестезией, перед регистрацией ЭЭГ животным в/б вводили уретан 1.5 г/кг. В стереотаксическом аппарате в область соматосенсорной коры вводили электрод для записи ЭЭГ и апплицировали раствор KCl 1M (10 мкл) для индукции РКД. Проводилась запись локального полевого потенциала линейным 16-ти канальным электродом с расстоянием между регистрирующими электродами 100 мкм (Neuronexus, США).

Количество KCL-вызванных РКД за 2 часа у контр. гр. составило 16.7± 2.8, в МЕТ гр. 17.7±3.1 ($p>0.05$), а в ГГц гр. 26.4±3.1 ($p<0.05$). Латентный период с момента аппликации KCl до РКД у контр. гр. составил 45.3±13.6 с, в то время как у ГГц 10.5±2.4 с, у МЕТ 14.5±2.6 с ($p< 0.05$).

Анализ первых РКД показал, что в слое L5/6 амплитуда РКД составила 17.2±1мВ (контрольная гр.), 21.1±0.8мВ (ГГц гр.) ($p>0.05$), 9.8±2.05мВ (МЕТ гр.) ($p<0.05$). Полуширина длительности РКД у контр. гр. (22.5±1.3 с) ниже, чем РКД в ГГц (27.2±1.3 с) и МЕТ (26.8±2.5 с) ($p< 0.05$).

Распространение РКД по глубине коры также различалось между контр. и ГГц группами. Первые KCl-вызванных РКД в обеих группах возникали в верхних (L2) слоях коры головного мозга и распространялись в нижние. У животных ГГЦ гр. дальнейшие РКД начинались уже в слоях L3, L4, а концу 2 часа возникали в L5-6. Последующие РКД у контр. гр. возникали в верхних слоях коры головного мозга (L2).

Таким образом, у животных с врожденной и приобретенной гипергомоцистеинемией форма и особенности возникновения РКД на разных слоях во времени отличается от показателей контр. группы. Подобные изменения могут быть связаны с нарушением возбудимости, проводимости или устойчивости нейронов к РКД при пренатальной гипергомоцистеинении.

Работа поддержана РНФ 20-15-00100.

РОЛЬ ЭНДОГЕННОГО АЦЕТИЛХОЛИНА В РЕАЛИЗАЦИИ АДГЕЗИВНОЙ ФУНКЦИИ ГРАНУЛОЦИТАМИ КОСТНОГО МОЗГА МЫШИ

Жирова Э. А.[1,2], Сафронова В. Г.[1,2], Тихонова И. В.[2], Серов Д. А.[2]
[1]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт; [2] ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

elinazirova5@gmail.com

Известно, что ацетилхолин (АХ) − основной нейромедиатор парасимпатической нервной системы − синтезируется в иммунных клетках: макрофагах, дендритных клетках, Т- и В- лимфоцитах [Neumann et al., 2007; Fujii et al., 2017]. Ранее было обнаружено, что селективные антагонисты никотиновых холинорецепторов (нХР) α-кобратоксин (α-СТХ), α-конотоксины GIC, MII, RgIA и Vc1.1 действуют однонаправленно с никотином, агонистом нХР, вызывая усиление адгезии гранулоцитов костного мозга мыши. Мы предположили, что такое действие антагонистов связано с присутствием эндогенного АХ. Цель работы: исследовать продукцию ацетилхолина гранулоцитами костного мозга мыши и оценить его влияние на действие антагонистов нХР разного типа.

Работа проведена на изолированных гранулоцитах костного мозга мышей-самцов линии BALB/c. Продукцию АХ измеряли в среде инкубации гранулоцитов с помощью набора Choline/Acetylcholine Quantitation Kit (Sigma-Aldrich, США). Количество прикрепившихся клеток оценивали с помощью фотометра Infinite F50 (Tecan, Австрия). Роль эндогенного АХ в адгезии определяли по действию ацетилхолинэстеразы (АХЭ).

Обнаружено, что $2*10^6$ гранулоцитов продуцируют АХ во внеклеточную среду в концентрации 3,54 ±0,13 μM ($4,5*10^{-10}$ моль/10^6 клеток). Присутствие 100 μM никотина, или 10 nM α-СТХ, или 50 nM Vc1.1 не изменяло выброс АХ, в то время как инкубация клеток с 200 nM MII приводила к значительному увеличению секреции АХ до концентрации 5,42±0,12 μM. Vc1.1 и MII усиливали адгезию в контрольной группе мышей, α-СТХ и GIC – в группе мышей, хронически потреблявших никотин (4,2 мг/кг в сутки). АХЭ (2,5 ед/мл) значительно ослабляла действие GIC и Vc1.1.

Таким образом, нейтрофилы костного мозга мыши продуцируют и выбрасывают АХ во внешнюю среду. Усиление выброса АХ в присутствии MII указывает на возможное участие α3β2 нХР в регуляции этого процесса. Роль эндогенного АХ в регуляции адгезии подтверждена блокированием АХЭ действия антагонистов α3β2 и α9α10 нХР.

Работа поддержана РФФИ (проект 17-00-00058 в рамках проекта 17-00-00064 КОМФИ).

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ УСЕЧЁННОЙ ФОРМЫ ТРОПОМИОЗИН-СВЯЗАННОГО КИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА В (TRKB.T1) В ГИППОКАМПЕ МЫШЕЙ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЁННЫХ В ПРОЦЕССЫ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

Золотенкова Е.А.[1,2], Еремин Д.В.[1,2], Цыбко А.С.[1], Ильчибаева Т.В.[1]
[1]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; [2]Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

e.a.zolotenkova@gmail.com

Тропомиозин-связанные киназные рецепторы В (TrkB) – это рецепторы, через которые опосредует свои эффекты нейротрофический фактор BDNF. Существует несколько изоформ TrkB-рецепторов, из которых самыми распространёнными в мозге являются TrkB-FL (полная форма рецептора) и TrkB.t1 (усечённая форма рецептора).

Немногочисленные исследования показывают, что TrkB.t1 вовлечён в патогенез некоторых психических заболеваний и участвует в ответе на стресс. Не смотря на то что TrkB.t1 был открыт 20 лет назад, его функции в регуляции процессов нейропластичности до конца не изучены. В связи с этим целью данной работы стало изучение влияния сверхэкспрессии TrkB.t1 рецептора в гиппокампе мышей линии C57Bl6 на экспрессию ряда генов, участвующих в процессах нейропластичности.

Для индукции сверхэкспрессии мышам из экспериментальной группы в гиппокамп вводили аденоассоциированный вирус (AAV), содержащий вставку последовательности, кодирующей TrkB.t1. Животным из групп контроля вводили PBS или же PBS с AAV, который несёт в себе плазмиду, кодирующую флуоресцентный белок. Экспрессию генов, кодирующих BDNF, c-fos, Creb1, $p75^{NTR}$, Arc, 5-HT1A, 5-HT2A и 5-HT7 рецепторы, определяли методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени.

Нами было выявлено значительное увеличение уровня мРНК BDNF, c-fos и 5-HT7 рецептора в гиппокампе мышей со сверхэкспрессией TrkB.t1. Также сверхэкспрессия TrkB.t1 в гиппокампе привела к существенному снижению уровня мРНК $p75^{NTR}$ рецептора. Это согласуется с недавними литературными данными о негативной регуляции p75 рецептора, которую осуществляет TrkB.t1.

Таким образом, впервые показано, что сверхэкспрессия TrkB.t1 усиливает экспрессию генов, играющих важнейшую роль в индукции процессов долговременной потенциации (BDNF, c-fos), и наоборот, подавляет экспрессию индуктора долговременной депрессии – $p75^{NTR}$ рецептора. Кроме того, нами впервые показано влияние TrkB.t1 на экспрессию серотониновых 5-HT7 рецепторов.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 20-04-00253).

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Иркаева А.М.[1,2], Жукова Е.С.[3], Ляхова А.А.[1,2], Пятойкина А.С.[3], Жиляева Т.В.[3], Цвет А.Л.[3], Щербатюк Т.Г.[3,4,5]

[1]Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского; [2]Институт биологии и биомедицины; [3]Приволжский исследовательский медицинский университет; [4]Пущинский государственный естественно-научный институт; [5]Московский государственный областной университет

irkaeva-anastasiya@inbox.ru

На сегодняшний день шизофрения является распространённым психическим расстройством в мире, чаще всего вызванным факторами нейроанатомического и генетического характера. Установлено, что у больных с данным расстройством наблюдается усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которое связано с тем, что мозг особенно более уязвим к окислительному повреждению из-за низкого уровня антиоксидантов. Высокая доля легко окисляемых мембранных полиненасыщенных жирных кислот делает его более подверженным окислительному стрессу, приводящему в последующем к нарушению мозговой деятельности и к изменениям в поведении человека (Озорнин, 2017).

Актуальность изучения шизофрении связана с его широким распространением в течение нескольких десятилетий, хроническим характером и высоким процентом инвалидизации, что обуславливает социальную тяжесть данного расстройства (Колесниченко, 2008).

Целью данного исследования было определение свободнорадикальной активности (СРО) в плазме крови больных шизофренией.

Для изучения активности СРО у больных шизофренией было определено содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови, в частности малонового диальдегида (МДА), тиобарбитуровым методом (Арутюнян, 2000).

Материалами исследования служили образцы крови пациентов с психическим расстройством – шизофренией, которые были разделены на 3 группы: 1) до терапии; 2) после лечения нейролептиками и антиоксидантами 3) после лечения нейролептиками. Контролем служили образцы крови здоровых доноров. Возраст пациентов 18-54 лет.

Результаты исследований статистически обрабатывали с помощью стандартных методов статистики. Достоверность отличий средних значений показателей в группах сравнения определяли, используя коэффициент Вилкоксона и коэффициент Манна-Уитни (статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$).

При сравнении группы здоровых пациентов с больными, выявили, что концентрация МДА в плазме крови больных пациентов была незначительно выше в отличие от здоровых.

В ходе исследования обнаружили статистически значимые различия у пациентов с шизофренией до лечения и после приёма антиоксидантных препаратов, после терапии наблюдали снижение МДА. В крови пациентов, в схему лечения которых не вводили антиоксиданты, уровень МДА не изменялся. Следовательно, при антиоксидантной терапии прослеживается значительное снижение уровня МДА-маркера ПОЛ. Дальнейшее исследование проблемы позволит повысить эффективность лечения шизофрении.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-015-00420 (руководитель Мазо Г.Э.).

РОЛЬ LX РЕЦЕПТОРОВ В ЭФФЕКТАХ 24-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА НА ИНОТРОПНУЮ РЕАКЦИЮ ПРЕДСЕРДИЙ НА ИЗОПРОТЕРЕНОЛ

Исмагилова Д.А.[1], Трусов Н.А.[1], Хакимов И.Р,[1], Одношивкина Ю.Г.[1], Петров А.М.[2,3]
[1]ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; [2]ГБОУ ВПО Казанский ГМУ, Институт Нейронаук, Казань, Россия; [3]Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Россия,

Odnoshivkina_Y@mail.ru

Х рецепторы печени (LXR), которые экспрессируются повсеместно и в сердце в том числе, являются ядерными рецепторами, лиганд-активируемыми факторами транскрипции генов. Помимо их роли в поддержании системного гомеостаза холестерина, метаболизма липидов и глюкозы, накапливается все больше свидетельств, что LXR играют потенциальную кардиопротекторную роль в ремоделировании сердца и в системных состояниях, связанных с сердечной недостаточностью. В целом, LXR являются перспективной терапевтической мишенью для вмешательств при атеросклеротических и метаболических заболеваниях. Естественными агонистами LXR являются гидроксихолестерины (ГХ) - продукты ферментативного и не ферментативного окисления холестерина. 24-ГХ – основной метаболит холестерина в мозге, свободно проникающий через ГЭБ в циркуляцию, где его концентрация зависит от нейрональной активности, возраста и изменяется при патологиях, например, при атеросклерозе.

Целью работы было выяснить роль LX рецепторов в инотропной реакции предсердий на изопротеренол в условиях обработки препаратов 24-ГХ. Регистрацию сократимости (Tissue Bath System с тензодатчиками), детекцию Ca2+-транзиента (Fluo-4AM) и продукции оксида азота (DAF-FM) проводили на изолированных предсердиях мышей. Аппликация 24-ГХ (от 4 нМ - 1 мкМ) не оказывала влияния на амплитуду сокращений, величину Ca2 +-транзиента, и на флуоресценцию DAF-FM, отражающую

изменение продукции NO. Агонист бета-АР ИЗО доза-зависимо увеличивал сократимость предсердий, что сопровождалось увеличением Ca2+-транзиента, и флуоресценции DAF-FM. Предварительная кратковременная (20 мин) обработка 24-ГХ (от 4 нМ - 1 мкМ) значительно угнетала опосредованную ИЗО инотропную реакцию. Агонист (T09) и антагонист LXR (GSK2033) угнетали инотропный ответ на ИЗО, в этих условиях 24-ГХ не оказывал дополнительный угнетающий эффект. Возможно, 24-ГХ действуют на те же рецепторы, что и агонист и антагонист LXR. TO9 и GSK2033 имеют свойства агониста и антагониста по отношению к ядерным LXR, однако их быстрый эффект указывает на возможное их действие на мембранные LXR, для которых оба соединения могут быть агонистами. Предварительная обработка МЦД 0.1 мМ, разрушающая липидные рафты снижала инотропный эффект ИЗО, и блокировала дальнейшее его угнетение под влиянием 24-ГХ. Таким образом, депрессантный эффект 24-гидроксихолестерина на инотропную реакцию предсердий на ИЗО может быть связан с активацией цитоплазматических LXR, ассоциированных с липидными рафтами.

ОСОБЕННОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМ ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ РАКОМ РС-1

Кашина А.Ю.[1], Потапов А.Л.[1], Жукова Е.С.[1], Щербатюк Т.Г.[1,2,3]

[1]ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия; [2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [3]Московский государственный областной университет

kasanyutka@yandex.ru

Развитие неоплазии вносит дисбаланс в свободнорадикальный гомеостаз организма, что отражается, в частности, на ферментативном звене антиоксидантной системы. Изучается влияние половых гормонов на процессы перекисного окисления липидов. В связи с этим целью работы стало выявление особенности активности антиоксидантных ферментов (АОФ) крови белых нелинейных крыс разного пола на фоне роста экспериментального холангиоцеллюлярного рака РС-1.

Исследование выполнено на 45 белых нелинейных крысах молодого репродуктивного возраста (7,5±2,5 месяцев). Животные интактные и с перевивным холангиоцеллюлярным раком, штамм РС-1 (РОНЦ им. Н.Н. Блохина, г. Москва), были разделены на 6 групп: **1)** интактные самцы (n=7), **2)** самцы с РС-1 ранних сроков роста ($t_{сред.}$=39сут., $m_{tumor\ средн.}$=37г) (n=8), **3)** самцы с РС-1 поздних сроков роста ($t_{сред.}$=63сут., $m_{tumor\ средн.}$=145г) (n=8), **4)** интактные самки (n=10), **5)** самки с РС-1 ранних сроков роста ($t_{сред.}$=45сут, $m_{tumor\ средн.}$=31г) (n=5) и **6)** самки с РС-1 поздних сроков роста ($t_{сред.}$=53сут, $m_{tumor\ средн.}$=67г) (n=7). Исследовалась активность таких антиоксидантных ферментов (АОФ) как супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза в эритроцитах крови (Арутюнян А.В. и др., 2000). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрических критериев.

В ходе исследования не было выявлено статистически значимых отличий в активности изучаемых эритроцитарных АОФ между интактными самцами и самками. Однако по мере роста перевивной опухоли у самцов на поздних сроках роста РС-1 наблюдалось статистически значимое угнетение только активности СОД эритроцитов по сравнению с интактными животными этого же пола (p=0.040, критерий Манна-Уитни). При этом у самок-опухоленосителей не было обнаружено подобных изменений, но зафиксировано статистически значимое снижение активности каталазы в эритроцитах

крови крыс как на ранних (p=0,040, критерий Манна-Уитни), так и на более поздних сроках роста опухоли (p<0,001, критерий Манна-Уитни).

Таким образом, при отсутствии половых различий в активности эритроцитарных СОД и каталазы у интактных животных, рост холангиоцеллюлярного рака РС-1 вызывает неодинаковые изменения в активности данных АОФ у самцов и самок.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-02-00667/19.

ДИНАМИКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДЕТЕЙ 10-12 ЛЕТ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМПЛЕКСА КОНТРАСТНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Колыванова С.С.[1,2], Елифанов А.В.[2]
[1]ФГБУН ФИЦ ТюмНЦ СО РАН; [2]ФГАОУ ВО ТюмГУ

kolyvanova93@mail.ru

Включение различных температурных воздействий в систему физического развития детей представляется эффективным, поскольку направлено на повышение сопротивляемости детского организма к неблагоприятным воздействиям и способствует расширению их адаптационных возможностей [Гревцова А.Ю., Павленко Д.А., 2017]. Цель – оценить применение комплексных контрастных температурных воздействий на динамику физического развития и адаптационный потенциал детей 10-12 лет.

В исследовании участвовали 22 девочки 10-12 лет (1 группа – контрольная, n=11; 2 группа – экспериментальная, n=11). Критерии включения: 1 группа здоровья, разрешение родителей на проведение исследования и обработку персональных данных, отсутствие в семейном анамнезе диагноза синдрома внезапной смерти. Критерии исключения: отсутствие острых респираторных и вирусных заболеваний в течение 2 месяцев, патологий со стороны ССС. Закаливающие мероприятия проводились 3 раза в неделю по следующей методике: 1. пробежка на свежем воздухе в легкой одежде (7-10 мин); 2. дыхательная гимнастика по методике Стрельниковой (3-4 мин); 3. босохождение по мокрым и массажным дорожкам (7-10 мин); 4. упражнения на «координационной лестнице»; 5. обливание на улице холодной водой рук и ног (3-5 минут); 6. посещение сауны. Были изучены параметры: рост, масса тела, динамометрия, ЧСС, АД, ЖЕЛ. Замеры проведены в январе 2018 и январе 2019 г.

В результате анализа выявлена положительная динамика роста (p=0,003) и силы правой и левой рук (p>0,01) в обеих группах, что обусловлено онтогенетическим развитием детей. У девочек 2 группы качественно увеличился показатель массы тела (p=0,003) в отличие от детей 1 группы, у которых данный показатель достоверно не изменился. На начало эксперимента ЖЕЛ в обеих группах были практически равны (К=1,92±0,11; Э=2,1±0,09). Через год ЖЕЛ значимо отличался между группами (p=0,019), что связано с незначительным снижением ЖЕЛ у девочек 1 группы (1,85±0,07) и, наоборот, повышением этого показателя во 2 группе (2,25±0,12). Адаптационный потенциал (АП) по формуле Баевского в обеих группах соответствовал удовлетворительному уровню (К=1,92±0,09; Э=1,91±0,06) и за время исследования значимо не изменился в 1 группе (1,97±0,08). В сравнительной динамике через год у девочек 2 группы наблюдается наличие функционального напряжения адаптационных механизмов (2,11±0,08, p=0,026). Возможно, это свидетельствует о начале адаптивной перестройки функциональных систем организма к действующему температурному стрессу.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ДОЗЫ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА ЛИНИИ МЫШЕЙ НИЗКОРАКОВОЙ И ВЫСОКОРАКОВОЙ ЛИНИЙ

Комизерко Л.А., Аронов Д.А., Семушина С.Г., Моисеева Е.В.
ФГБУН Институт биоорганической химии РАН, Москва

lkomizerko@yandex.ru

Интерлейкин-2 (ИЛ-2) как стимулятор Т-клеточного звена иммунной системы (ИС) был предложен в терапии рака молочной железы, однако эффект его применения в высоких дозах был неоднозначным. Цель работы: оценить краткосрочные и долгосрочные изменения показателей ИС у мышей высоко- (BYRB) и низкораковой (A/Sn) линий при применении низкой дозы ИЛ-2.

Материалы и методы. В область подмышечных лимфатических узлов (ЛУ) однократно подкожно в дозе 10^3 МЕ/мышь в объеме 0,2 мл был введен раствор ИЛ-2 интактным самцам мышей BYRB (n=11) и A/Sn (n=9) в возрасте 20±1 недель. Аналогично контрольным мышам BYRB (n=11) и A/Sn (n=9) был введен 0,9% NaCl. Через 3 дня после введения оценивали краткосрочные эффекты, через 2 недели – долгосрочные. Методом проточной цитометрии в крови, подмышечных ЛУ и селезенке мышей измерили уровень лимфоцитов (ЛФ, $CD45^{high}SSC^{low}$), нейтрофилов (НФ, $CD45^{int}SSC^{int}F4/80^{neg}CD11b^{+}$), моноцитов ($CD45^{int}SSC^{int}F4/80^{+}CD11b^{+}$), эозинофилов ($CD45^{int}SSC^{high}CD11b^{+}F4/80^{+}$), Т-ЛФ ($CD3^{+}NK1.1^{neg}$), В-ЛФ ($CD19^{+}$), Т-хелперов ($CD4^{+}CD25^{neg}$), ЦТЛ ($CD8^{+}$), NK-клеток ($CD3^{neg}CD49b^{+}$), активированных (акт.) Т-хелперов ($CD4^{+}CD25^{+}$), NKT ($CD3^{+}NK1.1^{+}$), был рассчитан иммунорегуляторный индекс ($CD4^{+}/CD8^{+}$). Анализ значимости различий проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Результаты. Краткосрочный эффект ИЛ-2 у самцов A/Sn заключался в повышении уровней Т-ЛФ на 24,1%, NK-клеток на 31,6% при снижении уровня В-ЛФ на 16,7% только в селезенке; у самцов BYRB – в повышении уровня НФ на 42,9% при снижении уровней ЛФ на 14%, NKT на 38,7% только в крови. Долгосрочный эффект ИЛ-2 у самцов A/Sn заключался в снижении уровня ЛФ на 20,4% в крови, повышении уровня Т-хелперов на 9% в ЛУ, снижении уровня NKT на 51,6% в селезенке; у самцов BYRB – в повышении уровня ЛФ на 77,2% при снижении уровней НФ на 48,5% и NK-клеток на 48,3% только в крови.

Заключение. Локальная стимуляция (лимфатические узлы) Т-клеточного звена иммунной системы была выявлена только у низкораковой линии мышей A/Sn. Местные и системные эффекты ИЛ-2 на каждом сроке различались, что говорит о возможном перераспределении клеточных субпопуляций в организме; при этом изменения в крови не отражали эффекты ИЛ-2 в регионарных лимфатических узлах и селезенке. Краткосрочные и долгосрочные эффекты ИЛ-2 в проанализированных органах никогда не совпадали. Таким образом, локальная терапия ИЛ-2 приводила к системным разнонаправленным иммуномодулирующим эффектам, что может объяснять противоречивые результаты иммунотерапии ИЛ-2 в клинике.

КОНЦЕНТРАЦИЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ КОРОВ ПОСЛЕ ОСЕМЕНЕНИЯ ПРИ РАЗНОМ ИСХОДЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Коновалова О.В., Соломахин А.А., Митяшова О.С., Лебедева И.Ю.
Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Дубровицы, Россия

68ovk@mail.ru

Низкая фертильность коров молочного направления продуктивности представляет серьезную проблему для животноводства. При этом эмбриональная смертность, очевидно, служит основной причиной длительного бесплодия. Установлено, что любые тиреоидные патологии у различных видов млекопитающих могут приводить к репродуктивным нарушениям. У человека дисфункция щитовидной железы обусловливает аномальные изменения менструального цикла, бесплодие и невынашивание беременности. Тем не менее до сих пор не известно, могут ли нарушения в функционировании тиреоидной системы быть связаны с эмбриональной смертностью у коров. В представленной работе нами исследовано содержание тиреоидных гормонов в крови коров в течение месяца после осеменения в связи с последующим исходом беременности. Для экспериментов были отобраны коровы черно-пестрой породы второго и третьего отелов, не имевшие послеродовых гинекологических заболеваний и восстановившие овариальный цикл. Синхронизацию половой охоты выполняли по схеме ovsynch. В день осеменения и на 7-й, 14-й, 21-й и 33-й день после осеменения у коров отбирали образцы крови для анализа гормонов. На 33-й день проводили УЗИ-обследование животных на наличие беременности, которое подтверждалось содержанием прогестерона в крови с 7-го по 33-й день после осеменения. Концентрацию прогестерона и тиреоидных гормонов в сыворотке крови измеряли методом ИФА. По результатам обследования у 18 коров была диагностирована беременность, которая положительно завершилась у 14 животных (1 группа), тогда как у 4 животных произошел аборт (2 группа). Содержание тироксина (Т4) в крови в день осеменения было сходным у коров обеих групп и существенно не изменялось в течение всего периода исследований. Концентрация трийодтиронина (Т3) в крови в день осеменения также была одинаковой у особей с разным исходом беременности. У коров 2 группы эта концентрация снижалась между 7 и 14 днем после осеменения с 1,59±0,14 до 1,08±0,06 нмоль/л ($p<0,01$) и оставалась на низком уровне до 33 дня. В то же время в 1 группе содержание Т3 в крови животных было постоянным. Кроме того, на 33-й день после осеменения у животных 2 группы соотношение Т4/Т3 было сдвинуто в сторону менее активной формы (Т4) по сравнению с животными 1 группы (123,5±34,4 против 78,1±10,4 нмоль/л, $p<0,05$). Полученные данные свидетельствуют о нестабильном состоянии тиреоидной системы у коров, впоследствии не сохранивших беременность.

Работа выполнена по государственному заданию (рег. ЦИТиС № АААА-А18-118021990006-9).

КОНЦЕНТРАЦИЯ РТУТИ В ВОЛОСАХ ЖИТЕЛЬНИЦ ГОРОДА ЧЕРЕПОВЦА ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Корнилова А.И., Шувалова О.П.
ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия

an.kornilova@mail.ru

Ртуть (Hg) является одним из наиболее токсичных металлов, широко распространенным в окружающей среде. Опасны органические формы ртути, образующиеся в водных системах и результате процессов биохимического метилирования. Метилртуть обладает способностью к биоаккумуляции и движению по трофическим цепям. В водоемах на территории Вологодской области были выявлены высокие концентрации ртути в мышцах рыб. Частое употребление рыбы с высокими концентрациями Hg может негативно сказаться на здоровье человека – поражение нервной, сердечно-сосудистой и выделительной систем. Таким образом, цель исследования: изучить содержание ртути в волосах жительниц города Череповца.

Сбор проб производился в медицинских учреждениях Череповца. С информированного согласия в исследовании приняли участие 1281 женщина в возрасте от 16 до 89 лет. Каждой участницей была заполнена анкета, содержащая вопросы о возрасте, курении, рационе питания и частоте употребления рыбы. Содержание ртути в волосах определяли с помощью ртутного анализатора РА-915М с приставкой ПИРО-915+. Статистическую обработку данных проводили в программе STATISTICA 13.0.

Содержание ртути в волосах женщин варьирует от 0,0001 до 8,1320 мг/кг. Средняя концентрация металла составила 0,5359 ± 0,0168 мг/кг. При делении на возрастные группы обнаружилось, что средняя концентрация Hg увеличивается в ряду: дети до 18 лет (18 и менее лет): 0,1919 ± 0,0645 мг/кг > молодежь (18-29 лет): 0,4073 ± 0,0225 мг/кг > средний возраст (30-44 года): 0,5315 ± 0,0255 мг/кг > зрелый возраст (45-60 лет): 0,6930 ± 0,0520 мг/кг > пенсионеры (60 и более лет): 0,6998 ± 0,0582 мг/кг, при $p = 0,0009$.

Аналогичная тенденция отмечена в ряду частоты употребления рыбы: никогда (0,4300 ± 0,1514 мг/ кг) > менее 1 раза в месяц (0,4330 ± 0,0456 мг/кг) > 1-2 раза в месяц (0,4574 ± 0,0306 мг/кг) > как минимум 1 раз в неделю (0,5170 ± 0,0227 мг/кг) > несколько раз в неделю (0,7447 ± 0,0467 мг/кг), при $p < 0,001$.

При делении на группы по потреблению рыбы (в граммах) концентрация ртути увеличивается в ряду: менее 150 > 150-300 > 301-600 > 601-1000, при $p < 0,001$.

У курящих женщин ($n = 1152$) среднее содержание ртути в волосах = 0,5416 ± 0,0182 мг/кг, а у некурящих ($n = 128$) составило 0,4851 ± 0,0351 мг/кг, при $p = 0,3134$, что не является статистически значимым.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00569.

МИКРОСТРУКТУРА КОМПЛЕКСА ГАМКЭРГИЧЕСКОГО СИНАПСА С ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНОЙ СЕТЬЮ

Кочнева А.А.[1], Мельникова А.А.[1], Липачев Н.С.[2,3], Арнст Н.И.[1], Кузнецова С.В.[1,4], Расческов А.А.[1], Леунг А.-С.[1], Двоеглазова А.С.[1], Аганов А.В.[3], Мавликеев М.О.[1], Осин Ю.Н.[4], Киясов А.П.[1], Павельев М.Н.[2]

[1]ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия; [2]Центр Нейронаук, Университет Хельсинки, Хельсинки, Финляндия; [3]ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт Физики, Казань, Россия; [4]ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Междисциплинарный Центр "Аналитическая микроскопия", Казань, Россия

kochneva.a.a@yandex.ru

Перинейрональная сеть является высоко структурированным подтипом внеклеточного матрикса ЦНС, локализованного на границе пресинаптической, постсинаптической и астроцитарной мембран в головном и спинном мозге. Перинейрональные сети играют важную роль в синаптической пластичности, нервной возбудимости и участвуют в механизмах патологий ЦНС, включая ряд психических расстройств, эпилепсию и нарушение регенерации. В то время как физиологическая роль и компоненты молекулярной организации перинейрональных сетей в течение последнего десятилетия широко изучались, микроструктура комплекса перинейрональной сети с пресинаптической и постсинаптической мембранами остается в основном неизученной.

Ранее мы продемонстрировали, что перинейрональные сети образуют пространственные паттерны и обособленные кластеры на поверхности плазматической мембраны тел нейронов (Arnst et al., Brain Research, 2016). Эти пространственные структуры позволяют предположить существование дополнительного механизма компартментализации поверхности нейрональных клеток в местах контакта пресинаптической и постсинаптической плазматических мембран. В этом исследовании мы выполнили микроскопию со сверхразрешением системой Airyscan ГАМКэргических синапсов, окруженных перинейрональной сетью в коре головного мозга взрослых мышей. Синаптические бутоны и перинейрональные сети были визуализированы с помощью иммуногистохимического окрашивания для транспортера ГАМК VGAT и агглютинина Wisteria floribunda (WFA), соответственно.

Мы разработали новый метод количественного анализа изображений комплекса синапс-перинейрональная сеть. Метод позволяет сегментировать сигналы VGAT и WFA с помощью автоматического определения порога и количественно исследовать местоположение синаптического маркера по отношению к перинейрональной сети. Нами обнаружены различные типы: морфологии синапсов и формы перисинаптической оболочки внеклеточного матрикса. Также выдвинуты предположения о функциональной значимости этих структурных вариантов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ТРОПОМИОЗИНА С КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ

Кочурова А.М.[1,2], Кочина Е.А.[1,2], Берг В.[2], Матюшенко А.М.[3], Копылова Г.В.[2], Щепкин Д.В.[2]

[1]Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; [2]Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; [3]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

kochurova.a.m@mail.ru

Тропомиозин (Tpm) – один из белков, принимающих участие в кальциевой регуляции мышечного сокращения, в миокарде может быть фосфорилирован по S283. На трансгенных моделях мышей показано, что уменьшение степени фосфорилирования Tpm может снизить симптомы гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), вызванной мутацией E180G Tpm [Schulz etal., J Biol Chem. 2013], а при дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) вследствие мутации E54K тропомиозина уменьшается степень его фосфорилирования и кальциевая чувствительность силы миофиламентов [Warren etal., Proteomics 2008].

Мы изучили влияние фосфорилирования Tpm (мутация S283D) с кардиомиопатическими мутациями, расположенными в зоне перекрытия N- и C-концов соседних молекул Tpm, на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия в миокарде предсердий и желудочков. Для этого мы проанализировали кальциевую зависимость скорости скольжения тонких нитей, реконструированных из актина, тропонина и Tpm с мутациями, ассоциированными с ДКМП (K15N и A277V) и ГКМП (M281T и I284V), по миозину предсердий и желудочков в in vitro подвижной системе. Миозин выделяли из левого желудочка и предсердия свиньи, тропонин – из левого желудочка свиньи. Tpm с исследуемыми мутациями экспрессировали в E. coli [Matyushenko etal., Int J Biol Macromol. 2019].

Обнаружено, что фосфорилирование Tpm с ДКМП мутациями K15N и A277V не влияет на характеристики кальциевой зависимости скорости скольжения тонких нитей по миозину предсердий. Фосфорилирование Tpm с ГКМП мутациями M281T и I284V, расположенными на C-конце молекулы, не ингибирует движение тонких нитей по миозину предсердий на низких концентрациях кальция, но не влияет на зависимость pCa-скорость миозина желудочков.

Таким образом, эффект фосфорилирования Tpm с ГКМП и ДКМП мутациями, расположенными в зоне перекрытия соседних молекул тропомиозина, на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия в желудочках и предсердиях зависит от вида мутации и изоформного состава сердечного миозина. Изменение степени фосфорилирования тропомиозина может вносить свой вклад в молекулярные механизмы развития кардиомиопатий, связанных с его мутациями.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН, поддержано РФФИ (грант № 17-00-00070) и Программой АААА-А18-118020590135-3.

ДИНАМИКА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ ЦНС САМЦОВ КРЫС, МАТЕРИ КОТОРЫХ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПОЛУЧАЛИ А-ТОКОФЕРОЛ

Семенова А.С., Кулешова О.Н.
ФГБОУ ВО Астраханский государственный университет (АГУ), Астрахань, Россия

pozdniakova_olga@list.ru

Проблема пренатальных влияний разного характера и их последствий становится все более актуальной в связи с развитием эпигенетической теории пренатальной адаптации организма к изменяющимся внешним воздействиям. Такая адаптация определяет особенности функционирования организма на протяжении всего постнатального онтогенеза. А-токоферол является антиоксидантом из часто используемым в акушерской практике, оказывающим влияние на метаболизм и уровень апоптоза нейронов.

В эксперименте участвовали 8 самок беспородных белых крыс в возрасте 6-8 месяцев и их потомство (90 дней). Самки, начиная со 2 дня беременности перорально получали масляный раствор α-токоферола в расчете 1мг/100г массы тела. Группа контроля получали соответствующие дозы рафинированного подсолнечного масла. Изменение свободнорадикального гомеостаза оценивали в гомогенатах ткани коры больших полушарий, среднего и спинного мозга по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД) [1], уровню продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2], продуктов окислительной модификации белковых молекул (ОМБ) [3], перерасчет активности СОД и ОМБ производили на грамм белка. Статистическая обработка полученных результатов производилась с применением критерия Манна-Уитни.

На всех уровнях ЦНС под влиянием α-токоферола, получаемого крысами на протяжении внутриутробного развития, отмечено значительное увеличение продуктов ПОЛ, исключение составили конечные продукты ПОЛ – основания Шиффа – уровень которых в спинном мозгу не изменился. Уровень активности СОД и СРО белков изменился только в ткани спинного мозга. Вероятно, это связано с филогенетическим возрастом изучаемых отделов.

Таким образом, экзогенный α-токоферол, принимаемый крысами-самками во время беременности, вероятно, по принципу обратной связи, привел к значительному снижению продуктов ПОЛ в изучаемых отделах ЦНС. Увеличение уровня ОМБ и, вероятно, компенсаторный рост активности СОД были характерны только для ткани спинного мозга.

Список литературы:

1. Сирота Т.В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности СОД / Т.В. Сирота // Биомедицинская химия.-2013.-Т.59, № 4.-С:399-410

2. Волчегорский И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактов крови / И.А. Волчегорский, А.Г. Налимов, Б.Г. Яровинский, Р.И. Лившиц // Вопр.Мед.Химии. – 1989.-Т.35.-№3.–С.127–131

3. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Дубинина Е.Е. Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. // Вопр.мед.химии.-1999.–Т.45,№ 1.-С.:47-54

ВЛИЯНИЕ НА ИММУНУЮ СИСТЕМУ СУБСТАНЦИИ ИЗ ПЕПТИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНЕМИИ

Алламурадов М., Курбанов Д.Б., Самандарова Г.Э., Бердиев Ў.Т.
Гулистанский государственный университет, Гулистан, Узбекистан

mkahorov1@gmail.com

Организм, испытывающий влияние неблагоприятных факторов, нуждается в поддержке и защите от губительного воздействия среды. Поэтому проблема разработки и использования в медицине различных стимуляторов продуктивности и общеукрепляющих средств стоит по прежнему остро. Практика доказала, что многие из средств, снимающих или профилактирующих стрессы, иммунодефицитные состояния, одновременно укрепляют здоровье и повышают активность организма. Для определения влияния субстанции из пептидных соединений и оценки специфичности фармакологической активности на иммунную кроветворную систему, необходимо определить состояние иммунной системы организмов животных в их иммунодефицитном состоянии по различной форме.

В данной серии экспериментов использовали беспородных мышей. Для индукции анемии мышам в течение трех дней внутри брюшинно вводили фенилгидразина дозе 0,2 мг/кг. При вторичном иммунодефецитном состоянии , определить глубокую зараженность животных и их использование для определения влияния на антителообразуюшие клетки селезенки животных и определить кроветворную систему организмов, для каждого эксперимента выделены пять групп по 10- шт животных. Одновременно животных иммунизировали эритроцитами барана в дозе 2 х 10^8. Через семь дней проводили забой животных и получали результаты. Для коррекции иммунодефицитного состояния мышам внутримышично вводили 0,2 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,7 мг/кг, 1,0 мг/кг, веса тканевых пептидных соединений.

По результатом эксперимента выявлено, что у интакных животных АОК селезёнка составило (5243±972) у иммунодефецитных животных АОК (антителообразуюших клеток) составило (604±105*), что явилось 8,9 раза ниже чем у интактных животных. Введение Тимогена и пептидных соединений в течение пяти дней сопровождалось повышением иммунологической реактивности и восстановление иммунной системы. Количество АОК в селезенке увеличилось с иммуномодулятором в 3,2 раза и составило (1851±300**). Количество АОК в селезенке увеличилось с тканевым пептидным соединением 4,7 раза и составило (2623±30**) достоверно. Приведенные результаты экспериментов показывают, что пептидные соединения обладают выраженным иммуностимулирующим свойством в организме животных.

СПОНТАННОЕ И МЕТАЛ-КАТАЛИЗИРУЕМОЕ ОКИСЛЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Ляхова А.А.[1], Жукова Е.С.[2], Пятойкина А.С.[2], Семеннов И.В.[2], Щербатюк Т.Г.[2,3,4]
[1]ННГУ им. Н.И. Лобачевского; [2]Приволжский исследовательский медицинский университет; [3]Пущинский государственный естественно-научный институт; [4]Московский государственный областной университет

anastasyalyakhova@yandex.ru

Исследователи окислительного стресса в психиатрии и неврологии считают интенсификацию свободнорадикальных процессов основной причиной гибели нейронов, что является одним из звеньев патогенеза шизофрении (Незнанов Н.Г., 2013). Целью работы являлась оценка активности спонтанного и металл-катализируемого окисления белков плазмы крови больных шизофренией на фоне терапии препаратами, обладающими антиоксидантными свойствами.

Проведено клиническое и лабораторное обследование больных шизофренией (20 человек в возрасте от 18 до 42 лет, из которых «пациенты до лечения» и «пациенты после терапии ацетилцистеином (NAC)» - 13 человек, «пациенты, не принимавшие NAC» - 7 человек) и условно здоровых добровольцев (группа контроля, 18 человек соответствующего возраста). Терапия пациентов включала в себя прием NAC в течение 2 недель совместно со стандартным лечением антипсихотиками.

Степень спонтанного (СО) и металл-катализируемого (МКО) окисления белков оценивали по уровню карбонильных производных - кетон- и альдегид-динитрофенилгидразонов (КДНФГ и АДНФГ соответственно) в плазме крови (Дубинина Е.Е., 1995). При обработке результатов использовали методы непараметрической статистики.

У больных шизофренией, проходивших 2-недельную терапию NAC, с длительностью заболевания от 12 до 17 месяцев было зарегистрировано повышение концентраций КДНФГ при СО и МКО на 22% ($p=0,04$) и 6% ($p=0,04$) соответственно, - АДНФГ при МКО на 6% ($p=0,04$) по сравнению с уровнем до терапии NAC. У пациентов в возрасте от 18 до 26 лет после терапии NAC выявлены повышенные концентрации КДНФГ при МКО по сравнению с группой контроля на 18% ($p=0,04$) и 21% ($p=0,009$) соответственно. У всех больных шизофренией по сравнению с группой контроля наблюдаются повышенные концентрации АДНФГ при МКО до и после дополнительной терапии NAC на 13% ($p=0,03$) и 16% ($p=0,02$) соответственно. У группы пациентов, в лечение которых не включался прием NAC, в сравнении с группой контроля не наблюдалось статистически значимого повышения уровня КДНФГ и АДНФГ при СО и МКО.

Установлено, что на фоне терапии антиоксидантами у пациентов, страдающих шизофренией, с периодом наблюдения около 1,5 лет наблюдается активизация процессов спонтанного и металл-катализируемого окисления белков плазмы крови, а у пациентов возраста 18-26 лет – активизация металл-катализируемого окисления белков по сравнению с условно здоровыми добровольцами.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-015-00420 (руководитель Мазо Г.Э.).

УЧАСТИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЗАЖИВЛЕНИИ ОЖОГОВОЙ РАНЫ КОЖИ

Макарихина М.Д., Жданова А.В., Петрова И.М., Хацко С.Л., Жданов А.В., Глухарева Т.В.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Институт естественных наук и математики, Екатеринбург, Россия

miss.makarihina@mail.ru

Известно, что тучные клетки могут напрямую влиять на качество и скорость ранозаживления. На модели ожоговой кожной раны нами были изучены основные аспекты участия мастоцитов в регенерации кожи при ее стимулировании производным 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазином.

В качестве экспериментальных животных использовали 35 лабораторных крыс, самцов, объединенных в 3 группы:интакт, контроль, воздействие 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина накожно по 0,5 г. Животным экспериментальных групп моделировали ожоговую кожную рануIIIа степени путём прикладывания к депилированному участку кожи раскаленных гирек из медицинской стали размером 2,0 х 2,0 см на 30 секунд. Предварительно крысам вводилось 0,2 мл анальгина в мышцу бедра. Животных выводили из эксперимента на 7-е, 14-е и 21-есутки. Для гистологического исследования кожи использовали стандартные методики с изготовлением срезов 3 мкм и окрашиванием их азуром II. Для описания гистологических препаратов использовали микроскопOlympus. Подсчет количества мастоцитов проводили в 10 случайных полях зрения при увеличении в 400 раз. Статистическую обработку результатов проводили в программах «MicrosoftExcel» и «Статистика 6.0» с использованием критерия Манна-Уитни.

На 7-е сутки количество тучных клеток в экспериментальных группах сопоставимо с интактным значением. Тучные клетки обнаруживаются перифокально, а не в очаге поражения. Мастоциты располагаются поодиночке или небольшими группами.

На 14-е сутки эксперимента вслучае использования 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазинанаблюдается картина активной миграции тучных клеток в очаг поражения. Количество их возрастает. Это связано с переходом фазы альтерации к воспалительной фазе раневого процесса, в которой мастоциты играют важную роль, вырабатывая целый спектр веществ, стимулирующих пролиферативную и синтетическую деятельность фибробластов.

К 21-м суткам эксперимента количество тучных клеток,напротив, снижается,однако, остается выше интактных значений. Большое число тучных клеток на столь поздних сроках регенерации может выполнять очень важную регуляторную роль, проявляющуюся в ингибировании фибробластов, предотвращая процессы фиброза и, как следствие, формирование грубого рубца. Возможно такой эффект связан с прямым влиянием триазола на фибробласты, которые показывают сильный пролиферативный ответ, а тучные клетки подстраиваются под данные условия и на поздних сроках регенерации начинают угнетать фибробласты во избежание образования келоидных рубцов.

СТИМУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Макаров М.С.
ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского ДЗ, Москва, Россия

mcsimmc@yandex.ru

Наночастицы серебра подавляют адгезивную активность тромбоцитов человека без нарушения их жизнеспособности, рекомендованы для использования в производстве металлических имплантов. С другой стороны, есть данные, что наносеребро in vitro может стимулировать спонтанную коагуляцию крови. Актуальной задачей является исследование морфофункциональных свойств тромбоцитов в присутствии наночастиц серебра. В нашей работе исследовали тромбоциты 20 доноров крови. Кровь центрифугировали при 300 g, отбирали богатую тромбоцитами плазму (БоТП), затем инкубировали БоТП в присутствии наночастиц серебра при 22°С и 37°С. Концентрация наночастиц серебра в опытных образцах БоТП составляла 1-100 мкМ. Для оценки качества тромбоцитов использовали оригинальный метод (патент РФ № 2485502), основанный на окрашивании клеток витальными флуорохромными красителями с дальнейшим их анализом во флуоресцентном микроскопе. В процессе исследования оценивали содержание тромбоцитов с гранулами (%), интенсивность образования и размер тромбоцитарных агрегатов. Низкие концентрации наносеребра (1-5 мкМ) не оказывали видимого действия на морфологию тромбоцитов и распределение в них гранул. При концентрации наносеребра 10-25 мкМ в БоТП доноров наблюдалось постепенное формирование мелких тромбоцитарных агрегатов (до 20 мкм в диаметре), в составе которых клетки дегранулировали в течение 1 часа при 37°С. Агрегация тромбоцитов заметно усиливалась при 50-100 мкМ наносеребра – в этом случае все биологически полноценные тромбоциты дегранулировали в течение 2-4 часов при 22°С и в течение 10-15 мин при 37°С. В условиях 37°С дегрануляция тромбоцитов под действием 100 мкМ наносеребра сопровождалась формированием очень крупных агрегатов диаметром более 1000 мкм. Если в исследуемые образцы предварительно вносили хлорид кальция до конечной концентрации 35 мМ, то в процессе инкубации БоТП с 100 мкМ наносеребра при 20-22°С наблюдалось формирование тромбоцитарного геля, при этом значительная часть клеток не дегранулировала, уже находясь в составе тромбоцитарных агрегатов и тромбофибриновых сгустков. В норме в присутствии 30-40 мМ хлорида кальция тромбоцитарный гель образуется лишь при 37°С, что сопровождается быстрым выбросом всех тромбоцитарных гранул. При 20-22°С процесс экзоцитоза гранул тромбоцитами значительно пролонгирован. Таким образом, использование наночастиц серебра в высоких концентрациях позволит усовершенствовать процедуру получения тромбоцитарного геля для клинического использования.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОН-АСТРОЦИТАРНОЙ СЕТИ У НОВОЙ МУТАНТНОЙ ЛИНИИ МЫШЕЙ, ПРОЯВЛЯЮЩЕЙ ЭПИЛЕПТИФОРМНУЮ АКТИВНОСТЬ

Матвеева М.В.[1], Федулина А.А.[1], Жидкова Н.М.[1], Рыбакова В.П.[1], Борисова Е.В.[1,2], Епифанова Е.А.[1,2], Бабаев А.А.[1], Лебедева А.В.[1], Тарабыкин В.С.[1,2], Кастальский И.А.[3]

[1]Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород; [2]Charite - Universitatsmedizin Berlin, Berlin, Germany, [3] ФИЦ "Институт прикладной физики РАН, Нижниц Новгород, Россия

m.matveeva288@gmai.com

В современной нейронауке активно исследуются конкретные гены и их мутации, которые ответственные за проявление многих нейродегенеративных заболеваний, а также обуславливают генетическую предрасположенность к ним (Jackson et al., 2018). Так было открыто более 500 генов эпилепсии, которые позволили создать модели болезней на мышах с помощью различных мутагенетических методов (Borisova et al., 2017; Devinsky et al., 2018). Изучение новых механизмов проявления заболеваний является современным, уникальным подходом, способствующим в дальнейшем развитию методов лечения и коррекции многих нейродегенеративных заболеваний у человека.

Целью данной работы является изучение синаптической передачи и функциональной астроцитарной активности в гиппокампе у мутантной линии мышей, склонных к эпилептиформной активности при аудиогенной стимуляции. Объектом исследования являются нейрон-астроцитарные сети в срезах гиппокампа, полученных от мозга ENU-мутаген-индуцированной мутантной линии мышей, условно названной S5-1 (Borisova et al., 2017). В результате фенотипирования линии были получены 3 группы экспериментальных животных: 1) мутанты, не проявляющие фенотип (контрольная группа); 2) мутанты, проявляющие эпилептиформную активность в виде манежного бега; 3) мутанты, проявляющие генерализованную судорожную активность.

В результате работ было показано достоверное снижение синаптической передачи у экспериментальных групп с фенотипом «манежный бег» и «генерализованные судороги» относительно контрольной группы. Также наблюдалось достоверное снижение частоты кальциевой активности астроцитов у мутантных мышей. Подсчёт количества астроцитов, а также увеличение крупных отростков указывает на проявление процесса астроглиозиса у новой мутантной линии мышей, что характерно для многих нейродегенеративных заболеваний, в том числе эпилепсии, а также воспаления и старения (Plata A., Lebedeva A.V. et al., 2018). Вероятно, снижение синаптической активности в гиппокампе приводит к дисфункциям в астроцитах и снижению их Ca2+ активности на фоне увеличенного числа астроцитов, как возможного компенсаторного механизма в мозге, который подробно будет изучен на следующих этапах работы.

Финансирование. Работа поддержана грантом РФФИ №20-32-7008119, грантом Президента РФ МК-133.2019.4, стипендией Президента РФ СП-125 2458.2018.5.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФТОРХИНОЛОНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ КРОВИ ЦЫПЛЯТ

Моисеева А.А.
ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ им. В.Я. Горина, Белгород, Россия

annamoiseeva1202@yandex.ru

Препараты группы фторхинолонов – актуальные антибактериальные средства, часто применяемые в схемах лечения в условиях современных птицеводческих предприятий. Недостаточные и противоречивые сведения о реакции клеток крови на фторхинолоны обуславливают затруднения в адекватной оценке последствий их терапевтического влияния. В связи с этим, нами были изучены изменения соотношения различных видов лейкоцитов в крови в результате применения фторхинолоновых антибактериальных средств – ципрофлоксацина, офлоксацина, левофлоксацина, моксифлоксацина, норфлоксацина и энрофлоксацина у цыплят кросса Хайсекс Браун. Были сформированы семь групп, по 35 голов каждая. Контрольная группа на протяжении всего опыта получала чистую питьевую воду, опытные группы в течение десяти суток получали с водой один из перечисленных препаратов в дозе 200 мг/л. Отбор крови производился методом внутрисердечной пункции на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препарата.

Существенные достоверные изменения выявлены в количестве лимфоцитов: к седьмым и девятым суткам после отмены препаратов все исследуемые фторхинолоны, кроме офлоксацина, вызвали лимфопению. Доля лимфоцитов в лейкограмме крови цыплят, получавших норфлоксацин, составила 30,7 %, моксифлоксацин – 31,8 %, энрофлоксацин – 40,1 %, что на 22 %, 20 % и 19 % меньше соответствующих контрольных значений. Достоверные изменения количества псевдоэозинофилов проявлялись единовременно под влиянием каждого препарата в разные дни исследования. В результате применения энрофлоксацина и офлоксацина была зафиксирована кратковременная эозинофилия с относительными значениями, превышающими контрольные показатели соответственно на 43 % и 41 %. Следует отметить стойкую базофилию, вызванную левофлоксацином, энрофлоксацином и офлоксацином. В первые сутки после отмены препаратов количество базофилов в крови цыплят, получавших левофлоксацин, энрофлоксацин и офлоксацин в 3,3, 2 и 2,1 раза превышало соответствующие контрольные показатели. Начиная с третьих суток после отмены препаратов, выраженная базофилия зафиксирована во всех группах опыта. Это связано с возникновением продолжительной аллергической реакции на поступление в организм цыплят фторхинолоновых антимикробных препаратов. Несмотря на регистрируемые изменения соотношения видов лейкоцитов, в группах принимавших фторхинолоны, данные явления были кратковременными и к концу эксперимента все значения возвращаются к физиологической норме.

ПРЕДРОДОВОЙ И ПОСЛЕРОДОВОЙ ТИРЕОИДНЫЙ ПРОФИЛЬ У КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК С РАЗНЫМ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ СОСТОЯНИЕМ ЯИЧНИКОВ

Монтвила Е.К., Митяшова О.С., Соломахин А.А., Лебедева И.Ю.
ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, Россия

montvila94@bk.ru

Метаболический статус играет значительную роль в регуляции фертильности самок млекопитающих. При переходе от беременности к лактации метаболическая нагрузка на организм многократно возрастает, что может приводить к различным нарушениям функции воспроизведения. У коров молочного типа послеродовые репродуктивные расстройства встречаются достаточно часто вследствие формирования лактационной доминанты. Гормоны щитовидной железы входят в число важнейших регуляторов обмена веществ и, следовательно, могут влиять на репродуктивную функцию. Целью представленной работы было исследование динамики содержания тиреоидных гормонов в крови в течение предродового и послеродового периодов у коров-первотелок с разным функциональным состоянием яичников. За 2-8 недель до отела и через 2 и 7 недель после отела у коров брали кровь. Диагностику функционального состояния яичников проводили через 7 недель лактации на основании ректального исследования, УЗИ и содержания прогестерона в крови. Признаком гипофункции яичников (ГФЯ) служило отсутствие фолликулов более 8 мм (умеренная ГФЯ) или 3-4 мм (глубокая ГФЯ), а также желтых тел на обоих яичниках при отсутствии овариальных циклов. Коров разделили на 3 группы: восстановившие овариальный цикл (группа I; n=31), с умеренной ГФЯ (группа II; n=13) и с глубокой ГФЯ (группа III; n=14). Концентрация тироксина (Т4) в крови снижалась у всех обследованных животных через 2 недели после родов по сравнению с таковой за 2 недели до родов. Однако у коров II и III группы такое снижение (в 1,5 раза, $p<0,01$) было более выражено, чем у коров I группы (в 1,2 раза, $p<0,05$). У коров в I группе содержание трийодтиронина (Т3) в крови было максимальным между 2-й неделей до и 2-й неделей после отела и затем снижалось к 7-й неделе лактации (с 2,30±0,33 до 1,47±0,22 нмоль/л, $p<0,05$). Концентрация Т3 в крови коров II группы не изменялась существенно в течение всего периода наблюдений, тогда как в III группе она снижалось одновременно с концентрацией Т4 между 2-й неделей до и 2-й неделей после родов (с 2,35±0,37 до 1,37±0,23 нмоль/л, $p<0,05$). При этом только у животных I группы между 2-й неделей до и 2-й неделей после отела наблюдался существенный сдвиг баланса тиреоидных гормонов ($p<0,01$) в сторону более активной формы (Т3). Таким образом, у коров с обеими формами ГФЯ тиреоидные профили в околородовой период отличались от соответствующих профилей у животных без ГФЯ. Работа выполнена по государственному заданию (рег. ЦИТиС № АААА-А18-118021990006-9).

