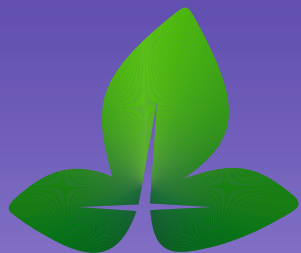


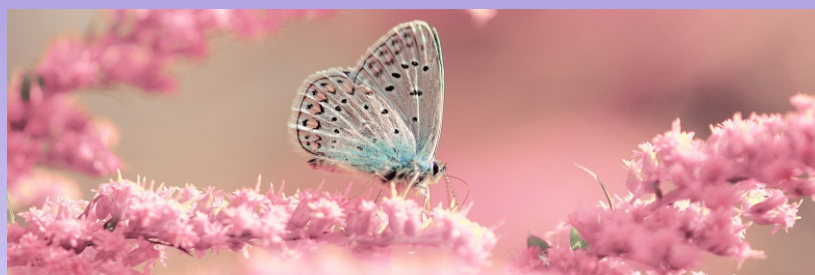
22-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых



# Биология

*Наука XXI века*

## ТЕЗИСЫ КОНФЕРЕНЦИИ



Пущино, 23-27 апреля 2018

ФГБУН Пушчинский научный центр РАН  
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН  
Совет молодых ученых и специалистов ИТЭБ РАН



**СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

**22-ой Международной Пушчинской школы-конференции молодых ученых  
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

23-27 апреля 2018, г. Пушкино



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: 22-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 23 - 27 апреля 2018 г., Пущино. Сборник тезисов, 2018. – 444 с.**

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

В программу школы-конференции, кроме устных и стендовых докладов участников, входят лекции ведущих российских и зарубежных ученых, круглые столы, мастер-классы, экскурсии в научные лаборатории институтов Пущинского научного центра, научные и творческие конкурсы, культурная и спортивная программа.

На обложке использованы фотографии участников фотоконкурса "Стихии науки": Евгений Табалыкин "Партнёры"; Ильина Наталья "Одуванчики"; Митрофанова Елизавета "Розовая нежность"; Гуртуев Эльдар "Диагональная ловушка"; Клепнев Александр "Разнообразие семян в природе".

ISBN 978-5-91874-045-3





## СОДЕРЖАНИЕ

### Почвоведение и агроэкология

АКТИВНОСТЬ ТЕРРАСНЫХ ПОЧВ ГОРНОГО ДАГЕСТАНА, СФОРМИРОВАННЫХ В РАЗНЫХ ЛИТОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ Асадова Г.Я., Каширская Н.Н., Борисов А.....	42
ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ СООБЩЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В КРУГОВОРОТ АЗОТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВНЕСЕНИИ УДОБРЕНИЙ Бойко А.Н., Слепцова Н.А.....	42
ЗНАЧЕНИЕ КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ДРЕВНИХ ЗАХОРОНЕНИЙ Воробьев С.Ф., Каширская Т.П., Каширская Н.Н.....	43
АКТИВНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО В ПОЧВАХ ЗОНАЛЬНОГО РЯДА Гурченко Е.А., Паутова Н.Б.....	44
ВЛИЯНИЕ БИОКОКСА ИЗ ОСАДКА СТОЧНЫХ ВОД НА СВОЙСТВА ПОЧВЫ И ЕЕ ПЛОДОРОДИЕ Данышина А.В., Стрижакова Е.Р., Васильева Г.К.....	45
СДВИГИ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКЕЛА ПОПУТНОГО ГАЗА Дударева Д.М., Квиткина А.К., Евдокимов И.В.....	45
ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ Душанова К.С., Хомутова Т.Э.....	46
ДИНАМИКА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ПРОЦЕССЕ ПОЧВООБРАЗОВАНИЯ Железова А.Д., Чернов Т.И., Бгажба Н.А., Иванова Е.А., Тхакахова А.К.....	47
ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ И ДЛИТЕЛЬНОЙ ЗАСУХИ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ В ВЕГЕТАЦИОННОМ ОПЫТЕ Журавлева А.И.....	47
ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ И МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА СКОРОСТЬ БИОРЕМЕДИАЦИИ И СВОЙСТВА ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ Зиннатшина Л.В., Васильева Г.К.....	48
АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ К- И R-СТРАТЕГОВ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ ПРИ ЕЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ПРИРОДНЫМИ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩИМИ МАТЕРИАЛАМИ Козлов А.В.....	49
ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО И КОЭФФИЦИЕНТ ГУМУСОБРАЗОВАНИЯ ЛУГОВЫХ ВЫПАСНЫХ ПОЧВ ПОЙМЫ ДОНА Косилова В.П., Каширская Т.П., Каширская Н.Н.....	49
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОГЛОТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ПОЧВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЦИНКУ В ПОЧВАХ ЛЕСОСТЕПИ В УСЛОВИЯХ АТМОСФЕРНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ Костин А.С., Кречетов П.П.....	50
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОГЛОТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ПОЧВ ЛЕСОСТЕПИ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЦИНКУ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ТЕПЛОЭЛЕКТРОСТАНЦИЙ Костин А.С., Кречетов П.П.....	51
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ И МЕТОДЫ ЕЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ШКОЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИИ Кравченко В.В., Каширская Т.П., Каширская Н.Н.....	52





ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛАЗ В СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ ПОЧВАХ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ Кузнецова И.Н.....	52
ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ АНТРОПОГЕННО-ИЗМЕНЕННЫХ ПОЧВ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Лазарева М.А.....	53
ПОЧВЕННЫЕ ТЕРМОФИЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И УСЛОВИЯ ИХ ОБИТАНИЯ Малыхин И.А., Каширская Т.П., Каширская Н.Н.....	54
УРОВНИ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ В ПОЧВЕ ПРИ СИСТЕМАТИЧЕСКОМ ВНЕСЕНИИ УДОБРЕНИЙ Медведева О.О., Паутова Н.Б.....	54
ОСОБЕННОСТИ ПОЧВ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЕЛЕНИЙ СТЕПНОЙ ЗОНЫ НИЖНЕГО ЗАВОЛЖЬЯ Овчинников А.Ю.....	55
ЦЕЛЛЮЛАЗНАЯ И КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ И КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА КРЕМЕНЬЕ Петросян А.А., Плеханова Л.Н.....	56
АКТИВНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО В ИНТРАЗОНАЛЬНЫХ ПОЧВАХ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ Плотникова О.О., Мирошниченко Е.Д., Паутова Н.Б.....	57
СТРАТИГРАФИЧЕСКИЕ И ПЛАНИГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КАРТИРОВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КУЛЬТУРНОГО СЛОЯ ДРЕВНИХ ПОСЕЛЕНИЙ Потапова А.В.....	58
ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И МЕТОДЫ ИХ ИЗУЧЕНИЯ В ШКОЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИИ Сопина А.В., Каширская Т.П., Каширская Н.Н.....	59
РАЗНООБРАЗИЕ ЖИЗНЕННЫХ ФОРМ ВИДОВ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ЗАРАСТАЮЩИХ ПОЛЯХ ЮЖНОГО ПОДМОСКОВЬЯ Сычева Т.А., Шовкун М.М.....	59
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ УДОБРЯЕМЫХ ОГОРОДНЫХ ПОЧВ СЕЛА РУССКАЯ БУЙЛОВКА Удальцова Е.А., Каширская Т.П., Каширская Н.Н.....	60
ДИНАМИКА РАЗЛОЖЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ, КОМПСТИРУЕМЫХ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ Хромычкина Д.П., Паутова Н.Б.....	61
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ДРЕВНИХ ЗЕМЛЕДЕЛЬЧЕСКИХ УГОДИЙ Чернышева Е.В.....	62

#### **Биотехнология и приборостроение**

ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФИТОБЕНТОСНЫХ СООБЩЕСТВ ОЗ. БАЙКАЛ Аксенов-Грибанов Д.В., Костка Д.В., Протасов Е.С., Ржечицкий Я.А., Краснова М.Е., Верещагина К.П.....	63
ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА И ГЛЮКОЗОДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ БАКТЕРИЙ GLUCONOBACTER OXYDANS СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ Алферов С.В., Клименова Н.А., Паславская В.О.....	63
РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО МЕТОДА МАНИПУЛИРОВАНИЯ МАГНИТНЫМ МИКРОСОРБЕНТОМ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СОРБЦИИ БИОПОЛИМЕРОВ Антифеев И.Е., Бродская А.В., Константинова Н.Н., Дженлода Р.Х., Фёдоров А.А., Петров Д.Г.....	64



РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА <i>ALTERNARIA</i> Барейко А. А., Сидоренко А.В., Пилипчук Т.А., Валентович Л.Н., Титок М.А., Коломиец Э.И.....	65
ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЦИИ В ГЕНОМ ЭМБРИОНОВ КРОЛИКОВ ГЕНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ ЦЕЛЕВОГО И МАРКЕРНОГО ГЕНОВ Белова Н.В., Кутьин И.В., Трубицына Т.П., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Езерский В.А., Рябых В.П.....	66
ПРИМЕНЕНИЕ КОЛЛАГЕН-ЛАМИНИНОВЫХ МАТРИЦ ДЛЯ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ Белых Е.И., Сеницына Т.Ю., Макаров А.С., Гумпылов Ю.Б., Санжитов С.В., Иванова Ю.В., Цыбденова А. П.....	67
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬОЖН-БЕЛКА SUMO-Esc-b(1-20), ВКЛЮЧАЮЩЕГО N-КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-1В Бусленко А.В., Совгир Н.В., Потапович М.И., Жидецкий А.В., Прокулевич В.А.....	67
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КАРБОНОВЫХ ВОЛОКОН ДЛЯ ИМИТАЦИИ ЦИКЛА СОКРАЩЕНИЯ ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА НА УРОВНЕ ОДИНОЧНОГО КАРДИОМИОЦИТА Волжанинов Д.А., Лукин О.Н., Хохлова А.Д.....	68
ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ПЕКТИНОВЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА <i>IN VITRO</i> Волкова М.В., Белозёров В.С., Хасаншина З.Р., Обжорина С.А., Марков П.А.....	69
ПРОДУКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В БИОМАССЕ ВОДОРΟΣЛИ <i>SPIRULINA PLATENSIS</i> ПРИ ПОВТОРНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СРЕДЫ ЗАРРУКА Вязов Е.В., Гончарик Р.Г., Филиппчик Е.А., Мананкина Е.Е., Шалыго Н.В. ....	70
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ <i>IN VITRO</i> ДЛЯ КОНТРОЛЯ СТАДИЙ ПРОИЗВОДСТВА АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА Гаврилова Ю.К., Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Кочкин А.В., Галкина М.В., Савицкая Л.В.....	70
КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ДОСТАВКИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА НЕЙРОТРОФИНА Гавриш М.С., Тутукова С.А., Елифанова Е.А., Бабаев А.А.....	71
БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТА <i>FOMITOPSIS OFFICINALIS</i> В СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЕ Гаврюшина И.А., Мучкинова Е.А.....	72
УТИЛИЗАЦИЯ ПЕСТИЦИДОВ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ Гончарова И.С., Кирганова Ю.В., Карасева Э.В., Самков А.А.....	73
ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УСПЕШНОСТИ РАБОТЫ ОПЕРАТОРА С ИНТЕРФЕЙСОМ МОЗГ-КОМПЬЮТЕР МОТОРНО-ВООБРАЖАЕМОГО ТИПА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ВИДА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ Григорьев Н.А., Лукоянов М.В., Гордлеева С.Ю., Савосенков А.О., Пимашкин А.С., Казанцев В.Б., Каплан А.Я.....	73
РИЗОГЕНЕЗ МИКРОПОБЕГОВ ЮВЕНИЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> Гусева О.Ю.....	74
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В ТРАНЗИЕНТНОЙ ТРАНСФЕКЦИИ. ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И ОПТИМИЗАЦИИ Дацкевич П.Н., Абдулина Ю.А., Розов Ф.Н.....	75