ЦЕНТРАЛЬНАЯ ГЕМОДИНАМИКА И КОЖНАЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕИНФУЗИЕЙ

Неокина М. А., Рыжков И. А.
НИИ общей реаниматологии им В. А. Неговского ФНКЦ РР, Москва, Россия

neokina@yandex.ru

Нарушения кровообращения на микроциркуляторном уровне, возникающие при острой кровопотере являются ключевым патогенетическим фактором развития гипоксии и дисфункции органов, т.к. в микрососудистом русле обеспечивается транскапиллярный обмен, который создает необходимый для нормальной жизнедеятельности организма тканевой гомеостаз.

Целью работы было исследование динамики функциональных показателей кровообращения при моделировании острой кровопотери с последующей реинфузией.

Эксперименты проведены на 10 беспородных крысах - самцах, весом 200-300 г. У всех животных проводили катетеризацию сонной артерии и наружной яремной вены. Использовали модель острой фиксированной по объему кровопотери (35% от объема циркулирующей крови за 20 мин) под общей анестезией хлоралгидратом. Животные были разделены на 2 группы. Группа I (n=6) кровопотеря с последующей (через 60 мин) аутогемотрансфузией всего объема забранной гепаринизированной крови и раствора Хартмана в половинном объеме кровопотери.

Группу II (n=4) составили "ложнооперированные" животные без кровопотери (контроль). Измеряемые показатели: АД (артериальное давления), ЧСС (частота сердечных сокращений), перфузия кожи хвоста (метод лазерной допплеровской флоуметрии с вейвлет-анализом колебаний кровотока).

На первых минутах постгеморрагического периода отмечались брадикардия (250 уд/мин) и тяжелая артериальная гипотензия (35 мм рт.ст.) в совокупности со снижением кожной перфузии на 31% от начального значения. Однако вариабельность микрососудистого кровотока увеличивалась.

В дальнейшем наблюдалась тенденция к тахикардии (409 уд/мин) и повышению уровня АД до исходного значения, на фоне активизации симпато-адреналовой системы и других компенсаторных реакций организма. После реперфузии и на вторые сутки было зафиксировано развитие отсроченной артериальной гипотензии (60 мм рт.ст.), на фоне которой гипоперфузия не обнаруживается, что может свидетельствовать о сохранности кожного кровотока в результате снижения сосудистого тонуса на стадии реперфузии.

Динамика изменений амплитуды колебаний кровотока и коэффициента вариации перфузии в совокупности с показателями АД и ЧСС указывает на усилении активности механизмов контроля микроциркуляции в постгеморрагическом периоде.

PRODISTOMUM ALASKENSE (DIGENEA: LEPOCREADIIDAE): СЕРОТОНИН И НЕЙРОПЕПТИД FMRFАМИД В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Нефёдова Д.А.[1], Мочалова Н.В.[1], Гордеев И.И.[2], Яшин В.А.[3], Кучин А.В.[3], Крещенко Н.Д.[3]

[1]Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцева РАН, Центр Паразитологии; [2]МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет; [3]Институт биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН

nefedova9593@gmail.com

Трематода *Prodistomum alaskense* (Trematoda, Platyhelminthes) - паразит рыбы *Zaprorasilenus*, являющейся эндемичным представителем морской ихтиофауны северной части Тихого океана, и широко распространенной от Калифорнии до тихоокеанских вод Японии. Литературные данные, касающиеся исследования трематод P. alaskense очень ограничены, а сведения о нервной системе и нейрональных сигнальных веществах этого паразита отсутствуют. Изучение нервной системы паразитических червей имеет как общебиологическое значение, так может служить научной основой при дальнейшей разработке новых эффективных антипаразитарных препаратов. Задачей нашей работы явилось иммуноцитохимическое исследование наличия и локализации нейромедиаторов – серотонина и нейропептида FMRFамида у *P. alaskense*. Гельминтов фиксировали в 4% параформальдегиде в 0,1 М фосфатном буферном растворе (pH 7,4) при 4^0C и затем сохраняли в 10% сахарозе, приготовленной на 0,1 М фосфатном буфере. Локализацию серотонинергических и FMRF амидергических нервных структур определяли иммуноцитохимическим методом с использованием специфических антител. Работа проводилась на тотальных препаратах, которые исследовались с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM1000 и конфокального сканирующего лазерного микроскопа Leica TCS SP5.

В центральных и периферических отделах нервной системы *P. alaskense* были обнаружены серотонин- и FMRFамид-иммунореактивные компоненты. Иммуноокраска к серотонину выявлена в нескольких нервных клетках, находящихся в парных головных ганглиях, в продольных нервных стволах и клетках, расположенных в них, а также в волокнах, идущих к брюшной присоске. Окраска к FMRFамиду наблюдалась в продольных нервных стволах, из которых наиболее развитыми являются вентральные нервные стволы. Результаты свидетельствуют о наличии в нервной системе *P. alaskense* серотонинергических и пептидергических структур. Обнаружение иммунореактивных к исследуемым веществам нервных волокон, иннервирующих мускулатуру брюшной присоски, позволяет предположить участие данных нейромедиаторов (серотонина и нейропептида) в регуляции функции прикрепительных органов трематоды. Дальнейшие исследования нейромедиаторов и их функционального значения у *P. alaskense* расширят наши представления о нейрохимических основах жизнедеятельности трематод. (Поддержано РФФИ № 18-04-00349а).

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИН-МИОЗИНОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ ПРИ ДИАБЕТЕ ВТОРОГО ТИПА

Политова Е.А.[1,2], Берг В.Ю.[1], Кочурова А.М.[1,2], Копылова Г.В.[1], Щепкин Д.В.[1], Хохлова А.Д.[1,2]

[1]ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; [2]ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

elizaveta-politova@yandex.ru

Сахарный диабет приводит к развитию диабетической кардиомиопатии и сердечной недостаточности. Мы сравнили характеристики актин-миозинового взаимодействия и его кальциевой регуляции в миокарде при сахарном диабете первого (СД1) и второго (СД2) типа. Эксперименты были одобрены этическим комитетом ИИФ УрО РАН. Для развития СД1 и СД2 у самцов крыс линии Wistar (возраст 12 недель) использовали аллоксановую [Патент на изобретение №2534411] и стрептозотоцин/никотинамидную [Ortiz-Andrade et al., 2008] модели, соответственно. Через 6 недель СД подтверждали биохимическими анализами. Миозин экстрагировали из миокарда левого желудочка, нативные тонкие филаменты (NTF) – из левого желудочка здоровых крыс, актин и тропонин – из левого желудочка свиньи. α-Тропомиозин человека экспрессировали в E. coli. Тонкие нити (RTF) реконструировали из актина, тропонина и тропомиозина. Актин-миозиновое взаимодействие исследовали в *in vitr*о подвижной системе (ИПС) [Matyushenko etal., 2018].

Обнаружено, что СД1 оказывает более выраженное влияние на актин-миозиновое взаимодействие и его кальциевую регуляцию, чем СД2. При СД1 скорость скольжения актина по миозину в ИПС снижалась на 50%, а скорость NTF и RTF – на 30%. При СД2 скорость скольжения актина по миозину в ИПС не менялась, а скорость NTF и RTF уменьшалась только на 23% и 16%, соответственно. При СД1 на 0.2-0.3 pCa уменьшалась кальциевая чувствительность скорости скольжения NTF по миозину в ИПС. Кальциевая чувствительность скорости NTF по миозину крыс контрольной группы и крыс с СД2 не отличалась между собой: значения кальциевой чувствительности были равны 5.36 ± 0.06 и 5.40 ± 0.07, соответственно.

Замедление скорости скольжения тонких филаментов по сердечному миозину при СД связано с увеличением экспрессии медленной β изоформы тяжелых цепей миозина [Myachina etal.,2019], а также повреждением миозина вследствие окислительного стресса, который развивается при СД. Изменение характеристик актин-миозинового взаимодействия и его кальциевой регуляции является одним из молекулярных механизмов патогенеза сердечной мышцы при сахарном диабете.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН, поддержано РНФ (грант № 18-74-10059).

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕПОПУЛЯЦИИ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ОРГАННЫХ МАТРИКСОВ

Поспелов А.Д., Черкасова Е.И., Балалаева И.В., Тимофеева Л.Б.
ННГУ имени Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

eso103163@gmail.com

Получение бесклеточных органных матриксов, или децеллюляризация, представляет собой обработку натуральных тканей или органов с удалением всех клеточных элементов и максимальным сохранением состава и структуры внеклеточного матрикса. Такие децеллюляризованные (ДЦЛ) матриксы могут быть использованы в экспериментальной онкологии для исследования роли неклеточного компонента стромы в развитии опухоли и метастазировании. Рецеллюляризация матриксов (РЦЛ) является группой способов реинтеграции нормальных, или опухолевых клеток в ДЦЛ матрикс для изучения разнообразных процессов и явлений, например матрикс-клеточного взаимодействия.

Целью нашей работы являлось изучение влияния внеклеточного матрикса на морфологию опухолевых клеток. В качестве объектов были использованы следующие органы мыши: почки, печень, лёгкие, селезёнка, яичники, кожа.

В рамках работы был использован метод химической децеллюляризации. Органы животных последовательно выдерживались в 0,5% растворе Тритона X-100, 0,5% растворе SDS (додецилсульфат натрия), 1% растворе SDC (дезоксихолат натрия) и в 0,075% растворе SDS.

Для оценки пригодности полученных матриксов они были подвергнуты процедуре репопуляции сокультурой эпидермоидной карциномы человека линии A431 и фибробластов человека линии BJ-5ta. Для этого матриксы, отмытые от растворителей питательной средой, фиксировались в лунке 6-луночного планшета с помощью агарозы. Зафиксированные матриксы заселялись клетками методом вкола. Было выбрано несколько точек фиксации промежуточных результатов: 2, 4, 5 и 6 суток. После инкубации каждый матрикс был подвергнут стандартной гистологической проводке с последующей окраской гематоксилин-эозином с целью оценки сохранности архитектоники матрикса, а также была произведена количественная оценка содержания ДНК до и после рецеллюляризации.

По результатам работы было показано достоверное увеличение концентрации ДНК в исследуемых образцах. Также было выявлено различие в морфологических характеристиках клеток, находящихся на поверхности и внутри матрикса. Так, наружные клетки демонстрировали типичные эпителиальные формы, в то время как клетки, расположенные в толще, образовывали плотные кластеры, более характерные для солидных опухолей. Мы предполагаем, что в дальнейшем ДЦЛ и РЦЛ матриксы могут быть использованы для исследования особенностей опухоль-матриксного взаимодействия, а также процессов метастазирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант 19-74-20168).

РЕТРОГРАДНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ ЧЕРЕЗ PAR1 И TRKB РЕЦЕПТОРЫ РЕГУЛИРУЕТ РАЗМЕР КВАНТА В НОВООБРАЗОВАННЫХ НЕРВНОМЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ

Правдивцева Е.С., Богачева П.О.
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

katyapravda6@gmail.com

В моторных синапсах существует явление ретроградной сигнализации как способа регуляции активности пресинаптических нервных окончаний со стороны мышечных волокон. Особенный интерес представляют подобные механизмы сигнализации в синапсах, новообразованных в процессе регенерации после повреждения нерва. Это состояние сопровождается воспалительным процессом в обширных зонах, затронутых травмой. Одним из факторов, ассоциированных с воспалением является тромбин. Он способен воздействовать на PAR1 рецепторы, локализованные на мышечных волокнах, в области концевой пластинки. При регенерации после травмы нерва в моторных синапсах повышается экспрессия ряда нейротрофинов, из которых наиболее интересным для данной работы является BDNF. Ранее было показано, что тромбин и BDNF вызывают прирост размера кванта ацетилхолина в зрелых синапсах мыши. Данная работа посвящена поиску подобных регуляторных влияний в новообразованных синапсах.

Эксперименты включали в себя проведение операции по пережатию n. peroneus, иннервирующего m. EDL, и, через 11 дней после пережатия, регистрацию спонтанных миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) с помощью стандартной микроэлектродной методики на изолированном препарате m. EDL.

Воздействие тромбина (1 нМ) приводило к росту амплитуды МПКП на 41% ($p<0.05$). При этом параметры временного хода МПКП не изменились, что обозначало реализацию эффекта на пресинаптическом уровне через увеличение размера кванта. Для подтверждения этого предположения, препараты инкубировали в растворе, содержащем как тромбин, так и везамикол – блокатор везикулярного транспортера ацетилхолина, что полностью предотвратило развитие эффекта тромбина. Пептид-агонист PAR1 TRAP-6 (1 мкМ) воспроизводил эффект тромбина, что говорит о специфическом рецепторном действии. Сходные изменения наблюдались при аппликации 1нМ BDNF: различий временных характеристик МПКП не было зарегистрировано, в то время как амплитуда выросла на 48% ($p<0.0001$). Совместная инкубация с BDNF и блокатором TrkB рецепторов циклотраксином (100 нМ) предотвращала этот прирост амплитуды, что подтверждает реализацию эффекта через взаимодействие BDNF - TrkB. Однако циклотраксин также снимал и эффект тромбина, из-за чего можно утверждать о связи двух регуляторных петель: воздействие тромбина на PAR1 рецепторы постсинаптической мембраны вызывало выброс миогенного BDNF и его связывание с пресинаптическими TrkB, что, посредством внутриклеточных каскадов, приводило к увеличению размера кванта ацетилхолина.

ВЛИЯНИЕ "БУРСАНАТАЛА" НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МАКРОФАГОВ

Рахманова Т.А.[1], Улитко М.В.[1], Кольберг Н.А.[2]
[1]ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; [2]ФГАОУ ВО Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург, Россия

tamara1599@icloud.com

В настоящее время актуальной является проблема медикаментозной коррекции функций иммунной системы, важным элементом которой являются макрофаги различных тканей. Данные клетки, характеризующиеся структурной и функциональной гетерогенностью, участвуют в реакциях адаптивного иммунитета, в регенерации тканей, выполняют регуляторные функции, а также играют важную роль в патогенезе различных заболеваний.

Целью данной работы было исследование влияния отечественного иммуномодулятора «Бурсанатал» – тканевого препарата, выделенного из Фабрициевой сумки цыплят, на морфофункуциональное состояние альвеолярных и перитонеальных макрофагов.

В качестве объекта исследования использовали первичные культуры перитонеальных и альвеолярных макрофагов, выделенных из брюшинной полости и бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс линии Wistar. Клетки инкубировали в планшетах в CO_2 инкубаторе при 37°С. В культуральную среду добавляли иммуномодулирующий препарат «Бурсанатал» в конечных концентрациях 1%, 5% и 10%. Через 24 часа исследовали морфометрические показатели, жизнеспособность и секреторную активность макрофагов. Для определения жизнеспособности использовали витальный краситель трипановый синий, секреторную активность макрофагов оценивали по выявлению неспецифической эстеразы, морфометрические показатели определяли на препаратах, предварительно окрашенных по Романовскому.

В результате эксперимента было выявлено отсутствие цитотоксического действия препарата «Бурсанатал» по отношению к перитонеальным и альвеолярным макрофагам, увеличение площади клеток и их ядер, изменение формы клеток, что свидетельствует о повышении их функциональной активности. Активная ответная реакция со стороны иммунокомпетентных клеток требует дальнейшего изучения с целью выявления возможных механизмов иммуномодулирующего действия препарата.

МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНАЯ РЕГИСТРАЦИЯ ВНУТРЕННЕГО ОПТИЧЕСКОГО СИГНАЛА В РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ

Сабаева Т.С.[1], Сучков Д.С.[1], Минлебаев М.Г.[1,2]
[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;
[2]Средиземноморский Институт Нейробиологии, Марсель, Франция

tatianasabaeva@gmail.com

Нейровизуализация является перспективным и многообещающим направлением. Среди методик нейровизуализации выделяется регистрация внутреннего оптического сигнала (ВОС), основными преимуществами которой являются дешевизна, высокая пространственная и временная точность. ВОС основан на изменении светоотражающих

свойств в активном участке головного мозга в ответ на локальное изменение кровенаполнения, соотношение окси- и дезоксигемоглобина, а также изменение светопроницаемости активной нейронной ткани. Методика ВОС применяется как в клинических, так и в фундаментальных исследованиях, однако параметры, необходимые для правильной интерпретации результатов, были получены при проведении экспериментов на взрослой нервной ткани. В связи с этим возникает вопрос – насколько эффективна методика ВОС в развивающейся центральной нервной системе для описания кровенаполнения, соотношения окси- и дезоксигемоглобина, а также тканевой компоненты?

Целью данной работы являлось ответить на поставленный вопрос и определить оптимальные параметры, необходимые для описания вышеназванных компонент. Для этого мы провели серию экспериментов по записи мультиспектрального ВОС (500-900 нм). В экспериментах использовались крысы линии Wistar возрастом 6-7 дней после рождения. Регистрация ВОС велась в представительствах вибрисс в бочонковой коре. Мы разработали ряд аналитических подходов, благодаря которым мы смогли охарактеризовать изменение кровенаполнения, концентрации окси-, дезоксигемоглобина и компоненты рассеяния в развивающейся соматосенсорной коре, что говорит об эффективности методики ВОС даже на маленьких животных. Дальнейший анализ показал, что характеристики восстановленных изменений концентраций хромофоров с использованием всего спектрального ВОС достоверно не отличаются от значений полученных лишь для трех ранее определенных спектральных компонент (528,625,850 нм).

В работе было показано, что с учетом рассеяния света для оценки кинетики изменения концентраций окси- и дезоксигемоглобина достаточно использовать три монохроматических источника излучения с разными длинами волн. Используя улучшенный нами метод определения изменения концентрации окси- и дезоксигемоглобина, мы получили инструмент, позволяющий производить оценку гемодинамических процессов в возбуждаемой нейронной ткани, а также ее тканевую компоненту.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 16-15-10174.

ЗАБОЛЕВАНИЕ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ГЕЛЬМИНТАМИ У ДЕТЕЙ НАЧАЛЬНЫХ КЛАССОВ И МЕРОПРИЯТИЯ ПО ИХ ПРОФИЛАКТИКЕ

Сагдуллаева Д.С., Саидова Д.Э.
Ташкентский Фармацевтический Институт, Ташкент, Узбекистан

sagdullaevadiyora@gmail.com

Гельминты - является эндопаразитами человека и животных. Особенно часто они поражают детей младшего школьного возраста. Возбудителем энтеробиоза является острица, принадлежат к нематодам (круглым червям). Это небольшие серо-белые глисты. Длина самца червя 2-5 мм, самки длиннее – 9-12 мм. Зрелые особи паразитируют в кишечнике – нижних отделах тонкой кишки, в толстом кишечнике - в слепой кишке, начальной части ободовой кишки. Острица - паразит только человека. Источником заражения становится больной ребенок. Дети расчесывают зудящие места, при этом яйца острицы попадают на руки. Этими руками он трогает окружающие предметы и передает возбудителя другим детям, либо сами (кладя руки в рот) проглатывает яйца. Также яйца легко рассеиваются, и оседает на частичках домашней пыли, белье, одежде. Болезнь передается контактным путем через постельное и нательное белье, предметы быта, стульчаки унитазов, игрушки. Основным симптомом энтеробиоза является выраженный

зуд и дискомфортные ощущения в области ануса. Если инвазия незначительная, зуд беспокоит 1-3 дня (за это время самка мигрирует в прямую кишку и откладывает яйца), далее зуд затухает на период от 1 до 3 недель, и после появляется снова (миграция нового поколения самок). В случае массивной глистной инвазии зуд практически не прекращается (новые самки мигрируют в прямую кишку без перерывов – каждую ночь). Сильный зуд приводит к образованию расчесов, так как дети постоянно расчесывают беспокоящие места. Диагноз ставится при нахождении выползающих острицы, а также наличии яиц в соскобах.В связи вышеизложенным, нами был проведен анализ школьников начальных классов. В результате обследование нами было выявлено, что по состоянию на 2019 год количество заболевших детей по сравнению с 2018 годом - показатели количество заболевших детей энтеробиозом возрос. Анализ школьников начальных классов показал заболевших детей энтеробиозом в 1 классе количество учащихся 370, из них 22 детей болели. Во 2 классе всего 392 учащихся, их них 7 больных. В 3 классе 253 учащихся, из них 5 больных. В 4 классе 231 учащихся, из них 3 больных. С помощью статистического исследований выяснилось, что самая высокая вероятность заражения острицей в 1 классах, у детей возраста от 6 до 8 лет. Для предотвращения массового заболевания паразитарными заболеваниями необходимо проводить санитарно-просветительскую работу детских дошкольных учреждениях и школах, беседы с родителями.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Сеидкулиева А.А.
Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П.Павлова, Рязань, Россия

adamiana@inbox.ru

Введение.Гликопротеин-Р (Pgp) - белок-транспортер, участвующий в выведении различных веществ из клетки.

Цель. Изучить активность Pgp у самок-кроликов породы «Советская Шиншилла» при беременности.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 29 кроликах-самках. Животные были разделены на 4 серии: n=6 - 7 сут; n=5 - 14 сут; n=10 - 21 сут; n=8 - 28 сут беременности.

Оценку функциональной активности Pgp проводили по фармакокинетике его маркерного субстрата - фексофенадина после однократного перорального введения (67,5 мг/кг). Сывороточные концентрации прогестерона, эстрадиола, тестостерона и пролактина определяли радиоиммунным методом. Концентрацию фексофенадина определяли методом ВЭЖХ. В конце исследования животных выводили из эксперимента и определяли количество Pgp в тощей кишке, печени, почках, плаценте, коре больших полушарий методом ИФА.

Результаты. Во все изучаемые сроки беременности сывороточная концентрация эстрадиола, тестостерона и пролактина статистически значимо не отличалась от нормы, а уровень прогестерона - значимо повышался. На 7 сут беременности фармакокинетические параметры фексофенадина достоверно не изменялись. На 14 сут беременности отмечалось достоверное повышение Cmax, AUC0-t , T1/2 фексофенадина, что говорит о снижении функциональной активности Pgp на уровне целостного организма. На 21 сут беременности оставалась повышенной Cmax и AUC0-t фексофенадина. Остальные фармакокинетические параметры достоверно не изменялись. На 28 сут достоверных

отличий от показателей нормы не наблюдалось. Выявлено повышение количества Pgp в тощей кишке на всех сроках беременности, в печени - на 7 сут, в почке и коре больших полушарий головного мозга - на 28 сут. По мере нарастания гестационного срока уменьшалось количество и функциональная активность Pgp в гематоплацентарном барьере.

Обсуждение результатов. Введенная доза фексофенадина концентрируется в плазме. Однако при пересчете фармакокинетических параметров фексофенадина у беременных животных на количество введенного препарата статистическая значимость различий нивелировалась, что свидетельствует об отсутствии изменений активности Pgp. На клеточной линии L-MDR1 показано, что прогестерон ингибировал активность Pgp, при этом классические ингибиторы Pgp - верапамил и хинидин оказывали аналогичное действие.

Вывод. Установлено, что при беременности повышается синтез Pgp в тощей кишке, печени, почках и коре больших полушарий головного мозга, но при этом его функциональная активность на уровне целостного организма не меняется, что может быть связано с нивелированием индукции прямым ингибированием.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОМЕКАМТИВ МЕКАРБИЛА НА МЕХАНИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ И СОКРАТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ПРЕДСЕРДИЙ И ЖЕЛУДОЧКОВ КРЫС

Симонова Р.А.[1], Бутова К.А.[1,2], Мячина Т.А.[1,2], Берг В.Ю.[2], Кочурова А.М.[1,2], Щепкин Д.В.[2], Хохлова А.Д.[1,2], Копылова Г.В.[2]

[1]ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; [2]ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

raisa.simonova@mail.ru

Омекамтив мекарбил (СК-1827452; ОМ) активирует сердечный миозин, что сопровождается развитием положительного инотропного эффекта и способствует поддержанию сократительной функции левого желудочка при сердечной недостаточности [Teerlink et al., J Am Coll Cardiol, 2016]. Практически отсутствуют исследования действия ОМ на сократимость разных камер сердца на молекулярно-клеточном уровне организации миокарда. Мы оценили влияние ОМ на механическую активность изолированных кардиомиоцитов и сократительных белков левого и правого предсердий (ЛП и ПП) и левого и правого желудочков (ЛЖ и ПЖ) крыс.

Эксперименты выполнены в соответствии с Директивой 2010/63/EU. Одиночные кардиомиоциты получали ретроградной перфузией по Лангердорфу в сочетании с методом внутрижелудочковых инъекций [Myachina et al., AIP Conf Proc, 2019]. Влияние разных концентраций ОМ (Selleck Chemicals LLC; 0.05, 0.1, 1 и 10 μM) на изменение длины саркомеров одиночных кардиомиоцитов после 10 минут инкубации с ОМ исследовали в режиме ненагруженных укорочений при помощи системы лазерной конфокальной микроскопии LSM710 при частоте электрической стимуляции 1 Гц и температуре 36–37^{0}C. Зависимость скорости скольжения тонких нитей, реконструированных из актина, тропонина и тропомиозина, по сердечному миозину от концентрации ОМ анализировали в *in vitro* подвижной системе [Matyushenko et al, Biochemistry, 2017].

Обнаружено, что наибольший эффект ОМ оказывал на амплитуду укорочения саркомеров клеток предсердий. Положительный инотропный эффект для кардиомиоцитов ПП наблюдался при 0.1 мкМ ОМ. ОМ не оказывал достоверного влияния на амплитуду

укорочения саркомеров клеток желудочков. Концентрации ОМ выше терапевтических (1 и 10 мкМ) уменьшали амплитуду сокращений саркомеров кардиомиоцитов всех камер сердца. Время достижения максимума сокращения достоверно увеличивалось у клеток ПЖ при 0.05 мкМ ОМ, а у клеток из других камер сердца – при более высоких его концентрациях. ОМ в дозо-зависимой манере снижал скорость скольжения тонких нитей по миозину предсердий и желудочков в invitro подвижной системе. Для снижения скорости скольжения нитей по миозину в два раза было необходимо от 0.06 до 0.08 мкМ ОМ в зависимости от камеры сердца.

Таким образом, эффект ОМ на характеристики сокращения клеток желудочков и предсердий различается, что может оказывать влияние на функционирование целого сердца.

Работа поддержана грантом № 18-015-00252.

СТЕРОИДОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ГРАНУЛЕЗНОГО И ТЕКАЛЬНОГО СЛОЯ ПРЕОВУЛЯТОРНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ КУР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПАРАКРИННОЙ КОММУНИКАЦИИ И ВОЗРАСТА ПТИЦ

Смекалова А.А., Монтвила Е.К., Коновалова О.В., Митяшова О.С., Лебедева И.Ю.
Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, Россия

araksia86@mail.ru

Паракринное взаимодействие клеток теки и гранулезы служит важным компонентом системы локального контроля процессов роста и развития фолликулов в яичниках млекопитающих. Локальный контроль фолликулогенеза функционирует и у птиц, однако характер и физиологические регуляторы дистантного взаимодействия текального и гранулезного слоев исследованы у них лишь в незначительной степени. Также у птиц отсутствует информация о влиянии на паракринную межклеточную коммуникацию возрастных изменений функциональной активности фолликулярных клеток. В настоящей работе нами изучена *in vitro* продукция половых стероидных гормонов гранулезным и текальным слоем из преовуляторных фолликулов домашней курицы при наличии и отсутствии паракринного межклеточного взаимодействия. В экспериментах были использованы два самых больших желтых фолликула – F1 и F2, которые выделяли у молодых кур-несушек в возрасте 32-33 недели и у постаревших птиц в возрасте 74-76 недель. Применяли три системы культивирования в течение 18 ч: 1) эксплантаты гранулезного слоя, который секретирует только прогестерон, 2) эксплантаты текального слоя, который секретирует тестостерон и эстрадиол-17β и 3) эксплантаты гранулезного и текального слоев. В кондиционированных средах определяли концентрацию стероидных гормонов методом ИФА. И у молодых, и у возрастных кур культивирование гранулезного слоя из F1 и F2 фолликулов в присутствии теки приводило к снижению продукции прогестерона в 3-5 раз ($p < 0,001$) по сравнению с таковой в отсутствие текального слоя. При индивидуальном культивировании способность теки секретировать тестостерон была одинаковой для фолликулов с разной степенью зрелости независимо от возраста птиц. Внесение гранулезного слоя в среду вызывало 2-кратное повышение ($p < 0,05$) продукции тестостерона текой из фолликулов F2 у молодых кур. Как следствие, эта продукция была выше в фолликулах F2, чем в фолликулах F1 (397 ± 93 против 59 ± 15 фмоль на мг ткани, $p < 0,001$). Сходный эффект наблюдали и в случае репродуктивно постаревших птиц. В то же время у кур разного возраста не обнаружено влияния гранулезного слоя на способность клеток теки секретировать эстрадиол-17β. Таким образом, паракринная коммуникация между клетками теки и гранулезы оказывает модулирующее действие на

их стероидогенную активность, что приводит к снижению продукции прогестерона и повышению продукции тестостерона у молодых и возрастных кур-несушек. Работа выполнена по государственному заданию (рег. ЦИТиС № АААА-А18-118021990006-9).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ Ca2+-АКТИВИРУЕМЫХ И ПОТЕНЦИАЛ ЗАВИСИМЫХ K+ - КАНАЛОВ В ЭФФЕКТЕ СЕРОВОДОРОДА

Сорокина Д.М., Ситдиков Ф.Г.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

dinagabit@gmail.com

Сероводород (H_2S) представляет собой один из трех газообразных посредников (вместе с монооксидом углерода (CO) и оксидом азота (NO)). Механизмы действия H_2S по данным разных авторов неоднозначны и могут быть связаны как с активацией К-каналов, взаимодействием с системой NO, так и влиянием на внутриклеточные ферменты, которые регулируют сократимость. Известно, что K^+ -каналы играют ключевую роль в поддержание тонуса гладких мышц, принимают участие в контроле сокращения гладкой мускулатуры ЖКТ, оказывая влияние на потенциал покоя, медленные волны деполяризации, длительность потенциала действия. Также выяснили, что К-каналы могут являться мишенью действия NaHS в различных тканях. Целью нашей работы было исследование роли потенциал-зависимых и Ca^{2+} - активируемых калиевых каналов в эффектах гидросульфида натрия (NaHS).

Для выявления роли Ca^{2+}- активируемых и потенциал-зависимых K^+ - каналов в эффектах H_2S мы использовали неспецифический и специфические блокаторы этих каналов.

Неспецифический блокатор калиевых каналов – тетраэтиламмоний (ТЭА) в концентрации 10 мМ вызывал повышение амплитуды сокращений до 134,47±4,70% ($n=4$, $p<0.05$) и тонического напряжения до 102,94±1,20 ($n=4$, $p<0.05$) относительно контроля, при этом частота сокращений достоверно не изменялась. Повышение амплитуды сокращения при ингибировании K^+-каналов связано с увеличением длительности реполяризации потенциалов действия гладкомышечных клеток и усилением входа ионов Ca^{2+}, запускающих процесс сокращения.

В препарате подвздошной кишки в условиях блокирования К-каналов ТЭА эффекты NaHS на амплитуду, тоническое напряжение и частоту сокращений полностью сохранялись.

Блокатор потенциал-зависимых калиевых каналов 4-аминопиридин в концентрации 200 мкМ приводил к повышению амплитуды до 111.79±3.63% ($n=4$, $p<0.05$) относительно контроля, при этом частота сокращений и тоническое напряжение не изменялись. На его фоне эффект NaHS на амплитуду сохранялся, тогда как на частоту сокращения и на мышечный тонус не проявлялся.

Таким образом, в нашем исследовании Ca^{2+}-активируемые калиевые каналы не принимали участия в эффектах сероводорода, тогда как активирующий эффект NaHS на потенциалзависимые калиевые каналы пейсмекерных клеток может опосредовать его эффекты на частоту сокращений.

НАРУШЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА КРЫС В РЕЗУЛЬТАТЕ СТРЕССОРНОГО ОТВЕТА МАТЕРИ НА ГИПОКСИЮ, КАК МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ РАННЕГО СТАРЕНИЯ

Ветровой О.В., Стратилов В.А.
[1]ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет; [2]ФГБУН Институт Физиологии им. И.П. Павлова РАН

medicus.lumen@yandex.ru

Настоящее исследование с применением острой гипоксии *in vivo,* предъявляемой беременным самкам крыс линии Вистар, в качестве стрессорной модели направлено на изучение особенностей функционирования глюкокортикоидной системы потомства на протяжении дальнейшего онтогенеза. Нами показано, что в ответ на предъявление гипоксических сеансов в плазме крови беременных крыс происходит трехкратное увеличение количества кортикостерона (КС), после чего количество КС стабилизируется, а в дальнейшем снижается. В плазме крови новорожденных крысят, переживших ПГ, количество КС также ниже контроля, что сопровождается вероятно компенсаторным увеличением количества глюкокортикоидных рецепторов (ГР) в печени. Активность глюкозо-6-фосфотазы печени и количество глюкозы в плазме крови пренатально гипоксированных (ПГ) крысят не отличаются от контроля, что указывает на компенсацию недостатка КС повышенным количеством ГР в печени на этом этапе онтогенеза. Однако при анализе гиппокампальных звеньев глюкокортикоидной системы 1-дневных ПГ крысят нами показано уменьшение как общего количества ГР и их ядерной локализации, так и интенсивности транскрипции ГР-зависимых генов. Уменьшение количества ГР и интенсивности ГР-зависимой транскрипции в гиппокампе сохраняется на протяжении всей жизни, сопровождаясь нарушением контроля глюкокортикоидной отрицательной обратной связи и, как следствие, нормализацией базального уровня КС в плазме ювенильных крыс и его стабильным увеличением у взрослых и стареющих животных. Хроническое повышение уровня кортикостероидов вызывает снижение количества ГР в печени до контрольного уровня у взрослых крыс и дальнейшее уменьшение их количества у стареющих крыс, что сопровождается уменьшением активности глюкозо-6-фосфатазы и гипогликемией. Нарушенная эффективность глюкокортикоидной рецепции в гиппокампе помимо дисфункции экстрагипоталамического контроля глюкокортикоидной системы вносит вклад в функционирование глутаматной медиаторной системы через недостаточную экспрессию ферментов синтеза и повышенную экспрессию ферментов деградации глутамата, что проявляется в прогрессирующем с возрастом уменьшении количества этого медиатора, ослаблении когнитивных функций ПГ крыс, раннем отмирании нейронов и ранней смертности. По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что стрессорный ответ матери на гипоксию опосредует нарушение чувствительности гиппокампом плода к глюкокортикоидам, что в дальнейшем определяет центральные и переферические нарушения функционирования глюкокортикоидной системы. Исследования поддержаны грантом РФФИ № 17-04-01118.

РОЛЬ GI БЕЛКА В ЭФФЕКТАХ 25-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА НА СОКРАТИМОСТЬ ПРЕДСЕРДИЙ ПРИ АКТИВАЦИИ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Трусов Н.А.[1], Исмагилова Д.А.[1], Хакимов И.Р.[1], Одношивкина Ю.Г.[1], Петров А.М.[2,3]
[1]ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; [2]ГБОУ ВПО Казанский ГМУ, Институт Нейронаук, Казань, Россия; [3]Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Россия,

Odnoshivkina_Y@mail.ru

Бета-адренорецепторы (бета-АР) играют основную роль в регулировании параметров сердечно-сосудистой системы. Действуя через активацию G-белков бета-АР способны взаимодействовать со многими сигнальными путями. Все бета-АР могут связываться с Gs-белком. Кроме того, бета2-АР и бета3-АР могут активировать Gi –белок. Gs белок усиливает продукцию вторичного посредника цАМФ аденилатциклазой, в то время как Gi имеет обратный эффект. Возможно, один из эндогенных механизмов, влияющих на зависимую от бета-АР регуляцию, связан с окисленными производными холестерина (оксистеринами). Образование 25-гидроксихолестерина (25-ГХ) происходит под действием холестерин 25-гидроксилазы, экспрессия которой повышается при индукции врожденного иммунного ответа. Концентрация 25-ГХ в плазме повышается при сосудистых заболеваниях, сопряженных с воспалительными реакциями. Целью работы было исследовать роль Gi-белка в эффектах 25-ГХ (1 мкМ) на инотропную реакцию предсердий при активации бета-АР изопротеренолом, 10-100нМ (ИЗО). Регистрацию сократимости, детекцию Ca2+-транзиента (Fluo-4AM) и продукции NO (DAF-FM) проводили на изолированных предсердиях мышей. 25-ГХ угнетает положительную инотропную реакцию предсердий на ИЗО и ослабляет вызванное ИЗО увеличение Ca2+-транзиента и флуоресценции DAF-FM, отражающую продукцию NO. При блокировании Gi субъединицы G-белка с помощью PTX 25-ГХ утрачивал способность ослаблять инотропный эффект на ИЗО, а угнетающий эффект 25-ГХ на Ca^{2+}-транзиент и продукцию NO не проявлялся. Более того, мы наблюдали увеличение Ca2+-транзиента при совместном действии PTX и 25-ГХ. Gi-белок, точнее его βγ димер, может активировать GRK2, что способствует десенситизации бета-АР. При ингибировании GRK2/3-киназы (10 mM Cmp101) 25-ГХ утрачивал депрессантный эффект на вызванные ИЗО ответы. Показано, что ПКД1 может также зависеть от βγ димера G белка, и вовлечена в регуляцию сократимости миокарда и патогенез сердечных заболеваний. При ингибировании ПКД1 (40 μM CID) 25-ГХ усиливал инотропный эффект на ИЗО. Совместное блокирование ПКД1 и GRK-киназы дополнительно усиливало этот эффект. Галлеин 10мкМ- блокатор βγ димера G-белка полностью снимал депрессантный эффект 25-ГХ. Пептид-антагонист G-белка 2,5 мкМ - блокатор передачи сигнала на Gs-белок сильно подавлял инотропный ответ на ИЗО, и на его фоне 25-ГХ все еще проявлял свое депрессантное действие. Таким образом, 25-ГХ может способствовать сопряжению бета-АР селективно с Gi-белками, что может вести к зависимой от βγ димера активации протеинкиназ GRK2/3 и ПКД1, обеспечивающих угнетение инотропии зависимой от бета-АР.

ЭФФЕКТЫ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ СТИМУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ДЕПРЕССИИ

Ушакова В.М.[1,2], Зубков Е.А.[1], Морозова А.Ю.[1], Зоркина Я.А.[1], Павлов К.А.[1], Иноземцев А.Н.[2], Чехонин В.П.[1,3]

[1]ФГБУ НМИЦ ПН им. В.П. Сербского Минздрава России; [2]МГУ имени М.В. Ломоносова; [3]ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

ushakovavm@yandex.ru

Депрессия – распространенное психическое заболевание, поражающее примерно 350 миллионов человек и существенно снижающее качество жизни. Ситуацию осложняет то, что основной метод терапии – антидепрессанты помогают лишь в 40-60% случаев. Одним из действенных методов лечения является электросудорожная терапия (ЭСТ). Несмотря на высокий уровень ремиссии, ее все еще применяют с осторожностью из-за отсутствия полного понимания механизма действия и возможных побочных эффектов. В связи с этим, целью нашей работы стало изучение поведенческих эффектов электросудорожной стимуляции (ЭСС), аналога ЭСТ на грызунах, в модели экспериментальной депрессии, вызванной воздействием ультразвука (УЗ) переменной частоты, а также оценка ее действия на экспрессию BDNF.

В работе были использованы самцы крыс линии Sprague-Dawley (n=32), разделенные на группы контроля, получавшего ЭСС и нет, крыс с экспериментальной депрессией с ЭСС (УЗ+ЭСС) и без нее (УЗ). Формирование депрессивно-подобного состояния осуществлялось путем воздействия УЗ переменной частоты (20-45 кГц) на протяжении 21 дня. ЭСС применялась билатерально транскраниально (70мА, 50 кГц, 500 мкс). Животным проводились тесты «Предпочтение раствора сахарозы», «Тест Порсолта», «Водный лабиринт Морриса», «Открытое поле», «Социальный интерес». Экспрессию BDNF в гиппокампе оценивали методом ПЦР в реальном времени.

Было показано, что ЭСС нивелировала депрессивно-подобное поведение крыс в тесте на ангедонию и тесте Порсолта, существенно повысив индекс предпочтения сахарозы ($p<0,05$) и снизив иммобильность ($p<0,01$). Кроме того, ЭСС скорректировала когнитивные нарушения, наблюдавшиеся у группы УЗ, статистически значимо снизив время поиска платформы в тесте Морриса ($p<0,01$). Эти данные указывают на противодепрессивный и мнемотропный эффект терапии. Тем не менее, побочные эффекты были выявлены в тестах «Открытое поле» и «Социальный интерес», что выражалось в снижении длительности нахождения в центральной области поля, а также уменьшении социальной активности животных. Анализ экспрессии BDNF в гиппокампе показал ее снижение на фоне УЗ ($p<0,05$) и восстановление после использования терапии ($p<05$). Эти изменения могут лежать в основе наблюдаемых противодепрессивных и мнемотропных эффектов ЭСС. Таким образом, показано, что стимуляция оказывает противодепрессивное действие, а также восстанавливает нарушения памяти, но усиливает тревогу и снижает социальную активность.

ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТА CYP46A1 НА БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКУЮ РЕГУЛЯЦИЮ СОКРАТИМОСТИ ПРЕДСЕРДИЙ

Хакимов И.Р.[1], Трусов Н.А.[1], Исмагилова Д.А.[1], Одношивкина Ю.Г.[1], Петров А.М.[2,3]
[1]ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; [2]ГБОУ ВПО Казанский ГМУ, Институт Нейронаук, Казань, Россия; [3]Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Россия,

Odnoshivkina_Y@mail.ru

В процессе ферментативного и не ферментативного окисления холестерина образуются гидроксихолестерины (ГХ). ГХ – контролируют транспорт и гомеостаз холестерина, метаболизм глюкозы и липидов, участвуют в поддержании иммунной функции, регулируют экспрессию генов, и клеточную сигнализацию. 24-Гидроксихолестерин (24-ГХ) – основной метаболит холестерина в мозге, образуется при участии фермента CYP46A1, свободно проникает через ГЭБ в циркуляцию, где его концентрация значительно изменяется в патологических условиях. Фермент CYP46A1 восприимчив к модуляции лекарственными средствами, используемыми в клинической практике. Так, препарат вориконазол ингибирует 24-гидроксилирование холестерина, что ведет к снижению образования 24-ГХ, и снижает синтез холестерина в мозге. Мыши, получавшие инъекции вориконазола в течение 5 дней, показали снижение уровня 24-ГХ в мозге на 37%, а в плазме на 30%. Экзогенная аппликация 24-ГХ ослабляет и усиливает вызванную активацией бета2 и бета1-адренорецепторов (бета-АР) положительную инотропную реакцию предсердий, соответственно. Поскольку уровень 24-ГХ в плазме определяется изменением активности CYP46A1, то фармакологическое ингибирование фермента CYP46A1 также способно модулировать бета-АР регуляцию сократимости предсердий. Целью исследования было оценить инотропную реакцию предсердий на агонист бета-АР – изопротеренола (ИЗО 10-100нМ) в условиях ингибирования CYP46A1 у мышей, получавших вориконазол (1мкМ). Регистрацию сократимости, детекцию Ca2+-транзиента (Fluo-4AM) и продукции NO (DAF-FM) проводили на предсердиях белых мышей. У мышей, получавших инъекции вориконазола в течение 5 суток, наблюдали снижение положительной инотропной реакции в ответ на ИЗО на 25%, что сопровождалось менее выраженным увеличением Ca2+-транзиента и продукции NO по сравнению с контролем. При блокировании бета2-АР (200нМ ICI) инотропная реакция на ИЗО выраженно подавлялась, что сопровождалось снижением Ca2+-транзиента и увеличением сниженной продукции NO. При активации бета1-АР с помощью добутамина (1-30мкМ) также наблюдали угнетение инотропной реакции под влиянием вориконазола. При блокировании бета1-АР (300нМ CGP) инотропная реакция на ИЗО и продукция NO существенно не менялись, хотя активация бета2-АР с помощью фенотерола (5-50мкМ) снижала сократимость предсердий под влиянием вориконазола. Таким образом, введение вориконазола мышам в течении 5 дней, снижает продукцию 24-ГХ и оказывает противоположный экзогенной аппликации эффекты при активации бета1-АР. В то время как ответ связанный с бета2-АР меняется слабо.

ДЕЙСТВИЕ АНАНДАМИДА НА СПОНТАННЫЙ ВЫБРОС МЕДИАТОРА В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Хоткина Н. А., Тарасова Е. О., Гайдуков А. Е., Балезина О. П.
ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

NatashaKhotkina@yandex.ru

Анандамид (AEA) - эндоканнабиноид, образующийся в результате ферментативного расщепления мембранных липидов в ответ на повышение внутриклеточной концентрации кальция. В центральной нервной системе AEA может ретроградно влиять на выделение медиатора из пресинптического окончания путем активации каннабиноидных рецепторов CB1- и CB2-типа. Однако сигнальные механизмы AEA в нервно-мышечных синапсах млекопитающих остаются практически неизученным.

Исследование спонтанной секреции ацетилхолина (АХ) в моторных синапсах проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы мышей линии BALB/c. Регистрацию миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) осуществляли при помощи стандартной микроэлектродной техники внутриклеточного отведения потенциалов. Достоверность различий между выборками оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа или критерия Краскела-Уоллиса.

Аппликация анандамида (30 мкМ) (n=26) вызвала достоверное снижение амплитуды МПКП на 20,5% по сравнению с контролем (n=26, $p<0,05$), а также увеличение частоты МПКП от 0,47±0,05 Гц в контроле (n=26), до 0,61±0,05 Гц на фоне AEA (n=26; $p<0,05$) на второй час аппликации. Обратный агонист CB1-рецепторов AM-251 (1мкМ) не влиял на спонтанную секрецию ацетилхолина, но на его фоне анандамид (n=31) оказался не способен к изменению ни частоты, ни амплитуды МПКП по сравнению с контролем (n=25, $p>0,05$). То есть, AEA, возможно, влияет на спонтанную секрецию АХ в моторных синапсах мыши через активацию CB1-рецепторов. Обратный агонист CB2-рецепторов AM-630 (10мкМ) вызывал значительное увеличение амплитуды МПКП по сравнению с контролем (на 23,6%), поэтому его дальнейшее использование в оценке действия AEA оказалось затруднено.

Ранее в работах на нервно-мышечных синапсах было выявлено, что увеличение частоты спонтанной секреции АХ на фоне экзогенного агониста каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 связано с активностью PLC. Поэтому далее мы решили проверить участие PLC в изменении параметров спонтанной секреции АХ на фоне AEA. Оказалось, что на фоне блокатора PLC U-73122 (5 мкМ) анандамид, по-прежнему, приводил к увеличению частоты и падению амплитуды МПКП (n=14) по сравнению с контролем (n=20, $p<0,05$). Иными словами, PLC не является участником каскада, влияющего на спонтанный выброс АХ при активации CB1-рецепторов анандамидом. Другим предположительным участником каскада может являться PKA, однако её участие в AEA-опосредованных эффектах требует дальнейшей проверки.

Таким образом, AEA способен влиять на спонтанную секрецию АХ в нервно-мышечных синапсах мыши, увеличивая частоту и снижая амплитуду МПКП. Данное действие AEA реализуется за счёт активации CB1-рецепторов и не связано с активностью PLC.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-04-00616а.

РОЛЬ АКТИНОВОГО И ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ПРОЦЕССАХ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В ДВИГАТЕЛЬНЫХ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЯХ МЫШИ

Хузина А.Р., Григорьев П.Н.
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

grigorievp@yahoo.com

Цитоскелет играет важную роль во многих клеточных процессах у эукариот, например, в делении клеток, движении, транспорте внутриклеточных структур и др. Актиновые филаменты и тубулиновые микротрубочки являются важными составляющими клеточного цитоскелета. Однако в настоящее время их роль в двигательных нервных окончаниях остается довольно противоречивой.

Цель исследования заключалась в изучении процессов секреции медиатора в двигательных нервных окончаниях мыши в условиях стимуляции полимеризации и деполимеризации актиновых филаментов и микротрубочек.

Эксперименты проводились на нервно-мышечных препаратах диафрагмы мыши. Для стимуляции полимеризации и деполимеризации актиновых филаментов использовались, соответственно, ясплакинолид (1,4 мкМ) и цитохалазин D (10 мкМ). Для стимуляции полимеризации тубулина и деполимеризации микротрубочек были использованы таксол (10 мкМ) и нокодазол (10 мкМ), соответственно. Мышечные сокращения блокировались с помощью мю-конотоксина GIIIB (1-2 мкМ). Регистрация миниатюрных потенциалов концевой пластинки и потенциалов концевой пластинки (ПКП) осуществлялась с помощью стеклянных микроэлектродов, заполненных 2,5М KCl. Инициация ПКП осуществлялась редким (0,1 имп/с) и высокочастотным (50 имп/с) раздражениями диафрагмального нерва.

Экспозиция препаратов в ясплакинолиде, цитохалазине D, таксоле или нокодазоле не приводила к достоверному по сравнению с контролем изменению квантового состава ПКП при низкочастотном раздражении двигательного нерва. При длительном высокочастотном раздражении в контроле наблюдалось снижение квантового состава ПКП. Действие яплакинолида и цитохалазина D вызывало достоверно более глубокую депрессию секреции медиатора. В свою очередь, эффекты таксола и нокодазола оказались значительно слабее и не приводили к достоверному изменению динамики депрессии секреции медиатора.

Таким образом, в условиях стимуляции полимеризации или деполимеризации актиновых филаментов, но не микротрубочек, отмечалось изменение динамики секреции медиатора при высокочастотном раздражении, вероятно, связанное с нарушением процессов транспорта синаптических везикул. Исследование поддержано РФФИ (проект № 20-015-00507).

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРОПОСТРОЕНИЯ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ЛЮДЕЙ В НОРМЕ И ПРИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ

Цыганова Е.В.[1], Жукова Е.С.[1], Щербатюк Т.Г.[2], Голованова М.А.[3]
[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия;
[2]Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия;
[3]Городская больница № 35 Советского района Нижнего Новгорода, Нижний Новгород, Россия

S5305@yandex.ru

Диагностика и лечение увеальной меланомы (внутриглазной опухоли сосудистого тракта глаза нейроэктодермального происхождения) остаётся одной из самых острых проблем в офтальмоонкологии. По последним данным встречаемость только в одной Московской области выросла до 12-13 случаев на 100 000 населения. К сожалению, на долю ранней диагностики внутриглазной меланомы приходится лишь 13%, а исход лечения данного новообразования на более поздних стадиях в большинстве случаев сопряжен с потерей зрения или, чаще всего, самого глаза, а также высоким риском метастазирования. В связи с этим, целью исследования стало выявление особенностей кристаллографии слезной жидкости людей с подтвержденной увеальной меланомой для использования этих данных в ранней диагностике этого заболевания.

В исследовании приняли участие 45 волонтёров (16 мужчин и 29 женщин), из которых у 3 человек (2 женщины и 1 мужчина) была подтвержденная гистологическим и иммуногистохимическими анализами меланома. Собранная у добровольцев слезная жидкость изучалась методом кристаллографии или клиновидной дегидратации, которая основывается на закономерностях распределения растворенных в высушиваемой капле биожидкости веществ в соответствии с их осмотической активностью, гидрофильностью, молекулярным весом и другими физико-химическими параметрами (Шабалин В.Н. и др., 2004). Анализ структуропостроения слезной жидкости проводился с учетом возрастных особенностей, вредных привычек и сопутствующий неонкологических заболеваний. Сравнение проводилось в возрастных группах согласно Международному симпозиуму по возрастной периодизации 1965 года.

Исследования показали, что с увеличением возраста изменяется больше всего белковая (периферическая) зона фаций. У людей, страдающих сахарным диабетом (независимо от типа) в центральной зоне наблюдались многочисленные удлиненные структуры второго порядка фигур «папоротников». У курящих людей также наблюдались отличия в структуропостроении центральной зоны вплоть до почти полного отсутствия полноценно сформированных фигур.

Таким образом, на данный момент удалось выявить особенности структуропостроения, связанные с возрастными изменениями метаболизма и наличием в анамнезе сахарного диабета и курения, а также общие структуры при наличии внутриглазной опухоли вне зависимости от её локализации в пределах сосудистого тракта. Исходя из полученных результатов, целесообразно продолжение исследования.

Работа поддержана Фондом содействия инноваций (программа «УМНИК-2019» Нижегородская обл.).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ мРНК МИОГЕННЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ФАКТОРОВ У МОЛОДИ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ SALMO SALAR L., ВЫРАЩЕННОГО ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА

Шульгина Н.С., Чурова М.В., Крупнова М.Ю., Немова Н.Н.
Обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Петрозаводск, Россия

Shulgina28@yandex.ru

Постнатальный рост мышц у рыб происходит как посредством гиперплазии, так и гипертрофии. Основная роль в регуляции миогенеза принадлежит миогенным регуляторным факторам (МРФ), транскрипционными факторам семейства bHLH: MyoD, Myf5, MyoG и MRF4. Экспрессия МРФ зависит от различных факторов, влияющих на рост рыбы. Фотопериод воздействует на процессы регуляции роста рыб путем модуляции эндогенных ритмов и уровня циркулирующего гормона роста. Было показано, что длинный световой день оказывает стимулирующее влияние на темпы роста молоди лосося, при этом точные механизмы регуляции роста мышц малоизучены.

Исследование было проведено с целью оценки темпов роста и уровня экспрессии генов мышечных белков (MyHC, MyoG, Myf5, MyoD1b, MSTN-1b) у молоди атлантического лосося *Salmo salar* L., выращенного при разных режимах освещения. Был поставлен эксперимент по влиянию двух режимов фотопериода - 16C:8T (16 ч свет: 8 ч темнота) и 24C:0T (24 ч свет: 0 ч темнота) на рост сеголеток (0+) лосося в течение 3 месяцев (с августа по октябрь) - эксперимент № 1. В контрольной группе особи содержались в условиях освещения рыбоводного завода. На второй год продолжили наблюдение за особями (двухлетки 1+), выращиваемыми в условиях постоянного освещения (24:0) в сравнении с контрольной группой (с мая по октябрь) - эксперимент № 2.

Согласно полученным результатам, сеголетки, растущие при постоянном освещении, к концу первого эксперимента превосходили по массе две другие группы. На следующий год, начиная уже с первого месяца исследования (июнь) и до конца эксперимента, двухлетки из бассейнов с постоянным освещением были больше по весу, чем рыбы из контрольной группы. Уровень экспрессии мРНК MyoG и гена тяжелой цепи миозина (MyHC), отражающего темпы прироста мышечной массы, был выше у сеголеток (0+) из бассейнов с дополнительным освещением (16C:8T и 24C:0T) по сравнению с контрольной группой в осенний период. Значимые отличия в уровне экспрессии мРНК генов МРФ, а также MyHC, в пользу двухлеток (1+) лосося, содержавшихся в условиях режима освещения 24:0, наблюдались уже в мае и июне следующего года. Динамика экспрессии мРНК MyoG, а также MyHC в белых мышцах молоди лосося двух возрастов была сходной с изменениями уровня экспрессии мРНК гена MSTN-1 b, негативного фактора регуляции миогенеза, на протяжении двух экспериментов. В целом, полученные данные указывают на то, что дополнительное освещение влияет на механизмы регуляции мышечного роста у молоди лосося.

Исследования проведены на научном оборудовании ЦКП КарНЦ РАН. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 19-14-00081.

ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ПОДКОЖНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОГО МАТРИКСА ПИЩЕВОДА

Накохов Р.З., Русинова Т.В., Юцкевич Я.А.
Центральная научно-исследовательская лаборатория, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

yana.yutskevich@gmail.com

Для оценки тканевой реакции на имплантацию и динамику биодеградации скаффолдов, как правило, используется метод подкожной имплантации. Данный метод используется для оценки системной реакции и тяжести воспалительного ответа организма на децеллюляризированный матрикс. Целью нашего исследования было изучение цитокинового профиля в сыворотке крыс после подкожной имплантации децеллюляризированного матрикса на разных сроках, что позволило изучить особенности системной иммунной реакции организма на данный имплантат.

Экспериментальные данные получены на самцах крыс линии Wistar (масса тела 230±50 г). В **группе 1** (n=15) крысам была проведена подкожная имплантация фрагментов децеллюляризированного каркаса пищевода (DE), в **группе 2 – группе сравнения** (n=15) была проведена подкожная имплантация фрагментов нативного аллогенного пищевода (NE). Забор периферической крови и эксплантация фрагментов пищевода исследуемых крыс проводилась на 7, 14, 21 сутки эксперимента. Пробы сыворотки крови исследовались на содержание IL1α, IL2, IL4, IL17A, TNFα, INFγ и GM-CSF с помощью иммуноферментного анализа. Эксплантированные NE и DE фрагменты были подвергнуты рутинному гистологическому анализу.

На 7-е сутки эксперимента в сыворотке крови крыс, которым была выполнена подкожная имплантация DE фрагментов, было отмечено значимое увеличение содержания IL1α в сравнении с контрольной группой ($p<0,05$), а уровни анализируемых цитокинов IL2, TNFα, IL4 не отличались от контроля ($p>0,05$), что свидетельствует о стабилизации воспаления. Содержание IL17A, IFNγ и GM-CSF значимо уменьшалось в сравнении с контрольными значениями ($p<0,05$). На 14-е сутки анализ концентрации IL17A показал его резкое снижение в сравнении со значением на 7-е сутки эксперимента и контрольным ($p<0,05$). Кроме того, обнаружено снижение IL1α до значений контрольной группы ($p>0,05$) и уменьшение концентрации IFNγ в сравнении с 7-ми сутками ($p<0,05$). Динамики в отношении уровней IL2, TNFα, GM-CSF, IL4 не наблюдалось. На 21-е сутки эксперимента выявлена динамика снижения содержания IL17A, IFNγ, IL1α в данной группе крыс по сравнению с контрольными значениями.

Таким образом, выявлено, что изменение концентраций изучаемых цитокинов соответствуют благоприятной клинической картине в группе животных, которым выполнялась имплантация ацеллюлярных матриксов на фоне активной воспалительной реакции в группе с имплантацией фрагментов нативного аллогенного пищевода. Концентрации IL1α, IL4, IL17A, и INFγ отражают положительную динамику процесса заживления раны и отсутствие локальных процессов воспаления и отторжения децеллюляризированных матриксов.

ОТБОР ИНГИБИТОРОВ ТУБУЛИНА С КОЛХИЦИНО-ПОДОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Анисимов М.Н.
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия

amih199898@gmail.com

Среди элементов цитоскелета полимеры белка тубулина – микротрубочки - занимают особое положение, обеспечивая подвижность клетки, участвуя в процессах транспорта веществ и деления клетки. Благодаря уникальному свойству спонтанно переключаться между фазами полимеризации и деполимеризации, микротрубочки осуществляют разделение хромосом во время митоза. Поэтому подавление динамической нестабильности ингибиторами тубулина приводит к остановке митоза и позволяет успешно использовать их в противоопухолевой терапии.

Одним из самых известных ингибиторов тубулина является колхицин [1]. Несмотря на выраженные свойства к подавлению пролиферации раковых клеток за счет блокирования митоза, это вещество не нашло широкого применения в терапии опухолей в основном по причине слишком высокой токсичности. Однако поиск других веществ, связывающихся во внутридимерном сайте тубулина подобно колхицину [2], представляет большой интерес. В нашей работе предпринята попытка найти колхицин-подобный ингибитор тубулина в соответствии с двумя критериями: 1) – аналогичное колхицину воздействие на динамические параметры микротрубочки (скорость полимеризации, деполимеризации, частота катастроф и спасений); 2) – подобное колхицину воздействие на культуры раковых клеток. Последний критерий, в силу его большей общности, выбран нами для первоначального поиска колхицин-подобного вещества из базы данных Национального Института Рака США и представлен алгоритмом кластеризации, развитым в работе [3]. С помощью данного алгоритма, позволяющего сравнить цитотоксичности веществ по отношению к клеткам разных линий рака человека, выбрано вещество кумарин. Далее, в соответствии с первым критерием, впервые исследовано воздействие этого вещества на динамическую нестабильность микротрубочек в экспериментах *in vitro* с помощью DIC микроскопии. Оказалось, что так же, как и колхицин [4], кумарин оказывает сильный концентрационно-зависимый эффект на скорость полимеризации плюс-концов микротрубочек при субстехиометрических концентрациях.

Таким образом, в данной работе экспериментально верифицированы предсказания кластеризационного алгоритма поиска новых ингибиторов тубулина колхицин-подобного вещества кумарина. Анисимов М.Н. является стипендиатом Фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС».

Литература

1. Hastie // Pharmacol Ther. 1991. № 51(13). p. 377-401.
2. Ravelli et al. // Nature. 2004. № 428(6979). p. 198-202.
3. Paull et al. // J. Natl. Cancer Inst. 1989. № 81(14). p. 1088-1092.
4. Panda et al. // Biochemistry. 1995. № 34(31). p. 9921-9929.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ТРАЕКТОРИЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ В СЕТИ

Веригин В.А.[1], Лихачев И.В.[1,2], Балабаев Н.К.[2]
[1]ТулГУ; [2]ИМПБ РАН - филиал ИПМ им. М.В.Келдыша РАН

veriginws@yahoo.com

В настоящие время существует множество программ, которые могут предоставить функционал по визуализации траекторий молекулярной динамики, но большинство из них являются программными продуктами, предназначенными исключительно для использования на персональном компьютере, такие как VMD , PyMOL, TAMD.

Также существуют и программы для просмотра статических структур (PDB-файлов) в сети интернет, но у них есть существенный недостаток, который ограничивает их функционал. У данных сервисов нет возможности показа трехмерного интерактивного молекулярного кино в Сети, если не считать сервисы, которые предоставляют доступ к заранее снятому видео со структурой.

Представлен клиент-серверный программный пакет – Портал анализа траекторий молекулярной динамики – со следующими возможностями:

- Визуализация траекторий молекулярной динамики в виде трехмерного интерактивного молекулярного кино.
- Хранение базы данных вычислительных экспериментов.
- Построение характеристик от времени.
- Хранение базы рассчитанных характеристик.
- Возможность коллективной работы с результатами вычислительных экспериментов.
- Наличие клиент-серверной архитектуры. Как следствие, перенос вычислительной нагрузки на сервер.
- Использование Портала в качестве проигрывателя для демонстрационного материала.

Сервис должен послужить сетевой альтернативой существующим программам анализа траекторий. В последнее время в портал была добавлена возможность отображения групп атомов в виде таблицы вместе с их настройкой, также функция изменения положения двух систем для проведения опытов.

Портал визуализации и анализа траекторий молекулярной динамики состоит из следующих компонентов:

- Модуля визуализации, работающего в браузере клиента, разработанного на JavaScript с использованием библиотеки Three.js, использующей аппаратное ускорение современных видеокарт, доступной по технологии WebGL.
- Серверной части, написанной на языке Python с использованием фреймворка Flask. Отвечает полностью за доступ и обработку траекторий, а также за логику веб-приложения.
- В качестве СУБД для хранения информации выбрана MySQL. Однако возможно использование любой другой реляционной СУБД.

Многомодульная структура Портала позволяет добиться масштабируемости, переноса вычислительной нагрузки на серверное аппаратное обеспечение, коллективной работы над вычислительными экспериментами, а также минимизации сетевого трафика.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПТОМА КОРНЕЙ АЛЛОГЕСКАПЛОИДНОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПОМОЩИ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ РНК (RNA-SEQ)

Вихорев А.В.[1,2], Шмаков Н.А.[2], Глаголева А.Ю.[2], Хлесткина Е.К.[1,2,3], Шоева О.Ю.[2]
[1]Новосибирский государственный университет; [2]Институт цитологии и генетики СО РАН;
[3]Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова

vihorev97@mail.ru

Пшеница – важнейшая сельскохозяйственная культура, на долю которой приходится около 20% потребляемых человеком калорий. Длительное время селекция пшеницы велась в основном с отбором по фенотипическим признакам побега, корням уделялось мало внимания, в результате чего корневая система современных сортов ослабла по сравнению с сортами, полученными до зеленой революции. Сейчас это упущение компенсируется, о чем свидетельствует объявленная журналом Nature «зеленая революция под землей», целью которой является улучшение корневой системы современных сортов растений. Поэтому изучение генетического контроля развития корней пшеницы является актуальной задачей. Подходящим методом для этого является профилирование транскриптома при помощи высокопроизводительного секвенирования РНК (RNA-seq), так как оно позволяет оценить экспрессию генов в масштабе всего генома, а также найти конкретные гены, ответственные за интересующие признаки, которые будут в дальнейшем использоваться в ходе маркер-ориентированной селекции для создания новых сортов растений.

Целью данной работы является изучение транскриптома проростков аллогексаплоидной пшеницы с помощью RNA-seq анализа для выявления дифференциально экспрессирующихся между корнем и побегом генов и корень-специфичных генов, участвующих в развитии корневой системы пшеницы.

В данной работе мы использовали библиотеки РНК, полученные из корня и колеоптиле четырехдневных проростков пшеницы сорта Саратовская 29. Библиотеки секвенировались на аппарате Illumina NextSeq 550, были получены парные прочтения длиной 75 нуклеотидов. Впервые был de novo собран транскриптом модельного российского сорта Саратовская 29. В de novo сборке были обнаружены 94.2% консервативных генов однодольных растений, а также 112 934 открытые рамки считывания, что близко к количеству рамок считывания в аннотированном референсном транскриптоме (119 267 открытые рамки считывания). Все это говорит о достаточно высоком качестве полученного транскриптома. Было обнаружено 67 339 (50% от общего количества) дифференциально экспрессирующихся транскриптов, из них 31 488 имеют повышенную экспрессию в корне, 35 851 – пониженную. Корень-специфичной экспрессией обладают 18 040 (13%) транскриптов. В ходе анализа насыщения терминов генной онтологии было выявлено, что наиболее распространенными продуктами дифференциально экспрессирующихся генов являются мембранные белки и белки, связанные с фосфорилированием. Вероятно, эти белки являются корень-специфичными рецепторами и регуляторными белками, ответственными за развитие корня.

АКТИВАЦИЯ АЛЬФА-2 АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ СТИМУЛИРУЕТ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ГАМК АСТРОЦИТАМИ

Гайдин С.Г., Зинченко В.П., Теплов И.Ю., Косенков А.М.
ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
ser-gajdin@yandex.ru

На настоящий момент известно, что норадренергическая система мозга вовлечена в формирование эмоциональной памяти и чувства страха, сопряжена с состояниями бодрствования, стресса, концентрацией внимания, мотивацией. Показано, что дисфункция норадренергической системы тесно связана с развитием болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, эпилепсии. Наличие глубоких фундаментальных знаний о роли норадреналина в нервной системе может быть критичным для разработки эффективных стратегий лечения. Настоящая работа была посвящена исследованию действия норадреналина на активность нейрональных сетей в условиях гипервозбуждения, а также изучению роли активации адренергических рецепторов астроцитов в рамках реализации нейроглиальных взаимодействий. В качестве объекта исследования были использованы смешанные нейроглиальные культуры гиппокампа новорождённых крыс Sprague Dawley.

Нами было показано, что норадреналин за счёт активации альфа-2 адренергических рецепторов подавляет как спонтанные (не индуцированные), так и индуцированные осцилляции внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) в нейронах. Данный эффект отменялся в присутствии селективного антагониста ГАМК(А)-рецепторов, бикукуллина, что указывает на вероятную роль ГАМК(А)-рецепторов в подавлении осцилляций. При этом активация альфа-2 рецепторов астроцитов норадреналином или селективным альфа-2 агонистом UK 14,304 вызывает бифазное увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в данной группе клеток. Первая фаза ответа представляет собой пик, обусловленный $Gi_{\beta\gamma}$-PLC-зависимой мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточных депо, тогда как вторая фаза (плато) представляет собой депо-зависимый вход Ca^{2+} из экстраклеточного пространства. При подавлении кальциевого подъёма в астроцитах мы не наблюдали при аппликации UK 14,304 полной отмены индуцированных кальциевых осцилляций в нейронах. Учитывая этот факт, а также отмеченный вклад ГАМК(А)-рецепторов в процесс подавления кальциевых осцилляций в нейронах, мы предположили, что активация альфа-2 адренергических рецепторов астроцитов вызывает усиление Ca^{2+}-зависимого высвобождения ГАМК из этих глиальных клеток. Данная гипотеза была подтверждена результатами электрофизиологических измерений, продемонстрировавших увеличение амплитуды и частоты детектируемых в нейронах бикукуллин-чувствительных хлорных токов глиального происхождения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00548.

СЕРОТОНИН УСКРОРЯЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ В ХОДЕ ИХ РЕГЕНЕРАЦИИИ У ПЛАНАРИЙ SCHMIDTEA MEDITERRANEA

Гребенщиков Н.И.[1], Митьковский Д.Е.[2], Карпов А.Н.[3], Гребенщикова Е.В.[3], Крещенко Н.Д.[3]

[1]ФГБОУ Национальный исследовательский Университет МЭИ; [2]МБОУ СОШ №1 г. Пущино; [3]Институт биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

nkreshch@rambler.ru

Наряду с нервной, мышечной, пищеварительной и выделительной системами, планарии обладают парой простых глаз (фоторецепторов), расположенных в передней части тела, с помощью которых эти животные различают интенсивность и направление светового потока. Глаз планарий состоит из фоторецепторных и пигментных клеток, образующих «глазной бокал», лежащий на дорзальной поверхности тела. Планарии известны выдающейся регенерационной способностью – они могут восстанавливать целый организм из небольшого фрагмента тела. Так, при отсечении головного конца тела, у планарий заново формируется головной нервный ганглий, а также глаза. Процесс регенерации фоторецепторов мало изучен.

В настоящей работе изучали регенерацию глаз после отсечения головного конца тела у планарий *Schmidtea mediterranea*. Исследования проводили методом визуального наблюдения, а также микроскопического анализа. Глаза хорошо различимы как при гистологической, так и при иммуноцитохимической окраске тканей планарий. Проведено 4 опыта, всего было прооперировано 374 планарии. Каждой подопытной группе животных соответствовала индивидуальная контрольная группа. Раствор серотонина в концентрациях от 10 до 0.01 μM добавляли в воду, в которой содержали регенерирующих животных, сразу после операции. Животных содержали в темноте. Начиная с 3-х суток после операции, регенерирующих планарий просматривали под микроскопом.

Установлено, что ходе регенерации фоторецепторы претерпевают несколько стадий дифференцировки: 1) полное отсутствие глаз; 2) появление одного глаза; 3) появление двух глаз, которые могут быть хорошо развитыми, или один из фоторецепторов может быть более развит. Регенерация глаз у планарий *S. mediterranea* проходила с 3 по 5 дни после операции. Максимальное число особей со сформированными фоторецепторами наблюдали на 4 день регенерации. В одной из подопытных групп (серотонин, 0.1 μM), суммарное число планарий с двумя глазами составило 62%, в то время как, в контрольной группе только 39%. В другом опыте наблюдали большее число особей с более продвинутой стадией дифференцировки 68% глаз у подопытных животных (серотонин, 0.01 μM), по сравнению с 56% в контроле. Таким образом, под воздействием серотонина (1-0.01 μM) происходило ускорение формирования фоторецепторов в ходе регенерационного процесса: в подопытной группе наблюдали более раннее появление и более продвинутую стадию дифференцировки фоторецепторов.

Работа поддержана РФФИ 18-04-00349а.

РЕГЕНЕРАЦИЯ ГОЛОВНОГО КОНЦА ТЕЛА У ПЛАНАРИЙ SCHMIDTEA MEDITERRANEA

Гребенщикова А.И.[1], Выкиданец Г.Н.[1], Гребенщиков Н.И.[2], Крещенко Н.Д.[3]
[1]МБОУ СОШ №1 г. Пущино; [2]ФГБОУ Национальный исследовательский Университет МЭИ, Москва; [3]Институт биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

elena0948@yandex.ru

Планарии – пресноводные плоские черви, известные своей непревзойденной регенерационной способностью. Они могут восстанавливать любую часть тела в ответ на повреждение. Планарий *Schmidtea mediterranea* лабораторной культуры содержали в затемненных аквариумах при температуре 20±1Cº. Задачей исследования стало изучение влияния воды, взятой из разных источников, на регенерацию головного конца тела планарий. В опыт отбирали особей длиной 8-9 мм. Тонким скальпелем животным отсекали головной конец тела. Прооперированных планарий помещали по 15 особей в дистиллированную воду (I); воду из р. Оки (II); воду из Фиановского пруда (III); водопроводную воду (IV); контролем служила вода, в которой обычно содержатся планарии – водопроводная и дистиллированная вода в соотношении 2:1 (V). Методом компьютерной морфометрии проводили съемку живых регенерирующих планарий видеокамерой Scopetek DCM130E, соединенной с микроскопом. Изображения анализировали с помощью программы AxioVision Rel4.8. Измеряли площадь головной регенерационной бластемы у каждой регенерирующей особи на 3 и 4 сутки после операции, находили площадь бластемы (мм^2) и ее среднее значение.

Формирование головной бластемы происходило с 1 по 5 дни регенерации. Общая площадь бластем отличалась в разных группах: так, на 4 сут ее размер составил в группе I – 1,155, во II – 1,520; в III – 1,650; в IV – 1,652; и в V группе (контроль) – 1,763 мм^2. Средний размер бластемы в I группе – 0,0771±0,026, во II – 0,1023±0,016; в III – 0,1104±0,028; в IV – 0,1102±0.028, и в V группе – 0,1175±0,025 мм^2.

Итак, водопроводная вода, как сама по себе (IV), так и в соотношении 2 к 1 с дистиллированной (V группа), являлась наилучшей средой для содержания планарий – в ней они регенерировали с наибольшей интенсивностью. Вода из пруда (III) по своим свойствам оказалась близка к водопроводной воде. Регенерация планарий в воде, взятой из Оки (II), замедлялась, по сравнению с контролем (*$p<0,05$; t-критерий), что может свидетельствовать о загрязнении реки. В дистиллированной воде (I) регенерация планарий проходила с наименьшей (***$p=0,0001$), среди всех групп, скоростью.

Таким образом, природная вода со сбалансированным содержанием минеральных веществ лучше подходит для содержания планарий, чем очищенная (дистиллированная). В работе продемонстрирована возможность использования планарий, как биологического объекта, для оценки качества воды различного происхождения. Результаты являются предварительными, необходимы дальнейшие исследования.

Работа частично поддержана РФФИ № 18-04-00349а.

СЕРОТОНИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ 5 ТИПА В БАЗАХ ДАННЫХ ВИДОВ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ С АННОТИРОВАННЫМ ГЕНОМОМ

Гуляев А.В.[1], Теренина Н.Б.[1], Нефёдова Д.А.[2], Бондаренко С.М.[3], Крещенко Н.Д.[1]
[1]Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Центр Паразитологии, Москва, Россия; [2]Национальный исследовательский Томский государственный Университет, Томск, Россия; [3]Институт биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

terenina_n@mail.ru

Для поиска генов серотониновых рецепторов 5 типа в известных геномах плоских червей с использованием базы данных WormBase Parasite (parasite.wormbase.org), которая содержит аннотированные геномы и последовательности генов. Для поиска была использована аминокислотная последовательность гена серотонинового рецептора 5-HTR-5B (hydroxytryptamine receptor 5B) из генома *Mus musculus* (NM_010483.3, cds_NP_034613.2_1). Поиск производился с помощью blastp в модификации для удаленных гомологов (distant homology). Поиск гомологичных генов производился в геноме трематод *Schistosoma mansoni*, как в наиболее полно собранном и аннотированном геноме, среди представителей плоских червей (*Platyhelminthes*). При обнаружении ортологичного гена в геноме одного вида, автоматически находится дерево его гомологов во всем классе *Platyhelminthes*. Так были построены филогенетические деревья найденных гомологов генов серотониновых рецепторов и проведено выравнивание соответствующих белков.

У плоских червей было обнаружено 63 гомолога гена 5-HTR-5B *S.* mansoni, объединенных в несколько групп. Наиболее древняя группа представлена тремя генами рецептора в геноме планарий *Schmidtea mediterranea*. Следующая группа представлена 18 гомологичными генами, один из которых найден в геноме *S. mediterranea*, один - в геноме моногеней *Gyrodactylus salaris*, остальные – в геномах цестод, среди которых роды *Taenia, Echinococcus, Hymenolepis, Mesocestoides, Dibothriocephalus*. Следующая группа гомологов объединяет 27 последовательностей из геномов исключительно паразитических видов червей. Эта группа состоит в свою очередь из трех кластеров, древнейший из которых объединяет четыре гена у видов *Dibothriocephalus latus* (цестоды), *Schistosoma bovis* (трематоды), *Protopolystoma xenopodi*s (моногенеи).

Сравнительный анализ показал, что за всю эволюционную историю гена 5-HTR-5B произошло 7 дупликаций: в геноме *Spirometra erinaceieuropaei* (цестоды) *S. mediterranea* (планарии, дважды), *Protopolystoma xenopodis* (моногенеи). Остальные дупликации произошли в предковых геномах. Сравнение аминокислотных последовательностей показывает наличие трех высоко консервативных доменов, сохраняющихся во всех последовательностях белка рецептора серотонина 5 типа у всех *Bilateria*.

Работа поддержана РФФИ 18-04-00349а.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА ПРИ ОКИСЛЕНИИ ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПОХЛОРИТОМ

Гаврилина Е.С.[1,2], Васильева А.Д.[1], Юрина Л.В.[1], Щеголихин А.Н.[1], Леонова В.Б.[1], Бирюкова М.И.[1], Константинова Т.С.[1], Индейкина М.И.[1,3], Кононихин А.С.[1,4,3], Николаев Е.Н.[1,4,5], Розенфельд М.А.[1]

[1]ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; [3]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; [4]ФГБУН Институт энергетических проблем химической физики имени В.Л. Тальрозе РАН, Москва, Россия; [5]Автономная некоммерческая образовательная организация высшего профессионального образования «Сколковский институт науки и технологий», Сколково, Россия

e.gavrilina98@gmail.com

Белки представляют собой высокочувствительные мишени для активных форм кислорода (АФК). Окислительные модификации белков могут вызывать нарушение их структуры и механизма функционирования. Плазминоген, будучи предшественником плазмина, основная функция которого заключается в осуществлении внутрисосудистого тромболизиса, является полностью неизученным белком плазмы крови в отношении его посттрансляционных окислительных модификаций и, как следствие, структурных нарушений.

В данной работе впервые была предпринята попытка исследовать действие гипохлорит-индуцированного окисления плазминогена на модификацию отдельных сайтов в первичной структуре белков, на изменения пространственной структуры окисленного плазминогена, а также на ферментативную активность плазмина, образованного при активации окисленного плазминогена.

Используя метод масс-спектрометрии высокого разрешения показано, что малое количество окислителя (50 мкМ/л) вовлекало в процесс окисления только домены KR-2, KR-4 и SP, в то время как при более высоком количестве окислителя (150 мкМ/л) все структурные области плазминогена и плазмина были окислены. Наибольшее число сайтов окисления приходится на остатки метионина и циклические аминокислотные остатки, среди которых триптофаны были наиболее доступными для окислителя. Окисление плазмина сопровождалось образованием дополнительных центров окисления в белке, отсутствующих в окисленном плазминогене.

Окислительные повреждения структуры плазминогена проявляются в снижении функциональной активности плазмина, полученного из окисленного плазминогена, что подтверждается результатами электрофореза.

Сделан вывод, что менее свернутая структура плазмина по сравнению с компактной структурой плазминогена становится более уязвимой для действия АФК.

Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования по государственному заданию (тема 0084-2014-0001). Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского Научного фонда, № 16-14-00181.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОБСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МОЗГА КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Ибрагимова З.К., Халилов Р.А., Джафарова А.М., Абдуллаев В.Р.
Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

albina19764@mail.ru

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это ключевой фермент гликолитического пути, который регулируя соотношение $НАД^+$/НАДН в клетке, может выполнять ряд неклассических функций. Ранее нами было показано, что при гипотермии эффективность катализа ЛДГ в мозге существенно увеличивается, что может быть обусловлено модификациями её структуры. С целью оценки структурно-конформационных изменений фермента в данной работе исследована собственная флуоресценция ЛДГ из мозга крыс в норме и при умеренной (30ºС) кратковременной (30 мин) гипотермии.

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах. Выделение ЛДГ из мозга производили методом фракционирования с помощью сульфата аммония с последующей хроматографической очисткой. Измерения собственной флуоресценции ЛДГ проводили на сперктрофлуориметре Hitachi F-7000. Спектр флуоресценции снимали в диапазоне 290 нм$\leq\lambda\leq$400 нм при $\lambda_{возб}$280 нм (суммарная флуоресценция) и $\lambda_{возб}$295 нм (триптофановая флуоресценция). Обработку спектров производили в программе Origin 8.6.

Анализ спектров суммарной флуоресценции ЛДГ показал, что максимум интенсивности её флуоресценции наблюдается при λ=333 нм, что может свидетельствовать об основном вкладе в спектр флуоресценции триптофановых остатков, находящи примерно в одинаковом гидрофобном или достаточно жестком окружении. Анализ вторых производных суммарной флуоресценции ЛДГ выявил основной отрицательный пик в области 338 нм и плечи в области 327 нм, 352 нм, которые соответствуют флуоресценции триптофана, а также плечи в области 307нм, 312нм, соответствующие флуоресценции тирозина. Гипотермия способствует формированию выраженного пика флуоресценции тирозина в области 312 нм и появлению четкого пика при 327, что свидетельствуют об изменениях пространственной конфигурации ЛДГ.

Исследование спектров триптофановой флуоресценции ЛДГ показало, что гипотермии снижает интенсивность триптофановой флуоресценция фермента. Снижение может объясняться изменением конформации белков, вследствие которой при разворачивании глобулы хромофорные группы триптофана становятся более доступными для молекул растворителя, или окислением триптофана АФК, производство которых на начальных этапах гипотермии увеличивается. На вторых производных спектра триптофановой флуоресценции ЛДГ контрольных животных обнаруживаются основной отрицательный пик на 330 нм и дополнительные пики на 320 и 345 нм. Кратковременная гипотермия приводит к формированию плеча на 355 нм. Таким образом, гипотермия затрагивает триптофанилы, локализованные на периферии молекулы ЛДГ, тогда как триптофановые остатки в центре глобулы не меняют свою локализацию.

ФРАКТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАРУЖНОЙ ТЕРАПИИ ДЕРМАТОЗОВ

Русанова И.А.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

irusanova@yandex.ru

Наиболее часто наблюдаются дерматозы, осложненные смешанной инфекцией, с присутствием разного вида грибов и микробов, что затрудняет постановку точного диагноза. В случае аллергического дерматита (экземы) выраженное влияние оказывает бактериальная активность. Наиболее эффективным подбором лекарственных препаратов при осложненном дерматозе, оказывающем влияние на все звенья патогенеза, является не монотерапия, а применение трехкомпонентной комбинации антибактериального и антигрибкового препаратов, вместе с глюкокортикостероидом. Важное значение приобретает подбор их оптимального соотношения.

В данной работе исследованию были подвергнуты цифровые изображения дерматоскопии пациентов до лечения и при достижении клинической ремиссии в двух группах терапии, применявших комбинации «гентамицин + клотримазол + беклометазон» (А, препарат Кандидерм) и «гентамицин + клотримазол + бетаметазон» (Б). Эпителий после терапии в случае А считается абсолютно здоровым, в случае Б – наблюдается сухость и мелкопластинчатое шелушение.

Исследованы возможности применения фрактального анализа для выявления эффективности воздействия двух комбинаций наружной терапии при дерматозе. Выявлена чувствительность фрактальной размерности D всего изображения к дерматозу и клинической ремиссии эпителия относительно показателя Херста, $D_{здор.эп.}<2.5$. Мера $SRGB_{здор.эп}<0$ в случае Б. Показано присутствие аномальных структурных изменений в здоровом эпителии в случае А (коэффициент самоподобия $K<0$). Сегментирование цифровых изображений эпителия позволяет описать сложные мультифрактальные поверхности эпителия с учетом спектра фрактальных размерностей. Производилось выделение структурных изменений и нетипичных областей неоднородностей и морфологических особенностей поверхности эпителия при помощи сканирующего «окна» для полей фрактальной размерности, коэффициента самоподобия и поля меры SRGB. Оценено влияние шага смещения и размера «окна». Применение бинарного преобразования к полям фрактальных мер по пороговым значениям выявило чувствительность к описанию сложности структурно-текстурных границ поверхности эпителия до и после терапии. Наблюдается выраженное смещение максимумов распределения частоты величины D и меры SRGB, что может являться паттерном в сравнительной характеристике морфогенеза эпителия до терапии и после ремиссии в зависимости от эффективности воздействия лекарственных препаратов.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ НАТРИЙ ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NAPI2B

Козлова А.С., Акберова Н.И., Киямова Р.Г., Богданов М.В.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

kozlovaas.93@gmail.com

Пространственная структура натрий зависимого фосфатного транспортера 2b (NaPi2b) необходима для исследования особенностей его работы и взаимодействия с терапевтическими антителами, так как показано, что NaPi2b играет важную роль в транспорте фосфат-ионов в кишечнике человека и является мишенью для терапевтических антител MX35 при раке яичника.

Целью нашей работы было предсказание пространственной структуры транспортера NaPi2b по его аминокислотной последовательности с использованием биоинформатических подходов.

На основе предсказанных топологий, особенностей вторичной структуры и профиля гидрофобности была уточнена итоговая топология, согласно которой была построена модель структуры транспортера с применением серверов QUARK и Robetta. Были проведены симуляции молекулярной динамики N-домена (220 ns), C-домена (170 ns), EMD4 (620 ns) для стабилизации их структур. Структура NaPi2b была пересобрана с использованием моделей стабилизированных структур N- и C- доменов и EMD4, для чего отбирались структуры без аминокислот в запрещенных зонах, имеющие минимальную полную энергию. Предсказанная модель была помещена в стандартную мембрану POPC размером 120A*120A. Симуляции молекулярной динамики проводились в программе NAMD с использованием силового поля CHARMM36, системы готовились при помощи программы VMD.

Результаты полученные с помощью метода молекулярной динамики N- и C- доменов и EMD4 позволили улучшить качество предсказанной структуры транспортера NaPi2b. Анализ параметров траектории 105 ns-симуляции молекулярной динамики показал, что структура NaPi2b достаточно стабильна и пригодна для проведения дальнейших исследований. Полученная модель структуры NaPi2b позволила выявить аминокислоты, мутации которых могут влиять на транспортную активность NaPi2b.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы повышения конкурентоспособности КФУ.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕПИТОМОВ 4 АЛЛОПОЛИПЛОИДНЫХ ВИДОВ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

Колганова Е.И., Киров И.В., Дивашук М.Г.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

elizaveta.kolganova.1997@list.ru

Геномы большинства живых организмов в значительной степени состоят из повторяющихся последовательностей, включая сателлитную ДНК и мобильные элементы. Хотя долгое время считалось, что повторяющиеся последовательности имеют слабое функциональное значение для клетки, сейчас становится понятна их важная роль в эволюции и формировании структурной организации генома растений.

Развитие проектов по изучению генома организма изменило понимание репитома как совокупности всех средне- и высококопийных повторов генома. Кроме того, позволило развернуть исследования тандемных повторов и семейств мобильных элементов и их популяций в составе геномов, что является чрезвычайно интересным для изучения эволюционной динамики как самих мобильных элементов, так и эволюции геномов растений. Так, например, показано, что амплификация тандемных повторов и мобильных элементов является одной из основных причин вариации размера геномов. Состав и количество мобильных элементов в геноме может отличаться даже у близкородственных видов.

Целью данной работы был анализ состава тандемных повторов и мобильных элементов четырех аллополиплоидных видов семейства Злаковые: *Pseudoroegneria geniculata* (StSt), *Thinopyrum sartorii* (JeJb), *Elymus arizonicus* (StH), *Trinopyrum caespitosum* (Ejb).

Для аннотации и анализа репитома был использован RepeatExplorer (Novak et al. 2013). Для поиска мобильных элементов был использован инструмент DANTE (Domain Based Annotation of Transposable Elements), основанный на поиске сходства с консервативными белковыми доменами базы данных.

Используя данные NGS, а также инструменты для идентификации и анализа тандемных повторов и мобильных элементов, для изучаемых аллополиплоидов в общей сложности было найдено 29 кластеров тандемных повторов. Были установлены различия между числом копий мобильных элементов и тандемных повторов у исследуемых видов, а также выделены повторяющиеся элементы для дальнейшего FISH картирования.

СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ ГАМКЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ КАИНАТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Косенков А.М., Гайдин С.Г., Теплов И.Ю., Зинченко В.П.
ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

kosenckov406@yandex.ru

Домоевая кислота (ДК) - нейротоксин, образующийся в некоторых видах водорослей и накапливающийся в моллюсках и других морских организмах, питающихся фитопланктоном. Нейротоксичность домоевой кислоты обусловлена тем, что данное соединение является агонистом каинатных рецепторов (КАР), более селективным чем каиновая кислота. КАР относятся к типу ионотропных глутаматных рецепторов.

В данной работе в качестве основной модели использовалась нейроглиальная культура клеток гиппокампа на 12-14 день культивирования. Нами было установлено, что ДК в концентрации 100 нМ стимулирует секрецию ГАМК и глутамата. В концентрации выше 200 нМ ДК селективно активировать особую популяцию нейронов. Данные клетки отвечают подъёмом цитозольного кальция на ДК даже в присутствии ингибиторов NMDA- и AMPA-рецепторов, что говорит о том, что подъем кальция в данных нейронах обусловлен активацией именно КА-рецепторов. Иммуноцитохимическое окрашивание показало, что данные нейроны содержат глутаматдекарбоксилазу 65/67 (GAD 65/67) т. е. являются ГАМКергическими. Нами так же было установлено, что данные нейроны экспрессируют КА-рецепторы, содержащие GluK1-субъединицу. И, кроме того, механизм секреции ими ГАМК включает активацию пресинаптических кальций-проводящих КА-рецепторов. Данные выводы были сделаны на основе экспериментов с использованием ингибитора кальций-проводящих рецепторов NASPM. В его присутствии снималось опосредованное секрецией ГАМК ингибирование.

Далее мы изучили электрофизиологические свойства данных нейронов. Эксперименты показали, что порог возникновения потенциала действия у данных нейронов ниже по сравнению с остальными клетками, т. е. данные нейроны можно охарактеризовать, как легковозбудимые. Далее, основываясь на полученных данных, мы предположили, что активация ГАМКергических нейронов домоевой кислотой может оказывать положительный эффект на другие нейроны в сети при гипервозбуждении и, в частности, при гипервозбуждении, индуцированном аммонием. Эксперименты показали, что аппликация ДК в концентрации 200 нМ во время гипервозбуждения приводит к активации ГАМКергических нейронов и подавлению активности в остальной популяции, о чем можно было судить по подавлению кальциевых колебаний. Данный эффект может рассматриваться как нейропротекторный, т.к. кальциевая перегрузка вследствие высокочастотной активности может приводить к гибели нейронов.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-34-90063 Аспиранты "Изучение механизмов селективной активации ГАМКергических нейронов гиппокампа и механизмов секреции ими ГАМК в ответ на аппликацию агонистов каинатных рецепторов".

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МСК К ПУРИНЕРГИЧЕСКИМ АГОНИСТАМ МОДУЛИРУЕТСЯ ПРОТЕИНКИНАЗОЙ G

Котова П.Д.
ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

polinakotova88@gmail.com

Первичная культура мезенхимных стромальных клеток (МСК) из жировой ткани человека содержит субпопуляции клеток, специфически чувствительных к агонистам GPCR-рецепторов. Ранее нами было показано, что МСК генерируют Ca^{2+}-ответы на различные агонисты по принципу “все или ничего”, т.е. в малых дозах агонист не вызывает изменения концентрации Ca^{2+} в цитоплазме клетки, тогда как при превышении пороговой концентрации инициирует глобальный Ca^{2+}-сигнал, величина и кинетика которого не зависит от концентрации агониста. Этот феномен обусловлен двустадийной трансдукцией сигнала, важную роль в которой играет механизм Ca^{2+}-индуцированного выброса Ca^{2+} из внутриклеточных депо (CICR). В изучении этого механизма важным является вопрос, каким образом регулируется порог инициации CICR, его мы и исследовали на примере пуринергической системы МСК, используя микрофотометрию и Ca^{2+}-индикатор Fluo-4.

Мы обнаружили, что неспецифический ингибитор фосфодиэстераз IBMX увеличивал пороговую концентрацию ATP. Так, среди пуринергических МСК (n=54), которые стимулировались ATP в концентрации 0.5–5 мкМ, 3 и 16 клеток ответили на агонист, использованный в дозах 0.5 и 1 мкМ соответственно, при этом в присутствии IBMX (50 мкМ) ATP инициировал Ca^{2+}-сигналы в МСК, только начиная с дозы 1.5 мкМ.

Наиболее универсальным путем регуляции клеточных функций циклическими нуклеотидами является cAMP/cGMP–зависимое фосфорилирование различных белков, мы анализировали эффекты специфичных ингибиторов PKA и PKG, H89 и KT-5823 соответственно. В общей сложности нами было проанализировано 13 клеток, которые генерировали Ca2+-ответы на 1.5 мкМ ATP, обратимо блокирующиеся IBMX 50 мкМ. На фоне IBMX добавление во внеклеточный раствор H89 (2–4 мкМ) не восстанавливало чувствительность клеток к 1.5 мкМ ATP. Однако если МСК инкубировали в присутствии комбинации ингибиторов IBMX (50 мкМ) + H89 (4 мкМ) + KT-5823 (1 мкМ), то они сохраняли способность генерировать нормальные по форме и кинетике Ca2+-сигналы в ответ на 1.5 мкМ ATP. Это свидетельствовало о том, что ключевую роль в ингибиторном

эффекте IBMX играло увеличением активности PKG. Таким образом полученные данные свидетельствуют о том, что PKG модулирует чувствительность МСК к АТР, вероятно, фосфорилируя IP3-рецепторы cGMP-зависимым образом.

Работа поддержана стипендией Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам СП-924.2018.4.

АНАЛИЗ РОЛИ ИЗОФОРМ IP3 РЕЦЕПТОРОВ В ГЕНЕРАЦИИ Ca2+ ОТВЕТОВ НА АГОНИСТЫ

Кочкина Е.Н., Кабанова Н.В., Коваленко Н.П.
ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

kate-kochkina@yandex.ru

Клетки способны отвечать мобилизацией внутриклеточного Ca^{2+} на агонисты гептаспиральных рецепторов, сигнальная функция которых реализуется через G-белки (GPCR). Ранее нами было показано, что клетки линии HEK 293 генерируют Ca^{2+} ответы на различные агонисты по следующему механизму: рецептор активирует фосфолипазу С, которая гидролизует PIP_2 до IP_3, IP_3 стимулирует IP_3-рецепторы, что приводит к первоначальному выбросу депонированного Ca^{2+}, скорее всего, зависимому от концентрации агониста. Этот первоначальный Ca^{2+} сигнал стимулирует масштабный выброс Ca^{2+} из внутриклеточных депо, по механизму Ca^{2+}-индуцированного выброса депонированного Ca^{2+}, благодаря чему продуцируется универсальный Ca^{2+} ответ, не зависящий от концентрации агониста. Первоначальный и вторичный Ca^{2+} сигналы формируются за счет выброса депонированного Ca^{2+} через IP_3 рецепторы, вероятно при участии функционально и/или физически разделенных Ca^{2+} депо и различных изоформ IP_3 рецепторов.

Представленная работа была направлена на выяснение роли различных изоформ IP_3 рецепторов в генерации Ca^{2+} ответов по принципу «всё или ничего». Мы использовали три моноклональные клеточные линии, созданные на основе линии клеток HEK 293, в каждой из которых был инактивирован ген одного из трех типов IP_3 рецепторов (IP_3R1, IP_3R2, IP_3R3). Для получения модифицированных клеточных линий была применена система CRISPr/CAS9, посредством которой в геном были внесены мутации, ведущие к смещению открытой рамки считывания целевых генов с их последующей инактивацией. Сигнальные процессы исследовали с использованием Ca^{2+} зонда Fluo-4 и микрофотометрии, в качестве агонистов использовали АТФ и ацетилхолин.

В ходе работы было установлено, что среди клеток с нефункциональным IP_3R2 полноценный Ca^{2+} ответ на АТФ (2 мкМ) и ацетилхолин (1 мкМ) генерируют лишь 23% и 29% клеток соответственно, тогда как в популяции клеток дикого типа такой способностью обладают ~70% клеток. При этом достоверных различий в количестве клеток, способных генерировать Ca^{2+} ответы на АТФ и ацетилхолин, между клетками с нефункциональными IP_3R1 или IP_3R3 и клетками дикого типа выявлено не было. Полученные данные свидетельствуют о том, что основную роль в генерации Ca^{2+} ответов на различные агонисты играет IP_3R2. Выяснение того, за какую из стадий генерации Ca^{2+} ответа ответственен IP_3R2, требует дальнейшего исследования.

Работа поддержана грантом РНФ №18-14-00347.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНЪЮГАТА ХЛОРИНА Е6 С ТАРГЕТНЫМ АГЕНТОМ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ С КОМБИНИРОВАННЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Крылова Л.В., Пескова Н.Н., Воловецкий А.Б., Пронина С.Ю., Отвагин В.Ф., Кузьмина Н.С., Федоров А.Ю., Балалаева И.В.
ННГУ им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

lu.krylova@mail.ru

Комбинирование терапевтических агентов с различным механизмом действия и объединение их в одном лекарственном препарате является многообещающей стратегией в лечении онкологических заболеваний. Ранее в ННГУ им. Н. И. Лобачевского был получен конъюгат цинкового комплекса хлорина е6 с вандетанибом и дигалактозилом (ZnChl-Vd) в качестве агента для фотодинамической терапии опухолей с комбинированным действием (Otvagin et.al., 2019). Хлорин под действием света запускает фотодинамическую реакцию в клетке. Вандетаниб представляет собой ингибитор тирозинконазной активности рецепторов ростовых факторов EGFR и VEGFR. Целью данной работы явилась оценка эффективности ZnChl-Vd в отношении культур клеток и экспериментальных ксенографтных опухолей.

В работе исследованы спектральные свойства и определен квантовый выход ZnChl-Vd и ZnChl. Исследования in vitro проводились на культурах клеток эпидермоидной карциномы человека А-431 (EGFR+), и клеток яичника китайского хомячка CHO (EGFR-, VEGFR-). Проанализирована внутриклеточная локализация соединений и. определена их цитотоксичность методом МТТ-теста. Эксперименты in vivo проводились на иммунодефицитных мышах с подкожно привитой опухолью А431. Мониторинг специфичности накопления проводили методом флуоресцентной визуализации на уровне целого организма, терапевтический эффект оценивали по динамике объема опухолевых узлов.

Исследованные в работе соединения обладают интенсивным поглощением и флуоресценцией в красной области спектра, квантовый выход не превышает 10%. Показано, что ZnChl-Vd и ZnChl интенсивнее накапливают в клетках А431 с локализацией в лизосомах и везикулах, а также в аппарате Гольджи. Показана высокая фотодинамическая активность ZnChl-Vd в отношении А-431 по сравнению с ZnChl. В экспериментах in vivo продемонстрировано, что ZnChl-Vd характеризуется высокой селективностью накопления в опухоли. Выраженный терапевтический эффект наблюдается как в условиях локального облучения, так и в темноте, что свидетельствует о двух механизмах воздействия на опухоль.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности исследуемого соединения и позволяют рассматривать его в качестве потенциального агента для ФДТ с комбинированным действием.

Работы выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-33-20041).

Otvagin V.F. et al. Water-Soluble Chlorin/Arylaminoquinazoline Conjugate for Photodynamic and Targeted Therapy // J. Med. Chem.,2019.V. 62. P. 11182−11193.

ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИХ ПРОНИКНОВЕНИЯ В ТОЛЩУ ОПУХОЛЕВОГО СФЕРОИДА IN VITRO

Кутова О.М., Соколова Е.А., Гурьев Е.Л., Балалаева И.В.
ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

kutovaom@gmail.com

В настоящее время разрабатывается множество агентов для таргетной терапии, которые представляют собой высокомолекулярные соединения, в частности, белковой природы, способные специфично связываться с клетками-мишенями. Показано, что в условиях *in vivo* эффективность разрабатываемых агентов ниже таковой в условиях *in vitro*. В качестве возможной причины этого снижения рассматривается плохое проникновение агентов в толщу опухолевой ткани, связанное с особенностями ее трехмерной структуры.

Целью данной работы было исследование проникновения агентов различного размера в толщу опухолевого сфероида *in vitro*. В данной работе использовались клетки линии HER2-гиперэкспрессирующей аденокарциномы яичника человека, трансфицированные геном красного флуоресцентного белка Katushka (SKOV-kat). С помощью планшетов из пластика со сверхнизкой адсорбцией из клеток этой линии были получены сфероиды - плотные округлые клеточные конгломераты. Глубину проникновения агентов в толщу сфероидов исследовали методом конфокальной микроскопии. В качестве низкомолекулярного агента был выбран цитостатический антибиотик доксорубицин (M ~ 0.5 кДа), а в качестве высокомолекулярного агента – HER2-специфичный таргетный токсин DARPin-LoPE (M = 42 кДа). Для верификации преимущественного вклада размерной характеристики агента в его плохое проникновение в толщу сфероида исследовали проникновение в сфероид белка сходного с DARPin-LoPE по размеру, но не обладающего специфичностью к HER2 (бычий сывороточный альбумин, БСА, M = 66 кДа). Визуализацию проникновения белков проводили с помощью их предварительного мечения флуоресцентным красителем FITC. Доксорубицин был визуализирован за счет собственной флуоресценции.

В ходе исследования был показан рост глубины проникновения исследуемых агентов в толщу сфероида с течением времени. Максимальная глубина проникновения доксорубицина и DARPin-LoPE в толщу сфероида диаметром 400-500 мкм составляла 200 мкм и 50 мкм соответственно. Для неспецифического белка БСА максимальная глубина проникновения также составляла 50 мкм. Ограниченная глубина проникновения таргетного токсина коррелировала со снижением его эффективности в отношении сфероида по сравнению с монослойной культурой клеток. Одним из подходов для проблемы снижения эффективности терапевтических агентов в данном случае может служить модификация трехмерной структуры опухоли, в частности, воздействие на белки межклеточных контактов с целью устранения стерических препятствий к проникновению противоопухолевых агентов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 19-34-90159.

ПРОДУКТЫ ФОТОХИМИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ ДНК ПРОИЗВОДНЫМИ ПОРФИРИНА

Лукьянова А.В.[1,2], Калюжный Д.Н.[1], Бениаминов А.Д.[1]
[1] ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарта РАН, Москва, Россия;
[2]ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

krylova.av@phystech.edu

Окислительное повреждение ДНК свободными радикалами, например активными формами кислорода, может быть мутагенным и приводить к различным заболеваниям, в том числе онкологическим. Участки геномной ДНК наиболее подверженные такой модификации могут быть использованы как для направленной защиты генома, так и как терапевтические мишени.

Целью данной работы является определение мест окислительного повреждения ДНК, вызванных различными факторами. В данной работе объектом исследования являются олигонуклеотиды с теломерной последовательностью 5’-$(TTAGGG)_n$-3’, повторяющейся два раза. В качестве окислителя нами использовалось синтетическое вещество 5,10,15,20-тетракис(N-карбоксиметил-4-пиридиний)порфирин цинка (ZnP1), которое способно взаимодействовать с ДНК. Работа посвящена исследованию окисленных форм гуанинов, полученных в процессе фотоиндуцированного окисления ZnP1.

Порфириновые производные под действием света генерируют преимущественно синглетный кислород и другие активные формы кислорода (АФК). Взаимодействие катионных порфиринов с ДНК обеспечивает близкое расположение фотосенсибилизатора к ДНК, что способствует локальному окислению преимущественно гуанинов с образованием различных окисленных форм. В результате двухэлектронного окисления образуются 8-оксо-7,8-дигидрогуанин(8oxoG) и 5-карбоксоамидо-5-формамидо-2-иминогидантоин, четырёхэлектронного – спироиминогидантоин, имидазалон, оксазалон и 5-гуанидингидантоин в различных соотношениях.

В ходе работы реакция окисления проводилась в присутствии только окислителя - ZnP1. Было обнаружено, что продуктами окисления гуанина являются как 8oxoG так и спироиминогидантоин. Добавление природного восстановителя – глутатиона приводит к увеличению количества 8oxoG, поскольку глутатион предотвращает дальнейшее окисление 8-оксо-7,8-дигидрогуанина и уменьшает количество побочных продуктов. Реакция присоединения биотина к 8oxoG проведена в присутствии гексабромиридата. Отмечено, что проведение окисления порфирином в присутствии биотин ПЭГ2 амина так же приводит к модификации окисленных форм гуанина.

В результате работы подобраны условия получения окисленных форм гуанина на теломерной последовательности ДНК. Отработана методика модификации окисленных форм гуанина посредством биотинилирования, что в дальнейшем может быть использовано для обогащения участков геномной ДНК наиболее подверженных окислению.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СЛИЯНИЯ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ НАНОХИРУРГИИ

Мартиросян Д.Ю., Залесский А.Д., Осыченко А.А., Точило У.А., Надточенко В.А.
ФИЦ ХФ РАН им. Н.Н.Семенова, Москва, Россия

petrosyan359@gmail.com

В фармацевтике и фундаментальной науке в качестве объектов исследования используются модельные организмы. Лазерная нанохирургия может быть успешно применима для их создания. Метод позволяет проводить микроманипуляции с отдельными органеллами внутри живой клетки, не повреждая и не убивая саму клетку. При фокусировке фемтосекундных лазерных импульсов объективом с большой числовой апертурой (NA>0.8) в биологическом материале создается интенсивность излучения, достаточная для индуцирования многофотонной ионизации в суб-фемтолитровом объёме. Комбинированный эффект многофотонной и ударной ионизации создаёт большую плотность свободных электронов, приводящую к абляции биологических тканей с размерами надрезов менее 100 нм.

Эффект многофотонного поглощения обеспечивает взаимодействие фемтосекундного лазерного излучения ближнего ИК-диапазона (700-1000 нм) с биологическим материалом клеток и тканей. Для необходимой эффективности пиковая плотность потока мощности фемтосекундного лазерного излучения должна составлять 10^{12} Вт/см^2. Мы установили, что энергия импульса 1 нДж является пороговой для образования парогазового пузыря, который, в свою очередь, является индикатором протекания локальных термических эффектов.

В данной работе предлагается усовершенствованный метод слияния клеток при помощи фемтосекундного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона. Предложенная методика повышает степень контроля воздействия фемтосекундного лазерного излучения на клетки. За счет эффектов нелинейного поглощения фемтосекундного лазерного излучения ближнего ИК диапазона удается минимизировать основные разрушающие эффекты воздействия: нагрев и кипение, которые проявляются в виде парогазового пузыря.

В качестве объектов исследований использовались доимплантационные эмбрионы и ооциты мыши, фетальные фибробласты мыши (MEFS), а также культура моноцитов человека THP1. Установлено, что слияние крупных объектов (около 25% случаев успеха), таких как двухклеточные эмбрионы или модельной системы ооцит-ооцит происходит примерно с одинаковым успехом, в то время как слияние мелких клеток культуры THP1 или MEFS встречает существенные затруднения. При слиянии клеток линии THP1 и MEFS на возможность слияния влияет множество факторов: линия клеток, протокол подготовки образцов. Слияние клеток линии MEFS так и не было достигнуто. Однако в линии THP1 удалось добиться слияния с вероятностью 50%.

Дальнейшее развитие данного метода увеличит вероятность слияния клеток и их выживаемость после воздействия.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-53-52007 МНТ_а.

ИЗУЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ COUMARIN-525 В СРЕДЕ ФОСФАТНОГО БУФЕРА

Мартынова А.В.[1], Ромодин Л.А.[1,2], Владимиров Ю.А.[2], Лысенко Н.П.[1]
[1]ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

6001554@gmail.com

Настоящее исследование посвящено веществу, известному в англоязычной литературе как coumarin-525 (C-525). C-525 – это представитель обширной группы соединений, производных кумарина, представляющих собой ненасыщенные ароматические лактоны. C-525 используют в качестве лазерного красителя, а также – активатора хемилюминесценции (ХЛ). В силу того, что зачастую в ХЛ-исследованиях C-525 находится в полярном окружении фосфатного буфера , актуальной задачей является установление его оптических свойств в данной среде: положение максимума поглощения и значение коэффициента молярной экстинции (ε) в нём и ряде других длин волн.

Данная задача была решена в ходе представляемой работы. В ходе исследования нами было проведено измерение спектров оптической плотности растворов C-525 концентрационного диапазона 2,5–25 мкМ. Установлен максимум поглощения C-525 в среде фосфатного буфера, который находится на длинах волн 459–466 нм. Данное значение, в целом, сходится с указанным фирмой-производителем для этанольного раствора: 458-468 нм.

Нами также были вычислены значения коэффициентов молярной экстинкции C-525 для различных длин волн по формуле из уравнения Бугера-Ламберта-Бера. Значение ε на длинах волн максимума поглощения равно для C-525 32704 л/(моль·см). Также мы вычислили значения ε для других длин волн, необходимые для проведения спектрофотометрического анализа состава реакционной смеси, одним из компонентов которого является C-525.

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА (HELIANTHUS ANNUUS L.)