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОТ-АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНТИГЕНОВ ВО ФРАКЦИЯХ И ТАБЛЕТКАХ ХОЛЕРНОЙ ВАКЦИНЫ Дуракова О.С., Громова О.В., Воробьева С.А., Киреев М.Н., Ливанова Л.Ф., Клокова О.Д., Шарапова Н.А., Волох О.А.....	75
СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАК ВОЗМОЖНЫЙ КОМПОНЕНТ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА Журенков К. Э., Гаврилюк И.О., Хорольская Ю.И., Александрова О.И.....	76
ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ПОЧВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АВТОХТОННОЙ МИКРОФЛОРЫ Заборская О.Ю., Крамм Э.А., Заборская А.Ю.....	77
ВЛИЯНИЕ АЦЕТОНИТРИЛА НА КЛЕТКИ НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В БИОПЛЕНКЕ И СУСПЕНЗИИ В СОСТАВЕ МОНО- И СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЫ Зорина А.С., Максимова Ю.Г.....	77
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬФА-СПИРАЛЬНЫХ И ЛИПОПЕПТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКАХ ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ Зыкова А.А., Куприянов В.В.....	78
МОДИФИКАЦИЯ ЭКСПРЕССИОННОЙ РЕТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БЕСКЛЕТОЧНОМ СИНТЕЗЕ БЕЛКА Казловский И.С., Рымко А.Н., Береснев А.И., Зинченко А.И.....	79
ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ РЕКОМБИНАНТНОГО ТАУМАТИНА II ИЗ ТРАНСГЕННЫХ ПЛОДОВ ТОМАТА Козлов О.Н., Фирсов А.П., Шалойко Л.А., Тарасенко И.В., Долгов С.В.....	79
СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНЫХ РЕЦИПИЕНТНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ТАРГЕТНОГО ВНЕДРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ Козлова Е.С., Козлов А.Е., Доронин А.Н., Басовский Ю.И., Соловьев В.В.....	80
СЕРИНОВАЯ ПРОТЕИНАЗА <i>VACILLUS PUMILUS</i> В КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНОЙ БИОДОБАВКИ В КОРМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ Корягина А.О., Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р.....	81
ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДНК-АПТАМЕРАМИ Кропанева М.Д., Храпцов П.В., Раев М.Б.....	81
БИОДЕГРАДАЦИЯ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛКАНОТРОФНЫХ РОДОКОККОВ Черемных К.М., Лучникова Н.А.....	82
ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ПРИ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ КУЛЬТУРНЫХ ФОРМ <i>CORYLUS AVELLANA</i> (L.) N. KARST. Малахова К.В., Марамохин Э.В.....	83
СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ ДЕТЕКЦИЯ НИЗКОКОПИЙНЫХ БЕЛКОВ С ПОМОЩЬЮ НАНОПРОВОДНОГО БИОСЕНСОРА Мальсагова К. А., Иванова И.С., Шумов И.Д., Иванов Ю.Д. ....	84
АГРОТЕХНИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ ДОНОРНЫХ РАСТЕНИЙ <i>SCHISANDRA CHINENSIS</i> (TURCZ.) BAILL. И ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА <i>ARALIACEAE</i> ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> Марамохин Э.В., Малахова К.В.....	84



ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ ЛИМБАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Машель Т.В., Александрова О.И., Переплетчикова Д.А., Журенков К.Э., Писугина Г.А., Хорольская Ю.И., Гаврилюк И.О., Карпович В.В., Нашёкина Ю.А., Блинова М.И.....	85
ТЕЛЕМЕДИЦИНСКАЯ ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ДИСТАНЦИОННОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ ВНУТРИУТРОБНОГО ПЛОДА ДЛЯ МАССОВОГО МОНИТОРИНГА БЕРЕМЕННЫХ Минаев Н.С., Субботина Л.М., Миловидов Г.Д., Минаев И.С., Сенин А.А., Казанцев А.П.....	86
ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГРИБОВ MORTIERELLA ALPINA, ВЫРАЩЕННЫХ НА ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СРЕДЕ С ДОБАВКОЙ РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА В УСЛОВИЯХ НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Миронов А. А., Кошелев А.В.....	86
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДНЫХ ГЛАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ IN VITRO Переплетчикова Д.А., Машель Т.В., Хорольская Ю.И., Александрова О.И., Писугина Г.А., Журенков К.Э., Околов И.Н.....	87
ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO ЛИМБАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С ЦЕЛЬЮ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ОФТАЛЬМОХИРУРГИИ Писугина Г.А., Александрова О.И., Хорольская Ю.И., Журенков К.Э., Переплетчикова Д.А., Машель Т.В., Карпович В.В., Гаврилюк И.О., Блинова М.И.....	88
ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИМК С ВИБРОТАКТИЛЬНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗЬЮ НА ПАЦИЕНТАХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ Савосенков А.О, Григорьев Н.А., Лукоянов М.В, Гордлеева С.Ю.....	89
СИНТЕЗ ЛИПИДОВ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДРОЖЖАМИ DEBARYOMYCES GLOBOSUS ВКПМ У-953 Степанова Н.Н., Моргунов И.Г.....	89
ПОЛУЧЕНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА В ОДНОСТАДИЙНОМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ФИТОСТЕРИНА Текучева Д.Н., Суходольская Г.В., Карпов М.В., Шутов А.А., Донова М.В.....	90
ЭКСПРЕССИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФИТАЗЫ В ДРОЖЖАХ PICHIA PASTORIS Трошагина Д.С., Сулейманова А.Д., Шарипова М.Р.....	91
ВЛИЯНИЕ ЛЕВОМИЦЕТИНА НА МЕДИАТОРНЫЙ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ E.COLI В МИКРОБНОМ ТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ МЕМБРАННОГО ТИПА Филиппова К.А., Дмитриева Е.А., Лазукин А.А., Гайдабура Е.А., Залозняя Н.Д., Самков А.А., Волченко Н.Н.....	92
ВЛИЯНИЕ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИКРОБНОГО ТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА БЕНТОСНОГО ТИПА Хижняк Е.И., Волченко Н.Н., Кошкарёва В.А., Самков А.А.....	92
КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ESCHERICHIA COLI ПРОДУЦЕНТА ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ-ОСНОВНОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ ТОКСИН-КОРЕГУЛИРУЕМЫХ ПИЛЕЙ АДГЕЗИИ Хопрова Е.В., Тучков И.В., Михеева Е.А....	93
СЕНСОРНЫЕ В-КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ С ПОВЕРХНОСТНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ВИЧ-СПЕЦИФИЧНОГО ШИРОКО НЕЙТРАЛИЗУЮЩЕГО АНТИТЕЛА 10E8 НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ	