Омаров М.Р., Меркулов П.Ю., Киров И.В.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва, Россия

muradok98@gmail.com

Ретротранспозоны – это мобильные элементы, образующие новые копии в геноме через РНК-опосредованные механизмы. В процессе эволюции сложились многочисленные молекулярные механизмы, контролирующие активность ретротранспозонов. На протяжении длительного времени считалось, что транскрипция ретротранспозонов, за исключением единичных случаев, полностью подавлена в соматических клетках и проявляется лишь в ответ на стресс или в генеративных тканях. Однако, последние исследования, в которых были обнаружены полноценные транскрипты ретротранспозонов, ставят под сомнение сложившуюся парадигму. До сих пор не известно, что отличает транскрибирующиеся мобильные элементы от “молчащих”.

В данном исследовании мы провели полногеномный анализ ретротранспозонов, использовав RNA-seq данные для различных органов подсолнечника в нормальных и

стрессовых условиях. Для идентификации транскрибирующихся ретротранспозонов был разработан собственный биоинформатический алгоритм. Из 35 тысяч de novo предсказанных ретротранспозонов лишь у 50 была обнаружена ярко выраженная транскрипция в различных тканях и условиях. Биоинформатические данные были валидированы с помощью ОТ-ПЦР.

Геномный анализ транскрибирующихся ретротранспозонов подсолнечника показал существенные отчличия от транскрипционно неактивных по ряду показателей, в числе которых: длина открытых рамок считывания, расстояния до близлежащих генов, число запусков транскрипции соседних областей, а также время вставки в геном. В нашем исследовании показано, что в тканях подсолнечника экспрессируются десятки ретротранспозонов, в том числе в соматических клетках при нормальных условиях. Кроме того, был обнаружен ретротранспозон, который транскрибируется во всех изучаемых органах и условиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-2360.2019.4.

ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ГЕНА PTEN В КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Павлов В.А.[1], Серебрийский И.Г.[1,2], Власенкова Р.А.[1], Андрианов Г.В.[2], Mitchell Parker[2]

[1]Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия; [2]Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, USA

pavlvalera3301@mail.ru

Рак толстой кишки (колоректальный рак, КРР) на сегодняшний день остается одной из основных проблем здравоохранения, занимая четвертое место в структуре злокачественных новообразований в мире и второе - в России. Для правильной диагностики и выбора лечебной стратегии перспективным является установление прогностического значения мутаций в ключевых генах КРР. PTEN является геном-супрессором, потеря активности которого способствует росту опухоли многих типов рака, в том числе и КРР. Большинство имеющихся на сегодняшний день результатов по изучению мутационного профиля PTEN получены на небольшой выборке образцов или обобщенно для всех типов рака и тканей.

Для всеобъемлющего анализа мутационного профиля гена PTEN в КРР нами был собран набор данных, полученных при секвенировании 8160 образцов опухоли. Информация была из баз данных Genie, cBioPortal и ICGC, а также опубликованных статей.

Анализ частоты возникновения мутации в гене PTEN выявил зависимость от таких клинических показателей, как место образования опухоли и пол (она выше при раке толстого кишечника, чем при раке прямой кишки, и выше у женщин, чем у мужчин). Микросателлитная нестабильность (МСН) также является важным клиническим показателем при КРР; частоты мутации в гене PTEN выше в подгруппе с высокой МСН. Более того, нами была обнаружена сложная взаимосвязь между возрастом, полом, местом возникновения первичной опухоли и МСН. Так, с возрастом процент мутаций в гене PTEN при раке прямой кишки возрастает у женщин, но не у мужчин; убывает с возрастом в подгруппе с высокой, и возрастает в подгруппе с низкой микросателлитной нестабильностью. Для выявления критических для КРР мутаций в гене PTEN была использована методика обнаружения линейных и трехмерных хотспотов (3D hotspots). Мы

обнаружили девять новых хотспотов, и провели их визуализацию на структурной модели белка PTEN. Некоторые хотспоты уникальны тем, что они обнаруживаются только в сочетании с другими мутациями в гене PTEN. Мутация-хотспот R130Q наблюдается с более высокой частотой у мужчин, чем у женщин. Было обнаружено, что транкирующие мутации в определённых кодонах возникают исключительно при наличии инактивирующей мутации в гене POLE, а значительная часть других хотспотов хорошо объясняется мутационными процессами, оставляющими в геноме сигнатуры SBS1 и ID1.

Мы также установили, что PTEN достоверно чаще мутирован совместно с генами KRAS, SMAD4, и PIK3CA, но мутации PTEN являются взаимно исключающими с мутациями в гене TP53.

ВТОРИЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И ИЗМЕНЕНИЕ ВЯЗКОСТИ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ В ОТВЕТ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Пескова Н.Н.[1], Горохова А.А.[1], Шилягина Н.Ю.[1], Костюк А.Б.[1], Лермонтова С.А.[2], Клапшина Л.Г.[2], Брилкина А.А.[1], Балалаева И.В.[1]

[1]Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; [2]Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

nin-22@yandex.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - метод диагностики и лечения злокачественных новообразований, основанный на избирательном накоплении в опухолевой ткани фотосенсибилизатора (ФС), способного при локальном воздействии света с длиной волны, соответствующей его максимуму поглощения, генерировать цитотоксические агенты, вызывающие гибель опухолевых клеток. Несмотря на широкое применение, механизм фотодинамического воздействия на клетки до конца не изучен.

Целью данной работы является сопоставление характерных времен изменения вязкостных свойств клеток, накопления пероксида водорода и развития клеточной смерти при фотодинамическом воздействии.

Исследования проводились на культуре клеток эпидермоидной карциномы человека А431 и ее производных – стабильно трансфицированных клеточных линиях, экспрессирующих флуоресцентный H_2O_2-чувствительный белок HyPer в цитоплазме и митохондриях клеток. В качестве ФС в работе использовалось синтезированное в ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН соединение из класса порфиразинов – тетракис(бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин (далее Pz). Используемое соединение имеет уникальное сочетание свойств ФС и сенсора вязкости, что позволяет сопоставлять динамику ответа H_2O_2 с параметрами вязкости микроокружения в клетке.

Зарегистрирована локализация Pz в основном в ЭПР и аппарате Гольджи. Показано, что изменения вязкости, регистрируемые по времени жизни возбужденного состояния Pz, наблюдались уже через 5 мин после облучения. ФД воздействие приводило к увеличению содержания H_2O_2 как в цитоплазме, так и в митохондриях облученных клеток. Рост содержания H_2O_2 в течение сравнительно длительного времени после облучения позволяет говорить о его продукции в ходе вторичных процессов, развивающихся как следствие ФД воздействия. В цитоплазме увеличение концентрации H_2O_2 зарегистрировано на 15-20 минут позже, чем в митохондриях. Анализ клеточной гибели, индуцированной ФД воздействием, показал, что при использованных параметрах воздействия нарушение целостности плазматической мембраны наблюдается не ранее чем через 50-60 минут, что существенно позже времени наблюдаемого накопления H_2O_2.

Мы предполагаем, что первичная продукция активных форм кислорода в ходе облучения вызывает нарушение физических свойств мембран и денатурации ряда белков, что приводит к регистрируемому увеличению вязкости. Как следствие, нарушается работа электрон-транспортных цепей и белковых комплексов, ответственных за вторичную продукцию АФК, которая, в конечном итоге, может приводить к клеточной смерти.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №18-44-520010).

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОСЕНСА И ФОТОДИТАЗИНА В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Альзеибак Р.[1], Пескова Н.Н.[1], Горохова А.А.[1], Турубанова В.Д.[1], Мищенко Т.А.[1], Ведунова М.В.[1], Балалаева И.В.[1], Крысько Д.В.[1,2]

[1]Университет Лобачевского, Нижний Новгород; [2]Ghent University, Belgium; Cancer Research Institute Ghent, Belgium

razanzybak@gmail.com

Онкологические заболевания относятся к ряду наиболее значимых проблем медицины и на сегодняшний день являются одной из основных причин смертности. Общепризнанным является недостаточная эффективность методов лечения, включая хирургическое лечение, лучевую и химиотерапию и т.п. В связи с этим активно ведется разработка новых подходов и создание новых методов лечения рака, в частности, фотодинамической терапии (ФДТ).

Целью работы является определение эффективных концентраций фотосенсибилизаторов различной природы (ФС) для индукции фотодинамического ответа опухолевых клеток и анализ путей клеточной гибели.

Работа выполнена на клетках линий карциномы мочевого пузыря человека T24, эпидермоидной карциномы человека A-431, глиомы мыши GL-261 и глиомы человека U-251. В качестве фотосенсибилизаторов были использованы фотосенс и фотодитазин. Анализ скорости поступления исследуемых ФС в клетки и особенностей их субклеточной локализации выполнен методом конфокальной микроскопии с использованием флуоресцентных красителей, специфических к клеточным органеллам, таким как лизосомы, митохондрии, эндоплазматический ретикулум (ЭПР), аппарат Гольджи и ядро. Для определения темновой токсичности и фотодинамической активности была проанализирована возможность индукции гибели клеток для обеих исследуемых ФС в темноте, а также при облучении в дозе 20 Дж/см^2. Оценка цитотоксичности соединений осуществлялась с использованием МТТ-теста. С целью предварительного установления типа клеточной смерти, индуцируемой при ФДТ, был проведен ингибиторный анализ, с использованием ингибиторов, селективно блокирующих развитие апоптоза, некроптоза или ферроптоза.

Показано, что исследуемые ФС отличаются по скорости поступления и внутриклеточной локализации. Скорость интернализации фотодитазина выше по сравнению с фотосенсом. Основными местами локализации фотосенса являются лизосомы и цитоплазмы, для фотодитазина подтверждена локализация в аппарате Гольджи и ЭПР. Анализ темновой токсичности этих ФС не выявила негативного влияния на жизнеспособность культуры, тогда как облучение приводило к гибели клеток при концентрациях ФС, не превышающих ~1 мкМ для T24, A-431 и GL-261, и ~2 мкМ для U-251. Ингибиторный анализ показал вероятное участие разных типов регулируемой клеточной смерти в гибели клеток после облучения. В дальнейшем планируется более детальный анализ механизмов ответа клеток на фотодинамическое воздействие.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект 18-15-00279).

ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ СВЧ-ПЛАЗМЫ НА ВСХОЖЕСТЬ И ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕМЯН ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Помясова М.Г., Петрухина Д.И., Карпенко Е.И., Шишко В.И., Тхорик О.В.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

mariya-zelenetskaya@mail.ru

В АПК применяют нетермальную аргоновую плазму для обработки семян перед посевом, повышения их жизнеспособности, а также для защиты их от различных грибковых заболеваний.

Целью наших исследований являлось изучение влияния предпосевной обработки ярового ячменя нетермальной аргоновой СВЧ-плазмы на биометрические показатели и пораженность их болезнями.

Объектом исследования являются семена ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Владимир урожая 2018 года, которые были заражены болезнями.

Обработку семян проводили нетермальной аргоновой СВЧ-плазмой (ВНИИРАЭ). Ячмень обрабатывали в течение 30 сек, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 мин. Контрольные и обработанные группы семян проращивали в соответствии с ГОСТ 12038-84. Зараженность болезнями определяли согласно ГОСТ 12044-93 на гельминтоспориоз (*Helmintosporium sp*.), фузариоз *(Fusarium sp*.), а также грибы рода *Penicillium* и *Aspergillus*.

При оценке влияния НТП на посевные качества и морфометрические показатели ярового ячменя установлено, что длина проростков и длина корней статистически значимо не изменилась, сухая масса на 1 растение статистически значимо увеличилась на 16 % при обработке семян 30 секунд и 1 минута.

После плазменной обработки в течение 5 и 20 минут лабораторная всхожесть статистически значимо понижалась по отношению к контролю, в остальных случаях изменений не выявлено. Обнаружено, что предпосевная плазменная обработка семян не влияет на силу роста ячменя.

Установлено, что пораженность ячменя фузариозом снижалось только после обработки семян плазмой в течение 30 минут. Положительный эффект от воздействия плазмой на степень пораженности семян ячменя грибами рода *Penicillium* наблюдали после 30 сек и 25 мин обработки, а на грибы рода *Aspergillus* - после 1 мин обработки.

Распространенность фузариозной корневой гнили была ниже, чем в контроле у семян, облученных плазмой в течение 30 минут, также наблюдается понижение распространенности болезни грибов рода *Penicillium* (30 секунд и 25 минут) и рода *Aspergillus* (1 минута).

Таким образом, результаты исследований показали, что плазменная обработка не оказала стимулирующего либо угнетающего эффекта на начальные ростовые процессы семян ярового ячменя сорта Владимир. Лабораторная всхожесть ярового ячменя понижается после 5 и 20 мин воздействия, без изменения силы роста. Зараженность грибами родов *Aspergillus* и *Penicillium* у семян ярового ячменя после обработки плазмой уменьшилась в 2 раза, а зараженность патогенной микрофлорой существенно не изменялась.

УЧАСТИЕ ИЗОХИНОЛИЗИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КУМАРИНА, С-314, В КВАЗИЛИПОКСИГЕНАЗНОЙ И ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИЯХ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ КОМПЛЕКСОМ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ

Ромодин Л.А.[1,2], Владимиров Ю.А.[2], Лысенко Н.П.[1]
[1]ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

rla2904@mail.ru

Комплекс цитохрома с с кардиолипином (ЦитС-КЛ) за счёт липопероксидазной (в присутствии перекиси водорода) и квазилипоксигеназной (в её отсутствии) активности, приобретаемой указанным белком в следствие изменения конформации при образовании данной наночастицы и приводящей к разрушению мембран митохондрий и выходу в цитозоль проапоптотических факторов, играет основную роль в активации процесса запрограммированной клеточной гибели.

Свойства ЦитС-КЛ изучаются методом активированной хемилюминесценции (ХЛ). При проведении фундаментальных исследований ЦитС-КЛ необходимо использовать физический активатор ХЛ, усиливающий ХЛ за счёт перехвата электронно-возбуждённых состояний участников и продуктов реакции, а не химический, вступающий в реакции с компонентами реакционной смеси; до наших исследований производные кумарина считались физическими активаторами ХЛ, не реагирующими с компонентами смеси, в которой протекает липидная пероксидация.

Однако в ходе представляемой работы методом спектрофотометрии с последующим вычислением концентраций нами достоверно показано, что изохинолизиновое производное кумарина, известное в англоязычной литературе как coumarin-314 (C-314), в течение первых ≈5 минут квазилипоксигеназной реакции расходуется на 6,49% и на 69,59% расходуется в течение ≈5 минут липопероксидазной. Время, равное ≈5 минутам, нами выбрано в силу того, что в большинстве работ именно столько длится опыт по изучению быстрой кинетики ХЛ.

На основании приведённых данных нами был сделан вывод о том, что С-314 является субстратом катализируемых ЦитС-КЛ реакций. Это делает необходимым в дальнейших исследованиях ЦитС-КЛ корректировать поправочными коэффициентами результаты ХЛ-измерений при использовании С-314 для того, чтобы откорректированная ХЛ-кривая в полной мере отражала реальную интенсивность образования свободных радикалов в изучаемой системе.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТА ОПУХОЛЕВЫХ СФЕРОИДОВ В 3D МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНОВОГО ГЕЛЯ

Сенча Л.М., Соколова Е.А., Добрынина О.Е., Брилкина А.А., Черкасова Е.И., Балалаева И.В.
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

luda-sencha@mail.ru

В экспериментальной онкологии существует постоянная потребность в улучшении исследовательских моделей, воспроизводящих свойства реальных опухолей. Существующие 2D модели опухолевого роста in vitro не воспроизводят сложную архитектуру тканей, а также взаимодействия клетка-матрикс, влияющие на экспрессию генов, синтез белков, пролиферацию и дифференцировку клеток. Трехмерные модели

обладают очевидным преимуществом, имитируя сложные взаимодействия в естественной среде, что делает их более подходящими моделями для прогнозирования ответа опухолевых клеток на действие различных противораковых соединений.

Целью данной работы являлось получение опухолевых сфероидов в матриксе на основе коллагена, а также исследование скорости роста и морфологии клеток в данной 3D модели. Исследование проводили на двух линиях опухолевых клеток человека – аденокарциноме молочной железы SKBR-3 и эпидермоидной карциноме А-431.

При создании 3D-культуры клеток использовали раствор коллагена I типа. В лунку планшета помещали раствор коллагена, суспензию опухолевых клеток и смеси, необходимые для культивирования и дальнейшей полимеризации геля. Для качественного контроля формирования опухолевых сфероидов и их роста производили микроскопическую съемку образцов геля каждые 24 часа. Также были получены гистологические препараты коллагеновых гелей с окраской гематоксилин-эозином. Для количественного контроля роста сфероидов подсчитывали число клеток, выделенных из геля после его деструкции, и определяли их жизнеспособность. Кроме этого, измеряли содержание тотальной ДНК в гелях.

В ходе исследования показано, что после заключения клеток в гель и их последующего деления наблюдается образование трехмерных агрегатов, или сфероидов. Клетки линии А-431 сохраняют жизнеспособность, активно пролиферируют и формируют вытянутые клеточные тяжи на протяжении эксперимента (9 дней). Показана незначительная контракция гелей по мере развития культуры. Динамика общего содержания клеток в геле демонстрирует увеличение количества клеток для данной линии, что согласуется с результатами содержания тотальной ДНК. Для клеток линии SKBR-3 после встраивания клеток в гель характерна остановка роста и постепенное снижение количества клеток. Таким образом, в ходе работы были получены опухолевые сфероиды в матриксе на основе коллагена и зафиксирован рост клеток линии А-431 в данной системе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-20168).

ВЛИЯНИЕ ПЕНТАМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА С60 НА МИШЕНИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Солдатова Ю.В.[1], Жиленков А.В.[1], Арешидзе Д.А.[1,2], Трошин П.А.[1], Файнгольд И.И.[1], Полетаева Д.А.[1], Котельникова Р.А.[1]

[1]Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия; [2]Московский государственный областной университет

soldatovayv@gmail.com

Сахарный диабет – это глобальная проблема здравоохранения 21 века. В мире около 425 млн. человек с сахарным диабетом по оценке Международной Федерации Диабета. При этом около 90% пациентов имеют сахарный диабет 2 типа (СД2) - гетерогенное метаболическое нарушение, характеризующееся гипергликемией, инсулинорезистентностью и развитием диабетических осложнений. Одними из основных факторов патогенеза диабетических осложнений, диабетом являются свободнорадикальное окисление, усиление гликирования белка и интенсификация полиольного пути метаболизма глюкозы.

В работе исследовали влияние ряда пентааминокислотных производных фуллерена C_{60} (ППФ) на мишени СД2 *in vitro*: процессы перекисного окисления липидов и

гликирования белков, ферменты полиольного пути метаболизма глюкозы альдозоредуктазу (АР) и сорбитолдегидрогеназу (СДГ).

Было обнаружено, что все исследуемые соединения обладают выраженной антиоксидантной активностью. Максимальные антиоксидантные свойства проявили соединения ППФ-I, -VI и -VII. Показана способность пентааминокислотных производных фуллерена C_{60} ингибировать каталитическую активность ферментов полиольного пути метаболизма глюкозы. ППФ-I, - II, - III, -V и -VII в концентрации 10^{-4} М ингибируют активность АР. Наиболее эффективными ингибиторами являются ППФ-I и ППФ-VII. Показано, что ППФ-I неконкурентно ингибирует АР с $Ki=8{,}47\cdot10^{-5}$ М, а ППФ-VII является конкурентным ингибитором АР с $Ki=1{,}53\cdot10^{-5}$ М. Каталитическую активность СДГ ингибируют ППФ-I, -IV и –VII. Показано, что ППФ-VII конкурентно ингибирует активность СДГ с $Ki=2{,}92\cdot10^{-5}$ М. Установлено, что исследуемые ППФ обладают антигликирующей активностью *in vitro*. Наиболее эффективными являются ППФ-I и -VII с IC_{50} = 30,0 и 15,8 мкМ соответственно.

Действие ППФ-VII, проявившего максимальную активность, исследовали in vivo на крысах с СД2, индуцируемым сочетанием высокожировой диеты с инъекцией стрептозотоцина. Было показано, что терапия ППФ-VII крыс с модельным СД2 и устойчивой гипергликемией приводит к нормализации комплекса морфофункциональных показателей (уровень глюкозы крови, морфофункциональное состояние печени и поджелудочной железы), что свидетельствует о его выраженном антидиабетическом действии при индуцированной патологии.

Полученные в работе данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования пентааминокислотных производных фуллерена C_{60} как потенциальных препаратов для терапии СД2 и его осложнений.

Работа выполнена по теме госзадания № 0089–2019–0014 и программы Президиума РАН П-13 «Основы высоких технологий и использование особенностей наноструктур в науках о природе».

НАНОКАПСУЛА ЦЕОЛИТА

Степанова Т.А.[1], Панаит А.И.[1], ГулинА.А.[2,3], Погорелова М.А.[1]

[1]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;
[2]ФГБУН ФИЦ Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия;
[3]Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

taisiya94@mail.ua

Наиболее часто применяемым способом введения биологически активных соединений в организм является их потребление через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Тем не менее, эффект препарата может значительно снижаться под действием кислотности и гастро-энтеральных ферментов. Для сохранения специфических свойств в условиях агрессивной среды ЖКТ, вводимые вещества преобразуют в суспензию или коллоид наночастиц.

В качестве перспективных материалов для создания наноконтейнера рассматривают неорганические вещества, в том числе и цеолит. Чаще всего в биомедицинских целях используют природный цеолит типа клиноптилолит.

Для использования в ЖКТ к наноконтейнерам предъявляют требования сродства со слизистым слоем, покрывающим эпителий. Обеспечить биосовместимость может помочь покрытие поверхности частицы фосфолипидом типа фосфатидилхолин, который является основным компонентом клеточной мембраны. Кроме того, такое покрытие может

защитить активное вещество от кислой среды желудка и создаст условия для его постепенного выделения из наночастицы. Таким образом мы рассматриваем конструкция из цеолита и фосфотидилхолина перспективной композицией для получения нанокапсулы.

Нами была разработана технология получения наночастиц клиноптилолита, состоящая из следующих этапов. Коммерческий препарат «Литовит М» измельчали на планетарной мельнице, после тщательно растирали в фарфоровой ступке при комнатной температуре, а затем при температуре -30ºС в агатовой ступке и нагревали полученную пудру в вакуумной камере до комнатной температуры. Размер частиц анализировали методом сканирующей электронной микроскопии.

Для получения раствора фосфатидилхолина использовали пищевую добавку «Лецитин соевый». Препарат размешивали с этиловым спиртом до состояния однородной суспензии и проводили экстракцию при комнатной температуре в течение суток. Нерастворенный компонент отделяли центрифугированием, а полученный маточный спиртованный экстракт хранили при 4ºС в темноте.

Наносили фосфатидилхолин на поверхность наночастицы в следующем порядке. Порцию наночастиц инкубировали в рабочем растворе фосфотидилхолина при комнатной температуре, тщательно перемешивая постоянным горизонтальным встряхиванием, и центрифугировали полученную суспензию.

Работу проводили в рамках ГЗ ИТЭБ РАН № 075-00845-20-00. В части развития подходов сканирующей электронной микроскопии исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 17-76-20014).

АНАЛИЗ КЛАСТЕРОВ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА МЕТАБОЛИТОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ

Тотиков А.А., Томаровский А.А.
ФГОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

a.totickov@mail.ru

На сегодняшний день в качестве перспективного решения проблемы преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов рассматривают поиск и создание новых антибиотиков. Это происходит путем определения видов бактерий, продуцирующих ранее неизвестные антибиотические соединения с выраженной бактериостатической и/или бактерицидной активностью.

В качестве объектов исследования были взяты из открытых источников сырые данные полногеномного секвенирования 5 бактерий. Для каждого из 5 геномов подбирались определенные параметры Trimmomatic, руководствуясь различным качеством данных каждого генома и степенью их загрязненности, основываясь на оценках качества данных FastQC. Сборка геномов проводилась с помощью программы SPAdes. Аннотации были получены с использованием QUAST. С помощью онлайн платформы antiSMASH, было выявлено 128 неизвестных типов кластеров генов. Функционально идентифицированы 34 кластера генов.

Ниже приведены краткие результаты исследования. *Bacillus subtilis*. Сборка генома имеет общую длину 2.130.459 н.п., количество G/C составляет 43% от общей сборки. Найдено 18 неизвестных кластеров. Идентифицированные кластеры генов – 4, из них: кластеры генов биосинтеза Цвиттермицина А на 18%, Цитруллина на 18%, Тейчуроновой кислоты на 100%, Бацилизина на 100%.

Klebsiella pneumoniae. Сборка генома имеет общую длину 3.074.116 н.п., G/C - 64%. Найдено 27 неизвестных кластеров. Идентифицированные кластеры генов – 5, из них:

кластеры генов биосинтеза Липосахаридов на 11%, Альгината на 80%, Лизобактина на 2%, Сварицина на 6%, Полисахарида В на 6%.

Pseudomonas koreensis. Сборка генома имеет общую длину 2.709.701 н.п., G/C - 60%. Найдено 25 неизвестных кластеров. Идентифицированные кластеры генов – 9, из них: кластеры генов биосинтеза Альгината на 80%, Sch47554 / Sch4755 на 3%, Полисахарида В на 6%, Псевдопиронина А и В на 37%, Липополисахарида на 36%.

Serratia marcescens. Сборка генома имеет общую длину 1.934.301 н.п., G/C - 55%. Найдено 31 неизвестных кластеров. Идентифицированные кластеры генов – 10, из них: кластеры генов биосинтеза O/K-антигена на 3%, Паерукумарина на 40%, PM100117/PM100118 на 21%, Полисахарида В на 6%, Такселлайда на 33%, Липополисахарида на 60%, Капсульного полисахарида на 40%, Маринакарболина на 15%, Тернербактина на 38% и Бацилломуцина на 30%.

Aeromonas hydrophila. Сборка генома имеет общую длину 3.336.876 н.п., G/C - 59%. Найдено 27 неизвестных кластеров. Идентифицированные кластеры генов – 6, из них: кластер генов биосинтеза О-антигена на 21%, Липополисахарида на 11%, Альгината на 80%, Полисахарида В на 6%, Лизобактина на 2%, Сварицин на 6%.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ НАНОХИРУРГИИ ДЛЯ ЭНУКЛЕАЦИИ ООЦИТОВ

Точило У.А., Мартиросян Д.Ю., Осыченко А.А., Залесский А.Д., Надточенко В.А.

ФГБУН ФИЦ ХФ, Москва, Россия

yanulyana@gmail.com

Сегодня непреклонно возрастает спрос на модельные объекты для фундаментальных, биотехнологических или фармацевтических исследований. Однако животные, с необходимыми ученым признаками, зачастую не имеют возможности размножаться. С развитием методов биоинженерии стало возможно клонирование животных, с нужными полезными признаками.

Традиционно для работы с ооцитами и эмбрионами млекопитающих применяют механические манипуляторы. Собственно, для клонирования проводятся две основные операции: энуклеация – удаление собственной ДНК ооцита, и внесение донорского ядра (обычно с помощью электрослияния). Энуклеация традиционным способом влечет за собой как механическое повреждение оболочки ооцита, так и потерю некоторой части цитоплазмы, окружающей хромосомы.

Методика неинвазивной энуклеации с помощью остросфокусированного фемтосекундного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона позволяет получать рецепиентный цитопласт с минимальным повреждением ооцита. Его можно использовать для трансплантации донорского ядра и последующего клонирования. Малоинвазивность разработанной процедуры подтверждается последующей партеногенетической активацией и сравнением развития с контрольной группой.

Фемтосекундное лазерное излучение ближнего инфракрасного диапазона (650-1350 нм) попадает в «окно прозрачности» биологических объектов. Его поглощение может быть обусловлено нелинейно-оптическими эффектами. Особенно отчетливо они проявляются при высоких интенсивностях светового пучка, потому фемтосекундные лазеры отлично подходят для проведения нанохирургических операций. За счет короткой длительности импульса, даже при низкой его энергии достигается необходимая высокая интенсивность.

Главным фактором в работе по энуклеации ооцитов является точность и отсутствие повреждений за пределами области воздействия. При использовании в работе объективов с высокой числовой апертурой (NA = 0.7) можно достичь высокого разрешения с размером фокального пятна порядка 1,5 мкм. Максимальная интенсивность излучения оказывается в середине пучка, так что реальная область воздействия еще меньше, чем размер фокального пятна и оценивается в 500 нм. Поглощение за пределами фокальной области пренебрежимо мало и может не учитываться. Такая точность позволяет проводить субмикронные операция без нагрева и последующего повреждения объекта, за пределами области воздействия.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-53-52007 МНТ_а.

ОБЗОР МИРОВОГО ОПЫТА ПО ОЦЕНКЕ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ОХЛАЖДЕННОЙ МЯСНОЙ И РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРОШЕДШЕЙ ОБРАБОТКУ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ, МЕТОДОМ ЭПР-СПЕКТРОМЕТРИИ

Тхорик О.В., Помясова М.Г., Карпенко Е.И.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

oxana.tkhorik@gmail.com

В настоящее время крайне остро стоит вопрос об установлении факта радиационной обработки различных продуктов питания. Одним из способов решения данной проблемы является метод ЭПР-спектрометрии.

Целью данной работы является рассмотрение мирового опыта по анализу радиационно-обработанной охлажденной мясной и рыбной продукции методом ЭПР-спектрометрии. При анализе ЭПР-спектров особое значение уделялось амплитуде, ширине и площади пика, а также значению параметра отношение сигнал/шум.

Метод ЭПР-спектрометрии заключается в следующем: после обработки объекта ионизирующим излучением в нем образуются свободные радикалы, каждый из которых обладает своим собственным магнитным моментом. В результате воздействия на объект переменным магнитным полем наблюдается эффект Зеемана, приводящий к локальному энерговыделению, которое регистрируется и отображается в виде ЭПР-спектра.

В подавляющем числе научных работ, исследования проводились при сравнении не облученной и облученной известной дозой продукции (до 12 кГр). Зачастую такие работы являются начальным этапом исследований и служат для наработки базы данных ЭПР-спектров (Desrosiers M.F. et al 1994). В этих и других работах можно наблюдать линейную зависимость амплитуды полученного ЭПР-сигнала от дозы облучения, а также обратную зависимость ширины пика от дозы облучения. Также наблюдается увеличение отношения сигнал/шум (в среднем на 5 %), что позволяет упростить процесс идентификации облученной продукции.

Анализируя опыт отечественных и зарубежных коллег можно сделать вывод о том, что метод ЭПР-спектрометрии наиболее эффективен при анализе образцов костной ткани (для мясной продукции (говядины) показатели амплитуды выше в 3,4 раза, площади в 2,3 раза, а показатели ширины сужены на 42 % в сравнении с образцами мягких тканей) и кожи с чешуей (для рыбной продукции показатели амплитуды выше на 32 %, площади на 8%, а показатели ширины сужены на 12 % в сравнении с контрольными образцами) (Тимакова Р.Т., 2018 г.).

Помимо всего прочего встречаются научные работы, в которых в качестве объекта исследований используют мясную и рыбную продукцию, специально приобретённую в отечественных магазинах (Тимакова Р.Т., 2019 г.; Pegg R.B. et al 1996). Такие исследования необходимы для установления факта радиационной обработки пищевой

продукции, путем сравнения полученных ЭПР-спектров с уже имеющимися в базе данных наработками. По результатам большинства рассмотренных работ можно сделать вывод о том, что мясная и рыбная продукция, представленная на прилавках отечественных магазинов, не подвергалась воздействию ионизирующего излучения.

ГЕНЕРАЦИЯ ОТВЕТОВ ВКУСОВЫМИ КЛЕТКАМИ ТИПА II

Фадеев П.Ю., Рогачевская О.А.
ФИЦ ПНЦБИ ИБК РАН, Пущино, Россия

markizzthecat@gmail.com

Вкусовые клетки типа II - основные хемосенсорные клетки вкусовой почки - распознают горькое, сладкое и аминокислоты. Современная концепция вкусовой трансдукции предполагает такую последовательность: активированный вкусовым стимулом T1/T2 рецептор стимулирует фосфолипазу PLCß2, которая гидролизует фосфолипид PIP2 до двух вторичных медиаторов IP3 и DAG. IP3 активирует IP3 рецепторы, инициируя выброс депонированного Ca^{2+} с последующей активацией Ca^{2+}-зависимых катионных каналов TRPM5, генерацией потенциалов действия, открытием потенциал-зависимых каналов CALHM1 и выбросом АТФ (неканонический механизм нейропередачи). Согласно этому, ключевое событие - выход Ca^{2+} из Ca^{2+}-депо, однако, внутриклеточные Ca^{2+}-сигналы могут генерироваться и за счет входа наружного Ca^{2+}. Так, в сенсорных нейронах вомероназального органа GPCR рецепторы феромонов сопряжены с PLCβ2, и в процессе трансдукции происходит и IP3-зависимый выброс депонированного Ca^{2+} и DAG-зависимый вход наружного Ca^{2+} через DAG-активируемые каналы TRPC2. Необходимость такого дуализма может быть обусловлена тем, что рецепторная система и фосфоинозитидный каскад локализованы в микровиллях, заполненных микротрубочками, не оставляющими места для Ca^{2+}-депо, и первоначальное повышение внутриклеточного Ca^{2+} в микровиллях связано со входом Ca^{2+} извне и затем в клетке подхватывается и усиливается выходом Ca^{2+} из депо.

Мы предполагаем, что во вкусовых клетках типа II, микровилли которых сходны на ультраструктурном уровне с таковыми сенсорных нейронов, ключевую роль в трансдукции вкусового сигнала так же играет вход Ca^{2+} извне через Ca^{2+}-проницаемые каналы. Исследование проводилось на вкусовых клетках типа II (n=57) с использованием метода patch-clamp. Аппликация смеси горьких стимулов (SOA+PTC) вызывала возникновение тока через мембрану амплитудой до 50пА. Далее аппликировался OAG - проникающий аналог DAG. Величина OAG – зависимых токов достигала 30 пА. Из вкусовых клеток, генерировавших входящие токи в ответ на аппликацию горьких стимулов (n=36), большинство также ответили и на OAG (n=29).

Наличие токовых ответов на OAG, сходных по профилю и кинетике с ответами на вкусовой стимул, говорит об участии DAG во вкусовой трансдукции и функционировании на апикальной поверхности вкусовых клеток II типа DAG-активируемого Ca^{2+}-канала из семейства TRPC.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 2020-04-01035.

ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ДИСТАНЦИОННОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА СОСТОЯНИЕМ ПЛОДА ВО ВТОРОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Черкашина Л.А.[1,2], Минаев И.С.[2], Минаев Н.С.[2], Казанцев А.П.[1,2]

[1]ФГБОУВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; [2]ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пущино, Россия

anarore-kriptih@yandex.ru

Для борьбы с перинатальной смертностью и заболеваемостью необходимо организовать систему массового мониторинга, который позволил бы проводить диагностику заболеваний на самых ранних стадиях. Такая система может быть построена на основе фетальных мониторов, недорогих и лёгких в обращении.

Состояние здоровья плода можно оценить по его кровяному давлению, которое по уравнению Бернулли связано со скоростью тока крови. В частности можно наблюдать отношение скоростей потоков крови через атриовентрикулярные клапаны в раннюю и позднюю диастолу. Это наблюдение осуществляется зондированием сердца ультразвуком с помощью эффекта Доплера.

Получаемый сигнал с выхода монитора проходит чирплет-разложение и преобразуется в двухполярный профиль, где каждый элементарный компонент представляет собой условную каплю крови со своей скоростью и площадью отражения. Для определения диастолического отношения необходимо найти фазы ранней и поздней диастолы в сердечном цикле.

Предложен способ определения поздней диастолы на основе системы нечёткой логики. Человек-учитель отмечает импульсы поздней диастолы на сонографическом сигнале. Для сглаженного двухполярного профиля соответствующего участка находится вторая производная, на которой отмечаются фронты и спады оригинальной кривой. Так формируются картины импульсов и пауз, характерных для поздней диастолы. На основе этих данных человеком-учителем строится нечёткая логика, способная далее самостоятельно определять является ли представленный набор импульсов и пауз относящимся к поздней диастоле. На основании знаний процессов сердечного цикла и их временных характеристик, можно найти раннюю диастолу сердечного цикла. Далее осуществляется перебор и сравнение элементарных компонентов на определённых участках для определения диастолического отношения. Проверка метода на данных от двух пациенток даёт положительную предварительную оценку.

Результаты:

1. Предложен метод определения диастолического отношения в сердце плода.
2. Найденные предложенным методом отношения сравнимы с результатами, полученными контрольным методом.

Развитие предлагаемого подхода и системы нечёткой логики позволит точно и без участия человека наблюдать диастолическое отношение сердца плода. Это доказывает реализуемость и перспективность домашнего мониторирования беременности на ранних сроках. Такая система окажет большое влияние на предупреждение заболеваний плода и осложнения беременности в соответствии с парадигмой превентивной медицины.

ВЛИЯНИЕ ПОКРЫТИЯ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ АЛЬБУМИНОМ НА ФОРМИРОВАНИЕ БЕЛКОВОЙ КОРОНЫ

Шанвар С.[1], Лианг Л.[2], Гурьев Е. Л.[1], Аксёнова Д.[1], Звягин А. В.[1,2]

[1]ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; [2]Университет Маккуори, Сидней, Австралия

samahshanwar@gmail.com

Изучение возможности применения наночастиц в качестве тераностических агентов в настоящее время является активно развивающимся направлением биомедицины. Антистоксовые нанофосфоры (НАФ), впервые описанные в 1990-х годах, помимо нанометрового размера и биосовместимости, обладают рядом уникальных оптических свойств. За короткое время они стали наиболее часто используемыми среди наночастиц для тераностических применений. Синтезированные НАФ проявляют липофильные свойства и могут приобретать гидрофильность с помощью методов обмена лигандов и полимерного покрытия. Тенденция НАФ к агрегации делает их нестабильными в коллоидных растворах и затрудняет их применение. Покрытие НАФ оболочкой из альбумина способствует их стабилизации в растворе. В отличие от многих полимеров, альбумин биосовместим, биоразлагаем и способен к длительной циркуляции в кровотоке. Альбумин адсорбируется на поверхности наночастиц с помощью ковалентных и электростатических связей, он способен формировать жесткую белковую корону, прочно связанную с поверхностью наночастиц. Инкубация НАФ с определённой концентрацией альбумина и последующая лиофилизаця позволяет избежать агрегации и осаждения частиц и представляется оптимальным подходом к покрытию частиц оболочкой.

Целью данной работы было исследование коллоидной стабильности положительно заряженных НАФ, покрытых тетрафторборатом нитрозония ($NOBF_4$), и лиофилизированных НАФ, покрытых денатурированным бычьим сывороточным альбумином (дБСА).

НАФ инкубировали с дБСА в подобранной оптимальной концентрации (10 мкМ), затем лиофилизировали и ресуспендировали в деионизированной воде, фосфатно-солевом буфере (PBS) и средах для культивирования клеток (DMEM, RPMI и McCoy's 5A). дБСА-НАФ сохраняли коллоидную стабильность во всех буферах с тенденцией к агрегации в бессывороточных средах. В то же время, в присутствии сывороточных белков стабильность дБСА-НАФ сохранялась и средний размер частиц (~129 нм) лишь незначительно увеличился по сравнению с дБСА-НАФ в воде и PBS (~107 нм), что свидетельствует о снижении адсорбции белка на их поверхности по сравнению с НАФ.

Полученные данные показывают, что лиофилизация НАФ, покрытых дБСА, позволяет добиться их коллоидной стабильности как в отсутствии, так и в присутствии сывороточных белков. Применение описанного подхода к покрытию оболочкой из дБСА позволяет в будущем рассчитывать на их применение в качестве тераностических агентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение RFMEFI58418X0033) и РФФИ (18-29-01055 мк).

РАЗРУШЕНИЕ ЦИТОХРОМА С В ХОДЕ КАТАЛИЗИРУЕМОЙ ИМ РЕАКЦИИ ПЕРОКСИДАЦИИ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ

Шангин С.В.[1], Ромодин Л.А.[1,2], Байматов В.Н.[1], Храмов А.П.[1]

[1]ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; [2]ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

stas19982010@gmail.com

Митохондриальная фосфатидная кислота (ФК) является основой для биосинтеза кардиолипина, содержащего две фосфатидильные группы, связанных молекулой глицерина. Комплекс цитохрома с с кардиолипином, обладающий липопероксидазной активностью, может приводить к разрушению мембран митохондрий и развитию апоптоза.

В произведённых ранее исследованиях было определено высокое сродство фосфатидной кислоты к цитохрому с. Природный кардиолипин и его производные содержат продукты пероксидации, и при добавлении цитохрома с к суспензии происходит быстрое окисление полиненасыщенных жирных кислот и частичное разрушение самого белка. В ходе эксперимента изучалась степень разрушения цитохрома с для проб, содержащей и не содержащей ФК, в присутствии синтетического тетраолеилкардиолипин (ТОКЛ) – соединения, устойчивого к липопероксидации.

В процессе исследования мы регистрировали спектр оптической плотности для двух смесей, растворённых в 20 мМ фосфатном буфере. Первая проба содержала 10 мкМ цитохром с, 300 мкМ тетраолеилкардиолипин, 25 мкМ coumarin-525, 215 мкМ H_2O_2, вторая – то же с добавлением к ней 600 мкМ ФК. Таким образом, полноценная настоящая липопероксидазная реакция проходила лишь во второй пробе, содержащей окисляемый липидный субстрат.

Получив значения оптической плотности и проведя вычисление концентрации на основании уравнения из закона Бугера-Ламберта-Бера для смеси веществ было обнаружено снижение концентрации цитохрома с в пробе с содержащейся ФК на 12,34% за первые 280 секунд реакции. В пробе, не содержащей ФК, в первые 270 секунд реакции концентрация цитохрома с уменьшилась всего на 0,35%.

Таким образом, ещё раз экспериментально показано, что цитохром с разрушается в ходе катализируемой им липопероксидазной реакции, что подтверждает данные авторов. Это саморазрушение при осуществлении проапоптотическойе функции можно расценивать как проявление механизма защиты клетки от запуска программы апоптоза.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕТЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ МИКОТОКСИНОВ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ

Шишко В.И., Помясова М.Г.
ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

valentine585@yandex.ru

Микотоксины представляют собой группу встречающихся в природе токсичных химических веществ, вырабатываемых различными видами грибов, которые могут вызывать болезни или даже смерть из-за их токсигенных, канцерогенных, мутагенных и тератогенных эффектов. Хотя более 400 видов, как известно, оказывают токсическое воздействие на человека при приеме внутрь вместе с загрязненной пищей, микотоксины, такие как афлатоксины, охратоксины, зераленон, трихотецены и фумонизины являются основными микотоксинами, влияющими на здоровье населения и сельское хозяйство, за счёт болезней, которые они вызывают (D.Milicevic et al 2015). Одним из видов устранения или блокировки их активности в пище и кормах, является плазменная обработка.

В зависимости от условий генерации плазму можно разделить на низкое, атмосферное или высокое давление, а также разделить на тепловую и нетепловую плазму (P.Bourke et al 2017). На примере (L.Bosc et al 2017), мы можем наблюдать эффективность применения cold atmospheric pressure plasma (CAPP, холодная плазма атмосферного давления). Использовались дезоксиниваленол, зеараленон, энниатины, фумонизин B1 и T-2 токсин, продуцируемый *Fusarium spp.*, стеригматоцистин, продуцируемый *Aspergillus spp*. и AAL токсин, продуцируемый *Alternaria alternata*. Все микотоксины, подвергшиеся действию CAPP, почти полностью разрушались в течение 60 с. Степень уничтожения варьировалась в зависимости от структуры микотоксинов. В исследовании (B.J.Park et al 2017) рассматривали уже влияние нетермальной СВЧ аргоновой плазмы при атмосферном давлении. После обработки данной плазмой остатки микотоксинов анализировали с помощью тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Анализ показал, что афлатоксин B1, дезоксиниваленол были полностью удалены после 5 секунд обработки плазмой. Эффективность обработки High Voltage Atmospheric Cold Plasma (HVACP, высоковольтная атмосферная холодная плазма) на кукурузе, заражённой афлатоксином описано в (Hu Shi et al 2017). Токсин был разложен на 62% и 82% за 1 и 10 минут после обработки, при относительной влажности воздуха 40%.

При анализе работ, по данной тематике, особое значение уделялось времени обработки, продукции нетермальной плазмой, а также микотоксинам, которыми были заражены сельскохозяйственные продукты. По результатам рассмотренных работ можно сделать вывод о том, что плазменная обработка может не только разрушать микотоксины в загрязненных пищевых продуктах, но и стерилизовать микроорганизмы, как источник микотоксинов.

АНАЛИЗ АЛЛОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ *HELICHRYSUM ARENARIUM* В УСЛОВИЯХ ПРЕДГОРНОЙ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ КРЫМА

Абдуллина Р.Х., Тимофеева О.А.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

rayaabd@yandex.ru

Варьирование морфологических параметров растений наблюдается не только в пределах одной популяции, а также при сопоставлении особей разных ценопопуляций. При сборе в одно и то же время в разных ценопопуляциях встречаются растения с разными морфологическими характеристиками.

Цель исследования – выявление аллометрических параметров для определения оптимальных условий произрастания для сбора лекарственного растительного сырья. Были проанализированы такие аллометрические показатели, как фотосинтетическое усилие и репродуктивное усилие соцветий и семян.

Объектом исследования было выбрано лекарственное растение цмин песчаный (*Helichrysum arenarium* (L.) Moehch). Поскольку на территории Республики Татарстан этот вид включен в Красную книгу РТ, были проанализированы популяции из естественного местообитания в предгорно-лесостепной зоне Крыма. Сравнивали растения из трех популяций: № 1 – в лесопарковой зоне в окрестностях г. Симферополь, который расположен в средней части предгорья Крыма (330 м над уровнем моря, среднее количество осадков – 450–500 мм); на территории памятника природы регионального значения Бакла: № 2 – на вершине в открытом солнечном участке (472 м над уровнем моря), № 3 – у подножья горы под пологом древесных растений (290 м над уровнем моря) со средним количеством осадков 500–600 мм.

Для дальнейшего морфологического анализа были собраны 30 генеративных растений. Качественная оценка показала, что при сборе материала семена в популяции № 3 не были сформированы, что в дальнейшем подтвердил количественный анализ генеративных органов.

В популяции № 1 показатель фотосинтетического усилия (LWR = W_L/W) был высоким (0,57 г/г), низкое значение – в популяции № 2 (0,38 г/г). Репродуктивное усилие семян ($RE_{III} = N_{Sm}/W$) в популяции № 3 было равно нулю, так как соцветия были на стадии бутонизации, в то же время значение репродуктивного усилия соцветий ($RE_I = (W_G/W)$) было самой высокой (0.29%). Также самый высокий показатель репродуктивного усилия семян был в популяции № 1 – 11,71 шт/г; самый низкий показатель репродуктивного усилия соцветий – 0,16% – в популяции № 2.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что при необходимости быстрого получения семенного материала цмин песчаный лучше культивировать в открытых участках с умеренным количеством влаги. Если требуется получение лекарственного растительного сырья – цветочных корзинок (*Flores Helichrysi arenarii)*, то целесообразно культивировать цмин в условиях средней влажности и при защите от сильных солнечных лучей.

ПОИСК НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С АНТИМИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ В ГЕМОЛИМФЕ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД ВИДА *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS*

Аксенов-Грибанов Д.В., Золотовская Е.Д., Дроздова П.Б., Назарова А.А., Переляева Е.В., Тимофеев М.А.

ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

denis.axengri@gmail.com

Биологически активные вещества, содержащиеся в гемолимфе беспозвоночных, являются важной частью врожденного иммунитета. Такие соединения как антимикробные пептиды выполняют защитные функции, связываясь с мембранами патогенов и приводя к их гибели. Кроме того, антимикробные пептиды могут выступать в качестве альтернативных лекарственных средств против бактерий, устойчивых к современным антибиотикам. На сегодняшний день антимикробные свойства гемолимфы байкальских эндемичных ракообразных остаются не изученными.

В связи с этим, целью исследования был поиск низкомолекулярных природных соединений с антимикробными свойствами в гемолимфе байкальских амфипод вида *Eulimnogammarus verrucosus*.

Отлов амфипод проводили в прибрежной зоне озера Байкал в районе пос. Листвянка. Акклимацию ракообразных осуществляли в аэрируемых аквариумах при температуре 6 С° в течение 4 суток.

На первом этапе работ определяли антимикробную активность гемолимфы с использованием диско-диффузионного метода в отношении бактериальных и грибковых тест-культур. Обнаружена активность против грамотрицательных бактерий вида *Escherichia coli* и микроскопических грибов вида *Saccharomyces cerevisiae*.

Для определения локализации антимикробных пептидов, проводили разделение гемолимфы на фракции гемоцитов и плазмы. Белки обоих фракций разделяли методом одномерного электрофореза в полиакриламидном геле. Три белка из фракции гемоцитов массой меньше 17 кДа исследовали с использованием метода масс-спектрометрии. Идентификацию белков проводили на основе базы данных транскриптома *E. verrucosus*. В ходе данных работ обнаружена нуклеотидная последовательность, являющаяся потенциальным антимикробным пептидом.

Таким образом, показано, что гемолимфа амфипод *E. verrucosus* обладает антибактериальным и фунгицидным эффектом. Данный эффект проявляется за счет присутствия эндогенных антимикробных пептидов в гемолимфе ракообразных.

Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ» и при финансовой поддержке гранта РНФ № 18-74-00018.

БИОИНДИКАЦИЯ УРБАНОЗЕМОВ Г. УЖГОРОДА ПРИ ИНТЕНСИВНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫБРОСОВ АВТОТРАНСПОРТА

Боднарюк Р.Н., Вакерич М.М., Гасинец Я.С.
Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина

mykhailo.vakerich@uzhnu.edu.ua

Почва – это особое природное формирование, которое имеет чрезвычайное значение в наземных экосистемах. В городских условиях формируются особые искусственно созданные почвы – урбаноземы. Поскольку загрязнения почв в городах связано преимущественно с выбросами автотранспорта, целью работы была оценка их фитотоксичности вдоль автодорог г. Ужгорода (Украина).

Метод биоиндикации основан на реакции тест-культуры и позволяет определить суммарное токсическое воздействие ксенобиотиков. Семена тест-культуры, озимой пшеницы сорта Подолянка, сеяли в вегетационные сосуды, заполненные исследуемыми образцами почвы. Для проведения анализа отбирали почву вблизи наиболее загруженных автотранспортом улиц г. Ужгорода: Собранецкая, Минайская, Заньковецкой, пр. Свободы, а также с участка, отдаленого от автодорог (на территории ботанического сада Ужгородского национального университета). В качестве контроля для проращивания семян использовали почвосмесь универсальную «Экофлора». Исследовали некоторые ростовые показатели и фитотоксический эффект почвы. В качестве тест-культуры использовали озимую пшеницу сорта Подолянка. Опыт проводили на светловых стеллажах при поддержке постоянной влажности почвы. Определение ростовых показателей проводили на десятый день с момента посева семян. Повторяемость экспериментов трехкратная. Анализ биотоксичности почв осуществляли за методикой «ростовой тест».

Всхожесть и ростовые показатели тест-культуры отражают общее воздействие урбогрунтов на онтогенетическое развитие исследуемых растений. Анализируя такие морфометрические параметры исследуемой культуры, как сырая масса десятидневных простков, длина корня и побега, отмечаем достоверное уменьшение их значения в сравнении с контрольным вариантом.Данные наблюдений и их анализ свидетельствуют о достоверном угнетении токсикантами исследуемых почв ростовых процессов озимой пшеницы мягкой сорта Подолянка. Показатель фитотоксичного эффекта за длиной корня на образцах почвы, отобранных на пр. Свободы (70,68%), ул. Собранецкая (68,05%), Минайская (60,59%) соответствовали большому уровню токсичности, а на ул. Заньковецкой был близок к нему (59,49). Фитотоксический эффект почвы, отобранной на территории ботсада УжНУ составлял 6,95 и был незначительным.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что почвы у центральных улиц г. Ужгорода характеризуются значительным фитотоксическим воздействием на исследуемую тест-культуру озимой пшеницы мягкой сорта Подолянка. Данные урбаноземы требуют дальнейшего исследования и внедрения мероприятий, которые обеспечили бы улучшение их состояния.

ОЦЕНКА ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА АЗОВСКОЙ ТЮЛЬКИ *CLUPEONELLA CULTRIVENTRIS* (NORDMANN, 1840) ИЗ АЗОВСКОГО МОРЯ И ТАГАНРОГСКОГО ЗАЛИВА В 2017 Г.

Бортников Е.С.[1], Мосесян Г.В.[1,2], Хорошельцева В.Н.[1,2]
[1]Азово-Черноморский филиал ФГБНУ "ВНИРО" ("АзНИИРХ"); [2]Южный Федеральный Университет , Ростов-на-Дону, Россия

Bortnikov_1991@bk.ru

Тюлька (*Clupeonella cultriventris*) - мелкая промысловая рыба из семейства сельдевых (Clupeidae), в Азовском море самый многочисленный представитель ихтиофауны.

Паразитологический анализ рыб и обработку паразитов проводили по общепринятым методикам. Определение систематической принадлежности паразитов осуществляли, руководствуясь «Определителем паразитов позвоночных Черного и Азовского морей».

Оценка паразитологичесого статуса тюльки проведена на основе результатов анализа рыб из Таганрогского залива и собственно Азовского моря. Для исследования отбирали по 30 экз. рыб. В состав обследованных рыб входили особи с колебаниями средней массы в пределах 3,0–4,6 г, средней длины – 6,2–7,6 см.

Спектр паразитических организмов тюльки ограничивался 3 видами, в число которых входили микроспоридии (*Glugea sp.*) – внутриклеточные простейшие из слизистой оболочки кишечника и пилорических придатков, трематоды (*Pronoprymna petrowi*), обитающие в полости кишечника, и изоподы (*Anilocra frontalis)* паразитирующие на поверхности тела.

Отличительной особенностью паразитологического статуса тюльки, отобранной в весенний и летний периоды в Таганрогском заливе, было полное отсутствие паразитических организмов.

В собственно Азовском море отмечены территориальные различия зараженности тюльки как по видовому составу паразитических организмов, так и по их количественным характеристикам.

Зимой у тюльки был зарегистрирован один вид – микроспоридия Glugea sp. с крайне низкими показателями экстенсивности и интенсивности инвазии, исчислявшимися лишь несколькими единицами.

В летний период наиболее высокий уровень инвазии тюльки установлен в восточной части Азовского моря, где зарегистрирован весь вышеуказанный спектр паразитов, включая микроспоридий, трематод и изопод. Показатель экстенсивности самого массового для тюльки вида – *P. petrowi* – приближался в этом районе к 100 %, тогда как в центре моря он составлял 70 %, а в западной его части паразит отсутствовал. При этом инвазия тюльки всеми выявленными видами, включая *P. petrowi*, квалифицировалась как паразитоносительство, в силу низких значений индекса обилия (0,07–17,6 экз.).

Таким образом, эпизоотическое состояние тюлька в 2017 г. можно оценить как благополучное.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЭПИКУТИКУЛЯРНОГО СЛОЯ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*) НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ МЕЖЛИНОЧНОГО ПЕРИОДА

Ганина М.Д.
ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

ganina@nioch.nsc.ru

Колорадский жук является одним из самых распространенных вредителей сельского хозяйства. Для борьбы с вредителями чаще всего применяют химические методы. Однако длительное использование инсектицидов способствуют не только повышению резистивности у насекомых, но и нарушению естественного функционирования биогеоценозов. Особую актуальность представляют биологические методы регуляции, заключающиеся в заражении насекомых энтомопатогенными микроорганизмами. Одной из главных задач является исследование фундаментальных основ взаимоотношений в системе «насекомое-патоген». На разных онтогенетических стадиях насекомые имеют различную восприимчивость к патогену, обусловленную разным составом защитного эпикутикулярного слоя. Данных по исследованию состава эпикутикулы личинок в онтогенезе практически нет, между тем данная стадия наиболее восприимчива к патогену.

Целью данной работы являлись идентификация и количественное определение состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) с помощью метода ГХ/МС и выявление динамики содержания основных компонентов в течение IV межлиночного периода.

Объектом исследования являлись личинки *L. decemlineata* трех возрастных групп в пределах IV возраста: свежеперелинявшие (4-6 ч после линьки), наиболее чувствительные к грибам *Metarhizium robertsii*; личинки промежуточного возраста (34-36 ч после линьки), со средней устойчивостью; личинки заканчивающие питание (84-86 ч после линьки), с наибольшей устойчивостью к патогену.

Идентификация основных компонентов проводилась путем анализа рассчитанных линейных индексов удерживания и характеристических ионов в масс-спектрах. Было идентифицировано 15 предельных моно-, ди- и триметилразветвленных углеводородов состава C_{28}-C_{32}. Для всех возрастных групп мажорными компонентами являлись углеводороды состава C_{30}. Показано, что с увеличением возраста личинок в пределах IV возраста наблюдается уменьшение суммарного содержания углеводородов: сумма углеводородов для групп свежеперелинявших, промежуточного возраста и заканчивающих питание личинок составила 24.7±5.5, 20.4±7.6 и 11.6±7.4 мкг на $см^2$ площади поверхности личинки соответственно (N=5, P=0.95). Уменьшение общего количества углеводородов в течение исследуемого периода симбатно уменьшению уровня адгезии при заражении конидиями патогенных грибов, способных прикрепляться к поверхности кутикулы. В связи с этим, начальный период после линьки в IV возрасте является «критическим» в плане восприимчивости к энтомопатогенным грибам, при котором личинки содержат наибольшее количество углеводородов в эпикутикулярном слое.

ЧАСТОТА КАРИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ У РАБОТНИКОВ ЦЕМЕНТНОГО ЗАВОДА

Доднаева Л.Р., Джамбетова П.М.
ФГБОУ ВО Чеченский государственный университет, Грозный, Россия

dodnaeva.leila@mail.ru

Основной проблемой загрязнения окружающей среды цементной промышленностью является выброс пыли и твердых частиц на отдельных этапах производства цемента. Известно, что цементная пыль проявляет как токсические, так и мутагенные свойства при воздействии на организмы, так ряд компонентов цемента обладает данными свойствами. Работники цементного заводов находятся под воздействием цементной пыли довольно длительное время, в связи с чем повышается риск развития респираторных патологий, в том числе и опухоли легочной ткани.

Ранняя диагностика развития патологий может быть выявлена с использованием цитогенетических и молекулярно-генетических маркеров. Для цитогенетических методов используется кариологический анализ буккального эпителия, который показывает воздействие поллютантов на строение ядра и хромосом, предсказывая риск развития воспалительных или онкологических заболеваний.

Нами проведены исследования влияния цементной пыли на организм работников цементного завода с использованием генетических методов оценки влияния производственных условий на организм. Первичные результаты кариологического анализа буккальных эпителиоцитов работников цементного завода показали мутагенное воздействие цементной пыли на ядерный аппарат клетки.

ПРИВЛЕЧЕНИЕ ГИДРОБИОНТОВ ИСКУССТВЕННЫМ ОСВЕЩЕНИЕМ НА ТЕРРИТОРИЯХ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ВЫСОКОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ

Ермолаева Я.К., Карнаухов Д.Ю., Бирицкая С.А., Теплых М.А., Долинская Е.М., Силенко Н.Н., Зилов Е.А.
ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

erm.yana@mail.ru

Район Сарайского залива о. Ольхон долгое время в летний период подвергается влиянию светового загрязнения. Основными источниками светового загрязнения в данном случае являются водный транспорт и автомобили. Проблема влияния светового загрязнения на сообщества гидробионтов в оз. Байкал затрагивалась в работах по изучению суточных вертикальных миграций амфипод. Но в данных работах не рассматривается влияние искусственного освещения на сообщества гидробионтов, лишь указывается, что амфиподы и рыбы привлекаются искусственным освещением. Влияние светового загрязнения на сообщества гидробионтов остается малоизученным. Мы решили оценить численность мигрирующих амфипод в данном районе.

Исследование длительного воздействия светового загрязнения в районе Сарайского залива проводили методом подводных видеонаблюдений. На точках с глубиной менее 1 м опускали видеосистему с прожекторами на 10 минут. Всего производили 6 спусков на точки, расстояние между которыми было примерно 10 м. Затем полученные видеозаписи обрабатывались, путем подсчета числа экземпляров амфипод и рыб на экране в «стоп-кадрах» (остановки видеозаписи каждые 5 секунд), для определения количества гидробионтов, привлеченных искусственным освещением.

В результате обработки видеозаписей было выявлено наибольшее и наименьшее число гидробионтов, одновременно находившихся в зоне освещения в данном районе. Так наибольшее количество мигрирующих амфипод наблюдалось во время третьего и четвертого спусков и достигало 2 экземпляров на стоп-кадр, а наименьшее во время пятого спуска – особи амфипод полностью отсутствовали. Так же во время первого спуска полностью отсутствовали коттоидные рыбы. Максимальное количество коттоидных рыб наблюдалось во время третьего спуска и достигало 4 экземпляров. Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное воздействие светового загрязнения влияет на литоральные сообщества гидробионтов.

ПТИЦЫ ГОРИСТЫХ РАЙОНОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Зацаринный И.В., Шаврина У.Ю.
РГУ имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

ulyanashavrina@yandex.ru

В настоящее время, фауна и население птиц гористых районов северо-запада Мурманской остаются слабоизученными. Отдельные исследования ранее были выполнены в горном массиве Пасаритунтури и на полуостровах Рыбачий и Средний (Хлебосолов и др., 2006, Большаков, 2015). Цель исследования – получить новые сведения об авифауне и населении птиц гористых территорий. Исследования проводились в весенне-летний период 2019 года в горном массиве Каллиотунтури и на прилегающих к нему территориях. Изучение видового состава и численности птиц проводилось методом маршрутного учета (Равкин, Челинцев 1999). Результаты показывают, что в данном районе в поясе березовых лесов доминирующими видами являются пеночка-весничка (4.6 особей/км), юрок (4.5) и чечетка (3.1). Несколько реже встречается варакушка (1.7). К обычным видам в поясе березовых лесов можно отнести белобровика (0.7), лесного конька (0.7), рябинника (0.6) и певчего дрозда (0.4). Малочисленны здесь обыкновенная каменка (0.3), горихвостка (0.2), обыкновенная пустельга (0.2), камышовая овсянка (0.2), серая ворона (0.2). К редким видам можно отнести ворона (0.1), чижа (0.1), белозобого дрозда (0.1), серую мухоловку (0.1), снегиря (0.1). На болотах в этом районе обитают луговой конек, сизая чайка, белая трясогузка, большой улит, фифи, золотистая ржанка и камышевка-барсучок. На небольших водоемах встречаются перевозчик, краснозобая и чернозобая гагары. В горных тундрах доминирующим видом является обыкновенная каменка (2.0). Обычны здесь луговой конек (1.0), варакушка (0.9), тундряная куропатка (0.5) и краснозобый конек (0.5). К малочисленным видам данной местности можно отнести чечетку (0.4), овсянку-крошку (0.4), пеночку-весничку (0.2), юрка (0.2), обыкновенную пустельгу (0.2). К редким – белобровика (0.1) и полевого жаворонка (0.1). Среди куликов здесь отмечены золотистая ржанка, большой улит, щеголь, средний кроншнеп. На водоемах встречаются краснозобая и чернозобая гагары. Сравнительно редко в гористых районах северо-запада Мурманской области встречаются зимняк, беркут и орлан-белохвост.

Работы выполнены при поддержке гранта РФФИ и Правительства Мурманской области (проект № 17-44-510841 «р_а»).

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕПТОМИЦИНА НА БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД ВИДА *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS*

Золотовская Е.Д., Аксенов-Грибанов Д.В., Васильева У.А., Краснова М.Е., Тимофеев М.А.

ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

zolotovskayaelenad@gmail.com

Целью работы была оценка неспецифического воздействия модельного антибиотика стрептомицина на байкальских эндемичных амфипод вида *Eulimnogammarus verrucosus*.

Амфипод отлавливали в прибрежной зоне озера в районе пос. Листвянка. Акклимацию ракообразных проводили в аэрируемых аквариумах при температуре 6 С° в течение 4 суток.

Для оценки долгосрочного воздействия антибиотика на выживаемость амфипод, осуществляли экспозицию амфипод в байкальской воде с раствором стрептомицина в концентрациях 7,5 и 15 мг/л в течение 4 суток.

Также оценивали краткосрочное воздействия антибиотика на активность глутатион-S-трансферазы (ГСТ), фермента, ответственного за выведение ксенобиотиков. Для этого амфипод содержали в байкальской воде с добавлением стрептомицина в тех же концентрациях. Через 6 часов экспозиции в воде с антибиотиком амфипод переносили для восстановления в аквариумы с байкальской водой без добавления антибиотика. Статистический анализ проводили с использованием программы PAST 3.

Результаты показали, что воздействие антибиотика в течение 4 суток не вызывает смертности амфипод. При использовании обеих концентраций отмечали тренд на снижение активности ГСТ, однако при использовании концентрации 15 мг/л наблюдали статистически значимое снижение активности фермента.

В экспериментах по краткосрочному воздействию антибиотика, сопровождаемых сменой воды, было показано, что перемещение амфипод после экспозиции в растворе антибиотика в воду, в которой до этого содержались амфиподы, не вызывает изменения активности ГСТ, тогда как пересаживание амфипод в чистую воду приводит к изменению активности фермента. Отмечали и доза-зависимый эффект антибиотика. Причем установлено, что данный эффект зависит от сезона проведения эксперимента. Так, в чистой воде, у амфипод, собранных зимой, наблюдается тренд на снижение уровня ГСТ, тогда как у амфипод, собранных летом, этого не отмечали.

Антибиотик стрептомицин вызывает стрессовый ответ организма в ответ на содержание амфипод в растворе антибиотика, что указывает на развитие адаптивной реакции ГСТ в ответ на нарушение состава микрофлоры желудочно-кишечного тракта или состава поверхностных симбионтов амфипод.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ИГУ № 091-19-219.

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ ГИДРОБИОНТОВ В ПЕТРОЗАВОДСКОЙ ГУБЕ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА С ПОМОЩЬЮ КАМЕРНОЙ МОДЕЛИ

Исакова К.В.
Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

ksusha_isakova@mail.ru

Потепление климата в последнее десятилетие сказалось на увеличении зимнего речного стока в Петрозаводскую губу Онежского озера, что привело к росту объемов поступления в залив гумусовых веществ и связанного с ними железа. Предложена гипотеза, согласно которой накопление железа на дне залива стало основным компонентом, негативно повлиявшим на глубоководный бентос, снижение биомассы которого отмечается в последние 10 лет.

Целью нашего исследования является реконструкция среды обитания гидробионтов в Петрозаводской губе Онежского озера с помощью камерного моделирования.

В основу модели положены представления о распределении загрязнителей (гуминовых вод) от устья крупной р. Шуя по Петрозаводской губе Онежского озера. Суть моделирования заключается в определении трех модельных коэффициентов, которые задают объемы переноса веществ между тремя камерами (частями акватории озера) и оседания на дно и позволяют рассчитать концентрации веществ в любой камере на любом временном шаге. В качестве временного шага был принят месяц, полный период наблюдений - 20 лет. Настройка модельных коэффициентов выполнялась в ходе минимизации функции невязки (суммарной разницы между модельными расчетами и эмпирическими данными) с помощью функций пакета R.

В ходе подготовки модели были написаны следующие программы: преобразование исходных данных к формату, удобному для сравнения с модельными, реализация модели, расчет функции невязки для настройки модели, расчет объемов загрязнителя для разных условий и коэффициентов переноса, построение графических иллюстраций для разных периодов и условий усреднения.

Результаты моделирования переноса речного железа по акватории Петрозаводской губы позволили оценить значения параметров - коэффициент зимнего переноса (0.33), летнего переноса (0.19) и внесезонный коэффициент оседания (0.18).

В отдельном варианте в модель включили дополнительный параметр - коэффициент переноса в поздневесенний период, который должен был отображать процессы окончания термобара и начало летнего ветрового перемешивания водных масс залива и центрального плеса. Новые коэффициенты оказались равны для зимы 0.34, для весны 0.66, для лета - около нуля, дисперсия оценок резко снизилась, средние модельные и эмпирические значения концентраций железа в водах залива сошлись.

Камерная модель выполнила свои задачи - реконструировала картину многолетней динамики распространения железа в Петрозаводской губе Онежского озера и позволила дать экологическую интерпретацию ее параметров.

ТРАНСФОРМАЦИЮ ЛИГНИНА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СООТНОШЕНИЯ УГЛЕРОДА К АЗОТУ (C/N) ОТ 300 ДО 6

Квиткина А.К.
Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

aqvia@mail.ru

Разложение растительного опада – ключевой процесс, связывающий круговороты азота и углерода в почве, определяющий эмиссию углекислого газа, поступление питательных элементов и последующую продуктивность экосистемы. Лигнин – наиболее распространенное в природе фенольное соединение растительного происхождения. Увеличение поступления минеральных соединений азота в естественные и в агроэкосистемы в XXI веке происходит вследствие выпадения кислотных дождей, применения удобрений, загрязнения окружающей среды. Увеличение содержания азота как элемента приводит к снижению соотношения углерода к азоту или C/N как в почве, так и в поступающем в неё растительном опаде, что может сказаться на трансформации растительного опада и изменении деструкции органического вещества в экосистеме.

Целью нашей работы являлось исследовать влияние снижения содержания азота в ряду C/N 6, 25, 50, 150, 300 на трансформацию лигнина как одного из распространенных компонентов растительного опада. Эксперименты проводились в лабораторных условиях методом долговременной инкубации в микрокосмах при 22°C и 80% влажности (542 сут).

Разложение лигнина происходило согласно двупуловой модели минерализации: с небольшим быстро разлагаемым пулом и большим медленно разлагаемым пулом органического вещества. По результатам долговременного эксперимента (542 сут), для гидролизного лигнина была характерна небольшая величина лабильного пула (1,8-2,6%) с константой минерализации $k1 = n*10^{-2}$ сут$^{-1}$, средним временем разложения лабильного пула 19-31 сут, и средним временем разложения стабильного пула десятки лет ($k2 = n*10^{-5}$ сут$^{-1}$, MRT = 76-173 лет). Низкие значения C/N подавляли минерализацию на ранних (до 6 сут) и поздних (482 – 542 сут) стадиях разложения лигнина, затем стимулировали минерализацию (12-61 сут), на отдельных этапах (7-11, 62-482 сут) C/N не влияло на скорость, таким образом влияние C/N было неоднозначно. Линейной зависимости разложения лигнина от C/N не наблюдалось.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 18-34-00987 мол_а и № 20-04-00343).

ВЛИЯНИЕ СОЛЕНОСНОГО СТРЕССА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ГЕМОЦИТОВ *ANADARA KAGOSHIMENSIS* (TOKUNAGA, 1906)

Кладченко Е.С.[1,2], Головина И.В.[1], Андреева А. Ю.[1]
[1]ФГБУН ФИЦ Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия; [2]ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Kladchenko_ekaterina@bk.ru

Соленосный стресс влияет на скорость фильтрации, дыхание, содержание белка в тканях, размер и скорость роста двустворчатых моллюсков. В контексте глобального изменения климата актуален поиск объектов для культивирования с широким диапазоном

соленосной толерантности. В настоящей работе исследовано влияние снижения солености на функциональные показатели гемоцитов анадары (*Anadara kagoshimensis*).

Анадара (длина 27,3±1,5 мм, вес 13,1±1,2 г, n=30) отбиралась в акватории г. Севастополь. В течение 7 дней моллюски содержались в емкостях с проточной морской водой из расчета 3-5 литров на особь при солености 19‰. После акклиматизации к лабораторным условиям анадару разделяли на 3 групп- контрольная (19‰) и две экспериментальных 14‰ и 8‰. Для создания гипоосмотических условий морскую воду разбавляли дистиллированной. Соленость понижали со скоростью 1±0,3‰ в сутки. Гемолимфу отбирали из экстрапаилиального пространства и анализировали на проточном цитометре методом, описанном ранее (Andreyeva et al., 2019).

Пик флуоресценции красителя SYBR Green I гемоцитов был неоднороден и характеризовался относительно высоким коэффициентом вариации – 18,1±1,4. Доля мертвых клеток в образцах не превышала 1 %.На основании распределения частиц по прямому и боковому рассеянию было идентифицировано две субпопуляции клеток – гранулярные и агранулярные гемоциты. Основной тип гемоцитов анадары – гранулярные (более 90% от общего числа клеток).

При снижении солености до 14‰ процентное содержание агранулоцитов снизилось более чем на 60% в сравнении с контролем. Инкубация при 8‰ привела к снижению числа агранулярных клеток более чем на 85% в сравнении с контролем. Число гранулярных клеток, напротив, возросло. Снижение солености с 19‰ до 8‰ существенно повлияло на способность гемоцитов генерировать активные формы кислорода. Однако инкубация анадары в условиях солености 14‰ не оказала влияния на данный показатель. Последнее может свидетельствовать о достаточных компенсаторных механизмах акклиматизации анадары при 14‰ и выходе из зоны оптимума при дальнейшем снижении солености.

Работа выполнена в рамках госзадания №0828-2019-0003 и при частичной поподдержке научного проекта №18-31-00001.

Библиографический список

Andreyeva A. Y., Efremova E. S., Kukhareva T. A. Morphological and functional characterization of hemocytes in cultivated mussel (Mytilus galloprovincialis) and effect of hypoxia on hemocyte parameters // Fish and Shellfish Immunology. 2019. Vol. 89. P. 361-367.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ ЭКОСИСТЕМЫ АЗОВСКОГО МОРЯ В 2019 Г.

Котов С.В., Зубцова И.А.
Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия

KotovSerg2013@mail.ru

Из распространенных токсикантов, загрязняющих природные воды, хлорорганические пестициды (ХОП) имеют наивысший класс опасности (1-й класс), так как оказывают наиболее сильное влияние на состояние водных биологических ресурсов. При этом даже незначительные концентрации в воде и донных отложениях в водоеме могут повлечь за собой существенное накопление (в 100 и даже 1000 раз) этих токсикантов в рыбе и беспозвоночных, что может быть очень опасным для человека при употреблении этих животных в пищу.

В настоящем сообщении приводятся основные результаты загрязнения ХОП экосистемы Азовского моря, полученные в результате летних и осенних исследований в 2019 г. Оценка содержания ХОП в пробах воды и донных отложений дана по сумме

наиболее распространенных ХОП: изомеров ГХЦГ (α-, γ-, β-) и метаболитов и изомеров ДДТ (n,n'-ДДЕ, o,n-ДДЕ, n,n'-ДДД, o,n-ДДД, n,n'-ДДТ, o,n-ДДТ).

Концентрации ХОП в воде Азовского моря в летний период 2019 г. изменялись в пределах <0,1-5,4 нг/л, в осенний период – <0,1-3,6 нг/л. Превышение ПДК ХОП для воды рыбохозяйственных водоемов не зафиксировано. Наиболее высокое загрязнение воды ХОП найдено в южном и центральном районах моря. В Таганрогском заливе наиболее загрязнен пестицидами западный район. В осенний период в среднем наиболее загрязнена хлорорганическими пестицидами вода в южном и восточном районах собственно моря.

В исследованных пробах воды идентифицированы n,n′-ДДЕ и n,n′-ДДД. Концентрации остальных определяемых пестицидов, в том числе и пестицида ДДТ, находились ниже предела определения.

В донных отложениях Азовского моря концентрации стойких ХОП варьировали в пределах: в летний период – от <0,1 до 0,8 мкг/кг, в осенний – от <0,1 до 1,7 мкг/кг сухой массы. Наиболее высокие концентрации ХОП в донных отложениях в летний период обнаружены в восточном районе собственно моря и Таганрогского залива. В осенний период максимальные концентрации ХОП регистрировались в западном районе собственно моря и восточном районе Таганрогского залива.

В составе ХОП, обнаруженных в донных отложениях Азовского моря, идентифицированы только метаболиты пестицида ДДТ: n,n′-ДДЕ и n,n′-ДДД. Пестицид ДДТ в пробах не обнаружен, что характеризует загрязнение донных отложений Азовского моря в 2019 г. как давнее (коэффициент ДДТ/ДДЕ<1).

Таким образом, результаты исследований по накоплению ХОП в воде и донных отложениях Азовского моря, проведенные в 2019 г., показали, что, несмотря на официальный запрет использования ХОП, введенный в начале 70-х годов прошлого века, эти загрязняющие вещества до сих пор обнаруживаются в воде и донных отложениях Азовского моря.

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ХВОИ У ЯПОНСКОЙ КРАСНОЙ СОСНЫ В РАЙОНЕ АВАРИИ НА АЭС ФУКУСИМА

Лыченкова М.А., Макаренко Е.С., Гераськин С.А.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

lychenkovamarija@gmail.com

Сосна является уникальным, широко распространённым радиобиологическим объектом исследования, который обладает разнообразными информативными и чувствительными тест-системами на разных уровнях организации.

Целью данной работы являлась оценка морфометрических показателей в условиях хронического радиационного воздействия у японской красной сосны.

В этой работе исследована изменчивость двухлетней хвои по длине и массе, а так же индексы флуктуирующей асимметрии на одном референтном и четырех импактных участках. Мощность амбиентного эквивалента дозы на контрольном участке F составила 0.25 мкЗв/ч, а на радиоактивно загрязнённых участках A, T, S, O – 3.4, 3.5, 3.7, 6.4 мкЗв/ч, соответственно. Средний возраст деревьев на участках составил 5-10 лет. Пробы брали в мае 2019 г. с 11, 9, 7, 11 и 11 деревьев, соответственно. С каждого дерева собирали по 30-60 пар двухлетних хвоинок. Хвою без признаков усыхания отбирали на высоте 1.5–2 метра с разных сторон дерева и хранили в морозильной камере до проведения измерений. Парные хвоинки разделяли, длину определяли с точностью до 0.5 мм, массу хвоинок, подсушенных в сухожаровом шкафу, определяли с точностью до 0.1 мг на лабораторных

аналитических весах Ohaus Adventurer Pro. Индекс ФА хвои по длине и массе хвоинок рассчитывали по формулам (Kozlov et al., 2002). Данные были проверены по критерию Граббса и критерию Диксона на наличие выбросов, которые были исключены из дальнейшей работы. Для определения значимости различий между средними значениями использовали U-тест Манна-Уитни в программе Statistica 8.0.

В данной работе показано, что на радиоактивно загрязнённых после аварии на АЭС Фукусима территориях у красной японской сосны можно обнаружить ряд морфологических изменений. Выявлено увеличение длины хвои на участке А ($p<0.05$), а массы хвои на участках А и S ($p<0.001$), Т ($p<0.05$). Индекс флуктуирующей асимметрии длины хвои значимо увеличен на площадке с максимальным уровнем радиоактивного загрязнения О ($p<0.01$). Индекс ФА хвои по массе значимо не отличается от контрольного участка. Изучаемые морфометрические параметры хвои не имеют статистически значимой корреляции с уровнем радиационного воздействия.

Исследование морфометрических показателей у красной японской сосны, растущей на радиоактивно загрязнённых участках, показало, что часть значений статистически значимо превышают контрольный уровень. Используемые подходы являются перспективными и для мониторинга и оценки состояния природных популяций, и для оценки качества среды в условиях хронического радиационного воздействия.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 19-54-50003).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Kozlov M.V., Niemela P., Junttila J. Needle fluctuating asymmetry is a sensitive indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*) // Ecological Indicators. 2002. V. 1. P. 271–277.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Мельникова А.А., Комарова Л.Н.
ИАТЭ Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Обнинск, Россия

komarova_l411@mail.ru

Биоразлагаемый наноструктурированный композиционный материал благодаря своей предельно низкой токсичности и способности к биоразложению позволит решить актуальные отечественные проблемы полимеров медицинского назначения, а также может использоваться в биомедицинских, фармацевтических, экологических и промышленных областях.

Целью работы являлось изучение особенностей биологической деградации наноструктурированных полимерных материалов на основе 2-гидроксипропионовой (молочной) кислоты.

Объектом исследования являлись наноструктурированные биопленки, состоящие из биоразлагаемого связующего – 2-гидроксипропионовая (молочная) кислота – и микроармирующего наполнителя природного минерала из класса метасиликатов. Биодеградабельный полимерный композиционный материал (ПКМ) представляет собой смешанную многокомпонентную систему, обеспечивающую биоразлагаемость всей системы. Композитная система состоит из матрицы, включающей в себя армирующие элементы. Определяющее значение имеет химический состав – $CaSiO_3$.

В данной работе использовались образцы с минеральным концентратом Na_2O, Fe_2O_3 K_2O, MgO. На первом этапе эксперимента проводился почвенный тест с помещением

образцов в серую лесную и суглинистую почву. По истечении периода активации микроорганизмов полимерные образцы изымались из контейнера, производился смыв.

Количественное определение дегидрогеназной активности микроорганизмов проводили по методике, основанной на их контакте с субстратом и акцептором водорода. Акцептором водорода являлся краситель метиленовый синий (длина волны 665 нм), а активность дегидрогиназ определяли по скорости изменения концентрации метиленового синего в ферментативной реакции. О степени дегидрогеназной активности микроорганизмов в предлагаемом способе судили по убыли концентрации метиленового синего в ячейке, которую регистрировали оптическим способом [1]. Измерение осуществлялось с помощью Спектрофотометра КФК-3-01.

По сравнению с контролем показатели дегидрогеназной активности микроорганизмов на 9 сутки эксперимента достигли максимума. Для образцов, выдержанных в серой лесной почве, с минеральным концентратом Na_2O показатель дегидрогеназной активности составил 1,617; для образцов с минеральным концентратом Fe_2O_3 1,521. Величина дегидрогеназной активности для образцов, выдержанных в суглинистой почве, составила 1,313 (с минеральным концентратом K_2O) и 1,177 (с минеральным концентратом MgO). Далее дегидрогеназная активность во всех пробах снижалась, так как происходит исчерпание легкодоступного субстрата из жидкой среды.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЖУЖЕЛИЦ (COLEOPTERA, CARABIDAE) ГОРОДА РЯЗАНИ

Минаева О.В., Трушицына О.С.
ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

olesya.minaeva.555@mail.ru

Жуки-жужелицы (*Coleoptera, Carabidae*) являются популярным объектом при проведении различных экологических исследований на урбанизированных территориях, как одна из многочисленных и богатых видами групп в составе напочвенного яруса.

Материалом послужили сборы, проведенные в 2015-2017 и 2019 гг. на территории г. Рязани (Трушицына и др., 2017, Минаева и др., 2019). Сбор жуков осуществлялся почвенными ловушками, в качестве которых использовались пластиковые стаканы, на треть заполненные 4% раствором формалина, также применялся ручной сбор в биотопах разного типа (посадки, парки, луга, агроценозы).

Выявлен 51 вид жужелиц, относящийся к 21 роду. Высокое видовое богатство характерно для родов *Harpalus* (9 видов), *Amara* (7), *Pterostichus* (5).

Экологическая характеристика видов приводится по литературным источникам (Lindroth, 1992; Федоренко, 1992) с учетом собственных сведений. Классификация жизненных форм дана по И.Х. Шаровой (1981).

По биотопическому преферендуму в районе исследования выделено 10 экологических групп. По видовому обилию преобладают мезофиллы открытых пространств (60,8%), представленные лугово-полевыми, луговыми и полевыми группами. Лесные виды составляют 13,7% видового обилия. Гигрофильные виды составляют 23,5% видового обилия и включают лесо-болотные (13,7%), береговые (3,9%), болотные (2,0%), лугово-береговые (2,0%) и лугово-болотные (2,0%) виды. Доля степных видов незначительна и составляет 2,0% видового разнообразия.

Спектр жизненных форм включает зоофагов и миксофитофагов. Причем по видовому разнообразию отмечено существенное преобладание зоофагов над

миксофитофагами. Класс зоофагов представлен 8 группами и составляет 62,7% видового обилия. Класс миксофитофагов включает 3 группы при видовом обилии 37,3%.

Среди зоофагов доминируют стратобионты поверхностно-подстилочные (25,4% видового обилия), поверхностно-почвенные (11,7%) и подстилочные (9,8%) формы. Стратобионты подстилочно-трещинные характеризуются значительно меньшим видовым разнообразием (2,0%). Видовое обилие эпигеобионтов составляет 9,7%. Наименее разнообразно представлены геобионты роющие (4,0%).

Среди миксофитофагов преобладают геохортобионты гарпалоидные (33,3%), в меньшей степени представлены миксофитофаги стратобионты (2,0%) и миксофитофаги стратохортобионты (2,0%).

Набор биотопических групп и жизненных форм отражает многообразие и представленность биотопов в черте города.

ЗАРАЖЕННОСТЬ ХАМСЫ РАЗНЫХ РАЗМЕРНЫХ ГРУПП, ЗИМУЮЩЕЙ У БЕРЕГОВ РЕСПУБЛИКИ АБХАЗИЯ, НЕМАТОДОЙ *HYSTEROTHYLACIUM ADUNCUM* RUDOLPHI, 1802

Мосесян Г.В.[1,2], Бортников Е.С.[1], Хорошельцева В.Н.[1,2]

[1]Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»); [2]Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

mosesyan_g_v@azniirkh.ru

Представлены результаты анализа трех выборок хамсы *Engraulis encrasicholus,* собранных в прибрежной акватории Черного моря в районе Республики Абхазия во второй декаде января 2017 г.

Две пробы по 15 особей хамсы относились к двум размерным группам (61-75 мм и 76-85 мм) и были отобраны в районе г. Очамчира. Третья выборка из 16 особей хамсы размерной группы 61-75 мм была отобрана в районе г. Гагра.

Паразитологический анализ проводили общепринятыми методами. В ходе неполного паразитологического вскрытия внутренние органы, извлеченные из полости тела, исследовали под стереоскопическим микроскопом МСП-2 на наличие живых и деградирующих экземпляров нематоды. После подсчета их количества вычисляли стандартные паразитологические показатели: экстенсивность инвазии (ЭИ, %) - доля зараженных хозяев, пределы интенсивности инвазии (ИИ, экз.) - наименьшее и наибольшее количество паразитов в хозяине, средняя интенсивность (СИ, экз.) - среднее количество паразитов в зараженном хозяине, индекс обилия (ИО, экз.) - среднее число паразитов на одну исследованную рыбу.

Показатели зараженности хамсы во всех выборках имели невысокие для Черного моря значения. В указанных пунктах исследования индивидуальная интенсивность инвазии рыб данного вида гистеротиляциумом не превышала 4 экз. В пробах хамсы одной размерной группы у г. Очамчира и г. Гагра было заражено соответственно 40 и 50 % рыб. ИО составил соответственно 0,67±0,21 и 1,00±0,30 экз., а СИ – 1,67±0,33 и 2,00±0,42 экз. Низкие показатели интенсивности заражения хамсы *H. aduncum* в пунктах исследования могут указывать на принадлежность ее к азовской расе, представители которой совершают ежегодную зимовальную миграцию из Азовского моря в Черное. В пользу такого предположения говорит также отсутствие у исследованной хамсы живых экземпляров гистеротиляциума и нахождение всех обнаруженных нематод данного вида в состоянии деградации.

Зараженность хамсы разных размерных групп в пределах одного района (г. Очамчира) заметно различалась. ЭИ размерных групп 61-75 и 76-85 мм составляла 40,0 и

73,3 %, ИО – 0,67±0,21 и 1,27±0,26 экз. соответственно. Наблюдаемая разница в значениях приведенных показателей (почти в 2 раза) указывает на то, что при низкой зараженности исследователю важно учитывать принадлежность особей хозяина к размерной группе, и не во всех случаях правомерно сравнивать выборки, в которых исследуемые особи рыб различаются по возрасту и размерно-массовым характеристикам.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ АККЛИМАЦИИ ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ГОЛАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД

Мутин А.Д., Верещагина К.П., Гурков А.Н., Тимофеев М.А.
ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

andreimutin97@gmail.com

Амфиподы представлены большим количеством видов и населяют почти все водоемы планеты. Представители данного отряда относятся к эктотермным организмам, что делает их особо подверженными изменению температуры среды.

Целью данного исследования являлась оценка частоты дыхательных движений (ЧДД) и двигательной активности (ДА) байкальских эндемичных амфипод видов *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf., 1858) и *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb., 1874), а так же голарктического *Gammarus lacustris* Sars, 1863 в условиях длительной акклимации к пониженным температурам среды.

В течение 2 недель амфипод преакклимировали к 6 °С (начальный контроль (НК)), затем разделяли на две группы, которые акклимировали уже при двух различных температурах – 6 °С (временной контроль (ВК)) и 1,5 °С (эксперимент) в течение 8 недель. После каждой недели акклимации производили регистрацию физиологических параметров.

В результате, ЧДД холодолюбивого байкальского эндемика *E. verrucosus* и голарктического *G. lacustris* значимо снижалась после первой недели экспериментальной экспозиции почти в 1,5 и 2 раза соответственно, в сравнении с ВК. Тогда как у второго байкальского вида *E. cyaneus* при акклимации к 1,5 °С отличий в сравнении с НК не отмечали. Также при сравнении НК с ВК у *E. cyaneus* наблюдали статистически значимое повышение последнего более чем в 1,5 раза после 4-х недель экспозиции. Межвидовой анализ ЧДД показал значимые отличия НК, а также ВК после четырех и восьми недель экспозиции.

В условиях экспериментальной экспозиции при температуре 1,5 °С показаны значимые отличия ДА у исследуемых видов амфипод. Так, у байкальского *E. cyaneus* наблюдали снижение ДА более чем в 2 раза относительно ВК, тогда как для холодолюбивого эндемика *E. verrucosus* изменений не отмечали. Напротив, у голарктического вида *G. lacustris* происходило снижение ДА как в контроле (6 °С), так и при температуре 1,5 °С. Межвидовой анализ контрольных значений ДА показал значимые отличия НК, а также ВК после четырех и восьми недель экспозиции. Показаны значимые отличия ДА между байкальскими и голарктическим видами в ходе экспозиции при температуре 1,5 °С. Снижение активности физиологических параметров может говорить об угнетении метаболизма амфипод, тогда как увеличение активности может быть следствием специфического ответа организма на пониженную температуру.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РНФ-объединение им. Гельмогльца (Германия) № 18-44-06201.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕРОДА В ТОРФЕ

Нагайцев А.И., Зайцев М.Г.
Тульский Государственный Университет, Тула, Россия

rurpampur@yandex.ru

Одной из основных проблем лесных пожаров является горение торфяников. Немаловажной проблемой является самовозгорание торфяника. На это влияет 3 фактора: большое содержание углерода в торфе, высокая температура и низкая влажность воздуха. Горение торфяника происходит очень медленно и незаметно. Если торфяник разгорелся, то потушить его составляет большую проблему, поскольку самовозгорание начинается из глубины 1-2 метра. Целью данной работы, являетс определение содержания углерода в торфе. Задачи было поставлены следующие: отработка методики определения углерода в торфе, определение содержание углерода в травянисто низменном и сфагново верховых торфах, статистическая обработка полученных результатов.

В ходе данного исследования была отработана методика определения массовой доли углерода в торфе методом потенциометрического титрования (Теория и практика химического анализа почв, 2006). Были определены массовые доли углерода в 2-х образцах торфа: сфагнового верхового при 20 минутах окисления (ω = 28,9±0,3%) и травянисто низменного при 20 минутах окисления (ω = 29,8±0,1%), это достаточно низкие уровни содержания углерода, поэтому в данных образцах торфов не может произойти самовозгорания.

ОЦЕНКА ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НОВЫХ КОНЪЮГАТОВ КСИМЕДОНА И БИОГЕННЫХ КИСЛОТ НА ВОДОРОСЛЯХ CHLORELLA VULGARIS

Назаров Н.Г.[1,2]
[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; [2]Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, Казань, Россия

nail-naz@yandex.ru

Целью работы является токсикологическая оценка новых производных пиримидина, содержащих фрагменты лекарственного препарата ксимедон и биогенных кислот. Эти соединения представляют собой интерес в качестве потенциальных стимуляторов регенерации кожи при различных типах повреждения. Также, к настоящему времени доказано, что новые соединения оказывают эффект стимуляции физической работоспособности, т.е. являются актопротекторами, и обладают выраженными гепатопротективными свойствами. Доказано, что по акто- и гепатопротективным свойствам новые соединения многократно эффективнее самого ксимедона.

Однако до настоящего времени в целях оценки биологической и экологической безопасности новых веществ полноценные исследования токсикометрических параметров на тест-объектах разных систематических групп не проводились.

В рамках данных исследований проведены эксперименты на определение параметров острой и хронической токсичности новых соединений, конъюгатов ксимедона с аскорбиновой, янтарной, парааминобензойной, никотиновой, урсодезоксихолиевой кислотами и метионином на лабораторных культурах водорослей *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus quadricauda*.

Хлореллу выращивали в культиваторе КВ-05 на 50% среде Тамия при 36°С. Биотестирование проводилось в 24-х кюветном культиваторе КВМ-05 в течение 22 часов

при 36°С на 2% среде Тамия с добавлением исследуемых веществ в разных концентрациях.

Сценедесмус культивировали в 10% среде Тамия в культиваторе КВ-05 при температуре 20°С и непрерывном освещении. Биотестирование проводили на 1% среде Тамия в устройстве УЭР-03 при 25°С с добавлением исследуемых веществ в разных концентрациях. Плотность засева хлореллы и сценедесмуса составляла 70 тыс. кл./см^3 и 27 тыс. кл./см^3 (что соответствует оптической плотности 0,005).

Критерием токсичности для водорослей служили изменения значений оптической плотности в растворе и их различие с контрольной пробой. Регистрация оптической плотности проводилась с использованием КФК-3 в кювете толщиной 10 мм при длине волны 670 нм. В качестве исследуемых проб были подготовлены растворы шести исследуемых веществ в концентрациях 10, 20, 50, 100 и 500 мг/л. В контрольные пробы исследуемые вещества не добавлялись.

Результаты проведённых экспериментов свидетельствуют, что с увеличением концентрации конъюгатов ксимедона наблюдается однонаправленное увеличение прироста водорослевых культур. При этом степень стимуляции роста водорослей хлорелла и сценедесмус была близка у всех исследуемых соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Казанского (Приволжского) федерального университета.

МОДЕЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ (SDM) ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПИСАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ НИШИ: ПРИМЕР БОЯРЫШНИКОВ (*CRATAEGUS SP.*) П-ОВА КРЫМ

Орлов М.А.[1], **Шелудков А.В.**[2]

[1] Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; [2] Институт географии РАН, Москва, Россия

orlovmikhailanat@gmail.com

Экологическая ниша - фундаментальная концепция биологии, экологии и биогеографии. Термин существует порядка века, и его содержание за это время значительно менялось. Наибольшую популярность имеет концепция Хатчинсона. Если предложенные до того Гриннелом и Элтоном понимания "экологическая ниша" считают ее, главным образом, атрибутом области пространства (биотопа), то Хатчинсон рассматривает нишу исходно как атрибут популяции (вида). Хатчинсон придал термину дуальность: экологическая ниша может быть представлена и как область географической среды, и как часть многомерного пространства экологических факторов. Таким образом, ниша Хатчинсона характеризует и совокупность организмов, и среду их обитания. Дуализм состоит во взаимном переходе между пространствами. Именно данный подход предоставил возможность дальнейшего теоретического развития. Именно теория Хатчинсона легла в основу такого типа экологического моделирования, как модели пространственного распространения (Species distribution models, SDM, ecological niche models).

В данной работе для построения и анализа SDM использованы наиболее представленные на полуострове Крым виды рода боярышник: *Crataegus monogyna, C. meyeri, C. orientalis* и *C. rhipidophylla*. Места фактического нахождения получены из базы данных GBIF (по 50 или более наблюдений). Предикторы, описывающие экологическую среду - 19 климатических переменных - взяты из базы данных Worldclim 2.0 для рассмотренных локалитетов и 100 случайных точек фона Крыма. В итоге на примере

крымских боярышников мы показали, как SDM может быть использована для количественного описания экологической ниши - за счет оценки вклада отдельных климатических переменных в работу моделей, предсказывающих ареалы. В дальнейшем следует учитывать, что SDM как инструмент фундаментального экологического исследования требует тщательного отбора предикторов (с исключением нерелевантных и малоинформативных), а также моделей с высокими показателей качества. Полученную на основе SDM количественную оценку вклада факторов в работу классификаторов следует сравнивать с данными собственно биологии, по возможности улучшая результат.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДИАПАЗОНА СРЕДСТВ МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ НА БЕРЕМЕННОСТЬ И ПОТОМСТВО

Панфилова В.В., Колганова О.И., Чибисова О.Ф.
[1]МРНЦ имени А.Ф.Цыба - филиал ФГБУ "НМИЦ радиологии" Минздрава России, Обнинск, Россия

whiskas04@yandex.ru

Современный человек живет в мире, в котором происходит электромагнитное загрязнение окружающей среды. Крайне чувствительной к воздействию электромагнитного излучения оказывается ЦНС. В настоящее время происходит очень активное внедрение в жизнь человека мобильной связи, при использовании которой происходит ежедневное облучение головного мозга. Мобильными телефонами пользуются не только взрослые люди, но и дети и беременные женщины, подвергая воздействию электромагнитного излучения еще формирующийся организм не родившегося ребенка. Главной задачей настоящего исследования являлось изучение влияния ЭМИ диапазона частот мобильной связи при хроническом воздействии. В ходе эксперимента 15 самцов крыс Вистар подвергали хроническому ЭМИ, частота 1800 МГц, ППЭ 85 мкВт/см^2, 1 час в день, 18 дней. После чего 30 интактных половозрелых самок подсаживали к облученным самцам из расчета 1:2. Начало беременности определяли по наличию сперматозоидов во влагалищных мазках. Беременные самки подвергались электромагнитному облучению тех же характеристик 12 дней. В качестве контрольной группы использовали ложнооблученных половозрелых самцов и самок крыс, содержащихся в идентичных условиях с подопытной группой.

В результате проделанной работы выявлено: эмбриогенез потомства первого поколения у самок подопытной группы протекает без существенных отклонений от нормы и от показателей контрольной группы. Суммарное число жизнеспособных плодов не отличается от аналогичных показателей контроля. Также беременность и роды у самок подопытной группы протекает нормально. Установлено, что по тесту выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) самцы F1, рожденные от облученных самок, не отличаются от самцов F1, рожденных от контрольных самок. По общему количеству выполненных УРАИ самки F1 контрольной и опытной группы не отличаются. Но лаг-фаза начала выполнения УРАИ у самок F1 опытной группы во втором тестировании достоверно выше, чем у контрольных самок F1. Это свидетельствует о сниженной способности животных к обучению.

В результате проделанной работы можно сделать вывод о том, что выраженного негативного воздействия хронического электромагнитного облучения в режимах близких к мобильной связи на течение и исход беременности, а также на когнитивные функции мозга крыс не выявлено. Следует, однако, отметить, что самки F1 опытной группы отстают от контрольных по степени консолидации навыка, выработанного при

предыдущем тестировании, хотя это отставание практически полностью компенсируется к концу сеанса за счет увеличения скорости обучения.

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ГОЛАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПЕРОКСИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ

Ржечицкий Я.А., Гурков А.Н., Ларина О.А., Емшанова В.А., Шатилина Ж.М., Тимофеев М.А.
ФГОБУ ВО Иркутский государственный университет НИИ биологии ИГУ; НИИ биологии ИГУ, Иркутск, Россия

rzhechitskiy.yar@gmail.com

Одним из ключевых параметров, по которым озеро Байкал выделяется среди других водоёмов, является высокая доступность кислорода в воде. В зимнее время в подлёдном слое Байкала концентрация кислорода может превышать 15 мг/л, что соответствует гипероксическим условиям для большинства гидробионтов. Подобные явления известны и для других крупных озёр, однако благодаря большому возрасту Байкала у его обитателей в ходе длительной независимой эволюции могли сформироваться специфические реакции на высокое содержание кислорода в окружающей среде.

Эндемичные амфиподы (*Amphipoda, Crustacea*) являются самым разнообразным таксоном фауны Байкала и играют значимую роль в бентосных сообществах озера на всех его глубинах. Целью данной работы являлось сравнения реакций на гипероксические условия литоральных байкальских видов, сталкивающихся с подлёдным перенасыщением воды кислородом, глубоководного байкальского вида, обитающего при постоянной концентрации кислорода, а также голарктического вида, населяющего мелкие водоёмы со сравнительно низким содержанием кислорода.

В качестве объектов исследования были выбраны байкальские литоральные виды амфипод *Eulimnogammarus cyaneus* (Dybowsky, 1874) и *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858), глубоководный вид *Omatogammarus flavus* (Dybowsky, 1874), а также голарктический вид *Gammarus lacustris* Sars 1863.

После предварительной акклимации к лабораторным условиям амфипод помещали в нормоксические условия (~12 мг/л), экологически реалистичные гипероксические условия (~20 мг/л) и максимальные гипероксические условия (~40 мг/л). Оценку частоты дыхательных движений и двигательной активности производили через 1 ч, 5 ч, 1 сутки, 5 суток и 10 суток. Для биохимических анализов животных фиксировали в жидком азоте в те же временные точки, после чего производили измерение стандартных маркеров развития окислительного стресса - содержания продуктов перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной системы.

В результате проведённого исследования показано отсутствие реакции изучаемых биохимических маркеров в гипероксических условиях для всех исследуемых видов, что свидетельствует об отсутствии развития окислительного стресса. Однако для байкальских амфипод было обнаружено отсутствие снижения частоты дыхательных движений в гипероксических условиях, характерного для большинства ракообразных и голарктического вида *G. lacustris*, что может быть связано с длительной эволюцией байкальских эндемиков при повышенном содержании кислорода.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РНФ-объединение им. Гельмогльца (Германия) № 18-44-06201.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОРМИРОВАНИЯ ОКРАСА ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД ОЗЕРА *БАЙКАЛ EULIMNOGAMMARUS CYANEUS* И *E. VITTATUS*

Саранчина А Е.[1], Дроздова П.Б.[1,2], Моргунова М.М.[1], Бадуев Б.К.[1], Тимофеев М.А.[1,2]
[1]НИИ биологии ФГБОУ ВО "ИГУ"; [2]АНО "Байкальский исследовательский центр"

alexandra147801@gmail.com

Фауна байкальских амфипод отличается огромным разнообразием окраски: от ярко-красной и черной до небесно-голубой и прозрачной. Сильные различия в цвете могут существовать также и внутри видов. Так, у литорального вида *Eulimnogammarus cyaneus* (Dybowsky, 1874) большая часть особей имеет голубую окраску, но встречаются и полностью оранжевые экземпляры. У *E. vittatus* (Dybowsky, 1874) преобладают разнообразные темные цвета, на фоне которых выделяются желтые особи. У всех ракообразных цвет тела зависит от каротиноидов, которые в организме могут находится либо в свободном виде, либо в связанном с белками крустацианинами. При этом цвет комплексов с белками отличается от цвета свободных каротиноидов.

Цель исследования — изучение и сравнение механизмов окраски видов *E. cyaneus и E. vittatus.*

Уровень каротиноидов определяли спектрофотометрическими методом, предварительно гомогенизировав пробы в ацетоне и экстрагировав в петролейном эфире. Оказалось, что в случае обоих видов количество каротиноидов у светлых и темных особей не различалось.

Сравнительное содержание крустацианинов измеряли методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле. Для анализа использовали гемолимфу животных темного и светлого окраса. В литературе нет информации о молекулярном весе и изоэлектрической точке крустацианинов амфипод, поэтому мы использовали известные последовательности крустацианинов омара *Homarus gammarus* для поиска в транскриптомах *E. cyaneus* и *E. vittatus* и предсказали белковые последовательности на основе этих результатов. Согласно полученным данным, крустацианины амфипод рода *Eulimnogammarus* имеют кислые изоэлектрические точки и молекулярный вес 19–29 кДа. На наших гелях этим параметрам соответствовали два пятна, расположенные в кислой части диапазона pH и ниже 50 кДа. У светлых рачков соответствующие пятна были менее интенсивными, чем у темных.

Таким образом, несмотря на отличающиеся разнообразие цветов внутри видов *E. cyaneus и E. vittatus,* механизм формирования окраса у этих видов, вероятно, схож.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 19-74-00045.

СИНЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА С РАЗЛИЧНЫМИ ФИЗИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Толкаева М.С.[1], Евстратова Е.С.[2]
[1]МРНЦ им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия; [2]ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия

marya.tolkaeva@yandex.ru

Свинец является одним из главных компонентов загрязнения окружающей среды. В современном мире основными источниками загрязнения этим металлом являются нитроэтилсвинец и тетраметилсвинец, которые добавляют в бензин в качестве антидетонатора. Поступая в биосферу и распространяясь по всем её компонентам, свинец

попадает в живые организмы. Опасность этого металла, которая связанна с его высокой токсичностью и способностью к биоаккумуляции, усугубляется при его синергическом взаимодействии с другими физическими факторами окружающей среды. Изучение закономерностей подобных взаимодействий является актуальным не только с точки зрения получения фундаментальных знаний, но и имеет практическое значение для санитарно-гигиенического нормирования многофакторных воздействий.

В проведённых экспериментах было изучено проявление синергизма при взаимодействии ионизирующего излучения (γ-кванты ^{60}Co, 10,8 Гр/мин) или гипертермии (48-56 ºС) с растворами PbI_2 различной концентрации на выживаемость диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800). Суспензию клеток помещали в хорошо прогретые растворы соли свинца или непосредственно перед облучением и выдерживали необходимое время, после чего высеивали на твёрдую питательную среду. Для оценки результатов использовали такой показатель, как выживаемость. После чего строили кривые зависимости выживаемости от дозы или продолжительности применения воздействующих агентов и рассчитывали коэффициент синергического усиления.

В результате были получены данные, подтверждающие актуальность закономерностей проявления синергизма для одновременного взаимодействия растворов PbI_2 с применяемыми физическими факторами. Не во всех случаях экспериментальные кривые выживаемости располагались ниже теоретически ожидаемых, что свидетельствует о наличие синергического взаимодействия не при любых соотношениях воздействующих факторов, а лишь в определённом диапазоне доз. В случаях проявления синергизма, зависимость коэффициент синергического усиления от дозы ионизирующего излучения или температуры носит куполообразный характер, а при оптимальном соотношении агентов наблюдается максимальное синергическое взаимодействие. Кроме того, было продемонстрировано, что при снижении интенсивности одного агента необходимо уменьшать интенсивность или концентрацию другого для обеспечения максимального синергического эффекта, что имеет особую экологическую значимость для изучения взаимодействий различных агентов окружающей среды при их малых интенсивностях.

ФАУНА КЛЕЩЕЙ НАДСЕМЕЙСТВА IXODOIDEA (ACARI: PARASITIFORMES)— ПАРАЗИТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ

Умркулова С.Х.[1], Саидова Д.Э.[2], Режаббаева Н.Л.[1]
[1]Ташкентский государственный стоматологический института, Ташкент, Узбекистан;
[2]Ташкентский фармацевтический институт, Ташкент, Узбекистан

dilfuza_saidova92@mail.ru

В Узбекистане иксоидные клещи представлены семействами *Ixodidae* Murray, 1877 и *Argasidae* Canestrini, 1890. В наземных ценозах они паразитируют на сельскохозяйственных, домашних и диких животных и являются переносчиками опасных трансмиссивных болезней животных и человека. Проводя большую часть своей жизни вне тела хозяина, изучаемые клещи, зависят от воздействия на них множества абиотических и биотических факторов. В результате нами было обнаружено 24 вида, принадлежащих к 9 родам и двум семействам - *Ixodidae* и *Argasidae*. Семейство Ixodidae представлено 18 видами, из них 17 - зарегистрированы на равнинных территориях, 13 - на предгорных и 10 - горных. Доминирующими на равнинных территориях оказались представители рода *Hyalomma.* Данный род в наших сборах составляет основной фон фауны иксодовых клещей (62.6%) и представлен 6 видами - *H. asiaticum* Schulze et Schlottke, 1929, *H. anatolicum* Koch., 1844, *H. detritum* Schutze, 1919, *H. dromedarii* Koch., 1844, *H.scupense* Schlutze, 1918 и *H. plumbeum* Panzer, 1795.

Наиболее часто встречаются паразиты сельскохозяйственных животных *H. asiaticum* (33.7%), *H. detritum* (22.6%), и *H. anatolicum* (около 20.0%). Эти виды отмечены, практически, во вех регионах Узбекистана. Наиболее высокая численность наблюдается в Южном и Центральном регионах. Сем. Argasidae в наших сборах представлено тремя родами - *Argas* Latreille, 1796, *Alveonasus* Schulze, 1941, *Ornithodoros* Koch., 1844.

В наших сборах отсутствовало значительное число видов: *Ixodes redikorzevi emberizae, Haemaphysalis numidiana turanica, H. pavlovskyi, H. concinna, Dermacentor marginatus, D. silvarum, D. nuttalli, Rhipicephalus bursa, R. rossicus, R. pumilio, R. leporis, R. schulzei, Hyalomma aegyptium, H. anatolicum excavatum, H. plumbeum impressum* и *Ornithodoros cholodkovskyi*. На наш взгляд, основным фактором ограничивающим видовой состав иксодоидных клещей на территории Узбекистана, является хозяйственная деятельность человека - масштабное освоение природных территорий, которое способствует изменению растительного покрова и мест обитаний, диких животных— прокормителей клещей.

Следует отметить роль животных-прокормителей в расселении многих видов иксодовых и аргасовых клещей на природных и урбанизированных территориях Узбекистана. Сельскохозяйственные и дикие животные, мигрируя, весьма эффективно участвуют в расселении клещей.

Комплекс видов, составляющих фауну иксодоидных клещей Узбекистана на современном этапе предполагает проведение мониторинга их численности с целью совершенствования методов борьбы с ними на конкретных территориях.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛОДЫХ ЛУГОВЫХ ЧЕКАНОВ *SAXICOLA RUBETRA* В ПОСЛЕГНЕЗДОВОЙ ПЕРИОД

Утвенко Г.А.
ФГБОУ ВО Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

ga.utvenko@gmail.com

Выживаемость молодых считается одним из ключевых демографических параметров, определяющих популяционную динамику у воробьиных птиц. При этом период между вылетом из гнезд и началом осенней миграции остается наименее изученной стадией годового цикла у большинства видов воробьиных птиц, для которой практически полностью отсутствуют сведения о верности гнездовой территории и выживаемости. Настоящая работа посвящена оценке продолжительности пребывания в окрестностях гнездовой территории, дисперсии и выживаемости молодых луговых чеканов *Saxicola rubetra* в послегнездовой период. Сбор данных проведен в июне-июле 2019 года на участке заброшенных сельскохозяйственных земель (86 га) в южной части Национального Парка «Русский Север» (Кирилловский район Вологодской области). В 28 успешно покинувших гнезда выводках было помечено цветными кольцами 165 птенцов лугового чекана (все птенцы одного выводка получили одинаковую комбинацию цветных колец). Был организован постоянный контроль перемещений меченых выводков: вся территория контрольной площадки полностью обходилась несколькими наблюдателями один раз за двое суток, все встречи с мечеными слетками фиксировались с помощью GPS-навигаторов. Всего было зафиксировано 115 встреч 22 выводков (от 1 до 15 встреч на выводок, медиана – 4). Ни одного раза не было встречено 6 из 28 выводков, еще для 6 выводков были зафиксированы только однократные встречи, что позволяет с большой долей вероятности считать их погибшими. В среднем выводки оставались на контрольной площадке 23±2 дня, смещаясь за это время на 533±64 метра от своего гнезда. По предварительной оценке, в первые 7-10 дней после выхода из гнезд погибло около 40%

выводков лугового чекана. Таким образом, наши данные подтверждают гипотезу, согласно которой максимальная смертность у открытогнездящихся воробьиных птиц приходится на несколько первых недель послегнездового периода. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 19-04-01043.

АССОЦИАТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ РАБОТНИКОВ АЗС

Хасаева А.И., Джамбетова П.М.
ФГБОУ ВО Чеченский Государственный Университет, Грозный, Россия

zalina47@bk.ru

Работники автозаправочных станций подвержены воздействию различных мутагенов или канцерогенов, в качестве которых могут выступать частицы пыли, волокна, химические вещества в форме органического или неорганического сырья, побочные продукты или иногда конечные продукты, такие как пары нефти. [1]

Микроядерный анализ в настоящее время широко используется для выявления канцерогенов и мутагенов внешней среды. Классические цитологические тесты показали, что воздействие бензола вызывает повреждение ДНК [2].

Впервые провели комплексное исследование работников автозаправочных станций с использованием цитогенетических (кариологический анализ буккальных эпителиоцитов) и молекулярно-генетических методов (полиморфизм гена Val/Val гена GSTP1).

Ассоциативный анализ частоты кариологических показателей и полиморфизма Val105Val гена показал значимые различия по доле клеток с микроядрами, протрузиями, кариопикнозом и лизисом. Частота данных показателей значимо выше у гетерозиготных носителей, по сравнению с гомозиготами по аллелю дикого типа.

Полиморфный вариант Val105Val гена GSTP1 влияет на геномную нестабильность, усиливая процессы деструкции ядра в клетках.

Литература и источники

1.Benites CI. Micronucleus test on gas station attendants. / Benites CI, Amado LL, Vianna RAP, Roth MGM //Genet Mol Res. 2006. - №5. – P. 45–54.

2.Barreto G The role of catechols and free radicals in benzene toxicity: an oxidative DNA damage pathway. / Madureira D, Capani F, Aon-Bertolino L, Saraceno E, Alvarez-Giraldez LD. // Environ Mol Mutagen, 2009. - №50. – P. 771–8.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУННОЙ РЕАКЦИИ АМФИПОД *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS* НА МИКРОФЛОРУ, ВЫДЕЛЕННУЮ ИЗ ИХ ГЕМОЛИМФЫ

Щапова Е.П.[1], Васильева У.А.[1], Назарова А.А.[1], Остяк А.С.[2], Гурков А.Н.[1], Тимофеев М.А.[1]

[1]ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет; [2]ФКУЗ Иркутский ордена трудового красного знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия

shchapova.katerina@gmail.com

Исследования беспозвоночных показали, что внутренняя среда ракообразных в норме не всегда является стерильной и у многих видов может быть населена микроорганизмами даже в отсутствие каких-либо патологических процессов в организме (Wang and Wang, 2015). Тем не менее, в стрессовых для носителя условиях данная микрофлора может активизироваться и проявлять паразитические свойства. На данный момент эндемики озера Байкал сталкиваются с глобальными климатическими изменениями и антропогенным воздействием на озеро, что требует изучения устойчивости гидробионтов к последствиям данного влияния (Semenov et. al, 2019). Ранее было показано наличие ряда культивируемых штаммов бактерий в гемолимфе эндемичных амфипод Байкала (Protasov et. al. 2020). Однако полностью неисследованным остаётся вопрос взаимодействия микрофлоры гемолимфы с иммунной системой байкальских амфипод.

В качестве объекта исследования был выбран массовый эндемичный вид амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf., 1858), обитающий в литоральной зоне озера. Для определения штаммов с поверхности хитина область прокола промывали жидкой средой TSB. Смывы с поверхности хитина и гемолимфу наносили на чашки Петри, содержащую твердую среду TSB, и инкубировали в термостате 3 недели при температуре 28-30ºС. Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью MALDI Biotyper 3.0 посредством прямого нанесения.

В ходе исследования было выделено 311 штаммов, из них 226 штаммов из гемолимфы и 85 штаммов с поверхности амфипод. Результаты идентификации микроорганизмов показали, что большая часть выделенных штаммов относятся к роду *Pseudomanas*. Для проверки иммунного ответа был выбран наиболее часто встречающийся штамм *Pseudomonas frederiksbergensis*. В качестве положительного контроля использовали клетки *Escherichia coli*.

Было показано отсутствие статистически значимых изменений в активности фенолоксидазы (ключевой фермент иммунной системы) относительно контрольной группы. Агрегация гемоцитов в присутствии *E. coli* и *P. frederiksbergensis* наблюдается в диапазоне от 30 до 80 % гемоцитов, в то время как в контроле – от 5 до 30 % уже через 1 час после начала инкубации. Таким образом, несмотря на использование штамма *P. frederiksbergensis*, выделенного из собственной гемолимфы *E. verrucosus*, наблюдали выраженный иммунный ответ, схожий с иммунным ответом на *E. coli,* не встречающимся в организме, амфипод.

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ № 19-34-90137 и гранта для научно-исследовательской работы аспирантов и молодых сотрудников ИГУ (№ 091-19-235, руководитель Назарова А.А.).

ОЦЕНКА ТРОФИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕКИ ТЕМЕРНИК ПО РАСТИТЕЛЬНЫМ ПИГМЕНТАМ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

Экилик В.С.[1,2], Павленко Л.Ф.[2], Денисова Т.В.[1]
[1]ЮФУ; [2]АЧФ ФГБНУ "ВНИРО" ("АзНИИРХ"), Ростов-на-Дону, Россия

vikwhisky@mail.ru

В настоящее время существует множество прямых и косвенных методов определения трофического статуса водных объектов. Наиболее информативным показателем среди них, на наш взгляд, являются фотосинтетические пигменты, в-частности, хлорофилл «а». Содержание этого пигмента в толще донных отложений позволяет делать выводы о многолетних изменениях, происходящих в водоеме, а также проследить историю его развития и оценивать качество воды.

Цель нашего исследования заключалась в определении концентрации хлорофилла «а» в донных отложениях реки Темерник и оценке ее трофического статуса. Протяженность реки 35.5 км, более половины из которых протекает в пределах города Ростова-на-Дону, являясь, таким образом, естественным приемником поверхностного стока с городской и прилегающих территорий.

Пробы донных отложений отбирали в осенний период 2019 года. Для отбора были выбраны 11 различных участков реки Темерник, протекающих в районах, наиболее подверженных антропогенной нагрузке. В качестве контрольной точки – устье балки Камышеваха, находящаяся за пределами города, далее ниже по течению - каскад водохранилищ (Ростовское море, Верхнее и Нижнее водохранилища), река в районе рынка Темерник, в районе церкви Сурб Хач, Змиевской балки, Ботанического сада Южного Федерального университета, автовокзала и устье реки Темерник.

Для анализа был взят верхний (1-2см) слой донных отложений согласно ГОСТ 17.1.5.01-80. Все пробы отбирали в 2 параллелях и доставляли в лабораторию для дальнейшего анализа. Растительные пигменты определяли спектрофотометрическим методом (ГОСТ 17.1.04.02-90) на спектрофотометре UV-2450 фирмы Shimadzu. Полученные результаты сравнивали с результатами 2018 года.

Во всех проанализированных пробах донных отложений концентрации хлорофилла «а» варьировали в широком диапазоне, от 55.2 мкг/г до 215.4 мкг/г, в-среднем составив 112.9 мкг/г. Таким образом, на основании проведенных исследований, можно сделать вывод о том, что трофический статус реки Темерник оценивается как эвтрофный почти на всем ее протяжении в пределах города Ростова-на-Дону. Исключение составляют участки реки в районе Верхнего и Нижнего водохранилищ, где содержание хлорофилла «а» в донных отложениях соответствует гиперэвтрофному типу водоемов. Результаты исследований согласуются с данными, полученными в 2018 году.

ВЛИЯНИЕ ДРОЖЖЕВОГО СИМБИОТИЧЕСКОГО СООБЩЕСТВА НА ПАРАМЕТРЫ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА ДРОЗОФИЛ

Яковлева Е.Ю.
МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

e.u.uakovleva@gmail.com

В ряде исследований показано, что микробиота, ассоциированная с *Drosophila melanogaster*, влияет на многие физиологические параметры макроорганизма и может способствовать его адаптации к новым условиям (Cooper, 1960; Begon, 1982; Ren et al., 2007; Anagnostou et al., 2010; Gould et al., 2018; Ивницкий и др., 2018; Dmitrieva et al., 2019). Значительное количество работ посвящено изучению бактериальной микробиоты дрозофил (Clark et al., 2015; Gould et al., 2018; Walters et al., 2018), тогда как в настоящем исследовании основное внимание уделено дрожжевой составляющей, т.к. дрожжи - один из основных источников питания дрозофил на личиночной и имагинальной стадиях жизненного цикла (Cooper, 1960; Begon, 1982; Chippindale et al., 1993; Anagnostou et al., 2010).

Мы оценили влияние дрожжевого симбиотического сообщества, а также отдельных видов дрожжей на параметры жизненного цикла (ЖЦ) дрозофил путем сопоставления продолжительности жизни (ПЖ), возрастной динамики плодовитости и смертности в линии мух, лишенных дрожжевого компонента микробиоты (линия Мбд), и контрольной линии (линия Мн). В эксперименте использовались дрожжи *Starmerella bacillaris* (т.к. они доминируют в микробиоме мух, адаптированных к соленому субстрату и, скорее всего, способствуют данной адаптации (Ивницкий и др., 2018)), *Zygosaccharomyces bailii* (доминирует в дрожжевом сообществе контрольных мух) и *Saccharomyces cerevisiae* (пекарские дрожжи используются в качестве контроля, т.к. редко встречаются в микробиоме дрозофил (Hoang et al., 2015), но входят в состав питательной среды). Такой выбор видов дрожжей позволяет понять, имеет ли значение, что те или иные дрожи типичны для данной линии мух или для дрозофил в целом.

Нами показано, что снижение количества дрожжей, как на субстрате, так и на поверхности тела и в кишечнике мухи, ведет к росту средней ПЖ и снижению плодовитости (при культивировании мух на стандартном богатом субстрате), а разные виды дрожжей могут по-разному влиять на параметры ЖЦ. Это согласуется с гипотезой о компромиссе между ПЖ и плодовитостью, лежащей в основе теории «одноразовой сомы». В то же время рост ПЖ не компенсирует снижение плодовитости (а значит, и приспособленности). Таким образом, в условиях эксперимента высокая численность дрожжей в целом повышает приспособленность мух, хотя и ускоряет их старение. Возможно, именно поэтому в эволюции сложились тесные взаимоотношения между дрозофилами и их микробиотой. Такие взаимосвязи правомерно рассматривать с позиции хологеномной эволюционной теории.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-04-00915).

СКРИНИНГ КОДИРУЮЩЕГО РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ТЕТРАЦИКЛИНУ ГЕНА tetM У БАКТЕРИЙ ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОТОПОВ РОДА BACILLUS

Адельгареева А.М.[1], Чижкова А.П.[1], Галяутдинова Ю.А.[1], Петрова Д.Д.[2,3], Гатауллина А.И.[2,3], Стариков С.Н.[4]

[1]Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия; [2]Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, г. Уфа, Россия; [3]Учебно-научный центр БГПУ им. М. Акмуллы и УИБ УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия; [4]Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, г. Уфа, Россия

lookwhatifound96@mail.ru

Наблюдаемая в настоящее время тревожная тенденция увеличения в микробных популяциях пула генов резистентности к тетрациклинам обуславливает высокую актуальность скрининга резистома различных экосистем, включая техногенные. Известно, что большинство определяющих устойчивость к тетрациклину бактериальных генов tet кодируют два механизма резистентности: отток молекул антибиотика или рибосомную защиту. Контролируемая геном tetM рибосомная защита реализуется через синтез белка, подобного фактору элонгации G, связывающегося с 30S субъединицей рибосомы, не препятствуя синтезу белков и не давая тетрациклину ингибировать этот синтез.

Целью настоящего исследования являлся скрининг кодирующего резистентность к тетрациклину гена tetM у бактерий промышленных экотопов.

В качестве объектов использовались почвенные бактерии промышленной экосистемы Уфимского промузла РБ. Классификация штаммов и определение физиолого-биохимических свойства, в том числе чувствительность к антибиотикам, были осуществлены ранее (Жарикова и др., 2011; Маркушева и др., 2011; Федорова и др., 2011). Для скрининга генов tetM применялся набор РЕЗИСТОМ tetM (НПФ «Литех», г. Москва). В качестве матрицы использовались лизаты бактериальных клеток. ПЦР проводили на термоциклере TC 2720 (Applied biosystems, США) в предложенных производителем условиях: предварительная денатурация при 93°С в течение 30 сек, далее следовали 35 циклов денатурации 93°С - 10 сек, отжига при 57° С - 10 сек и элонгации при 68° С - 30 сек с последующей финальной элонгацией при 68° С-1 мин. По завершении реакции ДНК фракционировали в 1,5%-ном агарозном геле и визуализировали при 280 нм. Заключение о наличии tetM делали при обнаружении целевого амплификата 407 п.н., устанавливаемого по маркеру в диапазоне от 100 п.н. до 1000 п.н.

В результате ПЦР детекции гена tetM у одного из изолятов рода Bacillus была обнаружена последовательность, подобная последовательности гена tetM. По данным NCBI присутствие гена tetM отмечалось в геномах штаммов родов *Anaerostipes, Clostridium, Enterococcus, Escherichia, Holdemania, Lactobacillus, Neisseria, Photobacterium, Staphylococcus, Streptococcus,* в то время как среди представителей рода Bacillus ранее он не обнаруживался. Проведенные исследования раскрывают особенности организации антибиотикорезистентности бактерий техносферы и могут быть применены в разработках методов ее ремедиации.

БИОДЕГРАДАЦИЯ РЯДА СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА КУЛЬТУРОЙ ASPERGILLUS NIGER AM1

Акосах Й.А.[1], Миндубаев А.З.[2], Бабынин Э.В.[1], Бадеева Е.К.[2]

[1]Институт фундаментальной медицины и биологии при КФУ, г. Казань, Россия; [2]Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

mindubaev-az@yandex.ru

До настоящего времени единственным веществом, биодеградацию которого мы исследовали, был белый фосфор. Несмотря на достигнутые успехи, очевидно, что для практического использования создаваемого нами метода биодеградации необходимо, чтобы он охватывал достаточно широкий спектр химических продуктов. Тем более, выглядит вполне обоснованным предположение, что микроорганизмы, метаболизирующие белый фосфор, должны перерабатывать и ряд продуктов его превращений.

Мы проверяем это предположение, наблюдая рост исследуемого штамма черного аспергилла в средах, содержащих фосфорсодержащие соединения различных классов. Среди них гипофосфит, фосфит, органические фосфонаты и фосфинат, эфир и амид фосфорной кислоты, эфир дитиофосфорной кислоты, фосфорномолибденовая кислота, красный фосфор. В ходе экспериментов выяснилось, что гриб A. niger AM1 растет, используя в качестве источника фосфора некоторые из этих соединений. Хотя в присутствии более доступного источника фосфора – фосфата – рост, как правило, происходит значительно интенсивнее.

Нужно отметить, что предсказать, на каких веществах будет развиваться аспергилл, а на каких нет, оказалось непросто. В случае фосфонатов, содержащих связь фосфор-углерод, одно из исследуемых веществ (нитрилотриметилфосфоновая кислота) поддерживает рост гриба, другое (гидроксиэтилидендифосфоновая кислота) нет. Неожиданностью оказалась высокая токсичность триэтилфосфата – из всех исследованных веществ он легче других должен метаболизировать до фосфата, естественного источника фосфора для микроорганизмов. С другой стороны, именно структурное сходство с фосфорной кислотой может быть причиной угнетения роста. Мы не ожидали рост в среде с красным фосфором в качестве источника фосфора – нерастворимость в водных средах не стала помехой для роста микроорганизма. Вызывает удивление способность аспергилла расти в среде с замещенным дитиофосфатом, созданным специально для исследования его противомикробной активности. Также, неожиданным и интересным фактом стало резкое увеличение токсичности белого фосфора после растворения его в оливковом масле.

Между тем, мы изучили еще далеко не все разнообразие фосфорных соединений. Одним словом, работа в этом направлении еще не завершена, и в дальнейшем можно ожидать новые интересные факты.

ГАЛОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ РОДА SALINISPHAERA, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ СОЛЯНОЙ ШАХТЫ (ВЕРХНЕКАМСКОЕ МЕСТОРОЖДЕНИЕ)

Алеев В.С.[1], Пьянкова А.А.[2], Плотникова Е.Г.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; [2]Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

v1.vvv132@yandex.ru

В настоящее время род *Salinisphaera* (класс *Gammaproteobacteria,* порядок *Chromatiales,* семейство *Halothiobacillaceae*) включает в себя 7 видов галофильных бактерий, выделенных из морской воды и морских донных отложений, за исключением штамма *Salinisphaera halophila* YIM95161^T, изолированного из рассола соляной скважины (провинция Юньнань, Китай).

В результате исследований микробного сообщества рассолов и глинистых отложений соляной шахты (Верхнекамское месторождение солей, г. Соликамск) были выделены галофильные бактерии. Идентификация на основе анализа генов 16S рРНК показала принадлежность изолятов семейству *Halomonadaceae* (роды *Halomonas, Chromohalobacter*), а также семейству *Halothiobacillaceae* (род *Salinisphaera*).

Цель работы: таксономическая и эколого-физиологическая характеристика новых бактерий рода *Salinisphaera*, выделенных из соляной шахты (Верхнекамское месторождение солей).

Исследуемые штаммы (обозначенные SHV1, SHV2 и SVW1), были изолированы методом прямого высева на агаризованную богатую среду Раймонда (БСР) с содержанием 150 г/л NaCl. Штамм SHV1 выделен из глины рассолоотводящей выработки, штаммы SHV2 и SVW3 — из глины выемочного штрека соляной шахты (г. Соликамск). Общая минерализация образцов составляла около 170 г/дм^3, pH 6.9. При росте на БСР штаммы формировали округлые, блестящие, непрозрачные колонии желтоватого цвета, размером 3-5 мм, с ровным краем, гладкой поверхностью с концентрическими кругами, выпуклым профилем и однородной структурой.

В результате анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК (около 900 п.н.) было установлено, что штамм SHV1 имел наибольший уровень сходства 99.89% с *Salinisphaera hydrothermalis* EPR70^T, штаммы SHV2 и SWV1 имели сходство с *Salinisphaera hydrothermalis* EPR70^T на уровне 96.62%.

Штамм SHV1 способен расти при содержании 30-270 г/л NaCl в среде БСР, pH 6.0-7.0 (оптимум: 30-150 г/л NaCl; pH 6.0; 28°C). Штаммы SHV2 и SWV1 способны расти на БСР с содержанием соли 30-300 г/л, pH 6.0-7.0 и при температуре 5-40°C (оптимум: 30-150 г/л NaCl; pH 6.0; 28°C).

Таким образом, в микробном сообществе глинистых отложений соляной шахты Верхнекамского месторождения солей (г. Соликамск) обнаружены галофильные бактерии рода *Salinisphaera*. Изоляты SHV2 и SWV1, предположительно, представляют новые таксономические единицы. Исследование выделенных штаммов будет продолжено.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290008-4.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НОВЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ-СИМБИОНТОВ ЛЮЦЕРНЫ

Альсаед Н.Н.
Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

nooranooranooa92@gmail.com

Повышение плодородия почвы является одной из важнейших задач современной агрономической науки. Микроорганизмы играют существенную роль в минеральном питании растений, в том числе – в биологической азотфиксации. Несмотря на значительные успехи ученых, достигнутые в исследованиях по данной проблеме, практическое использование эффективных растительно-микробных систем остается пока на низком уровне [1].

Мы использовали 5 штаммов бактерии *Sinorhizobium meliloti* (unt1, unt2, unt3, unt4 и unt5) из клубеньков люцерны посевной (Узбекистан) и растения люцерны посевной (*Medicago polymorpha*) сортов Воронежская, Агния и Таисия. Мы изучали влияние соли NaCl в различных концентрации на рост штаммов. Ночную культуру бактерий вносили в пробирки (по три пробирки для каждого штамма) с 3 мл жидкой среды TY, содержащей 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 и 0.8 мг/л NaCl, до достижения оптической плотности культуры OD_{600}=0.005, и инкубировали при 28°C на лабораторной качалке (180 об./мин) в течение 3 суток. Тип солеустойчивости штаммов определяли, исходя из оптической плотности (OD_{600}) трехдневной культуры ризобий. Кроме того, определяли влияние NaCl (в перечисленных концентрациях) на высоту люцерны (Воронежская, Агния, Таисия). Мы экспериментировали с отбором эффективных штаммов клубеньковых бактерий с целью получения стабильно высоких урожаев. Таким образом, были заложены опыты по инокуляции семян бактериальными препаратами на основе штаммов unt1, unt2, unt3, unt4 и unt5. Установлено, что инокуляция увеличивает побегообразовательную способность люцерны посевной сортов Агния, Таисия и Воронежская.

Литература:

1. Атласова, Л.Г. Симбиотическая деятельность клубеньковых бактерий сортов и селекционных линий люцерны в условиях Центральной Якутии // Научные ведомости. Серия естественные науки. – 2011. – Т.104, № 9.– С. 100-104.

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА БИОПРЕПАРАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ И КИСЛОТНОСТИ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

Астахов М.М., Козицын А.Е., Асатурова А.М.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар, Россия

astahov.91@inbox.ru

Биологическая защита растений, на современном этапе развития, наиболее интенсивно внедряется в программы по защите сельскохозяйственных культур, особенно в рамках интегрированной защиты растений. Данная стратегия позволяет минимизировать загрязнение почвы и продуктов питания пестицидами, а также, в некоторой степени уменьшить затраты на средства защиты.

Любое биотехнологическое производство нацелено на оптимизацию получения

целевого продукта. В случае производства биофунгицидов, на основе бактерий-антагонистов, целью ферментации является получение высокого титра клеток и максимальной концентрации антифунгальных веществ. Описанные задачи возможно решить посредством оптимизации состава питательной среды и условий культивирования.

Объектом исследования являлся экспериментальный образец препарата на основе штамма *Bacillus subtilis* BZR 336g – перспективный агент в подавлении грибных фитопатогенов зерновых и плодовых культур, выбранный из БРК «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» ФГБНУ ВНИИБЗР.

Цель исследования - оптимизация температуры культивирования и кислотности питательной среды для получения биопрепарата, обладающего высоким титром и эффективностью в подавлении фитопатогенов. Антифунгальная активность полученного образца биопрепарата оценивалась на тестовом грибе *Fusarium graminearum*.

В процессе реализации работ использовалась материально-техническая база УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (реестровый № 671367).

Культивирование проводили на двух пилотных биореакторах полезным объёмом 100 и 150 л. Титр бактериальных клеток определялся методом Коха. Антифунгальная активность оценивалась с помощью метода агаровых блоков. Кислотность поддерживалась на уровнях: 6,0; 6,5; 7,0; 7,5, учитывая особенности метаболизма бактериальных клеток, способных подкислять среду в процессе периодического культивирования. Температура процесса ферментации: 20°C, 25°C и 30°C.

По результатам работы был выявлен оптимальный уровень pH среды при культивировании *B. subtilis* BZR 336g - 6,0. Однако антифунгальная активность была приблизительно равной в диапазоне от 6,0 до 7,0. Подщелачивание среды до 7,5 приводило к резкому снижению антифунгальной активности, что говорит о необходимости контроля и поддержания кислотности. Оптимальная температура культивирования, при которой штамм наиболее эффективно подавляет рост патогена - 25°C, при показателях титра бактериальных клеток 3*10^{9} КОЕ/мл.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ЭСПАРЦЕТА ПЕСЧАНОГО, КОЗЛЯТНИКА ВОСТОЧНОГО И ЛЕВЗЕИ САФЛОРОВИДНОЙ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ У БАКТЕРИЙ ESCHERICHIA COLI

Безматерных К.В.[1], Самойлова З.Ю.[1], Смирнова Г.В.[1], Октябрьский О.Н.[1], Матолинец Н.Н.[2], Волошин В.А.[2]

[1]Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия; [2]Пермский научно-исследовательский институт сельского хозяйства-филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

hydrargyrum200.59@gmail.com

Сессильные бактериальные сообщества (биопленки) играют важную роль в экосистемах кишечника и вносят вклад в состояние здоровья организма-хозяина. Патогенные бактерии, продуцирующие биопленки, представляют повышенную опасность в связи с их устойчивостью к антимикробным препаратам. Поэтому изучение факторов и поиск агентов, влияющих на биопленкообразование, привлекает внимание исследователей. Мы изучили влияние на формирование биопленок *E. coli* экстрактов эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria Kit.*), козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) и левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides Willd.*), которые являются кормовыми культурами в животноводстве, так же используются в фармацевтике и

народной медицине. Методом ВЭЖХ в составе экстрактов нами были выявлены танин, флавоноиды и их гликозиды (катехин, эпигаллокатехин галлат, рутин, гиперозид, изокверцетин, никотифлорин, нарингин, нарингенин, кемпферол), а также галловая, кофейная и кумаровая кислоты. Экстракт левзеи также содержал экдистероид 20-гидроксиэкдизон. Общее количество фенольных соединений составляло 32,8±0,7, 41,6±1,3 и 18,5±0,9 мг (GAE)/г сухого веса для левзеи, эспарцета и козлятника соответственно. При внесении в растущие культуры *E. coli* экстракты не влияли на скорость роста бактерий и экспрессию компонента SOS-системы гена sulA, но повышали экспрессию антиоксидантных генов katG,sodA и katE.

Все изученные экстракты дозозависимо снижали способность *E. coli* к образованию биопленок. При концентрации экстрактов 100 мкг/мл количество биопленок по отношению к необработанной культуре снижалось в 4, 3,5 и 1,4 раза для козлятника, левзеи и эспарцета соответственно. Таниновая и галловая кислоты, входящие в состав исследуемых экстрактов, напротив, стимулировали образование биопленок. В концентрациях 2 мг/мл для галловой кислоты и 0,5 мг/мл для таниновой кислоты, эти фенольные соединения оказывали бактерицидное действие, уменьшая общее число колониеобразующих единиц (КОЕ) в планктоне над биопленками и в биопленках в 2 раза по сравнению с необработанной культурой. Однако экстракты всех изученных растений не подавляли рост бактерий в диапазоне концентраций 0,1-5,0 мг/мл. По-видимому, стимуляция образования биопленок в присутствии галловой и таниновой кислот может быть адаптивным ответом на стресс, вызываемый этими соединениями. Причины подавления образования биопленок в присутствии экстрактов эспарцета, козлятника и левзеи представляют большой интерес и нуждаются в дальнейшем исследовании.

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием АААА-А19-119112290009-1 и поддержана грантом РФФИ-урал № 19-44-590009 и грантом Президента РФ для молодых ученых №МК-420.2020.4.

ЦИРКУЛЯЦИЯ ГРИППА И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ КАЗАХСТАНА В 2018-2019 ГГ.

Баймухаметова А.М., Онгарбаева Н.С., Сактаганов Н.Т., Шаменова М.Г., Глебова Т.И., Лукманова Г.В., Кливлеева Н.Г.

ТОО "Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии", г. Алматы, Казахстан

A_baimukhametova@mail.ru

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), включая грипп, составляют основную часть всей мировой инфекционной заболеваемости и, несмотря на огромное к ним внимание, продолжают являться нерешенной проблемой. Эпидемии гриппа остаются непредсказуемыми, а время их возникновения и структура очередного штамма вируса практически непрогнозируемы.

Для изучения эпидемической ситуации в Южном регионе Казахстана в 2018 – 2019 гг. от людей, обратившихся в лечебные учреждения с диагнозами «ОРВИ», «ОРЗ», «грипп», «пневмония», проведен сбор клинических образцов в соответствии с рекомендациями ВОЗ. Всего получено 690 биопроб, из которых 340 образцов собрано в Алматинской, 300 проб – в Кызылординской, 50 смывов - в Туркестанской областях.

Молекулярно-генетическое исследование клинических образцов на наличие вируса гриппа и ОРВИ проводили в РТ-ПЦР с применением наборов реагентов производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, РФ). Генетический материал вируса гриппа обнаружен в 168 носоглоточных смывах (24,3% от общего числа

обследованных проб). РНК вируса гриппа А выявлена в 158 образцах (94,04%), вируса гриппа В – в двух смывах (1,1%). Субтипирование позволило обнаружить РНК вируса гриппа A/H1N1pdm в 102 пробах (60,1%), вируса A/H3N2 – в 56 пробах (33,3%).

Таким образом, в результате первичного скрининга клинических образцов в РТ-ПЦР в Южном регионе Казахстана выявлена циркуляция вирусов гриппа А и В с преобладанием субтипа A/H1N1.

При исследовании клинических образцов на наличие генетического материала возбудителей ОРВИ, положительный результат получен в 232 образцах (44,4 % от общего числа). РНК респираторно-синцитиального вируса обнаружена в 150 пробах (64,5% от общего количества исследованных образцов), риновируса – в 40 (17,2%), метапневмовируса – в 18 образцах (7,7 %), аденовируса – в девяти (3,8 %), парагриппа 1/3 типа - в восьми образцах (1,53%), коронавируса – в пяти смывах (1,5%). РНК бокавируса выявлена в двух (1,3 %) образцах.

Таким образом, в результате первичного скрининга клинических образцов в РТ-ПЦР, в Южном регионе Каазхстана выявлена циркуляция возбудителей ОРВИ с преобладанием респираторно-синцитиальной инфекции, на долю которой пришлось более половины положительных проб.

МИКРОФЛОРА НЕФТЯНЫХ ШЛАМОВ КАК ИСТОЧНИК ПЕРСПЕКТИВНЫХ БАКТЕРИЙ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ

Белкина Д.Д., Худокормов А.А., Карасёва Э.В.
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

belkk.dasha@yandex.ru

Нефтесодержащие отходы являются весомыми загрязнителями окружающей среды, главным образом потому, что занимают значительные площади для хранения, на которых становится невозможным осуществление хозяйственной деятельности. Наибольший вклад в эту проблему вносят твёрдые и пастообразные отходы, называемые нефтешламами, с трудом поддающиеся переработке и вторичному использованию. В результате концентрирования нефтесодержащих отходов на территории шламонакопителя создаются неблагоприятные условия для самовосстановления системы. Вместе с тем, обнаруживающиеся в шламах микроорганизмы, как правило, приспособлены к существованию при высоких концентрациях нефти и использованию её в качестве питательного субстрата, что делает возможным их применение в целях биоремедиации нефтяных загрязнений.

Объектом данного исследования были шламы с территории Ставропольского края, представленные в виде трёх проб, различающихся по глубине отбора (0-90 см) и концентрации нефти (422-721 г/кг). Согласно хроматографическому анализу, 41% в исследуемых шламах составляли углеводороды ряда С19-С22, относящиеся к тяжёлым фракциям.

По итогам проведённых посевов определена численность микроорганизмов в данных шламах. В образце с наибольшим содержанием нефти (721 г/кг) обнаружено $1,5*10^5$ КОЕ/г, что в 10-1000 раз меньше, чем содержится в почве. В пробе с меньшим содержанием нефти (422 г/кг) насчитано $5,9*10^6$ КОЕ/г, этот показатель сравним с количеством микроорганизмов в самых бедных почвенных экосистемах. Суммарно из образцов шламов было выделено 26 изолятов: 4 формы плесневых грибов, 1 штамм дрожжей, 21 штамм бактерий. Среди них 9 штаммов обладали нефтеокисляющей активностью, что было установлено путём посева на минеральную среду с добавлением 1% нефти.

Идентификация нефтедеструкторов проводилась по морфологическим,

культуральным, тинкториальным свойствам, а также при помощи метода матрично активированной лазерной десорбции и ионизации (МАЛДИ). В результате упомянутые штаммы были идентифицированы как *Aspergillus sp., Candida sp., Bacillus licheniformis, Bacillus cereus, Arthrobacter sulfonivorans*, 4 штамма неспорообразующих палочковидных бактерий.

Таким образом, почти треть обнаруженных штаммов проявляла выраженные нефтеокисляющие свойства. Представляется перспективным их дальнейшее изучение и использование в целях биоремедиации нефтяных загрязнений в составе биопрепаратов, ускоряющих процессы естественного разложения нефти в почвенной экосистеме.

ЧЕЛОВЕК И СОПУТСТВУЮЩЕЕ ЕМУ МИКРОБНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ В ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ

Берестина А.В., Бахвалов А.В.
ИАТЭ НИЯУ «МИФИ», г. Обнинск, Россия

aberestina@mail.ru

Известно, что основным источником микробного загрязнения чистых помещений является персонал. Так, 90% обнаруживаемых в чистых помещениях микроорганизмов – грамположительные кокки (представители родов *Staphylococcus* и *Micrococcus*), обитающие на коже человека [2].

Объектом исследования является Модуль учебных чистых помещений класса чистоты D ИАТЭ НИЯУ «МИФИ» (Обнинск). Цель – изучить характерную для Модуля микрофлору. Полученные данные позволят установить источники микробного загрязнения и предложить эффективные способы борьбы с ним.

Отбор с поверхностей осуществлялся в 11 точках методом отпечатка на контактные чашки. Отбор осуществлялся во время производственного процесса с разным количеством работающего персонала (5, 8 и 12 человек), без производственного процесса в присутствии персонала (9 человек), спустя 20-30 минут после выхода персонала, а также после проведения очистки помещений (присутствовало 2 человека). Отбор проб воздуха выполнялся аспирационным и седиментационным методами в 6 точках. Использовался триптонно-соевый агар для выделения бактерий и декстрозный агар Сабуро для выделения дрожжей и грибов. Пробы инкубировались в течение 5 суток. Затем выполнялась идентификация выделенных бактерий с помощью биохимических тест-систем [1].

По результатам исследования идентифицировано 26 видов микроорганизмов, 13 из которых – представители родов *Staphylococcus* и *Micrococcus*. В среднем доля грамположительных кокков от общего числа микроорганизмов составила 87,7%, грамположительных палочек – 0,7%, грамотрицательных палочек – 3,1%, плесневых грибов – 8,5%.

Наибольшее значение по содержанию грамположительных кокков получено при отборе воздуха седиментационным методом (92,7%), что обусловлено осаждением частиц кожи персонала на чашки с питательной средой. Также наибольшее количество грамположительных кокков выделено на этапах отбора во время производственного процесса при работе 12 человек (96,9%) и после очистки (94,7%). На этапе отбора после очистки влияние производственного процесса и сопутствующего ему выделения частиц сырья исключено. Полученные результаты подтверждают, что даже минимальное количество персонала вносит значительный вклад в микробное загрязнение чистых помещений. С увеличением количества персонала, количество грамположительных кокков в помещении может резко возрастать.

Литература:

1. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIV изд. – Т.1. – Москва, 2018. – 1814 с.
2. Федотов А.Е. Чистые помещения // М., Асинком. – 2015. – 512 с.

ПРОДУКТИВНОСТЬ БИОМАССЫ И ОБРАЗОВАНИЕ ЛИПИДОВ У СТРЕПТОМИЦЕТОВ НА СРЕДАХ СЛОЖНОГО СОСТАВА

Васильчук А.В.[1], **Бырса М.Н.**[1], **Березюк Ю.Н.**[2], **Гарбузняк А.А.**[3], **Караман М.А.**[4]

[1]Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Молдова; [2]Приднестровский Государственный университет им. Т.Г.Шевченко, Тирасполь, Приднестровье; [3]Институт физиологии и санокреатологии АНМ, Кишинев, Молдова; [4]Научно-практический институт биотехнологий в зоотехнии и ветеринарной медицине, с. Максимовка, Молдова

vasilchuk2009@mail.ru

Стрептомицеты, как наиболее широко распространенные в природе представители актинобактерий, отличаются от других способностью к образованию множества физиологически активных веществ: антибиотиков, ферментов, витаминов, аминокислот, липидов, фитогормонов и пр., стимулирующих рост и развитие сельскохозяйственных животных и растений.

У штаммов, хранящихся в Национальной коллекции непатогенных микроорганизмов и выделенных из почвенных образцов центральной части Республики Молдова, определяли способность накапливать биомассу и синтезировать липиды в процессе культивирования на различных комплексных средах и с добавлением к ним препаратов цианобактериальной природы (BioR и PSS_{Zn}). В результате проведенных исследований установлено, что при культивировании на среде М-I (основной источник углерода – кукурузная мука) выход биомассы у штаммов *S. canosus* CNMN-Ac-02, *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, *S. levoris* CNMN-Ac-01 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 варьировал от 7,18 г/л до 14,15 г/л, а количество липидов в ней – от 4,96% до 15,14%.

Добавление в среду М-I препарата BioR (20%) увеличивало выход биомассы у S. canosus CNMN-Ac-02 на 18,38% и на 18,2% при добавлении BioR (0,1%) при культивировании *S. fradiae* CNMN-Ac-11. Количество общих липидов увеличилось на 38,36%, только у *S. canosus* CNMN-Ac-02. Добавление в среду PSS_{Zn} (30%) у *S. canosus* CNMN-Ac-02 увеличило выход биомассы на 69,3% и на 12,1% у *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (в концентрации 10%).

Культивирование стрептомицетов на другой комплексной среде SP-I (основной источник углерода – соевая и кукурузная мука) способствовало образованию биомассы у *S. fradiae* CNMN-Ac-11 до 5,95 г/л, а у *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 до 12,3 г/л, с содержанием в ней липидов до 19,5% у *S. fradiae* CNMN-Ac-11 и до 15,8% у S. massasporeus CNMN-Ac-06.

Замечены изменения в количественном составе основных липидных фракций (фосфолипиды, стерины, триглицериды) при добавлении в среду веществ цианобактериальной природы.

Таким образом, проведенные исследования показали, что состав среды играет существенную роль в продуктивности биомассы и липидов у изучаемых штаммов. Количество важных физиологических фракций можно увеличить, культивируя эти штаммы на комплексных средах с добавлением веществ цианобактериальной природы или с добавлением фосфата калия (для увеличения количества фракции фосфолипидов).

АНАЛИЗ ЗАРАЖЕННОСТИ КЛЕЩЕЙ DERMACENTER RETICULATUS (PARASITIFORMES, IXODIDAE) ПИРОПЛАЗМАМИ (БАБЕЗИЯМИ) НА ТЕРРИТОРИИ КУЗНЕЦКОЙ КОТЛОВИНЫ

Вдовина Е.Д., Щетникова Е.А., Носков М.А.
ФБГОУ ВО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

vdovina_ed@gkl-kemerovo.ru

Пироплазмоз (бабезиоз) - кровопаразитарное заболевание, вызываемое протистами *Babesia canis* (Piana & Galli-Valerio, 1895). Переносчиками данного заболевания являются клещи семейства Ixodidae. Специфичным переносчиком для Западно-Сибирского региона является луговой клещ *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794. По литературным данным таёжные клещи *Ixodes persulcatus* (Pomerantsev, 1946) не участвует в распространении *Babesia canis*, роль *Ixodes pavlovskyi* (Pomerantsev, 1946) слабо изучена.

В последнее время на территории Кузнецкой котловины (Кемеровская область) остро встала проблема пироплазмоза, отмечается рост заболеваний среди домашних собак, не покидающих пределы города. За последние 5 лет число обращений в ветеринарные клиники владельцев зараженных собак увеличилось в 3 раза. В то же время функционирование очага заболевания в селитебной зоне до сих пор практически не изучено.

Материалом для исследования послужили клещи, собранные в течении весеннее-осенних сезонов 2018-2019 годов на юго-восточной и юго-западной окраине г. Кемерово (север Кузнецкой котловины), а также в юго-западной части г. Новокузнецка (юг Кузнецкой котловины). Для сбора материала использовали стандартную методику учета на флаг. Выделение ДНК проводили стандартным фенол-хлороформным методом. Анализ зараженности клещей бабезиями проводили с помощью RealTime PCR с использованием коммерческого набора праймеров GenPak DNA PCR test и мастер-микса BiolabMix SYBR Green. Для оценки частоты обращений хозяев с собаками, больных бабезиозом, использовали данные ГБУ Кемеровской областной станции по борьбе с болезнями животных за 2018–2019 гг. В целях статистической оценки закономерностей носительства клещами *Babesia canis* в зависимости от географического района рассчитывали χ^2.

В результате исследования отмечено, что распространение D. reticulatus мозаично, вероятно в связи с тем, что территория Кемеровской области представлена разными типами ландшафта. Наибольшая плотность клещей наблюдается в лесостепной зоне в окрестностях населенных пунктов. Средняя относительная плотность по территории Кемеровской области достигала 38 ос./км2, а максимум в 73 ос./км2 наблюдался на юго-западной окраине г. Кемерово.

Первые случаи пироплазмоза у собак наблюдались в конце апреля – начале мая, последние – в начале ноября, пик обращений в ветеринарные клиники отмечался в августе–сентябре, что совпадает с пиками активности имагинальной фазы луговых клещей.

Статистически достоверные различия в инфицированнности клещей выявлены между выборками с юго-восточной (17,3%) и с юго-западной (3,9%) окраин г. Кемерово ($P<0,01$, $\chi2=8,29$), а также между выборками с юго-запада г. Новокузнецка (6,5%) и юго-восточной окраины г. Кемерово (17,3%) ($P<0,05$, $\chi2=4,40$). В результате видоспецифического ПЦР анализа отмечено что все зараженные клещи являлись носителями *Babesia canis*.

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР ВОДЫ И СЕДИМЕНТОВ ФИНСКОГО ЗАЛИВА НА АЛИФАТИЧЕСКИХ И АРОМАТИЧЕСКИХ СУБСТРАТАХ

Винникова К.С.[1,2], **Сазонова О.И.**[1], **Гафаров А.Б.**[1], **Делеган Я.А.**[1], **Соколов С.Л.**[1]

[1]ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия; [2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

vinnikova96@mail.ru

Нефть - это стойкий загрязнитель окружающей среды, т.к. в ней содержатся устойчивые к разложению поли- и моно- ароматические углеводороды. Они являются группой повсеместно распространенных стойких загрязнителей, в том числе в воде и седиментах Балтийского моря. Основную роль в деградации ПАУ играют микробные популяции. Наиболее перспективным направлением в восстановлении нефтезагрязненных объектов является применение биологических методов, основанных на использовании углеводородокисляющих микроорганизмов, ускоряющих разложение нефти и нефтепродуктов, не нанося при этом ущерба экосистеме. Целью данной работы является изучение микробных сообществ воды и седиментов Финского залива, устойчивых к различным поли- и моно- циклическим ароматическим углеводородам.

В данной работе использовали тотальную геномную ДНК микроорганизмов, выделенную из накопительных культур на различных источниках-загрязнителях из зимних и летних проб морской воды и седиментов Финского залива. В качестве субстратов использовали (в г/л): нефть – 3, дизель – 5, БТЭК – 5, нафталин и фенантрен – 1. Препараты тотальной ДНК использовали для секвенирования вариабельной области V3-V4 генов 16S рДНК с помощью праймеров 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' и 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'. Полученные риды были объединены программой Fasta36 в файлы формата fastq. При помощи программного обеспечения dada2 осуществлена проверка качества и фильтрация полученных файлов от коротких и химерных последовательностей. Разнообразие бактериальных сообществ в полученных образцах оценивали по количеству выделенных OTE, для летних образцов оно составляло около 400 видов, для зимних — 350 видов. В исследованном материале преобладали бактерии двух типов: Proteobacteria и Bacteroidetes, 60,2 и 13,4% соответственно. Также встречались представители типов Firmicutes, Actinobacteria. В образцах, полученных зимой, преобладали представители видов *Pseudomonas resinovorans, Burkholderia multivorans, P. putida, P. stutzeri*. Летом наиболее многочисленными были *Acinetobacter baumannii, Serratia marcesce, Achromobacter xylosoxidans*. В летний период в образцах воды значительно преобладает A. baumannii (57,2%), в седиментах – *Brevibacillus brevis* (37,2%) и *A. xylosoxidans* (41,3%). В зимний период в образцах воды преобладали *P. fluorescens* (34%), *P. resinovorans* (21,7%) и *B. multivorans* (12,3%), в седиментах – *Stenotrophomonas maltophilia* (45,6%) и *B. multivorans* (23,8%).

НОВЫЕ ШТАММЫ LACTOBACILLUS С ПРОБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ

Гаврилова Е.А.[1], **Каюмов А.Р.**[1], **Анисимова Е.А.**[1], **Никитина Е.В.**[2], **Ефлова Д.С.**[3]

[1]ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; [2]ФГБОУ ВО «КНИТУ», Казань, Россия; [3]ОШИ "Лицей им. Н.И. Лобачевского" КФУ, Казань, Россия

Alalila@yandex.ru

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 *Lactobacillus plantarum* на основе последовательности гена 16S рРНК. Далее данные штаммы были протестированы на антагонистическую активность против E.coli и S.aureus в составе биопленки и был выбран штамм, проявивший лучшую антагонистическую активность – AG10. Целью работы было охарактеризовать антагонистическую активность штамма AG10 с *E.coli* и *S.aureus* в молоке. В качестве контроля выступали *L.bulgaricus* и *L. plantarum* 8PA3. Для получения ночной культуры клетки *E.coli, S.aureus* засевали в пробирки в 2 мл среды LB, лактобациллы засевали в пробирки в 2 мл жидкой MRS с добавлением 1 мл глюкозы и культивировали при 37°C. Далее готовили закваску. Для этого в пробирки с 5 мл 0,05% молока добавляли ночную культуру лактобацилл и культивировали в течение суток при температуре 37°C. Далее на 1, 3, 7, 21-ые сутки мы производили подсчет КОЕ и измеряли pH среды. Было показано подавление штаммом лактобацилл клеток E.coli. Таким образом, новый штамм лактобацилл представляет интерес для производства новых пробиотиков и использования в сельскохозяйственной и молочнокислой промышленности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ1 20-016-00025 комфи.

АМИЛОИДОГЕННЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДОВ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОСНОВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ БЕЛКА bS1 ИЗ THERMUS THERMOPHILUS

Курпе С.Р.[1,2], Гришин С.Ю.[2], Джус У.Ф.[2], Селиванова О.М.[2], Глякина А.В.[2,3], Сурин А.К.[2,4], Галзитская О.В.[2,5]

[1]ФГБОУ ВО ПетрГУ - Институт биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводск, Россия; [2]ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия; [3]ФГБУН ИМПБ РАН - филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, Пущино, Россия; [4]ФГБУН Пущинский филиал Института биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия; [5]ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

ogalzit@vega.protres.ru

Thermus thermophilus (*T. thermophilus*) является модельным организмом для изучения бактериальных рибосомных белков, в частности, самого крупного белка bS1 рибосомной субчастицы 30S. В настоящее время трехмерная структура белка bS1 недостаточно изучена из-за его высокой склонности к агрегации, а также относительной лабильности (подвижности) конструкции из пяти белковых S1-доменов и неупорядоченных участков. Вместе с тем, изучение агрегационных (амилоидогенных) и антибактериальных эффектов пептидов, разработанных на основе последовательности bS1, представляет интерес, как для выяснения участков в структуре белка, ответственных за агрегацию, так и для разработки антимикробных препаратов.

Цель работы состояла в теоретическом предсказании белковых участков, склонных к агрегации в аминокислотной последовательности белка bS1 из *T. thermophilus*, синтезе пептидов на их основе и экспериментальной проверке амилоидогенности и токсического эффекта пептидов на бактериальные клетки. Для поиска аминокислотных остатков bS1, вовлеченных в агрегацию, использовали алгоритмы онлайн-серверов FoldAmyloid, Waltz, PASTA 2.0 и AGGRESCAN. Предсказанные консенсусные последовательности, из 9-10 аминокислотных остатков, были синтезированы сотрудниками ФГБУН Пущинского филиала Института биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова и ООО «АйКьюКемикал» (г. Санкт-Петербург). Идентификацию синтезированных пептидов проводили с помощью масс-спектрометра высокого разрешения с орбитальной ловушкой ионов Orbitrap Elite (Thermo Scientific, Германия). Агрегационные свойства пептидов на основе белка bS1 из *T. thermophilus* выявляли с помощью анализа спектров флуоресценции тиофлавина Т, интеркалирующего амилоиды, а также по данным электронной микроскопии пептидных агрегатов. Определение токсичности амилоидогенных пептидов проводили на бактериальных клетках *T. thermophilus* по изменению оптической плотности клеточной культуры.

Мы показали, что все пять S1-доменов белка bS1 из *T. thermophilus* содержат амилоидогенные участки по данным программ FoldAmyloid, Waltz, PASTA 2.0 и AGGRESCAN. При этом наиболее амилоидогенными теоретически предсказываются третий и пятый домены. Соответствующие предсказанные консенсусные аминокислотные последовательности внутри доменов формируют амилоиды. Дальнейшая модификация пептида приводила к снижению способности модифицированных пептидов формировать вытянутые структурированные агрегаты, однако усиливала их способность подавлять рост клеточной культуры *T. thermophilus*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 18-14-00321).

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА РОСТ МОНОВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК КОММЕНСАЛЬНОГО MICROCOCCUS LUTEUS C01 И ПАТОГЕННОГО CUTIBACTERIUM ACNES RT5

Данилова Н.Д.[1], **Соловьева Т.В.**[2], **Ганнесен А.В.**[1]

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия; [2]МГУ им. Ломоносова, Москва, Россия

danilovanatalia523@gmail.com

В настоящее время не вызывает сомнений факт взаимодействия гуморальных систем регуляции человека и его микробиоты. Регуляторные соединения организма человека, не обладающие прямым антимикробным действием, способны оказывать влияние на рост микроорганизмов. Целью работы являлось исследование воздействия диапазона концентраций адреналина на планктонные культуры (ПК) и моновидовые биопленки *M. luteus* C01 и *C. acne*s RT5. В работе использовали штамм *M. luteus* C01, выделенный ранее с кожи здорового добровольца и штамм *C. acnes* RT5 (ATCC HM-514). Тестировали четыре концентрации адреналина: 900 пг/мл, которая соответствует физиологическому уровню адреналина в крови человека, и три повышенные (9, 90 и 900 нг/мл). Использовали две модельные системы для исследования биопленок. В первой системе биопленки выращивали на поверхности тефлоновых кубиков (в равновесии с ПК) с окраской матрикса и клеток кристаллическим фиолетовым (КФ) и метаболизируемым красителем МТТ. Во второй биопленки выращивали на стекловолоконных фильтрах (без ПК) с последующей окраской МТТ. Показателем роста биопленок являлась оптическая плотность (ОП) экстракта соответствующего красителя. $ОП_{540}$ ПК обоих штаммов в присутствии адреналина не отличалась от контроля. Адреналин в высоких концентрациях стимулировал рост биопленок (161% от контроля) *C. acnes*. При 9 нг/мл эффект был меньше (127%). При 900 пг/мл гормон значительно ингибировал рост биопленок (61%). В случае *M. luteus* ситуация была несколько иной. В концентрации 900 пг/мл адреналин стимулировал рост биопленок *M. luteus* (190%). При 9000 пг/мл и 900 нг/мл наблюдали стимуляцию роста биопленок (115 и 106% соответственно), при 90 нг/мл−незначительное ингибирование (94%). Таким образом, при 900 пг/мл адреналин оказывает противоположный эффект на рост биопленок обоих штаммов. Для изучения механизма действия гормона окрашивали МТТ биопленки M. luteus, выращенных на тефлоновых кубиках в течение 72 ч. Показано отсутствие стимулирующего эффекта адреналина. В случае 24-часовых биопленок наблюдали значимый стимулирующий эффект: $ОП_{540}$ была на 52% выше. После инкубации 72 ч на фильтрах биопленки *M. luteus* проявляли большую, чем в контроле, метаболическую активность (125.3%). Количество метаболически активных клеток в биопленках после 72 ч инкубации увеличивалось, в системе с кубиками оставалось на уровне контроля. Один из механизмов действия адреналина на биопленки *M. luteus* заключается в стимуляции синтеза матрикса и ускорении процесса созревания биопленок.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №19-74-10071.

ВИРУС КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА: ВОЗНИКАЮЩИЙ ДРЕВНИЙ ЗООНОЗ?

Девяткин А.А.[1], Холодилов И.С.[2], Вакуленко Ю.А.[3,4], Карганова Г.Г.[3,2], Лукашев А.Н.[3]

[1]Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова, Москва, Россия; [2]Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия; [3]ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия; [4]Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

andreideviatkin@gmail.com

Клещевой энцефалит (КЭ) является одним из наиболее значимых вирусных зоонозов, передаваемых укусом зараженных клещей. В исследовании были проанализированы все последовательности гена Е вируса клещевого энцефалита (TBEV) Е, доступные в GenBank по состоянию на июнь 2019 года с известной датой выделения (n=551). В целом было обнаружено явное отсутствие временного сигнала в TBEV, что исключает возможность использования молекулярных часов при анализе всех подтипов TBEV в одном наборе данных. Другим фактором, влияющим на результат, было искажение результатов при использовании разных выборок. Это было смоделировано путем имитации ситуации, при которой при анализе использовали несколько групп вирусов. Небольшие наборы данных (n=50) создавали непересекающиеся интервалы для эволюционных оценок скорости.

Во всех подтипах и в большинстве небольших групп в этих подтипах было много передач вирусов на средние и дальние расстояния. Мы предполагаем, что эти события представляют собой систематическую картину, а не случайные события. Это лучше всего иллюстрирует разнообразие вирусов, наблюдаемое в Швейцарии или Чешской Республике. В этих двух странах было получено большинство известных последовательностей подгруппы Eu3 в Европе, и разнообразие вирусов, обнаруженных в каждой из этих небольших стран, сравнимо с таковым во всей подгруппе Eu3, которая распространена во всей Центральной и Восточной Европе, на Алтае, в Иркутской области и в Южной Корее. Большинство глубоких узлов дерева во всех трех установленных подтипах TBEV датируются менее 300 лет назад. Это можно объяснить недавним появлением большей части известного разнообразия TBEV. Результаты биоинформатического анализа, представленные здесь, вместе с многочисленными полевыми данными позволяют предположить, что TBEV можно рассматривать как возникающее заболевание.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММА «ВНИИЗЖ» С ПРОИЗВОДСТВЕННЫМИ ШТАММАМИ ВИРУСА БЕШЕНСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ RABV

Доронин М.И, Михалишин Д.В., Стариков В.А., Шишков А.В.

ФГБУ Федеральный центр охраны здоровья животных, Владимир, Россия

doronin@arriah.ru

Бешенство (Rabies) занимает первоочередное место в ряду вирусных болезней человека и животных, является одним из самых опасных зоонозов, вызывая поражение центральной нервной системы, энцефаломиелиты, параличи с неизбежным летальным исходом. Вирус бешенства принадлежит к порядку Mononegavirales, семейству

Rhabdoviridae, роду Lyssavirus, виду *Rabies lyssavirus*.

При изучении свойств штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства выявлены значительные преимущества в сравнении с другими используемыми производственными штаммами «RV-97», «Щелково-51», «CVS-27» (контрольный). В качестве тест-системы для заражения использовали суспензию клеток сублинии ВНК-21/2-17 с концентрацией клеток 3,4-3,5 млн/см^3. Доза заражения составляла 0,005 ККИД$_{50}$/клетка.

Данные по репродукции вируса бешенства свидетельствуют о преимуществах штамма «ВНИИЗЖ», поскольку для него по итогам 10 последовательных пассажей в чувствительной клеточной сублинии ВНК-21/2-17 характерны более высокие средние значения титра инфекционной активности (7,75±0,15 lg ККИД$_{50}$/см^3) по сравнению со штаммами «RV-97», «Щелково-51», «CVS-27» для которых значения титра инфекционности соответствовали показаниям 7,00±0,10; 7,25±0,11; 7,31±0,16 lg ККИД$_{50}$/см^3. По итогам сравнительного анализа выявлено, что накопление гликопротеина вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» по данным твердофазного иммуноферментного анализа составляло 2,11±0,11 мкг/см^3, что на 67,4, 44,5, 41,6 % выше по сравнению с репродукцией штаммов «RV-97», «Щелково-51», «CVS-27», соответственно. Количество экспрессированного нуклеопротеина вируса бешенства для штамма «ВНИИЗЖ» составляло 1,90±0,12 мкг/см^3, что на 140,5; 40,7; 53,2 % выше по сравнению с культивированием штаммов «RV-97», «Щелково-51», «CVS-27», соответственно.

Таким образом, вакцинный штамм «ВНИИЗЖ» вируса бешенства по сравнению с представленными производственными штаммами «RV-97», «Щелково-51», «CVS-27» при репродукции в чувствительной клеточной сублинии ВНК-21/2-17 характеризуется более высокими показателями титра инфекционной активности и накопления иммуногенных компонентов для производства высокоиммуногенных антирабических инактивированных вакцин.

АНАЛИЗ ШТАММОВ PSEUDOMONAS SPP., ИЗОЛИРОВАННЫХ С ПОКРЫТИЯ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК Г. ПУЩИНО, НА ПРИСУТСТВИЕ ДЕТЕРМИНАНТ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Дымова Е.А.[1,2], **Сазонова О.И.**[1], **Измалкова Т.Ю.**[1]

[1]ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия;[2]ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

feiris.san@gmail.com

Бактерии рода *Pseudomonas* благодаря своей метаболической универсальности способны заселять практически все экологические ниши. *P. aeruginosa*, оппортунистический патоген человека, возбудитель тяжёлых нозокомиальных инфекций, внесён в перечень микроорганизмов «критического приоритета» Всемирной организации здравоохранения. Устойчивость к антибиотикам возникла у почвенных бактерий как защитный механизм миллионы лет назад и именно неклиническим микроорганизмам принадлежит основная роль в поддержании и распространении генов антибиотикорезистентности в окружающей среде. Особой опасности при взаимодействии с резистентными микроорганизмами подвергаются дети, поскольку их иммунная система ещё до конца не сформирована. Общественные детские площадки - это место прямого контакта ребёнка с окружающей средой. Цель данной работы заключалась в выяснении вопроса: являются ли детские площадки с различным типом покрытия резервуаром антибиотикорезистентных псевдомонад и какой тип покрытия наиболее безопасен.

В данной работе были исследованы 6 детских площадок г. Пущино Московской области с различными типами покрытия: песок, грунт с песком, травяное покрытие и современное покрытие для детских площадок с прессованной резиновой крошкой. Самым чистым типом покрытия, как по общей численности культивируемых микроорганизмов ($8*10^5$ кл/г субстрата), так и по содержанию резистентных штаммов, оказался песок; наиболее загрязнёнными ($1.2\text{-}1.9*10^9$ кл/г субстрата) - площадки, покрытые прессованной резиновой крошкой. С использованием системы MALDI Biotyper из 66 псевдомонад: 51 идентифицированы как *P. fluorescens,* 10 – как *P. putida* и пять – как *Pseudomonas sp*. Методом REP-PCR среди исследуемых штаммов были выделены 33 группы геномных фингерпринтов. Обитающие на разных площадках штаммы псевдомонад флуоресцирующей группы оказались не родственны друг другу. Штаммы *Pseudomonas spp*. тестировали на наличие детерминант антибиотикорезистентности. Показано, что устойчивость к тетрациклину у исследованных штаммов обусловлена преимущественно генами tetA/tetC, контролирующими активный вывод антибиотика из клетки. В штаммах *Pseudomonas sp.* D3T-36 и *P. fluorescens* D4A-46 были обнаружены большие (более 100 т.п.н.) коньюгативные плазмиды устойчивости к тетрациклину P-1 и P-7 групп несовместимости, соответственно. Обнаруженная нами плазмида pD4A-46 (Tet^R) в настоящее время является первой плазмидой устойчивости к тетрациклину, принадлежащей к группе несовместимости P-7.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS 5AP

Иванова Е.В.[1], **Позднякова-Филатова И.Ю.**[2]

[1]ФГБОУ ВО ТулГУ, Тула, Россия; [2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

ivanova05evgenia99@yandex.ru

Использование метода электропорации позволяет получить трансформанты необходимые для более детального исследований свойств микроорганизмов. Однако для получения таких модифицированных организмов необходимо знать условия трансформации, при которых эффективность электропорации будет достигать не менее 10^6 клеток/мкг. В данной работе подбирались условия электропорации штамма *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap.

R. pyridinivorans 5Ap трансформировали плазмидой pRY3_Rho (Apr^R) путем электропорации с использованием прибора BioRAD MicroPulser Electroporator™. Клетки культивировали 14-15 часов при температуре 30ºC (37ºC) с добавлением глицина (2%) и без. При достижении количества клеток 10^9 проводили осаждение 500 мкл культуры (3 мин 6000 об/мин). Осажденные клетки 2 раза промывали деионизированной водой (H_2O^{mQ}). Затем ресуспендировать в 40 мкл H_2O^{mQ}. 1 мкг pRY3_Rho (Apr^R) (~2мкл) вносили в 40 мкл суспензии клеток. После этого добавляли 10 мкл H_2O^{mQ} или PEG_{4000} (50%). Инкубировали 30 мин при комнатной температуре. Проводили электропорацию программами Ec3 (3,0kV) и StA (1,8kV). После чего культивировали 4 часа при 30ºC в полипропиленовых пробирках объемом 15 мл (объем LB - 2 мл). Затем сеяли по 100 мкл культуры на чашки Петри с агаризованной средой с добавлением антибиотика апрамицина (конечная концентрация 50 мкг/мл). Оставляли чашки на 2-4 дня при 30ºC до появления колоний трансформантов.

В ходе эксперимента удалось получить эффективность трансформации выше 10^6 клеток на 1 мкг ДНК при культивировании штамма *R.pyridinivorans* 5Ap в течении 14-15 часов при 30ºC на среде LB с добавлением глицина 2%, инкубации электрокомпетентных

клеток с 1 мкг плазмидной ДНК в отсутствии/присутствии PEG_{4000}, а так же использовании напряжении 1,8 кВ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-05071.

СКРИНИНГ ГЕНОВ АРОМАТИЧЕСКИХ ДЕОКСИГЕНАЗ У ШТАММОВ ИЗ АССОЦИАЦИИ ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОБИФЕНИЛОВ

Кирьянова Т.Д.[1], Пьянкова А.А.[2], Егорова Д.О.[1,2]

[1]Пермский Государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия; [2]Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

kitadi2101@gmail.com

В настоящее время большое внимание уделяется восстановлению почв, загрязненных ароматическими поллютантами, с применением аборигенной микрофлоры. Основой биодеградативного потенциала аэробной бактериальной микрофлоры почвы являются гены, кодирующие ферменты начальных этапов окисления ароматических соединений – ароматические диоксигеназы. Известно, что данные гены могут распространяться как между штаммами одного рода, так и между бактериальными штаммами различных таксономических групп. В связи с этим актуально изучение разнообразия генов ароматических диоксигеназ у штаммов, осуществляющих разложение ароматических поллютантов, выделенных из одного экотопа.

Цель работы – осуществить скрининг генов ароматических диоксигеназ, контролирующий первый этап окисления ароматических поллютантов, у штаммов, выделенных из одной бактериальной ассоциации, разлагающей хлорированные бифенилы.

Осуществлен поиск генов бензоат 1,2-диоксигеназы (**benA**), бифенил 2,3-диоксигеназы (**bphA1**) и нафталин 1,2-диоксигеназы (**nahA**) на ДНК штаммов, входящих в ассоциацию PN2. Амплификацию генов проводили с применением специфичных праймеров на приборе MyCycler (“Bio-Rad Laboratories”, США). Определение нуклеотидных последовательностей генов **benA, bphA1** и **nahA** проводили на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL (“Applied Biosystems”, США). Поиск гомологов данных генов осуществляли по международной базе данных GenBank помощью алгоритма BLAST. Ампликон ожидаемой длины при скрининге штаммов на наличие гена **nahA** выявлен только на ДНК штамма PNB7. При этом не удалось получить нуклеотидную последовательность данного фрагмента. Ген **benA** выявлен на ДНК штамма PNB3, наибольший уровень сходства установлен с геном **benA** (99,39%) штамма *Pseudomonas stutzeri* CCUG 29243 [GenBank CP003677.1]. Ген **bphA1** выявлен у 7 штаммов, наибольший уровень сходства при 100%-ном перекрывании с геном **bphA1** штамма *Rhodococcus jostii* RHA1 [GenBank CP000432.1] составил 99,27-99,51%, а при рассмотрении 92-93%-ного перекрывания данные фрагменты были на 100% схожи с геном **bphA1** штаммов *Rhodococcus sp.* P13 [GenBank KP972446.1] и *Rhodococcus sp.* P20 [GenBank KC832467.1].

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-05016мк.

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ УСЛОВИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Колупаева Н.В., Фурсов М.В., Потапов В.Д.
ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия

nadin.9830@mail.ru

Возбудителю туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* свойственна адаптация к изменениям в окружающей среде. Данная адаптация обеспечивается путем изменения уровней экспрессии генов. Малые некодирующие РНК (sRNA) являются ключевыми регуляторами экспрессии бактериальных генов, но, к сожалению, их роль в процессах адаптации клеток *M. tuberculosis* к изменениям окружающей среды подробно не изучена. В настоящее время существует лишь несколько работ, которые описывают отдельные функции некоторых sRNA (3 из 82 идентифицированных).

Целью данной работы являлось изучение изменения уровней представленности транскриптов sRNA в клетках *M. tuberculosis* H37Rv, подверженных стрессовым условиям.

Клетки *M. tuberculosis* H37Rv выращивали в жидкой питательной среде 7H9 с добавками ADC и 0,05% Tween 80 при температуре 37°C с аэрацией до оптической плотности OD600 0,8. Полученные клетки трижды отмывали в фосфатном буфере. Отмытые клетки переносили в свежие жидкие питательные среды: (1) - 7H9 + ADC + 0,05% Tween 80 (контроль); (2) - 7H9 + ADC + 0,05% Tween 80 + DETA/NO; (3) - 7H9 + ADC + 0,05% Tween 80 + H_2O_2 (DETA/NO и H_2O_2 добавляли в различных концентрациях). Спустя 40 мин инкубирования в различных условиях клетки *M. tuberculosis* были разрушены на гомогенизаторе в присутствии 0,1 мм циркониевых бус. Выделение нуклеиновых кислот проводили методом фенол-хлороформной экстракции по Хомчинскому. Полученную смесь нуклеиновых кислот обрабатывали TurboDNAse для очистки от остатков геномной ДНК. Отсутствие ДНК в пробах проверяли при помощи РТ ПЦР и электрофореза. Для получения первой цепи ДНК из тотальной РНК использовали обратную транскриптазу. Уровень представленности транскриптов sRNAs оценивали при помощи РТ ПЦР в присутствии интеркалятора SYBR. Полученные результаты нормировали по 16S рРНК методом $2^{\Delta\Delta Ct}$. Все эксперименты проводили в 3 повторностях.

Получены результаты представленности транскриптов мнкРНК в клетках *M. tuberculosis* штамма H37Rv, в различных стрессовых условиях окружающей среды. В ходе анализа полученных данных обнаружено: увеличение транскриптов MTS1338 и снижение уровня представленности Mpr5, Mcr15, ASpks, Mcr5, Mcr7, Mpr11 и Mpr18 в условиях NO-стресса; увеличение транскриптов MTS0997, MTS1338, ASdes, Mcr15, Aspks, Mcr5, Mpr11 и Mpr18 и снижение уровня представленности Mcr7 в условиях окислительного стресса (H_2O_2).

Выводы: получены новые данные, указывающие на вероятную регуляторную роль мнкРНК в ответ на стрессовые воздействия среды, моделирующие окружение микобактерий в условиях организма носителя туберкулеза.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ С ДЕЛЕЦИЕЙ ГЕНА A224L

Кольцова Г.С., Кольцов А.Ю., Колбасов Д.В.
ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Покров, Россия

Lila5757@yandex.ru

Африканская чума свиней (АЧС) - одна из наиболее опасных вирусных болезней домашних и диких свиней. Возбудителем болезни является ДНК-содержащий вирус из рода *Asfivirus* семейства *Asfarviridae* (Dixon, et al., 2000). Апоптоз представляет собой важный механизм врожденного иммунного ответа для предотвращения вирусной инфекции. Однако многие вирусы разработали стратегии ингибирования или задержки апоптоза. Одним из таких факторов является ген A224L вируса АЧС, который кодирует белок-аналог ингибитора апоптоза (IAP) (Nogal, etal., 2001).

Целью работы являлось получение и характеристика рекомбинантного штамма вируса АЧС с делецией гена A224L.

Рекомбинантный штамм ΔCongoA224L получен из аттенуированного штамма КК-262 (I генотип, 2 сероиммунотип) вируса африканской чумы свиней путем гомологичной рекомбинации. Рекомбинантные клоны вируса были получены при одновременной трансфекции культуры клеток COS-1 рекомбинационной кассетой и инфицировании ее вирусом АЧС. Селекцию делеционных вариантов вируса проводили по репортерной флюоресценции гена EGFP использованием реакции бляшкообразования и метода предельных разведений. Отсутствие нуклеотидных замен в сайте рекомбинации определяли нуклеотидным секвенированием фрагментов генома.

Было продемонстрировано, что рекомбинантный штамм вируса АЧС размножается в первичных культурах клеток макрофагов свиней и костного мозга свиней, а также в перевиваемых культурах клеток COS-1 и A_4C_2. Кинетика репликации рекомбинантного штамма в первичных культурах клеток идентична исходному штамму КК-262. При этом репродукция вируса сопровождается развитием цитопатического эффекта (ЦПЭ). Накопление вируса в первичной культуре клеток составляет 6,0-7,0 lg ГАЕ $_{50}$/см^3.

Таким образом, в ходе проведенных исследований был получен и охарактеризован *in vitro* рекомбинантный штамм вируса АЧС с делецией гена A224L. Дальнейшее его изучение позволит получить новую информацию о роли белка A224L в развитии апоптоза при вирусной инфекции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-08010.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КИСЛОРОДА И ОЗОНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Краснова М.Е.[1], **Васильева У.А.**[1], **Лубяга Ю.А.**[1], **Аксенов-Грибанов Д.В.**[1,2]

[1]НИИ биологии ФГБОУ ВО "ИГУ", Иркутск, Россия; [2]АНО Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

marrieekrasnova@gmail.com

В настоящее время интерес для исследований представляют микроорганизмы древних и ранее неизученных экосистем. Примером такой экосистемы может являться озеро Байкал, характеризующееся низкой температурой воды, а также высоким содержанием кислорода. Необходимо отметить, что работ, направленных на поиск непосредственно антиоксидантов, синтезируемых микроорганизмами озера Байкал, практически не проведено.

Целью исследованияявлялась оценка влияния кислорода и озона на морфологические характеристики и антиоксидантный потенциал актинобактерий.

В ходе эксперимента проводился пробоотбор байкальских эндемичных амфипод вида *Eulimnogammarus* cyaneus для выделения и культивирования актинобактерий. Актинобактерий культивировали в стандартных условиях естественной аэрации (контроль), в условиях повышенного содержания кислорода в колбе (экспериментальные условия 1), а также условиях повышенного содержания кислорода и озона (экспериментальные условия 2). Для оценки воздействия кислорода и озона на морфологические признаки микроорганизмов были приготовлены фиксированные препараты, окрашенные методом Грама. Оценку состава природных соединений, синтезируемых актинобактериями, проводили при помощи подходов высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией высокого разрешения и использованием базы данных Dictionary of Natural products.

Установлено, что у актинобактерий, культивируемых в экспериментальных условиях, наблюдалось повышение спорообразования по сравнению со стандартными условиями на протяжении всего эксперимента. Также показано присутствие в культуральной жидкости новых природных соединений со временем удерживания и массами 2.4 мин (361,2450 Да), 2.6 мин (600,2574 Да), 4.4 мин (443,2506 Да), 14.5 мин (738,3602 Да) и тд., синтезируемых актинобактериями только в экспериментальных условиях.

Таким образом показано, что кислород оказывает влияние на микроорганизмы озера Байкал, адаптированные в природе к высокому его содержанию и ведет к синтезу природных соединений, участвующих, по-видимому, в защите микроорганизмов. Таким образом, изучение антиоксидантного потенциала актинобактерий озера Байкал представляется перспективным биомедицинским направлением современных исследований.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке грантов РНФ (проект 18-74-00018) и РФФИ (проект 18-34-00394, 18-29-05051).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГОВ S. AUREUS, ОТНОСЯЩИХСЯ К СЕМЕЙСТВАМ MYOVIRIDAE И PODOVIRIDAE

Купцов И.О., Корниенко М.А., Городничев Р.Б., Веселовский В.А., Шитиков Е.А.
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, г. Москва

kuptsovns@gmail.com

Одной из проблем мировой системы здравоохранения является рост числа бактерий, проявляющих устойчивость к большинству современных антибиотиков. В связи с этим чрезвычайно актуальна разработка альтернативных методов лечения, в том числе терапии вирулентными бактериофагами.

Цель исследования: сравнительная оценка биологических характеристик литических вирусов стафилококков семейств *Myoviridae* и *Podoviridae*.

Два вирулентных бактериофага стафилококков (vB_SauM-515A1, vB_SauP-436) выделили из коммерческих препаратов методом накопительных культур. Морфологию вирионов устанавливали методом электронной микроскопии. Полногеномное секвенирование фагов проводили на платформе Illumina. Спектр хозяев бактериофагов определяли методом спот-тестирования на коллекции бактериальных культур, содержащей 112 штаммов *Staphylococcus aureus* (SA), 13 штаммов *Staphylococcus epidermidis* (SE) и 12 штаммов *Staphylococcus haemolyticus* (SH). Особенности стадий взаимодействия бактериофагов с клетками стафилококков выявляли в одиночном цикле размножения.

Результаты. На основании данных электронно-микроскопического исследования бактериофаги vB_SauM-515A1 и vB_SauP-436 относились к семействам *Myoviridae* и *Podoviridae,* соответственно. Геномы бактериофагов vB_SauM-515A1 и vB_SauP-436 составили 148 и 18 тыс. п.н., соответственно. В составе геномов не обнаружено генов токсинов или интеграз. Оценка спектра хозяев показала, что vB_SauM-515A1 вызывал лизис 83,2% штаммов SA, 14% SE и 0% SH, тогда как vB_SauP-436 - 71% SA, 0% SE и 0% SH.

Бактериофаги в одиночном цикле размножения вели себя как типичные представители вирулентных бактериофагов и характеризовались следующими параметрами фаговой инфекции: константы адсорбции $1{,}16*10^{-9}$ и $1{,}33*10^{-9}$ мл/мин, время максимальной адсорбции 4 и 5 мин, время латентного периода 25 и 45 мин для vB_SauM-515A1 и vB_SauP-436, соответственно.

Выводы. Наиболее перспективным для фаготерапии является использование стафилофагов семейства *Myoviridae*, что связано с широким спектром действия и характеристиками одиночного цикла размножения.

БАКТЕРИИ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM ПРОДУЦЕНТЫ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ

Лобанов А.Н., Алёшин М.А., Полюдова Т.В.
ФГБОУ ВО Пермский государственный аграрно-технологический университет им. академика Д.Н.Прянишникова, г. Пермь, Россия

lautsir@gmail.com

Бактерии рода *Rhizobium* представляют особый интерес, как компоненты биоудобрений для бобовых растений. В работе исследовали шесть штаммов *R. leguminozarum*, выделенных из препарата «Ризоторфин Б» (№1) и из клубеньков растений

гороха сортов «Вельвет» (№№2-4) и «Красноуфимский» (№№ 5 и 6), выращенных после инокуляции семян препаратом «Ризоторфин Б».

Бактерии росли на бобовом отваре с сахарозой - 10 г/л, гидрофосфом калия - 1 г/л и сульфатом магния - 0,3 г/л. Культивирование проводили на орбитальном шейкере (150 об./мин) при 25°С.

При культивировании бактерий разных штаммов было обнаружено, что наибольшая биомасса достигается на 5 сутки. Оптическая плотность культур четырёх штаммов (№№ 3-6), выделенных из клубеньков растений гороха соответствовала значениям 6,0-7,0. Бактерии штаммов №1 и №2, выделенные из клубеньков гороха сорта «Вельвет», выращенного без внесения минерального азота [1] характеризовались более слабым ростом. Оптическая плотность этих культур на 5 сутки достигала значений 2,5 и 3,5, соответственно. В процессе роста бактерий наблюдалось увеличение вязкости их культуральных жидкостей (КЖ), что может свидетельствовать о выделении в среду роста полисахаридных соединений, характерном для бактерий рода *Rhizobium* [2].

Оценкой кинематической вязкости бесклеточных КЖ был определён штамм бактерий (№3), у которого данный показатель превосходил в несколько раз показатели вязкости КЖ бактерий остальных штаммов и соответствовал значению 27,00±3,15 мм^2/с. Наименьшей вязкостью обладала КЖ штамма №1 – 3,00±0,85 мм^2/с. При экстракции этанолом из КЖ бактерий штамма №3 был получен студенистый, прозрачный осадок полисахаридов [3], который после высушивания формировал светлый порошок растворимый в воде.

Таким образом проведённые исследования позволили выделить новый штамм бактерий *R. leguminozarum* с высоким биотехнологическим потенциалом.

Литература:

1. Алёшин М.А., Субботина М.Г. Влияние доз азота и препарата ризоторфин на продуктивность посевного гороха в условиях дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почвы предуралья // Аграрный научный журнал. 2019. №8, С.4-11.

2. Антипчук. А.Ф., Косенко Л.В. Влияние липополисахаридов и глюканов двух штаммов R.leguminosarum bv.viciae на формирование и эффективность их симбиоза с растениями гороха // Микробиология. 2004. Т.73, №1. С.62-67.

3. Фокина Н.А., Урядова Г.Т., Карпунина Л.В. Выделение экзополисахарида из Lactococcus lactis при различных условиях культивирования // Аграрный научный журнал. 2016. №12. С.40-42.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ B. AVIUM И B. TREMATUM НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Ломакин А.А., Мастиленко А.В., Васильев Д.А.

ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

artemy.lomakin@yandex.ru

К роду *Bordetella* в настоящее время относят 16 видов: *B.pertussis, B. parapertussis, B.bronchiseptica, B. holmesii, B. avium, B. hinzii, B. ansorpii, B.petrii, B. trematum, B. bronchialis, B. flabilis, B. sputigena, B. pseudohinzii, B.muralis, B. tumbae, B. tumulicola* (Linz B.,2019). Среди всех видов бордетелл, интерес предоставляют виды *B. avium* (способный поражать птиц и людей) и B. trematum (связан с развитием инфекций как животных, так и человека). В настоящие время идентификация и дифференциация бактерий рода *Bordetella* представляет определенную сложность. Различные методы были использованы для получения результатов филогении внутри рода в том числе анализ базового состава ДНК и РНК, гибридизации нуклеиновой кислоты, мультилокусный ферментативный

электрофорез, ген-последовательный анализ распределения. Нами была поставлена цель разработать систему идентификации *B. avium* и *B. trematum* на основе ПЦР в режиме «реального времени». Нами был произведён подбор праймеров для генетической идентификации *B. avium* и *B. trematum* при использовании метода ПЦР в режиме «реального времени». В качестве мишеней для *B. avium* был выбран фрагмент гена ompA (системы наружных протеинов бактериальной клетки), как и в случае *B. trematum* - фрагмент гена ompA. При проведении ПЦР нами был использован интеркалирующий краситель EvaGreen, позволяющий детектировать экспоненциальный рост продуктов амплификации в режиме реального времени. Температура отжига олигонуклеотидов была определена опытным путем. Для всех типов праймеров оптимальной составила 60°C. В результате проведенных исследований нами была разработана система для идентификации *B. avium* и *B. trematum* при использовании метода ПЦР в режиме «реального времени».

ПОИСК МИКРООРГАНИЗМОВ – ПЕРСПЕКТИВНЫХ АНТАГОНИСТОВ ФИТОПАТОГЕНОВ

Ляховченко Н.С.[1], Абашина Т.Н.[2], Селиверстов Е.С.[1], Сенченков В.Ю.[1], Сиротин А.А.[1], Сузина Н.Е.[2], Соляникова И.П.[1]

[1]ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; [2]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН (ФИЦ ПНЦБИ РАН), Пущино, Россия

nikitkibullmail@gmail.com

Микробное сообщество характеризуется сложными взаимодействиями как внутри консорциума микроорганизмов, так и в отношении представителей эукариот. Взаимодействия обуславливают широкий диапазон различных форм: от симбиоза до антагонизма и его крайней формы – паразитизма. Антагонистические взаимоотношения между организмами всё шире используется в практике биологической защиты растений. Средства биологической защиты растений на основе микроорганизмов-антагонистов имеют такие преимущества, как экологическая безопасность при сохранении биологического разнообразия биоценозов.

Ранее в результате целенаправленного изучения и выделения, было создано две коллекции микроорганизмов. В состав одной из них вошли микроорганизмы, выделенные из почв, загрязненных полициклическими ароматическими соединениями, способные к деструкции токсичных соединений. В состав второй – бактерии-эпибионты кожных покровов гладкой шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* и серой жабы *Bufo bufo*. Известно, что микробные симбионты (эпибионты) кожных покровов земноводных способны продуцировать различные вещества, обладающие высокой антимикробной активностью, тем самым с одной стороны предотвращая колонизацию покровов болезнетворными микроорганизмами из окружающей среды и параллельно стимулируя секрецию защитных пептидов кожными железами лягушек. Многие из культивируемых симбионтов земноводных являются продуцентами ряда перспективных для биотехнологии биологически активных веществ. В работе представлены результаты сравнительной оценки эффективности штаммов-антагонистов в отношении их способности к подавлению роста фитопатогенных грибов: *Aspergillus unguis* F-1754, *Fusarium avenaceum* F-132, *Alternaria brassicicola* F-1864, *Penicillium gladioli* F-2088. Обнаружена высокая антимикробная активность в отношении таких бактериальных фитопатогенов коллекционных штаммов, представителей родов *Pseudomonas, Planomycet, Lysinibacillus,*

Erwinia, Bacillus а также у гриба рода *Trichoderma*. Обсуждаются принципы конструирования микробных консорциумов для создания эффективных биопрепаратов не только для борьбы с болезнями растений, вызванными фитопатогенными грибами, но и для оздоровления почв.

ПРОТИВОФАГОВОЕ ДЕЙСТВИЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ НА БАКТЕРИОФАГ MSRT01f

Мадумаров С.А., Аетдинова С.Э., Шах Махмуд Р.З.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

saidamalsd97@mail.ru

Противовирусное исследование актуально всегда и везде, не зависимо от времени года. Однако, сложность исследований заключается в работе с патогенными вирусами. Создание модельного метода с использованием непатогенного вируса для исследования противовирусных веществ не теряет свою актуальность. Таким образом, бактериофаги являются отличными объектами для противовирусных исследований с целю применения в медицине различных агентов против вирусов, патогенных для человека. Ранее нами установлено, что рибонуклеаза *B. pumilus* (биназа), подавляющая репликацию РНК-содержащих вирусов на генном уровне, также уменьшала титр ДНК-содержащих вирусов, патогенных для человека. В данной работе нам предстояло установить действие биназы на развитие бактериофагов, поражающих бактерий *B. subtilis,* одного из полезных микроорганизмов для сельского хозяйства. Таким образом, целью исследования было установление противофагового действия биназы на бактериофаг MSRT01f.

В исследовании бактериофаг MSRT01f был выделен из почвенного образца Республики Татарстан (Россия) с использованием собственных модифицированных методов, установленых в нашей лаборатории. Из различных индикаторных штаммов нами установлено, что выделенный фаг поражает *B. subtilis* и *B. licheniformis*. Наиболее поражающий эффект установлен против *B. subtilis*. Таким образом, противовирусное действие биназы в концентрации 1, 10, 100 мкг/мл на бактериофаг MSRT01f установили в культуре *B. subtilis*. Биназу инкубировали с бактериофагом в течении 60 минут при комнатной температуре. Обработанный бактериофаг инкубировали в культуре бактерий на двухслойной агаризованной среде в течении 18 часов, и далее по появлению негативных колоний данные анализировали и определяли действие биназы на титр бактериофага. В завершении исследования нами установлено, что все три концентрации биназы проявляют противофаговые действия против бактериофага MSRT01f. Установлено, что при увеличении концентрации биназы противовирусное действие увеличивается пропорционально. Самое яркое противофаговое действие биназы проявляли при использовании концентрации 100 мкг/мл фермента с подавлением титра вируса на 75%.

Таким образом показано, что идентичные концентрации биназы не только действует на патогенные вирусы, которые показаны нами ранее, она также действует на бактериофаг. Также, полученные нами данные говорят о широком действие биназы против вирусов из разных ниш. Полученную нами методику можно использовать на противовирусной практике.

Авторы благодарят всех сотрудников кафедры микробиологии ИФМиБ К(П)ФУ за всестороннюю помощь.

МЕТОДЫ ХРАНЕНИЯ И КОНСЕРВАЦИИ СПОР ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЫ ПШЕНИЦЫ (ВОЗБУДИТЕЛЬ PUCCINIA STRIIFORMIS WEST.)

Матвеева И.П., Волкова Г.В.
ФГБНУ Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия

irina.matveeva14@yandex.ru

Желтая ржавчина (возбудитель – *Puccinia striformis* West.) – является одним из наиболее опасных и экономически значимых заболеваний пшеницы во всем мире. Для популяционных исследований гриба и изучения генофонда устойчивости растения к данному патогену необходимо иметь коллекцию изолятов урединиоспор *P. striformis* с определенным генотипом, характерным для каждой агроклиматической зоны, и возможность длительного сохранения биоматериала в жизнеспособном состоянии.

В настоящее время существуют различные методы хранения спор в зависимости от требуемой продолжительности хранения и количества имеющихся спор. Биоматериал желтой ржавчины пшеницы можно хранить при комнатной температуре (в течение нескольких дней), в холодильнике при +2…+4°С, в запечатанном виде в герметичном, воздухонепроницаемом контейнере или эксикаторе.

Для более длительного хранения используют вакуумное высушивание урединиоспор, которое является наиболее оптимальным и простым в исполнении, в отличие от криозаморозки в жидком азоте. В стеклянных ампулах после вакуумной сушки споры могут храниться до 10 лет и более. Процесс сушки происходит при пониженном давлении, после чего ампулы со спорами запаивают с использованием пламени горелки. Затем ампулы проверяют на наличие вакуума и хранят при температуре +2…+4°С.

Многие лаборатории мира хранят споры ржавчины в жидком азоте при температуре – 196°С, высушивая их до 20-30% относительной влажности и затем запечатывая в стеклянные ампулы или алюминиевые пакеты. Данная технология хранения отличается надежностью и сохранением высокой жизнеспособности спор, однако является дорогостоящей и требует наличия в лаборатории специально подготовленного персонала.

Так же к ржавчинам применительна технология сверхнизкого замораживания до – 50…–80°С. Таким же способом можно хранить высушенные листья с пустулами на них с хорошей всхожестью спор в течение 18 месяцев и более. По сравнению с жидким азотом имеет место некоторое снижение жизнеспособности спор, но гриб восстанавливается даже после 10 лет хранения.

Исследования выполены при поддержке гранта РФФИ р_мол_а 19-44-233008.

В исследованиях использована материально-техническая база УНУ «Государственная коллекция энтомофагов и микроорганизмов» (http:// ckp-rf.ru/ реестровый № 58 58 58).

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ И КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭНДОЛИТНЫХ И ГИПОЛИТНЫХ СООБЩЕСТВ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ

Миронова А.С., Сауткина Н.В., Мямин В.Е.
Белорусский государственный университет, г. Минск, Белоруссия

sovgirnv@gmail.com

Интерес к микроорганизмам Антарктики обусловлен широким спектром их эволюционно сложившихся адаптаций к экстремальным условиям среды обитания: критически низким температурам воздуха, сильным ветрам, интенсивной солнечной

радиации, снежным бурям и туманам.

Объектами исследования являлись 38 изолятов бактерий, выделенных из эндолитных (встречаются внутри гранитоидов) и гиполитных (развиваются под каменной мостовой) сообществ Восточной Антарктиды. Изоляты получены из четырёх образцов: №1 – образец гиполитов, станция Молодёжная (2016 г.); №2 – образец эндолитов, станция Молодёжная (2016 г.); №3 – образец гиполитов, земля Мак-Робертсона, горы Принс-Чарльз (2016 г.); №4 – образец гиполитов, полевая база "Гора Вечерняя" (2015 г.). Каждому изоляту присвоили порядковые номера, обозначив, например, номером 1.3 третий изолят, выделенный из образца №1.

Целью работы являлось изучение некоторых физиолого-биохимических и культуральных свойств выделенных изолятов.

Все 38 микроорганизмов – каталазоположительные, оксидазоположительные – 12 (наиболее выражена активность у изолята 3.23). Казеинолитическая (наиболее выражена у изолятов 1.3; 3.7; 3.12), уреазная (наиболее выражена у изолятов 2.2; 3.2; 3.9; 3.13) и лецитиназная (наиболее выражена у изолятов 3.4; 3.5; 3.15; 3.16; 3.20) активности выявлены у большинства микроорганизмов, при этом изоляты из эндолитного сообщества лецитиназной активностью не обладали. К гидролизу крахмала способны изоляты 1.3; 3.4; 3.13. Нитратредуктазная активность характерна для 8 изолятов, но наиболее выражена у изолятов 3.3; 3.5; 3.6; 3.23. Только у изолята 2.2 выявлена целлюлолитическая активность, и ни у одного – пектолитическая, что можно объяснить малой встречаемостью растений в суровых антарктических условиях. В результате определения потребностей бактерий в факторах роста выявили, что 17 изолятов являются ауксотрофами, а 21 – прототрофами. Используя малый ряд Гисса установили, что образуют кислоту при утилизации глюкозы 15 изолятов, мальтозы – 7, маннита – 6, лактозы – только 2.

В результате культивирования микроорганизмов на пептонно-дрожжевом агаре (ПДА) со значениями pH от 5 до 10 определили, что 29 изолятов растут в широком диапазоне значений pH среды от 5 до 10, 6 изолятов – от 6 до 10, 2 – от 5 до 9, и 1 изолят – от 6 до 9.

В результате выращивания культур на ПДА, содержащем сахарозу (9% (7 атм)) и натрия хлорид (1,5% (10 атм) и 4,5% (33 атм)), установили, что все изоляты растут при осмотическом давлении питательной среды от 7 до 10 атм, а 11 – от 7 до 33 атм, при этом изолят 3.4 образует обильную биомассу на всех трёх средах.

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА КУЛЬТИВИРУЕМОЙ МИКРОБИОТЫ СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ГОРОДА КРАСНОДАРА ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ЛИПИДАМИ

Моисеева Е.В., Бобрикова Л.С., Карасева Э.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н.

ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

moisieieva97@inbox.ru

Загрязнение почвы органическими и неорганическими веществами ведет к изменению ее состава и свойств, которые негативно сказывается на животном и растительном сообществах экосистемы. Микробиота почвы также подвержена динамике качественных и количественных показателей в зависимости от химического состава и концентрации поллютантов. Отходы пищевой промышленности, образующиеся на масложиркомбинатах, экстракционных, мясоперерабатывающих, рыбообрабатывающих, молочных и других заводах, содержат в своем составе гидрофобные компоненты, главным образом, животные жиры и растительные масла. В процессе их транспортировки к специализированным полигонам, на которых происходит их размещение, хранение и

утилизация, возможен риск вторичного загрязнения окружающей среды, в основном почвы. Поэтому важно выяснить характер влияния на почву липидсодержащих отходов.

Оценку влияния липидов на количество почвенных микроорганизмов проводили в модельных системах, состоящих из почвы и искусственно внесенных липидов. Для этого в отобранные на территории города Краснодара образцы серой лесной почвы, вносили плотные и жидкие липиды в концентрации от 1 до 50% по массе. Производили подсчет общего микробного числа, определяли количество бактерий липолитиков на плотной минеральной среде с липидами и продукцию углекислого газа.

Согласно полученным данным, внесение 1% и 5% растительного масла в почву статистически достоверно не сказалось на количестве гетеротрофных бактерий и составляло $4*10^7$ КОЕ/мл. При увеличении концентрации внесенного в почву масла до 10-50% наблюдается снижение количества бактерий с $2,5*10^7$ КОЕ/мл до $1*10^3$ - $7,4*10^6$ КОЕ/мл. Внесенный в почву говяжий жир во всех концентрациях не повлиял на количество микроорганизмов.

Параллельно с определением ОМЧ изучали динамику численности липидокисляющих бактерий. Доля липолитиков в микробном сообществе всего за 1 месяц увеличилась с 0,01% до 10% во всех вариантах модельного эксперимента. Внесение растительного масла и говяжьего жира в почву приводило к изменению дыхательной активности во всех образцах, что выражалось в увеличении продукции углекислого газа.

В дальнейшем планируется продолжить мониторинг численности гетеротрофов и липидоксиляющих бактерий, выделить и идентифицировать эти штаммы, а также оценить экологическое влияние липидов на почву.

ПРОТЕОМНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ESCHERICHIA COLI В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕЁ МУКОЗАЛЬНОЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ХОЗЯИНА

Мусарова В.А., Матюшкина Д.С., Бутенко И.О., Говорун В.М.
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА, Москва, Россия

varvaramys@rcpcm.org

Дисбактериоз кишечной микробиоты нарушает гомеостаз желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и вызывает воспалительные заболевания кишечника, в том числе болезнь Крона и язвенный колит. Иммуноглобулин класса А (SIgA), секретируемый в просвет кишечника, играет решающую роль в защите хозяина от патогенов и в поддержании гомеостаза ЖКТ. Однако как именно SIgA регулирует состав кишечной микробиоты остается плохо изученным вопросом. Одним из представителей микробиоты кишечника эукариот является условно-патогенная бактерия *Escherichia coli*, которая приводит к развитию большого ряда воспалительных заболеваний кишечника, в связи с этим исследование влияния мукозального иммунитета хозяина на штаммы *E. coli* является актуальной задачей.

В нашей работе с помощью конфокальной микроскопии была определена оптимальная концентрация антител SIgA для связывания с *E. coli*. Для идентификации определенных паттернов бактерии, с которыми связываются моноклональные антитела, а также для идентификации непосредственно белков, с которыми связались антитела, были проведены вестерн-блот и ВЭЖХ-масс-спектрометрический анализ. С помощью протеомного анализа идентифицировали пул бактериальных белков, которые изменялись только при сокультивации *E. coli* с секреторными антителами класса А. Помимо условий *in vitro*, был проведен протеомный анализ *E. coli ex vivo*, выделенной из фекалий, лишенных микрофлоры мышей после трёхдневного заражения кишечной палочкой. Было идентифицировано увеличение представленности белков, участвующих в ответе на

оксидативный стресс (WrbA), осмотический стресс (OsmY, OsmE), поринов семейства Omp, пили (FimA и FimC), а также белков, вовлеченных в метаболизм (SucC, Mdh).

По результатам протеомного анализа можно сделать вывод, что бактерии претерпевали стресс в результате действия на них иммунной системы, в результате чего одним из механизмов защиты бактерий стало образование биопленок.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-00-00293.

СКРИНИНГ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ СВОЙСТВ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ БИОСУРФАКТАНТОВ

Оловянникова А.П., Попова М.Н., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А.
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

olovyannikovasasha@mail.ru

Для решения актуальной на сегодняшний день экологической проблемы загрязнения экосистем нефтепродуктами активно используются биологические методы ликвидации углеводородных загрязнений, основанные на метаболическом потенциале нефтеокисляющих микроорганизмов. Одним из важных свойств, обуславливающих способность нефтеокисляющих микроорганизмов усваивать углеводороды, является продукция ими биосурфактантов (биоПАВ) – биогенных поверхностно-активных веществ, которые диспергируют углеводороды и увеличивают их биодоступность для микроорганизмов.

Целью нашей работы являлось сравнение поверхностно-активных свойств штаммов-продуцентов биосурфактантов по уровню поверхностного натяжения и индекса эмульгации жидких культур, выращенных на гидрофильном и гидрофобном источниках углерода.

В качестве объектов исследования были отобраны нефтеокисляющие штаммы из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биохимии Кубанского государственного университета: *Rhodococcus erythropolis* B2, *Arthrobacter sp.* F6, *Rhodococcus sp.* B8, *Nocardia sp.* K5 и *Dietzia maris* J1. В качестве единственного источника углерода и энергии при росте на жидкой питательной среде использовали сахарозу и дизельное топливо как гидрофильный и гидрофобный источник соответственно. В ходе работы эмульгирующую активность оценивали в форме индекса эмульгации. Для этого использовался метод, суть которого заключалась в измерении соотношения объемов гидрофобной и гидрофильной жидкостей с объемом образующейся из них эмульсии. Для измерения уровня поверхностного натяжения был выбран метод отрыва пластинки от поверхности жидкости.

Анализ поверхностно-активных свойств жидких культур показал, что при росте на гидрофильном источнике углерода минимальный уровень поверхностного натяжения в 52,3 мН/м был отмечен для *Arthrobacter sp.* F6, который проявил также хороший рост на среде с сахарозой. При росте на гидрофобном источнике углерода минимальный уровень поверхностного натяжения в 41,3 мН/м отмечен у *Dietzia maris* J1. Величина индекса эмульгации у исследуемых штаммов находилась в диапазоне 0–28%. Эмульгирующая активность при росте как на дизельном топливе, так и на сахарозе отмечена у двух культур - *Dietzia maris* J1 (28 и 16%), *R. erythropolis* B2 (6 и 10%), что позволяет считать данные штаммы продуцентами-биосурфактантов, способных как эмульгировать углеводороды, так и снижать ПН среды культивирования.

Данные их свойства обуславливают возможность использования этих культур в процессах биоремедиации нефтезагрязненных сред.

АНАЛИЗ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ ПРИ РОСТЕ НА ОТХОДАХ ЛЕСОПИЛЕНИЯ

Переляева Е.В., Моргунова М.М., Васильева У.А., Аксенов-Грибанов Д.В.
ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

cat.perelyaeva@gmail.com

В настоящее время активно развиваются исследования способности разных штаммов грибов и бактерий осуществлять деструкцию органического вещества природного и антропогенного происхождения в интересах человека. Целью данного исследования являлась оценка способности актинобактерий, выделенных из байкальских эндемичных амфипод, синтезировать природные соединения на средах, содержащих отходы лесопиления.

В ходе данного исследования был проведен пробоотбор байкальских эндемичных амфипод вида *Acanthogammarus lappaceus longispinus,* из которых, с применением классической микробиологической техники были выделены актинобактерии. Выделенные штаммы культивировали на питательных градиентных средах, содержащих опилки хвойных и лиственных пород. Для оценки биотехнологического потенциала полученных актинобактерий использовалась хромато-масс-спектрометрия высокого разрешения и база данных природных соединений Dictionary of Natural Products.

Для культивирования и дальнейшего анализа биотехнологического потенциала были выбраны актинобактерии родов *Streptomyces sp., Rhodococcus sp.* и *Microbacterium sp*. При визуальном осмотре посевов, для штамма рода Streptomyces sp.было установлено, что данный штамм способен к росту на средах, содержащих как хвойные, так и лиственные опилки. Для остальных штаммов наблюдали рост только на среде с опилками лиственных пород. При анализе биотехнологического потенциала штамма Microbacterium sp., который был культивирован на питательной среде с опилками лиственных пород, отмечали индукцию синтеза вторичных метаболитов по сравнению с контрольными условиями. Таким образом, было установлено, что питательные среды с добавлением опилок оказывают положительное влияние на синтез вторичных метаболитов у актинобактерий, а сами вторичные метаболиты представляются новыми природными соединениями, что представляет особую ценность для современной биофармацевтики и медицины.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке грантов РНФ (проект 18-74-00018) и РФФИ (проекты 18-34-00394, 18-29-05051).

ИЗУЧЕНИЕ СТАРЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (PISUM SATIVUM L.), ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ

Петрова Д.А.[1], Китаева А.Б.[2], Серова Т.А.[2], Цыганов В.Е.[2]
[1]ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия; [2]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

darya.petrova.1998@mail.ru

Старение симбиотического клубенька – естественный процесс, приводящий к постепенной деградации симбиосом, а затем к полной деградации инфицированных клеток клубенька. Внешне старение проявляется в изменении окраски клубенька от розовой до зеленой, что вызвано деградацией леггемоглобина. Старение клубенька

направлено на реутилизацию растением питательных веществ, затраченных при формировании клубенька. Наряду с естественным старением различные неблагоприятные факторы вызывают индуцированное старение, которое отличается более быстрой деградацией клубенька. В данном исследовании нами изучено влияние высокой температуры на старение клубеньков у гороха (*Pisum sativum L.*).

Растения гороха, линии дикого типа SGE, выращивались в течение трех недель в условиях фитотрона при постоянной температуре 21°C. После этого растения опытной группы подвергались действию высокой температуры (28°C) в течение 1, 3, 5 и 7 суток, растения контрольной группы оставались в прежних условиях. Собранные клубеньки с растений как опытной, так и контрольной групп были зафиксированы и использованы для гистологического анализа, а также заморожены для проведения молекулярно-биологических исследований. Клубеньки растений, инкубированных при высокой температуре в течение 1 суток, не отличались от клубеньков контрольной группы растений: в них сохранялась нормальная структура клеток. Клубеньки растений, инкубированные при высокой температуре в течение 3 суток и дольше характеризовались изменением окраски апикальной части клубенька от розовой до зеленоватой. На гистологическом уровне наблюдалось разрушение клеток в зоне инфекции. Описанные признаки соответствуют индукции в клубеньке старения, но в отличие от ранее описанных естественного и индуцированного старения, в данном исследовании индукция старения происходила не в клетках в основании клубенька, а в клетках, составляющих зону инфекции. В настоящее время проводится анализ уровней экспрессии маркерных генов, ассоциированных со старением, в клубеньках контрольной и опытной групп растений.

Работа была финансово поддержана РФФИ 20-316-70004.

РОСТОВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ ТРИПТОФАНА

Попова М.Н., Оловянникова А.П., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Самков А.А.
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

marypopova779988@gmail.com

Использование фиторемедиационных технологий в условиях загрязненных городских почв может быть весьма перспективно, так как растительно-микробные системы позволяют снизить концентрацию токсичных веществ в почве и обладают ростстимулирующими свойствами, например за счёт продукции бактериями фитогормона ауксина. Но возникает вопрос рентабельности культивирования микроорганизмов, определяемой в том числе стоимостью ростовых сред. Так для эффективной продукции ауксина бактериями, целесообразно внесение в среду роста аминокислоты триптофана как предшественника индолилуксусной кислоты. Однако использование химически чистой аминокислоты может являться экономически затратным, поэтому необходим поиск альтернативных источников триптофана.

Целью работы являлось изучение фитостимулирующих свойств микроорганизмов, выращенных на триптофансодержащих препаратах.

В процессе работы проводилось исследование ростовой активности и стимуляции роста тест-растений нефтеокисляющими микроорганизмами, преимущественно рода *Rhodococcus*, выращенными в присутствии различных источников триптофана. По итогам работы было выявлено, что культивирование микроорганизмов возможно не только в присутствии химически чистого триптофана, как предшественника в биосинтезе индолилукусной кислоты, но и с применением бюджетного триптофансодержащего

фармпрепарата. При использовании фармпрепарата производства “Эвалар” получена большая (в 1,5-3,5 раза) ростовая активность микроорганизмов - как количества клеток, так и продукции внеклеточных веществ, а также повышенная фитостимулирующая активность. Так в случае штамма *Rhodococcus erythropolis* B2 рост микроорганизмов происходил лучше в случае внесения в среду 1 г/л триптофана, чем 0,1 и 0,01 г/л. Однако в случае фармпрепарата, десятикратное увеличение концентрации аминокислоты в среде приводит к увеличению в 1,3 раза фитогормона, в случае химпрепарата – к увеличению в 1,2 раза. Таким образом, при масштабировании культивирования возможно экономически целесообразно применять рабочие концентрации 0,01-0,1 г/л.

Полученные результаты могут быть применены при масштабировании культивирования этих штаммов для практического применения с целью стимуляции фитобиоремедиации углеводородзагрязнённых почв.

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ, ОТОБРАННОЙ В ЗАЛАХ ЖИВОПИСИ ДРЕВНЕЙ РУСИ, ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ

Потапов М.П.[1], Авданина Д.А.[2], Климкина К.М.[3], Веселовский В.А.[3], Федоров Д.Е.[3], Жгун А.А.[2]

[1]ФГБОУ ВО Московский политехнический университет, Москва, Россия; [2]ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биоинженерии, Москва, Россия; [3]ФГБУ ФНКЦ Физико-Химической Медицины ФМБА, Москва, Россия

mrk9804@gmail.com

Микроорганизмы способны наносить значительный урон произведениям живописи, в частности, масляной живописи на холсте или темперной живописи.

Ранее с разрешения Главного Хранителя музейных ценностей в залах Живописи Древней Руси основного исторического здания Государственной Третьяковской галереи (Лаврушинский пер., 10, Москва) отобрали микробиологические пробы с экспонатов темперной живописи 15-16 вв.: икона «Церковь Воинствующая», бюст Георгия Победоносца, икона «Св. Великомученик Димитрий Солунский». На самих произведениях темперной живописи отсутствовали видимые следы микробиологического роста. Однако это экспонаты находились в зале, где в течение нескольких лет мониторинг определял значительное превышение фонового уровня для микробиоты музеев. Через неделю после отбора проб, экспонаты эвакуировали, вскрыли облицовочные стен и обнаружили видимые глазом значительные очаги микробиологического поражения. Микробиологические пробы также отобрали из очагов этих биопоражений, расположенных на внутренних коммуникациях, балках, перекрытиях, кабель-каналах, трещинах в потолках. Аликвоты отобранных проб использовали для инокуляции на стандартные микробиологические среды.

В нашей работе для характеристики микробиомов в исходных пробах и соответствующих им культурам провели метагеномное секвенирование гипервариабельных районов рДНК бактерий (V3/V4) и грибов (ITS2) на платформе MISeq Illumina. Полученные данные (номер доступа BioProject: PRJNA606688, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA606688) позволили всесторонне охарактеризовать разнообразие микроорганизмов, присутствующих, как на самих экспонатах, так и в непосредственной близости от них (на различных предметах и коммуникациях залов. В наибольшей степени заражению подверглась икона «Св. Великомученик Димитрий Солунский»; в наименьшей степени – темперная поверхность иконы «Церковь Воинствующая». Отдельно провели сравнительный анализ перевиваемых 10-ти культур,

используемых для инокуляции на лакокрасочные материалы.

Результаты наших исследований важны как для характеристики микробиологического сообщества музея в целом, так и для последующей совместной работы с отделом научной реставрации темперной живописи Государственной Третьяковской галереи.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-04349.

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ РОДА HALOMONAS РАЙОНА ПРОМЫШЛЕННЫХ РАЗРАБОТОК ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ СОЛЕЙ

Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г.
Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

annpjankva@mail.ru

Условия, сформировавшиеся в процессе промышленной добычи и переработки солей Верхнекамского месторождения (ВМС, Пермский край), привели к формированию природно-антропогенных ландшафтов, подходящих для существования галотолерантных и галофильных микроорганизмов. К такой группе экстремофилов относятся бактерии рода *Halomonas* (сем. *Halomonadaceae*), которые часто используются в качестве модельных организмов при изучении механизмов осмоадаптации и представляют интерес для применения в биотехнологических целях.

Цель работы – изучение разнообразия бактерий рода *Halomonas*, выделенных из различных биотопов района промышленных разработок ВМС.

Бактерии рода *Halomonas* выделены из образцов ризосферы растений, почвы, грунта, отходов производства (шламохранилища, солеотвалы), рассолосборников, характеризующихся разным уровнем засоления и наличием органических поллютантов. Для исследования отобрано 47 штаммов, имеющих различия на морфологическом и генетическом уровнях. В результате сравнения нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК изолятов и типовых штаммов рода Halomonas показано, что исследуемые бактерии филогенетически близки видам: *H. alkaliantarctica, H. alkaliphila, H. boliviensis, H. neptunia, H. olivaria, H. sulfidaeris, H. taeanensis, H. titanicae, H. variabilis, H. ventosae, H. venusta* и *H. hydrothermalis*. Обнаружены штаммы с низким уровнем сходства по гену 16S рРНК (98,3-98,9%) с типовыми штаммами видов *H. sulfidaeris, H. titanicae, H. variabilis* и *H. zincidurans*.

Большинство штаммов являются галотолерантами и растут как без NaCl в среде, так и при содержании 150 г/л NaCl, 4 штамма – 200-250 г/л. Семь изолятов не растут на средах без соли.

У 13 штаммов рода *Halomonas* обнаружена способность использовать бензойную кислоту (1 г/л) в качестве единственного источника углерода и энергии. В результате ПЦР анализа у всех исследуемых штаммов-деструкторов выявлен ген benA, кодирующий α-субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы.

Таким образом, в микробном сообществе района промышленных солеразработок ВМС присутствуют бактерии рода Halomonas разной видовой принадлежности. Выделены бактерии с низким уровнем сходства по гену 16S рРНК с типовыми штаммами видов рода *Halomonas*, которые могут представлять новые таксоны. У ряда исследуемых штаммов выявлена способность к разложению бензойной кислоты.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290008-4.

ПОДБОР РЕФЕРЕНСНЫХ ГЕНОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ PSEUDOMONAS PUTIDA BS3701, КУЛЬТИВИРУЕМОГО В УСЛОВИЯХ ПРОФИЦИТА/ДЕФИЦИТА АЗОТА

Розыева Н.Р.[1], **Ветрова А.А.**[2], **Петриков К.В.**[2], **Позднякова-Филатова И.Ю.**[2]

[1]ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет им. С.А. Есенина, Рязань, Россия;

[2]ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

irafilatova24@gmail.com

Подбор стабильных референсных генов является важным этапом проведения RT-qPCR и помогает валидировать результаты эксперимента. В настоящей работе мы определяли стабильность потенциальных референсных генов для штамма *Pseudomonas putida* BS3701, культивируемого в условиях профицита и дефицита азота. Штамм *P. putida* BS3701 культивировали на минеральной среде Evans с различным содержанием азота. Для среды "профицит азота" концентрация NH_4Cl составила 5 мМ, для среды "дефицит азота" - 0,25 мМ. В качестве источника углерода использовали салицилат. Биомассу собирали на стадии раннего стационара. Все эксперименты выполнены в 5 биологических повторностях.

В качестве потенциальных референсных генов были выбраны: *gyr*B (DNA gyrase subunit B), *rpo*B (beta subunit of RNA polymerase), *opr*I (Outer membrane lipoprotein I), *fli*S (Flagellar secretion chaperone), 16s rRNA (16S ribosomal ribonucleic acid), *rpo*N (RNA polymerase sigma-54 factor), *rpo*D (RNA polymerase sigma-70 factor), *rpo*S (RNA polymerase sigma S factor), *hns* (histone-like nucleoid-structuring protein), *smc* (structural maintenance of chromosomes family of ATPases), *arc*A (arginine deiminase). Для каждой используемой в работе пары праймеров была определена эффективность амплификации, что использовалось в дальнейших расчетах. Значение для каждого образца рассчитывали как E^(Cp(control)-Cp(sample)), где control - образцы без обработки обратной транскриптазой, sample - образцы после обработки обратной транскриптазой.

Для определения стабильности генов использовали алгоритм BestKeeper. Для ранжирования генов в порядке уменьшения стабильности использовали 2 параметра: стандартное отклонение (SD, должен быть не более 1) и коэффициент вариации (CV, должен быть не более 10%). Ряд генов имели подходящие значения SD, однако нежелательные значения CV: *fli*S, *smc* и *arc*A в пределах от 10 до 20%, *gyr*B и *rpo*N в пределах от 20 до 33%, *hns* выше 33%. Гены *rpo*B, *opr*I и 16s rRNA имели SD выше 1. Наиболее стабильными оказались *rpo*S (SD 0.51, CV 7.89) и *rpo*D (SD 0.50, CV 8.29).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-05071.

ОРГАНИЗАЦИЯ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ КЛУБЕНЬКАХ СОИ КУЛЬТУРНОЙ (GLYCINE MAX L.) И ЛЯДВЕНЦА ЯПОНСКОГО (LOTUS JAPONICUS L.)

Садовская А.Р.[1], Китаева А.Б.[2], Цыганов Е.В.[2]

[1]ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия; [2]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

alexandrasad@mail.ru

В растительной клетке микротрубочки играют главенствующую роль в определении и поддержании ее формы. Развитие симбиотических клубеньков бобовых растений сопровождается активной дифференцировкой клеток, инфицированных ризобиями, которые при этом значительно увеличиваются в размерах. Ранее нами были проведены исследования трехмерной структуры тубулинового цитоскелета в клетках недетерминированных клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatul*a Gaertn.), и показано участие микротрубочек в росте инфекционной нити, образовании инфекционных капель, выходе бактерий в цитоплазму растительной клетки, а также ориентации бактероидов в инфицированных клетках [1].

В данной работе была изучена организация тубулинового цитоскелета в детерминированных клубеньках сои культурной (*Glycine max* L.) сорта «Fiskeby V» и лядвенца японского (*Lotus japonicus* L.) линии «Gifu» с использованием методов иммунолокализации и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Растения сои культурной и лядвенца японского были инокулированы 4 различными штаммами *Bradyrhizobium japonicum* и 3 штаммами *Mesorhizobium loti*, соответственно, из Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ОСХН РАН.

Анализ структуры тубулинового цитоскелета инфицированных и неинфицированных клеток клубеньков сои культурной и лядвенца японского не выявил различий в организации микротрубочек в зависимости от штамма ризобий. Оба изученных вида бобовых растений характеризовались сходной организацией тубулинового цитоскелета. В инфицированных клетках наблюдалась сеть эндоплазматических микротрубочек, располагающихся между бактероидами. Кортикальные микротрубочки располагались параллельно друг другу и перпендикулярно продольной оси клетки. В неинфицированных клетках кортикальные микротрубочки перекрещивались между собой, но часть из них располагалась параллельно друг другу. Количественный анализ пространственных трехмерных реконструкций изображений с помощью программы «Microfilament Analyzer» подтвердил различия в организации тубулинового цитоскелета инфицированных и неифицированных клеток, выявленные визуально.

Работа была финансово поддержана РФФИ 20-316-70004.

Литература:

1. Kitaeva A.B., et al. New Phytol. 2016. 210 (1): 168-183.

СКРИНИНГ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ В ОТНОШЕНИИ MELOIDOGYNE INCOGNITA

Саенко К.Ю., Хомяк А.И., Асатурова А.М.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар, Россия

saenkoK1997@yandex.ru

Проведен отбор штаммов бактерий рода *Bacillus* и *Pseudomonas* из БРК ФГБНУ ВНИИБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов». Из коллекции были отобраны бактериальные агенты, проявившие нематицидную активность в отношении южной галловой нематоды *Meloidogyne incognita*.

Изучение влияния микроорганизмов на нематод, поиск эффективных нематицидных биологических средств защиты растений вызывает интерес исследователей ряда стран. Экономически значимой проблемой в сфере сельского хозяйства является повреждение корневой системы растений представителями вида южной галловой нематоды *Meloidogyne incognita*.

В результате исследований была проведена оценка девяти перспективных штаммов по критерию нематицидной активности: *B. subtilis* BZR 523-1, *B. subtilis* BZR 337, *B. subtilis* BZR 241, *B. licheniformis* BZR 59, *B. pumilus* BZR 673, *B. siamensis* BZR 86, *B. amyloliquefaciens* BZR 277, *Ps. fulva* BZR 523-2, *Ps. chlororaphis* 245 F. В работе использовалась бактериальная суспензия штаммов в объеме 0,5 мл и суспензия нематод – 0,5 мл (50 особей). Нематицидный эффект (количество погибших личинок нематод) определяли по формуле Шнайдера-Орелли. Работа проведена с использованием материально-технической базы УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (реестровый № 671367).

Из 9 исследуемых штаммов низкую нематицидную активность проявили бактериальные суспензии штаммов рода *Pseudomonas*. Однако в борьбе с мелойдогинозом растений известны успешные результаты применения данного рода микроорганизмов. *Ps. fulva* BZR 523-2 вызвал гибель лишь 16% нематод, а *Ps. chlororaphis* 245 F – 12%. Наибольшую нематицидную активность проявили бактериальные агенты рода *Bacillus*: *B. siamensis* BZR 86, вызвав 100% гибель нематод, *B. subtilis* BZR 241 – 96% и *B. amyloliquefaciens* BZR 277 – 92%. У остальных исследуемых штаммов рода *Bacillus* нематицидная активность варьировала от 9 до 84%.

Таким образом, для дальнейшей работы из БРК ФГБНУ ВНИИБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» были отобраны наиболее перспективные штаммы, обладающие нематицидной активностью в отношении *Meloidogyne incognita.*

КОНСЕРВАЦИЯ КУЛЬТУР УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА РАСПЫЛИТЕЛЬНОГО ВЫСУШИВАНИЯ

Щербакова П.А., Салова В.Д., Гавирова Л.А., Сережкин И.Н.
ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

shcherbakovapa@gmail.com

Метод распылительного высушивания достаточно успешно применяется для сохранения культур микроорганизмов в течение длительного времени и может быть успешно применен при разработке препарата для утилизации нефтяных загрязнений.

В данной работе определяли жизнеспособность культур углеводородокисляющих микроорганизмов (*Rhodococcus sp.* I, *Rhodococcus sp.* II, *Rhodococcus sp.* III, *Psychrobacter cibarius, Arthrobacter psychrochitiniphilus*) непосредственно после сушки распылением, а также спустя 2 месяца хранения. Предварительно перед высушиванием проводили наращивание биомассы на модифицированной среде PCB (plate count broth), количество живых клеток определяли с помощью высева десятикратных разведений образцов на плотную питательную среду PCA (plate count agar). Биомассу высушивали при двух режимах работы установки: в первом случае температура входящего воздуха составляла +60°C, выходящего +45°C; во втором - +120°C и +80°C соответственно. После получения сухих образцов культур для определения количества жизнеспособных клеток проводили высев на ту же питательную среду (PCA). Высев образцов на среду PCA повторили спустя 2 месяца хранения образцов при температуре +4°C.

Количество живых клеток в процессе сушки в среднем (с учетом потерь сухого вещества) снизилось менее, чем на 1 порядок. Количество жизнеспособных клеток в процессе хранения стало меньше на 1-2 порядка после 2 месяцев хранения. Так, количество живых клеток *Psychrobacter cibarius* после распылительного высушивания стало меньше в 2 раза ($1,5*10^{10}$ КОЕ/мл суспензии до высушивания и $8,2*10^{9}$ клеток в пересчете на 1 мл после высушивания); для культуры *Rhodococcus sp.* I уменьшение количества жизнеспособных клеток произошло в пределах одного порядка ($8,7*10^{10}$ КОЕ/мл суспензии до высушивания и $1,85*10^{10}$ клеток после высушивания). Спустя 2 месяца хранения количество жизнеспособных клеток изменилось незначительно для исследуемых культур. Наименьшее снижение выявлено для культуры *Rhodococcus sp.* I ($2,33*10^{10}$ КОЕ на 1 г сухого порошка после высушивания и $8,65*10^{9}$ КОЕ/г через 2 месяца хранения), максимальные потери обнаружены для культуры Rhodococcus sp. III ($8,66*10^{9}$ КОЕ/г после высушивания и $1,38*10^{8}$ КОЕ/г – спустя 2 месяца хранения).

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЧИСТОТЫ ЗАТОПЛЕННОЙ ЛАМИНАРНОЙ СТРУИ, ФОРМИРУЕМОЙ НОВОЙ КОМПАКТНОЙ УСТАНОВКОЙ

Салова В.Д., Гавирова Л.А.
ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

salovavd@gmail.com

Эффективным способом снижения микробной обсемененности воздуха в медицине и промышленности является использование ламинарных систем, которые устанавливают непосредственно над местом, где требуется более высокий класс чистоты. В лаборатории экспериментальной гидродинамики НИИ механики МГУ имени М. В. Ломоносова была

разработана технология для создания стерильных затопленных воздушных струй с удлиненным ламинарным участком посредством компактного формирующего устройства, не требующего ограждающих конструкций. На основе данной технологии была создана установка, предназначенная для работы в мобильных перевязочных, при производстве электроники, в биологических лабораториях. Установка создает предположительно чистую ламинарную струю воздуха длинной 800 мм и диаметром 300 мм при скорости потока 1 м/с.

В работе оценивали эффективность снижения микробной обсемененности воздуха установкой в пределах заданных параметров ламинарной струи. При выполнении использовали модифицированный седиментационный метод. Было установлено, что количество загрязняющих частиц в воздухе помещения оказывается недостаточно для оценки снижения обсемененности заявленной струи, так как происходит фильтрация всего объема воздуха в помещении за счет работы установки. Поэтому во время каждого эксперимента окружающая среда была искусственно загрязнена с помощью раствора спор *Bacillus subtilis* в дистиллированной воде с титром 10^8 КОЕ/мл. Чашки Петри с плотной богатой питательной средой РСА (plate count agar) выставляли на определенном расстоянии (150, 300, 400, 600, 800 мм) от диффузора при работающей установке, покрывая площадь, больше заявленного диаметра струи, а также для контроля на различном расстоянии от струи в помещении. После чего в течение часа каждые 10 минут распыляли 8 мл раствора спор в непосредственной близости от установки. Затем, чашки закрывали и ставили в термостат на сутки для инкубации. В первой серии опытов чашки располагали на проницаемой поверхности, чтобы она не оказывала воздействия на характеристики струи, во второй - на непроницаемой. Исходная концентрация спор в растворе определили с помощью высева десятикратных разведений раствора на плотную питательную среду РСА.

При потоке струи скоростью 1 м/с параметры заявленной чистой зоны сохраняются, и эффективность работы установки составляет 98,5-99,9% на расстоянии до 800 мм. При использовании непроницаемой поверхности диаметр чистой зоны увеличивается на 25-30%, поскольку происходит растекание струи по поверхности.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА ИЗ ПОЧВЕННЫХ ПРОБ

Сапегина Д.Е., Бояршин К.С., Батлуцкая И.В.
ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

5mystery@mail.ru

Белок кератин является основным компонентом волос и шерсти животных, а также ороговевшего слоя эпителия. Расщепление этого белка необходимо при обработке шерсти, переработке отходов птицеводства, имеет значение для ухода за кожей и повышения её проницаемости.

Средой, вмещающей богатейшую микрофлору с высоким разнообразием биохимических активностей, является верхний слой почвы. В данном исследовании нами была поставлена задача выделить из чернозёмного грунта бактериальный штамм, способный наиболее активно использовать кератин в качестве субстрата. Для решения этой задачи была разработана селективная среда, содержащая в качестве единственного источника углерода материалы с подавляющим преобладанием кератина. В результате многостадийного культивирования был выделен бактериальный штамм, характеризующийся способностью к быстрому гидролизу кератина птичьих перьев и

овечьей шерсти. Анализ последовательности гена 16S рРНК показал принадлежность выделенного штамма к виду *Bacillus licheniformis*.

Полученные результаты, в том числе затрагивающие динамику разложения богатых кератином субстратов в отсутствие альтернативных источников углерода, могут иметь значение для разработки эффективной технологии переработки кератинсодержащих отходов.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ БАКТЕРИЙ РОДОВ ARTHROBACTER И GORDONIA

Селимов Р.Ю., Карасева Э.В.
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

selimov.roman@gmail.com

Коринеформные бактерии родов *Arthrobacter* и *Gordonia* – важные с точки зрения биотехнологии группы микроорганизмов, являются одними из наиболее эффективных деструкторов нефти.

Цель работы – создание математической модели морфогенеза бактерий *Arthrobacter globiformis* и *Gordonia alkanivorans*.

Посевы производили на питательную среду МПА, параллельно культивировали на среде МПБ. Для установления морфологии клеток использовали фазово-контрастный микроскоп. Размеры определяли при помощи окуляр-микрометра. С целью определения прироста биомассы клеток в культуре задействовали ФЭК.

Морфогенез исследуемых микроорганизмов весьма схож. Он представлен циклом палочка-кокк. Условно можно выделить 4 формы клеток: кокки (C), палочковидные (R), разветвленные (B), изогнутые (V). В ходе роста их соотношение варьирует.

Исходя из экспериментальных данных, построены графики, где на оси x откладывалось значение времени культивирования t, а на оси y – оптическая плотность культуры D (ОП), и получены кривые роста. С целью оценки вклада клеток различных форм в ОП, т. е. вычисления парциальной ОП d, выполнены промежуточные вычисления: по формуле объема шара (для кокков) и цилиндра (для палочек; сложные формы представляли как их совокупность), на основе данных о размерах клеток, определяли объем V, занимаемый клетками отдельных форм, общий объем клеток $V_{общ}$ и их объемные доли φ ($\varphi=V/V_{общ}$). Также, для каждого этапа роста подсчитывали среднее количество клеток N и количество клеток данной формы n (по 10 полям зрения). Получив значения величины φ и подсчитав количественные доли отдельных форм клеток η ($\eta=n/N$) для всех стадий культивирования, по формуле $k=\eta\varphi/(\eta_C\varphi_C+\eta_r\varphi_r+\eta_b\varphi_b+\eta_V\varphi_V)$ определяется коэффициент, отражающий объемные и количественные соотношения между ними, а затем и их парциальная ОП d ($d=kD$). На основе полученных промежуточных данных построены графики, отражающие динамику изменения парциальной ОП клеточных форм на всем протяжении цикла развития; функции, подобранные для этих графиков, послужили функциями модели. В зависимости от имеющихся данных, ее параметры можно связывать в различные конструкции. К примеру, имея данные об исходных количестве клеток N_0 и ОП культуры D_0, можно вычислить количество клеток данной формы на данной стадии роста: $n=N_0D/kD_0$, а неизвестная ОП культуры D определяется суммой ОП отдельных форм d и т. д.

Таким образом, созданная модель позволяет воссоздать картину морфогенеза, проведя вычисления на одном из этапов, экстраполировать их на весь цикл развития.

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ БИФЕНИЛА/ХЛОРБИФЕНИЛОВ ИЗ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Семерикова Д.С.[1,2], **Егорова Д.О.**[1,2]

[1]Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (филиал ПФИЦ УрО РАН), Пермь, Россия; [2] ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

semerikova_daria@mail.ru

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) представляют собой опасные химические вещества, оказывают токсическое воздействие на живые организмы и долго сохраняются в окружающей среде. В результате промышленной деятельности значительное количество ПХБ попало в почву, воду и донные отложения. Одним из основных способов удаления ПХБ из объектов окружающей среды является биодеградация с применением бактерий. В силу высокой эволюционной пластичности бактериоценозов в ПХБ-загрязненных почвах формируются сообщества бактериальных штаммов, обладающих генетическими и ферментативными системами разложения ПХБ. Таким образом является актуальным изучение бактериального разнообразия и биодеструктивного потенциала почв, загрязненных хлорорганическими соединениями.

Цель работы – выделить новые бактериальные штаммы, способные разлагать бифенил и его хлорпроизводные из почв, длительное время загрязненных хлорорганическими соединениями.

Объектом исследования являлись бактериоценозы, сформированные в почве, отобранной на территории ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск), длительное время загрязненной хлорорганическими соединениями, в том числе полихлорбифенилами.

Из почв методом накопительного культивирования с последующим рассевом на полноценные и минеральные среды выделено 65 штаммов аэробных бактерий. На основании результатов ВОХ-ПЦР и анализа гена 16S рРНК установлено, что выделенные штаммы принадлежат разным филогенетическим группам. В результате скрининга установлено, что 6 штаммов способны использовать бифенил в качестве единственного источника углерода и энергии. Однако, у данных штаммов не удалось выявить гены альфа-субъединиц бифенил 2,3-диоксигеназы, бензоат 1,2-диоксигеназы, хлоркатехол 2,3-диоксигеназы.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-29-05016мк.

ВЫЯВЛЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ВИРУСОВ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ В ВИРОМАХ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Старикова Е.В.[1], **Ульянов Д.С.**[2], **Ульянова А.А.**[2]

[1]ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия; [2]РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

estarikova@rcpcm.org

Кишечник человека является одной из наиболее разнообразных по видовому составу микроорганизмов экологических ниш и включает в себя множество прокариотических организмов, выполняющих различные функции, в том числе метаногенных архей, таких как *Methanobrevibacter smithii* и *Methanosphaera stadtmanae*. На сегодняшний день известно достаточно мало вирусов метаногенных архей. Применение методов

метагеномного секвенирования делает возможным анализ и аннотацию так называемой “тёмной микробной материи”, в том числе ранее неизвестных вирусов архей.

Целью работы было выявление как известных вирусов метаногенных архей, так и ранее не охарактеризованных в виромах кишечника человека различных возрастных групп.

Выявление известных вирусов архей производилось путём картирования виромных ридов на вирусные геномы. Также нами была использована база “тёмной вирусой материи” IMG/VR, что позволило оценить представленность метагеномных вирусных контигов (mVCs), отнесенных к вирусам *M.smithii* и других метаногенных архей. Идентификация ранее неизвестных вирусов архей производилась путем сборок вирусных метагеномов из различных фракций и установления соответствия полученных последовательностей спейсерам кассет CRISPR/Cas систем, идентифицированных в геномах *M. smithii, M. ruminantium, M. boviskoreani* и др.

На основании метагеномных сборок нами были выявлены предположительные последовательности, относящиеся к вирусам *Methanobrevibacter smithii* в 4 из 23 образцов проанализированных виромов. Данные последовательности имели длину от 17 до 62 Kb. Сходство геномной организации данных последовательностей с геномами ранее описанных вирусов архей (таких как *Methanobacterium virus* Drs3) позволяет предположить, что данные вирусы относятся к порядку *Caudovirales*. Полученные данные позволяют расширить представления о разнообразии вирусов метаногенных архей.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №19-34-80033).

ВЛИЯНИЕ СТАБИЛИЗАТОРА НА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА

Тимотина М.И.[1], Арутюнян А.А.[1], Габриелян Л.С.[1,2], Трчунян А.А. [1,2]

[1]Российско-Армянский университет, Ереван, Армения; [2]Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

timotina.mar@gmail.com

Проблема резистентности патогенных микроорганизмов к антибиотикам остается одной из самых актуальных в современной биомедицине и требует разработки новых подходов. Наночастицы (НЧ) многих металлов обладают выраженными бактерицидными либо бактериостатическими свойствами, вследствие чего могут рассматриваться в качестве альтернативных агентов для преодоления лекарственной устойчивости. Из-за того, что НЧ в растворе склонны к агрегации, их использование сопряжено с необходимостью их стабилизации.

В данной работе было исследовано влияние наночастиц оксида железа Fe_3O_4 на параметры роста и мембраносвязанные процессы в канамицин-резистентной бактерии *Escherichia coli* pARG-25 в зависимости от типа стабилизатора. Исследования проводились с использованием НЧ Fe_3O_4, стабилизированных олеиновой и лимонной кислотами.

Как известно, *E. coli* широко используется в микробиологических и биотехнологических исследованиях в качестве модельного организма для Грамотрицательных бактерий. Среди них также встречаются патогенные формы, являющиеся причиной серьезных заболеваний, таких как инфекции желудочно-кишечного тракта, мочеполовой и центральной нервной систем. Обнаружено ингибирующее действие НЧ Fe_3O_4 (вне зависимости от типа стабилизатора) на канамицин-резистентный штамм *E. coli*. При этом, максимальный ингибирующий эффект НЧ проявлялся при концентрации 250 мкг/мл. В присутствии НЧ Fe_3O_4, стабилизированных олеиновой кислотой, удельная

скорость роста *E. coli* pARG-25 подавлялась примерно в 3 раза, тогда как НЧ оксида железа, стабилизированные лимонной кислотой, демонстрировали более выраженный антибактериальный эффект. Количество жизнеспособных колоний канамицин-резистентной *E. coli* при росте в присутствии НЧ Fe_3O_4, стабилизированных лимонной кислотой, снижалось в 4 раза. НЧ Fe_3O_4 подавляли F_0F_1-АТФазную активность и энергозависимый перенос протонов через бактериальные мембраны даже в присутствии N,N'-дициклогексилкарбодиимида, ингибитора протон-транслоцирующих систем. Кроме того, НЧ Fe_3O_4, стабилизированные олеиновой и лимонной кислотами, оказывали ингибирующее действие на выход H_2 в *E. coli*: выделение H_2 подавлялось примерно в 1.5-2 раза, по сравнению с контрольным образцом.

Таким образом, НЧ Fe_3O_4 демонстрируют антибактериальную активность в отношении канамицин-резистентного штамма *E. coli*, подавляя скорость роста, мембраносвязанные процессы и выделение H_2, что свидетельствует о том, что данные НЧ воздействуют на структуру и проницаемость бактериальной мембраны. При этом антибактериальные свойства НЧ Fe_3O_4 зависят от вида стабилизатора.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИИ ESCHERICHIA COLI В СКРИНИНГЕ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Триандафилова Г.А. [1,2], **Октябрьский О.Н.** [1], **Смирнова Г.В.** [1], **Ботева А.А.**[2]

[1]ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия; [2] ФГБОУ ВО Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия

lindick@ya.ru

Бактерии, обитающие в желудочно-кишечном тракте человека, играют важную роль в пищеварении, секреции полезных метаболитов, иммунитете и психическом здоровье. При создании нового лекарственного препарата необходимо учитывать не только его действие на клетки человеческого организма, но и влияние на жизнедеятельность микробиома, а также возможное изменение фармакодинамических и фармакокинетических свойств препарата вследствие взаимодействия с микробиомом. Целью работы было исследование влияния на рост кишечных бактерий *Escherichia coli* 32 химических соединений, относящихся к оксопроизводным азотсодержащих гетероциклов и их нециклическим аналогам и обладающих анальгетическим либо антигипоксическим действием.

Для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) бактерии *E. coli* BW25113 выращивали на минимальной среде М9 в 96–луночных планшетах и измеряли оптическую плотность через 18-22 часа после добавления испытуемого вещества, растворенного в ДМСО. Установлено, что большинство веществ не ингибировали рост бактерий в концентрациях, соответствующих их максимальной растворимости. Для соединений CBR-386 и CBR-376 МИК составлял 250 мкМ, для CBR-384 и CBR-352 – 500 мкМ и для CBR-371 – 1 мМ.

Для исследования влияния веществ на скорость роста бактерий в процессе периодического культивирования было выбрано 10 соединений, относящихся к 5 разным структурным группам, включая 4 соединения, для которых была определена МИК. Для соединений с известной МИК использовали концентрации, равные МИК (для вещества CBR-371 1/2 МИК) и 1/10 МИК. Для остальных соединений исследовали действие концентраций, соответствующих их максимальной растворимости. Установлено, что из группы с известными МИК вещество CBR-376 не оказывало заметного влияния на рост, тогда как вещества CBR-386, CBR-384 и CBR-371 достоверно снижали скорость роста на

различных стадиях инкубации. Из соединений, МИК которых не был установлен, только три вещества достоверно снижали скорость роста. Полученные данные дополняют характеристику исследуемых соединений и позволяют выбрать те из них, которые более перспективны для дальнейших детальных исследований.

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием АААА-А19-119112290009-1.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЕЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ТИОЛОВ И СУЛЬФИДА ВОДОРОДА У ESHERICHIA COLI ПРИ ГОЛОДАНИИ ПО ФОСФАТУ

Тюленев А.В., Безматерных К.В., Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

leksey333@yandex.ru

Поддержание низкого уровня внутриклеточного цистеина может играть важную роль при переходных процессах, поскольку цистеин способствует генерации гидроксильных радикалов в реакции Фентона. Избыток цистеина, образующийся при резком ингибировании синтеза белка, может включаться в глутатион, экспортироваться из клеток иди подвергаться деструкции с образованием H_2S. В данной работе изучалось изменение уровней низкомолекулярных тиолов и H_2S при голодании по фосфату у бактерий E. coli дикого типа и мутантов по компонентам редокс-систем глутатиона и тиоредоксина.

Бактерии выращивали на среде MOPS с глюкозой и 2 мМ фосфата в аэробных условиях при 37ºС. В экспериментах с голоданием по фосфату культуру переносили в среду MOPS с глюкозой, но без фосфата.

В растущей культуре концентрация внутриклеточного глутатиона (GSH_{in}) варьировала от 0 у gshA и gshAtrxA до 11.5 μM/OD_{600} у gor мутанта. Уровень GSH_{in} у родителя и trxB составлял 7.7 μM/OD_{600} и был минимален у мутанта trxA (3.7 μM/OD_{600}). Примерно 25% от всего GSH экспортировалось в среду. Максимальный уровень наружного глутатиона, равный 4.5 μM/OD_{600}, наблюдался у мутантов gor и gortrxB. Переход от роста к голоданию по фосфату у всех штаммов сопровождался резким торможением роста, дыхания, снижением уровня глутатиона в среде и его 3-х кратным повышением внутри клеток в течение 60 мин голодания. Отмечался экспорт цистеина из клеток, его уровень возрастал в 2.4 раза в культуре дикого типа и в 5.1 раза у мутанта gshA. Характерной чертой переходного процесса было повышение концентрации сульфида в среде культивирования, что фиксировалось платиновым и сульфид-специфичным электродами по изменению потенциала, амплитуда которого соответствовала концентрации 225 nM. Не наблюдалось существенной разницы в продукции сульфида между штаммами, за исключением мутанта gortrxB (в 2 раза ниже, чем у родителя). Мутант gshA генерировал сульфид в течение более длительного периода, чем остальные штаммы. Изменения всех исследуемых параметров были обратимы. Добавление фосфата по истечении 2 часов голодания приводило к быстрому возобновлению роста, дыхания и стремительному выходу глутатиона из клеток в среду. Наблюдаемые изменения уровней тиолов и сульфида при переходе к голоданию по фосфату можно рассматривать как неспецифический ответ на стресс голода и способ регуляции пула внутриклеточного цистеина в условиях резкого торможения синтеза белка. Работа выполнена в соответствии с государственным заданием АААА-А19-119112290009-1 и поддержана грантами РФФИ № 19-04-00888 и грантом Президента РФ для молодых ученых МК-420.2020.4.

ПЛЕНОЧНЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В.
ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова, Саратов, Россия

eni_galina@mail.ru

В последние годы полисахариды, в связи с их большой функциональной значимостью в организме животных и человека, находят все большее применение в фармакологии, космецевтике, медицине, ветеринарии и др. [1-2]. Рынок лекарственных средств представлен различными формами лекарственных средств, которые, как правило, имеют в своем составе синтетические компоненты, которые в той или иной мере могут обладать помимо лечебных, побочными эффектами. Поэтому разработка экологически чистых, максимально природных препаратов или их компонентов в современной микробиологии, ветеринарии, медицине, фармацевтике является актуальной задачей. Из полисахаридов, согласно литературным данным, наиболее часто используется полисахарид животного происхождения – хитозан [3-5]. Альтернативой могут выступать бактериальные полисахариды, преимущество которых в климатической независимости, простоте и экономичности производства, регулировании свойств. Среди бактериальных ЭПС особое внимание заслуживают ЭПС молочнокислых бактерий, поскольку эти бактерии имеют статус GRAS как безопасные. Для создания пленочных покрытий на основе ЭПС *Lactococcus lactis* B-1662 и *Streptococcus thermophilus* использовали водный раствор ЭПС *L. lactis* B-1662 или *S. thermophilus*, карбоксиметилцеллюлозу («Fluka», Швейцария) и пластификатор глицерин. В результате получали однородный, прозрачный, студнеобразный раствор (гель), который, застывая, образовывал пленку. Применение данной пленки, как было показано нами ранее [6], способствовало более быстрому заживлению ожоговых ран и восстановлению шерстного покрова у животных (крыс) по сравнению с коммерческим препаратом 5% декспантенолом.

Литература:

1. Garcia-Ochoa F., Santos V. E., Casas J.A., Gomez E. Xanthan gum: production, recovery and properties // Biotechnology Advance. 2000. V. 18. P. 549-579.

2. Ботвинко И.В. Экзополисахариды бактерий // Успехи микробиологии. 1985. Т. 20. С. 79-122.

3. Патент РФ № 2108114. Способ лечения глубокого ожога кожи. Бюл. № 10. Опубл. 10.04.98.

4. Патент РФ № 2252787. Способ получения искусственной матрицы кожи. Бюл. №15. Опубл. 27.05.2005

5. Патент РФ №2372922. Способ лечения глубокого ожога кожи. Бюл. №32. Опубл. 20.11.09.

6. Урядова Г. Т., Фокина Н. А., Тяпкин А. Ю., Шорина Л. Н., Карпунина Л. В. Изучение влияния пленочных покрытий на основе экзополисахаридов молочнокислых бактерий на заживление ожогов у крыс // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 192–195.

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ В ГЛИНИСТЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РАССОЛОСБОРНИКА СОЛЯНОЙ ШАХТЫ (Г. СОЛИКАМСК)

Усанина Д.И.[1], Пьянкова А.А.[2], Плотникова Е.Г.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; [2] Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

usanina_d@mail.ru

Верхнекамское месторождение калийно-магниевых и натриевых солей (ВМКМС, Пермский край) содержит более 30% мировых запасов хлористого калия и является вторым в мире по запасам калийных солей. На территории солеразработок ВМКМС формируются условия для сообществ микроорганизмов, устойчивых к высокому содержанию солей. Цель настоящей работы – изучение бактериального сообщества глинистых отложений рассолосборника соляной шахты ВМКМС (г. Соликамск).

Для исследования были использованы образцы глины из соляной шахты (г. Соликамск). Уровень общей минерализации образцов составлял 135,0-178,5 г/дм^3, значение pH 6.63-6.92. Методом накопительного культивирования на богатой среде Раймонда (БСР) с 150 г/л NaCl, и последующим высевом на агаризованную БСР (150 г/л соли) было выделено 8 штаммов бактерий, различающихся морфологией колоний.

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей 16S рДНК показал, что 6 изолятов филогенетически близки бактериям родов *Chromohalobacter* и *Halomonas* (класс *Gammaproteobacteria,* порядок *Oceanospirillales*), штаммы DG3K, DG3B – представителям рода *Virgibacillus* (класс *Bacilli*). Штаммы *Chromohalobacter spp.* DK1K и DG3G являются галофилами, способными расти при концентрациях NaCl от 30 до 300 г/л, pH среды 6.0-9.0 и температуре от +4 до 40°C. Галотолерантные штаммы *Virgibacillus spp.* росли как без NaCl, так и при содержании соли до 250 г/л в среде, pH 7-10, температуре 4-45°C. Представители рода Halomonas DK1M, DG2K, DG2M также являются галотолерантными и выдерживают концентрации NaCl до 250 г/л, pH среды от 6.0 до 10.0. Галофильный штамм *Halomonas sp.* DR1 рос при содержании 10-250 г/л NaCl в среде, pH 6-8. Все изоляты рода *Halomonas* способны к эффективному росту при +4...+40°C.

Штамм *Halomonas sp.* DK1M способен расти на салициловой кислоте (0,5 г/л), используя ее в качестве единственного источника углерода и энергии, а штамм *Halomonas* sp. DR1 – на бензойной кислоте (1 г/л).

Таким образом, в микробном сообществе глинистых отложений соляной шахты ВМКМС (г. Соликамск) выявлены галофильные и галотолерантные бактерии родов *Chromohalobacter, Halomonas* (класс *Gammaproteobacteria*) и *Virgibacillus* (класс *Bacilli*). Выделены штаммы, способные выдерживать высокие значения pH среды (до 10.0), температуры (до +45°C), а также разлагать моноароматические углеводороды (бензоат, салицилат).

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290008-4.

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ PSEUDOMONAS SYRINGAE И ЕЁ ПРИМЕНЕНИЕ

Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Беккалиева А.К.
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, Ульяновск, Россия

feokna@yandex.ru

Бактерии *Pseudomonas syringae* являются причиной заболеваний всех культивируемых и дикорастущих растений. Среди симптомов, которые они вызывают, различают опухолевые новообразования, гниение, прекращение роста и гибель части растения без загнивания, хлороз, некроз.

Цель исследований - выделение бактерий *Pseudomonas syringae* из объектов внешней среды и изучение их основных биологических свойств для создания музея индикаторных штаммов для поиска специфических бактериофагов.

Опираясь на литературные данные и использовав в качестве эталона референс штаммы из коллекции БРЦ ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика и штамм Ps.s №3, мы разработали бактериологическую схему выделения и идентификации бактерий *Pseudomonas syringae* с целью оптимизации процесса исследований, которая основана на 25 бактериологических тестах. Время исследований составляет 192 часа. В основе схемы – посев на среду Кинг Б и определение анаэробной ферментации (O/F тест), ферментация глюкозы, лактозы, сахарозы, маннозы и сорбита, гидролиз крахмала, определение лецитиназной, протеолитической и липолитической (твиназной) активности, оксидазный тест, определение продукции индола, сероводорода, аргинингидролазы и гидролиз эскулина. Тест на мацерцию ткани проводили на картофеле. Гиперчувствительность определяли на листьях табака.

Установлено, что из 157 проб объектов внешней среды (97 проб почвы, 15 - вода открытых водоемов и сточные воды, 45 – плоды растений с признаками порчи) было выделено 25 штаммов, которые были отнесены к роду Pseudomonas и 12 – к виду Pseudomonas syringae.

Исследования проводятся при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 19-44-730014.

СОСТАВ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Фокина Н.А., Урядова Г.Т., Карпунина Л.В.
ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им.Н.И.Вавилова, Саратов, Россия

fockina.nadejda@yandex.ru

Экзополисахариды (ЭПС) бактерий, в том числе молочнокислых, находят применение в различных сферах деятельности человека [1]. Прикладной аспект достигается разнообразием свойств полимеров, напрямую зависящих от их структуры, строения, состава, изучение которых является важным направлением в науке.

Целью работы явилось определение моносахаридного состава экзополисахаридов молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptoccoccus thermophilus* методом ВЭЖХ.

В работе использовали ЭПС, выделенные нами ранее [2, 3] из бактериальных культур *L. lactis* В-1662, полученной из Всероссийской коллекции микроорганизмов (г. Пущино) и *S. thermophilus,* полученной из ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского

института молочной промышленности (г. Москва).

Методом ВЭЖХ обнаружено, что ЭПС исследуемых культур *L.lactis* В-1662 и *S.thermophilus* имеют в своем составе моносахара.

Литература:

1. Сироткин А.С. Микробные полимеры в природных и техногенных ппроцессах / А.С. Сироткин // Кибе. - 2010.-№6.1 (12). - С. 305 - 307.

2. Фокина Н.А. Влияние условий культивирования на продукцию экзополисахарида Streptococcus thermophilus / Н.А.Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер.Сер. Химия. Биология. Экология. - Т.18 вып.2. - С. 179 - 181.

3. Фокина Н.А. Выделение экзополисахарида из Lactococcus lactis при различных условиях культивирования / Н.А. Фокина, Г.Т. Урядова, Л.В. Карпунина //Аграрный научный журнал. - 2016.- №12. - С. 40 - 42.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА GORDONIA SP. 135 – ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЕСТРУКТОРА УГЛЕВОДОРОДОВ И ДИБЕНЗОТИОФЕНА

Французова Е.Э. [1], **Делеган Я.А.** [2]

[1] ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; [2]ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия

katkaty235@gmail.com

На сегодняшний день микробная ремедиация является одним из наиболее перспективных методов очистки почв и водной среды от нефти и продуктов ее переработки. Сера в нефти в основном находится в составе конденсированных тиофенов, в частности, дибензотиофена (ДБТ) и его производных.

Штамм *Gordonia* sp. 135 из коллекции лаборатории физиологии микроорганизмов ИБФМ РАН является перспективным деструктором нефти, дизельного топлива и отдельных углеводородов (декана, гексадекана). Также штамм способен утилизировать ДБТ в качестве источника серы. Анализ данных полногеномного секвенирования показал, что штамм наиболее близок к виду *G. alkanivorans* (Delegan et al., 2020). В геноме штамма обнаружены гены алкан гидроксилаз CYP153 в количестве трех копий, а также гены, предположительно вовлеченные в катаболизм ДБТ и отличные от неоднократно описанного ранее в других штаммах оперона dsz.

Штамм способен расти при температурах до 40˚С. При росте на минеральной среде с углеводородами он продуцирует поверхностно-активные соединения (ПАВ), понижающие поверхностное натяжение культуральной жидкости. Ранее (Delegan et al., 2019) было показано, что углеводная часть ПАВ гордоний представлена трегалозой. В геноме штамма найдены гены биосинтеза трегалозы de novo, характерные для актинобактерий (otsB, treY и treZ). В связи с этим сделано предположение, что штамм продуцирует трегалолипиды, как и ранее охарактеризованный нами *Gordonia sp.* 1D.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 19-74-00097).

Литература:

1. Delegan Y., Sargsyan A., Hovhannisyan N., Babayan B., Petrikov K., Vainstein M. Analysis of genome sequence and trehalose lipid production peculiarities of the thermotolerant Gordonia strain // Journal of Basic Microbiology. 2019. 7 p.

2. Delegan Y., Valentovich L., Vetrova A., Frantsuzova E., Kocharovskaya Y. Complete genome sequence of Gordonia sp. 135, a promising dibenzothiophene- and hydrocarbon-degrading strain // Microbiology Resource Announcements. 2020. V. 9. 2 p.

ИЗМЕНЕНИЕ ФИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ И ИМИДАЗОЛИНОНОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ БИОТРАНСФОРМАЦИИ БАКТЕРИЯМИ РОДА RHODOCOCCUS

Чугунова Ю.А., Круглова М.Н., Самков А.А., Волченко Н.Н., Худокормов А.А.
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

tchugunowa.yuliya2018@yandex.ru

В современном мире применяется несколько тысяч видов химических средств защиты растений - пестицидов, при этом наблюдается непрерывный рост их производства, а также расширение ассортимента. Данные вещества и продукты их разложения почвенной микрофлорой накапливаются в биосфере, оказывая влияние на все ее компоненты. Актуальным является вопрос возможности изменения токсичности продуктов деградации пестицидов актинобактериями - биотехнологически перспективной группой микроорганизмов, обладающей уникальными ферментативными возможностями.

Глифосат и имидазолиноны - имазамокс и имазапир являлись единственными источниками углерода и энергии при глубинном культивировании на жидкой минеральной среде штаммов *Rhodococcus erythropolis* B2, *Rhodococcus spp.* F2 и J8. Семена тест-растения *Beta vulgaris* обрабатывались раствором культуральной жидкости исследуемых штаммов, а также раствором, содержащим продукты разложения гербицидов. В качестве контроля семена обрабатывались пестицидами, предварительно не подвергавшимися биотрансформации и биодеградации. Определяли длину побегов и корней проростков, вычисляли фитотоксический эффект.

В целом, выходит, что продукты деградации родококками фосфорорганических гербицидов и гербицидов ряда имидазолинонов менее фитотоксичны, чем исходные соединения, что может объясняться синергическим эффектом фитостимулирования актинобактериальными экзометаболитами. При обработке семян имазамоксом, имазапиром и глифосатом побеги короче, чем побеги семян, обработанных продуктами деградации пестицидов, в среднем на 11%, 19%, 18,7% соответственно. Но в пробах, содержащих продукты распада глифосата штаммом *Rhodococcus erythropolis* B2 длина корней проростков была на 31,7% меньше, чем в пробе, обработанной пестицидом, а метаболиты трансформации имазамокса штаммом *Rhodococcus sp.* J8 оказались на 6,6% токсичнее в отношении показателя длины корней, чем раствор минеральной среды с данным гербицидом. В случае обработки семян продуктами распада всех исследованных пестицидов штаммом *Rhodococcus sp.* F2 длина корней проростков всегда была больше, чем длина корней проростков, обработанных интактным пестицидом.

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ В ПОЧВЕ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПОЛЛЮТАНТАМИ

Шумиловских В.В., Егорова Д.О., Пьянкова А.А.
Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

vladavidson@icloud.com

Развитие крупномасштабной промышленности привело к накоплению в окружающей среде огромного количества токсичных соединений. Бензойная кислота и ее соли обладают выраженной фунгицидной и бактерицидной активностью, в связи с чем используются в качестве консерванта в пищевой и косметической промышленностях.

Бензойная кислота попадает в окружающую среду как с продуктами производства, так и с отходами. Под влиянием повышенных концентраций ароматических и других органических загрязнителей в почве происходит селекция бактерий, способных утилизировать данные загрязнители.

Цель работы - изучение разнообразия бактерий-деструкторов бензойной кислоты, выделенных из почвы, загрязненной хлорорганическими поллютантами.

В исследовании использовали почву, отобранную на территории ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск, Самарская обл., Россия). Штаммы бактерий выделяли из накопительных культур с двумя образцами почв «Гумиком 1» и «Гумиком 2» методом серийных разведений с последующим высевом на чашки Петри с полноценной питательной средой LB и с минеральной средой К1 с добавлением 2- и 4-хлорбензойных кислот до конечной концентрации 1 г/л. Идентификацию штаммов проводили на основании морфологических и генетических (ген 16S рРНК) признаков. Способность к утилизации бензойной кислоты, 2ХБК, 4ХБК оценивали в ростовом эксперименте и методом с «отмытыми» клетками. Концентрацию субстрата и метаболитов контролировали спектрофотометрически и ВЭЖХ.

В результате накопительного культивирования на среде LB выделены чистые культуры бактерий, объединенные в морфогруппы: из образца «Гумиком 1» - 16 морфогрупп, из образца «Гумиком 2» - 10. Морфологический анализ культур, выделенных на минеральной среде К1 с 2ХБК и 4ХБК показал, что из образца «Гумиком 1» выделено 9 морфогрупп штаммов-деструкторов 2ХБК и 5 морфогрупп штаммов-деструкторов 4ХБК, а из образца «Гумиком 2» 9 и 7 морфогрупп соответственно. Анализ последовательности гена 16S рРНК показал, что 20 штаммов относятся к родам *Achromobacter, Brevibacterium, Paenibacillus, Bacillus, Providencia, Rothia, Fictibacillus, Lysinibacillus, Micrococcus*. Наиболее активными являются штаммы *Achromobacter sp.* AA и *Bacillus sp.* DI. При культивировании на бензойной кислоте оптическая плотность культуры данных штаммов составляла 0.91 и 1.38 соответственно. Штамм Achromobacter sp. AA также использует в качестве единственного источника углерода 4ХБК ($ОП_{600}$=0.167), штамм *Bacillus sp.* DI – 2ХБК ($ОП_{600}$=0.146).

Работа выполнена в рамках госзадания «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды», регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119112290009-1.

ШТАММЫ-ДЕСТРУКТОРЫ ТЕРЕФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Юдин Д.С.[1], Ястребова О.В.[2], Плотникова Е.Г.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; [2] ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

roll_96@mail.ru

С развитием химической промышленности все более актуальной становится проблема утилизации экологически опасных поллютантов, таких как фталаты, в том числе терефталевой кислоты (тере-ФК), входящей в состав широко используемых синтетических полимеров - полиэтилентерефталата (ПЭТФ) и диоктилтерефталата (ДОТФ).

На территории предприятия «Сибур-Химпром» (Пермский край) отобраны образцы активного ила (АИ) биологических очистных сооружений. Образцы АИ, обозначенные как А3 и Т2301, были использованы для получения накопительных культур на минеральной среде К1 с тере-ФК и ДОТФ в качестве субстратов. Методами прямого

высева из образцов АИ было выделено 39 штаммов бактерий. Семь доминирующих в АИ бактериальных штаммов были идентифицированы на основании анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК как представители рода *Pseudomonas* (класс *Gammaproteobacteria*), рода *Exiguobacterium* (класс *Bacilli*) и родов *Gordonia*, *Paenarthrobacter, Rothia* (класс *Actinobacteria*).

Из накопительных культур АИ путем 4 последовательных пересевов при селекции на тере-ФК получены бактериальные ассоциации SMA3 и SMT23, активно растущие на тере-ФК, ДОТФ, а также орто-ФК и бензоате, в качестве субстратов.

Установлено, что бактериальная ассоциация SMA3 включает 4 штамма (обозначенных SA45, SA46, SA47, SA48), а ассоциация SMT23 - 2 штамма бактерий (обозначенных STT10 и STT11). На основании анализа гена 16S рРНК установлено, что штаммы SA45, SA47 и STT10 наиболее филогенетически близки *Comamonastestosteroni* KS0043^{T} (уровень сходства 99,6 - 99,8%), а штаммы SA48 и STT11 – *Stenotrophomonas acidaminiphila* AMX 19^{T} (99,6%). Штамм SA46 был идентифицирован как представитель рода *Ochrobactrum* (класс *Alphaproteobacteria*).

Показано, что изоляты рода Comamonas способны к росту в среде с орто-ФК, тере-ФК и бензоатом, используемыми в качестве субстратов. Изучена способность штамма Comamonas sp. SA47 к утилизации тере-ФК в минеральной среде: установлена корреляция между набором биомассы и уменьшением концентрации тере-ФК в среде. Показано, что штамм SA47 полностью утилизирует тере-ФК (1 г/л) в течение 21 часа культивирования.

Таким образом, полученные из образцов активного ила ассоциации и чистые культуры бактерий способны к эффективному разложению тере-ФК, ДОТФ и ряда других ароматических соединений и являются перспективными для разработки новых экобиотехнологий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Пермского края в рамках научного проекта №19-44-590011р_а.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ-ГИПОЛИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ

Яроцкая М.А.
Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

miarotskaia@mail.ru

Климат на территории Антарктиды характеризуется экстремально низкими среднегодовыми температурами, сильными перепадами температур от сезона к сезону, высоким уровнем жесткого ультрафиолетового излучения, низкой влажностью воздуха и постоянной нехваткой доступной для усвоения воды.

Микроорганизмы могут полноценно жить и развиваться в экстремальных условиях в составе гиполитных сообществ. Гиполитными называют микроорганизмы, которые обитают под нижней поверхностью камней, находясь между каменным массивом и почвой.

Исследования гиполитов полярных регионов являются актуальными с точки зрения изучения механизмов адаптации микроорганизмов к постоянному стрессовому воздействию со стороны окружающей среды и возможных путей ее преобразования в процессе своей жизнедеятельности.

Образцы гиполитных сообществ были отобраны на территории оазиса Холмы Тала в Восточной Антарктиде В.Е. Мяминым в 2013 и 2015 годах. Из этих образцов были получены культуры 62 изолятов. Исследования изолятов ведутся в нескольких направлениях: установление их видовой принадлежности, описание физиолого-

биохимических свойств.

Культуры выращивались на агаризованной питательной среде (состав: ГРМ-бульон, дрожжевой экстракт, NaCl) при пяти различных температурах (+6°C, +10°C, +18°C, +28°C, +37°C); затем оценивалась интенсивность роста и морфологические различия. Рост наблюдался на всех исследованных температурах, кроме 37°C, что позволяет отнести изоляты к группе факультативных психрофилов. Максимальный рост отмечался при +18°C либо при +28°C. Для ряда изолятов показан различный уровень накопления пигментов при росте при разных температурах. Предполагается, что накопление гиполитами пигментов, в частности, каротиноидов – это один из механизмов защиты от ультрафиолетового облучения. Помимо каротиноидов, продемонстрировано накопление флуоресцирующих пигментов. Наблюдались различия в морфологии колоний при сравнении роста на разных температурах, что может быть связано с продукцией некоторых метаболитов в условиях температурного стресса. Ведется работа по дальнейшему изучению диапазонов роста гиполитов.

С помощью микроскопии среди анализируемых гиполитов было выявлено 4 представителя грибов, 1 – микроскопических водорослей и 51 – прокариот; 6 изолятов определить не удалось. С целью видовой идентификации из всех изолятов была выделена тотальная ДНК. Планируется провести видовую идентификацию гиполитов-прокариот с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенирования фрагмента гена 16s рРНК.

BIOCAD
Biotechnology Company



BIOCAD — международная инновационная биотехнологическая компания, объединяющая научно-исследовательский центр мирового уровня, современное фармацевтическое производство, доклинические и клинические исследования.

Компания производит препараты предназначеные для лечения самых сложных заболеваний, таких как рак, ВИЧ, рассеянный склероз и т. д.
Наш приоритет — непрерывная работа над инновационными проектами в области разработки препаратов для новых биологических мишеней.

Главная ценность компании — её команда. Каждый сотрудник BIOCAD сочетает в себе уникальный опыт и знания!

- **Более 58** продуктов в портфеле, **из них 20** биологические
- **2700** сотрудников, **из них 650** научные сотрудники
- **Более 40** лабораторий
- **32 года** — средний возраст сотрудников
- **Более 40** препаратов в разработке
- **7** зарубежных офисов
  4 производственные площадки

Свяжитесь с нами:
+7 (812) 380 49 33, biocad@biocad.ru, biocad.ru

@biocad

евроген



ЕВРОГЕН

Российская биотехнологическая компания, основанная в 2000 г. Основные направления деятельности – научные исследования и разработка новых технологий, на основе которых производятся наборы реагентов, а также выполняются сервисные работы на заказ.

Реактивы и наборы реагентов предназначены для решения задач:

- выделение и очистка нуклеиновых кислот;
- оценка концентрации и качества ДНК;
- постановка ПЦР и ПЦР-РВ (полимеразы и готовые смеси);
- работа с кДНК (ОТ-ПЦР);
- клонирование ДНК;
- практикум по генной инженерии (обучающий набор для студентов);
- выявление контаминации микоплазмой культур клеток методом ПЦР и ПЦР-РВ. NEW!

Сервисные работы выполняются по направлениям:

- секвенирование по Сэнгеру;
- NGS-секвенирование;
- генная инженерия (синтез генов, мутагенез, клонирование);
- синтез олигонуклеотидов;
- клеточные технологии (конструирование лентивирусов, трансфекция культур клеток).

Компания Евроген | +7(495) 988 4083
www.evrogen.ru | order@evrogen.ru

Аналитические центрифуги

Серии Optima AUC



Аналитическое ультрацентрифугирование

Характеризация макромолекул в растворе

- Молекулярная масса
- Стехиометрия
- Агрегация белков
- Лигандный анализ
- Эффективность конъюгации
- Полидисперсность

BECKMAN COULTER Life Sciences

ООО “Бекмен Культер”, представительство Beckman Coulter Life Sciences
ул. Станиславского, д. 21, стр. 3, Москва, Россия, 109004
тел. +7 495 228 67 00, ls-russia@beckman.com, mybeckman.ru

Реклама. Не для медицинского применения. CENT-6837ADV04.20

MERCK

ЗНАКОМЬТЕСЬ:

ZooMAb® - революция в мире рекомбинантных кроличьих моноклональных антител



Принципиально новые
Полностью обновленная платформа для производства продукта

Воспроизводимые
Рекомбинантно производятся, постоянны от лота к лоту

Разработаны с учётом экологических требований
Транспортируются с заботой об окружающей среде и с уменьшением затрат на доставку

Чистые
Без животных компонентов, БСА, биоцидов, таких как натрий азид и консервантов

Видимые
Прозрачные, свободно стоящие флаконы, позволяющие ясно увидеть продукт внутри

Стабильные
Лиофилизированные для стабильного и длительного хранения

Узнайте больше о наших новых Антителах ZooMAb®
на **SigmaAldrich.com/ZooMAb**

В США и Канаде life science подразделение Merck работает под наименованием MilliporeSigma.

Sigma-Aldrich®
Lab & Production Materials