СОЗРЕВАНИЯ Черникова Д.С., Горчаков А.А., Кулемзин С.В., Баранов К.О., Волкова О.Ю.,  
Таранин А.В.....94

ПОДАВЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА С ЦЕЛЬЮ ОПТИМИЗАЦИИ  
ПРОДУКЦИИ БЕЛКОВ В ЛИНИИ СНО Шигина В.Е., Кононов А.В., Круглов А.А., Басовский  
Ю.И., Евдокимовская Ю.В., Соловьев В.В.....94

### Молекулярная биология

DEVELOPMENT OF SELECTABLE MARKER FREE RNAI COTTON CULTIVARS Abdiraimova  
H.M., Imamkhodjaeva A.S., Shermatov S.E., Nikitina E.V.....96

IMPROVEMENT OF FIBER QUALITY TRAITS OF UPLAND COTTON (*G. HIRSUTUM*) ON THE  
BASIS OF MAS TECHNOLOGY Darmanov M.M., Makamov A.Kh., Turaev O.S., Kushanov F.N.,  
Buriyev Z.T., Abdurakhmonov I.Y.....96

DEVELOPMENT OF FW-RESISTANT COTTON CULTIVARS ALONG WITH SUPERIOR FIBER  
QUALITY USING MARKER ASSISTED GENE-PYRAMIDING METHOD Husenov N.N., Kushanov  
F.N., Turaev O.S., Norbekov Zh.K., Makamov A.Kh., Ayubov M.S.....97

GENE PYRAMIDING WITH THE HELP OF GENE KNOCK-OUT TECHNOLOGY Norov T.M.,  
Shapulatov U.M., Ayubov M.S., Usmanov D.E., Shermatov S.E., Buriyev Z.T., Abdurakhmonov I.Y.....98

DEVELOPMENT OF NAM POPULATION IN COTTON FOR FINE GENETIC MAPPING Turaev  
O.S., Normamatov I.S., Kholmuradova M.M., Kushanov F.N., Makamov M.M., Darmanov M.M.,  
Khusenov N.N., Buriyev Z.T., Abdurakhmonov I.Y.....99

ESCHERICHIA COLI ITAT IS A TYPE II TOXIN THAT INHIBITS TRANSLATION BY  
ACETYLATED ISOLEUCYL-TRNA<sup>ILE</sup> Wilcox B., Osterman I., Serebryakova M., Gollan B., Wolf  
Yu., Makarova K., Morozova N., Helaine S., Sergiev P., Dubiley S., Borukhov S., Severinov K.....99

THE MECHANISM OF MICROCIN C IMMUNITY CONFERRED BY *HYALANGIUM MINUTUM*  
HIT (HISTIDINE TRIAD SUPERFAMILY) TYPE PROTEIN Yagmurov E., Tsibulskaya D.,  
Serebryakova M., Severinov K., Dubiley S.....99

МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ (10 СГР) ТАК ЖЕ, КАК И ФРАГМЕНТЫ ОКИСЛЕННОЙ ВКДНК,  
КРАТКОВРЕМЕННО БЛОКИРУЮТ КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И СНИЖАЮТ  
ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ В МСК Абрамова М. С., Кальянов А. А., Малиновская  
Е.М., Конькова М.С., Ершова Е.С., Мартынов А.В., Вейко Н.Н., Савинова Е.А., Костюк С.В.....100

ВЛИЯНИЕ ДИСФЕРЛИНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И РЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ  
КЛЕТОК НЕК293А Аглиуллина Д.Р., Шаймарданова А.А., Старостина И.Г., Соловьева В.В.,  
Ризванов А.А.....101

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НК-КЛЕТОК В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК  
ТРОФОБЛАСТА ЛИНИИ JEG-3 Баженов Д.О.....101

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ADAMTS  
ПОДСЕМЕЙСТВА А КАК ПОИСК ИХ ГОМОЛОГОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ ХРЯЦА  
Бацманова А.А.....102

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ АНТИПСИХОТИКАМИ НА ЭКСПРЕССИЮ ИЗОФОРМ  
ТРАНСКРИПТОВ II ЭКЗОНА ГЕНА HTR2A В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ПАЦИЕНТА



Белинская М.А., Заботина А.М., Грунина М.Н., Журавлев А.С., Насырова Р.Ф., Крупицкий Е.М., Тараскина А.Е. ....	103
КОНТРОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГЛОБАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРА LEUO: РОЛЬ БЕЛКА НУКЛЕОИДА DPS И АНТИСМЫСЛОВОЙ ТРАНСКРИПЦИИ Бессонова Т.А., Маркелова Н.Ю., Швырева У.С., Тутукина М. Н., Озолин О. Н. ....	104
ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В УСЛОВИЯХ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ Бокань Б.Ю., Архипова С.С., Масгутова Г.А., Ризванов А.А., Гилязиева З.Е. ....	104
ПОИСК БЕЛКОВ, СПОСОБНЫХ КООГРЕГИРОВАТЬ С ИЗВЕСТНЫМИ АМИЛОИДАМИ Бондарев С.А., Данилов Л.Г., Лихолетова Д.В., Журавлева Г.А. ....	105
РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ 72 И 249 КОДОНОВ ГЕНА TP53 В РИСКЕ РАЗВИТИЯ РАДОН-ИНДУЦИРОВАННОГО РАКА ЛЕГКОГО В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ Булгакова О.В., Кусаинова А.А, Берсимбай Р.И. ....	106
ЭКСТРУЗИЯ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНА В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ АМОЕВА PROTEUS И «PROTEUS-ПОДОБНЫХ» АМЕБ (АМОЕВОЗОА, TUBULINEA, EUАМОЕВИДА) Васильева В.А., Бердиева М.А., Гудков А. В. ....	106
НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА МТОР-ЗАВИСИМУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ Васильева М.И., Кулаковский И.В., Овчинников Л.П., Елисеева И.А. ....	107
СИНЕРГИЯ ГИСТОНА H2АХ И АТМ КИНАЗЫ ОБЕСПЕЧИВАЕТ ТРАНСКРИПЦИОННУЮ РЕПРЕССИЮ В САЙТАХ ДВУЦЕПОЧЕЧНЫХ РАЗРЫВОВ ДНК Величко А.К., Петрова Н.В., Лужин А.В., Разин С.В., Кантидзе О.Л. ....	108
ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ И УЗНАВАНИЯ МИШЕНЕЙ CRISPR-CAS СИСТЕМАМИ ПОДТИПА III-A И III-B В THERMOTHERMOPHILUS Верхова В., Артамонова Д., Лопатина А., Колесник М., Северинов К., Самолыго А. ....	108
ЖГУТИКИ ГАЛОФИЛЬНЫХ АРХЕЙ: ИЗУЧЕНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИКЛАДНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ Безносос С.Н., Волошаненко В.В., Пятибратов М.Г., Галева А.В., Федоров О.В. ....	109
ТАТ-НИТИ - НОВЫЙ ТИП ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР АРХЕЙ Галева А.В., Меринова Е.С., Пятибратов М.Г., Сюткин А.С., Безносос С.Н., Федоров О.В. ....	110
ОЦЕНКА МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ РЯДА ГЕНОВ У КУРИЛЬЩИКОВ С ПОМОЩЬЮ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК Галимова А.А., Ахмадишина Л.З., Кoryтина Г.Ф., Кочетова О.В., Сахабутдинова А.Р., Викторова Т.В. ....	110
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ШАПЕРОНЫ: ФАКТОРЫ БЕЛКОВОГО ГОМЕОСТАЗА И ЦИТОКИН-ПОДОБНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ Гарбуз Д.Г. ....	111
ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЗЕЛЕННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА Глухова К.А. ....	112
ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМОВ ЛОКУСА UCP1 С КАРДИОМЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ Грачева Н.П., Праведникова А.Э., Керчев В.В., Ларина С.Н., Шидловский Ю.В. ....	112



ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИЙ В САЙТАХ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ БЕЛКА УВ-1 НА ЕГО ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ Григорьева Е.М., Мордовкина Д.А., Овчинников Л.П.....	113
ОСОБЕННОСТИ ФИЛОГЕОГРАФИИ МАЛОЙ ЛЕСНОЙ МЫШИ, SYLVAEMUS URALENSIS PALL. (RODENTIA, MURIDAE) НА СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ КАВКАЗЕ Григорьева О.О.....	114
ФИБРИЛЛОГЕНЕЗ АНАЛОГОВ ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА Гришин С.Ю., Селиванова О.М., Суворина М.Ю., Сурин А.К., Галзитская О.В.....	114
ПРОВЕРКА АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА HNRNPD В ДРОЖЖЕВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ Данилов Л.Г., Бондарев С.А., Москаленко С.Е., Романова Н.В., Зелинский А.А., Рубель А.А., Каява А.В., Журавлева Г.А., Чернов Ю.О. ....	115
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ КОНЦЕВЫХ УЧАСТКОВ ПЗМТ В ТРАНСЛЯЦИОННЫХ СИСТЕМАХ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ Дербикова К.С., Кузьменко А.В., Левицкий С.А., Климонтова М.В., Каменский П.А. ....	116
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ НОВЫХ 8-ЦИСТЕИНОВЫХ ГЕВЕИНОПОДОБНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ Дмитриева М.А., Коростылева Т.В., Истомина Е.А., Одинцова Т.И.....	116
ПЛАЗМИДЫ РОДА PESTOBACTERIUM КАК ДЕТЕРМИНАНТЫ ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ Дюбо Ю.В.....	117
СОЗДАНИЕ ДНК-БАНКА РЕДКИХ, ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ, СОБРАННЫХ В НАЦИОНАЛЬНОМ ПРИРОДНОМ ПАРКЕ «БУРАБАЙ» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ Жалмаканова Ж.Ж., Жаныбекова Ж.Т., Есимсеитова А.К., Какимжанова А.А. ....	118
ВЛИЯНИЕ БЕЛКА LBROTН НА ДНК-СВЯЗЫВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛКА LBGLNR В КЛЕТКАХ LACTOBACILLUS BREVIS SUBSP GRAVESENSIS Журавлева Д.Э., Исхакова З.И., Каюмов А.Р. ....	118
АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ВО ВРЕМЯ СТРОБИЛЯЦИИ СЦИФОМЕДУЗЫ AURELIA AURITA (CNIDARIA:SCYPHOZOA) Зайнуллина Б.Р., Зорина Н.А., Согомонян К.С., Хабибулина В.Р. ....	119
СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ ДО ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ХИМИОТЕРАПИИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПЛАТИНЫ Заварькина Т.М., Заркуа В.Т., Аткарская М.В., Стенина М.Б...	120
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ NUTLIN-3A НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ И УРОВЕНЬ СЕКРЕЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ Змиевская Е.А., Валиуллина А.Х., Ризванов А.А., Булатов Э.Р.....	121
АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ В АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКАХ ГОРОХА ПОСЕВНОГО Зорин Е. А., Афонин А. М., Кулаева О. А., Тихонович И.А., Жуков В.А. ....	121
СЕРОТОНИН ВЫЗЫВАЕТ ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКУЮ СЕНСИТИЗАЦИЮ АЛЬФА1А-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ Иванова А.М., Чечехин В.И., Тюрин-Кузьмин П.А. ....	122



ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Р-II-ПОДОБНОГО БЕЛКА GLNK В <i>VACILLUS SUBTILIS</i> Илларионова А.Ф., Каюмов А.Р. ....	123
РАДОН И ПОКАЗАТЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК У ЖИТЕЛЕЙ ИНДУСТРИАЛЬНОГО ГОРОДА Иродова К.А., Шамигова С.Ф., Сердюкова Е.С. ....	123
ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКА ROTN ПЕРВОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ НОВОГО ПОДКЛАССА РII БЕЛКОВ Исхакова З.И., Журавлева Д.Э., Каюмов А.Р. ....	124
ПИРИДИЛ-4-ОКСИ-ЗАМЕЩЕННЫЕ N-ГИДРОКСИАМИДЫ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ – НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ АКТИВНОСТИ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ И БЛОКАТОРЫ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С Козлов М.В., Маликова А.З., Камарова К.А., Кондукторов К.А., Кочетков С.Н. ....	125
МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ (10 СГР) ТАК ЖЕ, КАК И ОКИСЛЕННЫЕ ГЦ БОГАТЫЕ ФРАГМЕНТЫ, ВЫЗЫВАЮТ ОБРАЗОВАНИЕ БЫСТРОРЕПАРИРУЕМЫХ РАЗРЫВОВ ДНК СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК Кальянов А.А., Абрамова М.С., Конькова М.С., Ершова Е.С., Малиновская Е.М., Вейко Н.Н., Костюк С.В. ....	125
ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК АКТИВИРУЕТ АПОПТОЗ В ЛИМФОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С РАС Канонирова С.А., Чудакова Ю.М., Ершова Е.С., Вейко Н.Н., Никитина С.Г., Шмарина Т.В., Вейко Р.В., Костюк С.В. ....	126
КОНСТРУИРОВАНИЕ КДНК КЛОНОТЕКИ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ Каратаева Т.А., Быстрова М.Ф. ....	127
АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ КРЫС <i>RATTUS NORVEGICUS</i> , В УСЛОВИЯХ ПАРАКВАТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА Каширских Д.А., Гланц В. Ю., Попов В. Н. ....	127
БИОСИНТЕЗ МЕТИОНИНА В ПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> : АНАЛИЗ ГЕНОМА НА НАЛИЧИЕ ПИРИДОКСАЛЬ-5'-ФОСФАТ-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В СИНТЕЗЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРЕДПОЛАГАЕМОЙ О-АЦЕТИЛГОМОСЕРИНСУЛЬФИДРИЛАЗЫ Коваль В.С., Котлов М.И., Белый Ю.Ф., Морозова Е.А., Ануфриева Н.В., Ревтович С.В., Куликова В.В., Демидкина Т.В. ..	128
ЭФФЕКТОР DSPE <i>RESTOVASTERIUM CAROTOVORUM</i> МЕНЯЕТ КАРТИНУ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ И СИСТЕМНОМ ОТВЕТЕ В РАСТЕНИЯХ <i>NICOTIANA BENTHAMIANA</i> Колубако А.В., Николайчик Е.А., Бадалян О.А. ....	129
ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ ДВУХДОМЕННОЙ ЛАККАЗЫ ИЗ <i>STREPTOMYCES GRISOFLAVUS</i> AC-993 С ЗАМЕНОЙ ILE170PHE Коляденко И.А., Костарева О.С., Михайлина А.О., Тищенко С.В., Габдулхаков А.Г. ....	129
ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР <i>rhoP</i> КАК РЕГУЛЯТОР ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ <i>RESTOVASTERIUM SP.</i> Кравченко У.А., Крук А.Н. ....	130
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ FLAP-ЭНДОНУКЛЕАЗ НА МОДЕЛИ РНКАЗЫ Н БАКТЕРИОФАГА T4 Кузницын Р.А., Холод Н.С., Латыпов О.Р., Шляпников М.Г., Грановский И.Э. ....	131





ОТБОР ГЕНОТИПОВ И ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЁЛТОЙ РЖАВЧИНЕ РОДИТЕЛЬСКИХ ГЕНОТИПОВ ГАК-ПОПУЛЯЦИИ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ Куйсинова Ю.М., Зупарова Д.М., Норбеков Ж.К., Адылова А.Т., Кушанов Ф.Н. ....	131
ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА IВРА ИЗ A.LAIDLAWII НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК E. COLI В УСЛОВИЯХ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА Куприянова Т.А., Каюмов А.Р., Чернова Л.С., Вишняков И.Е.....	132
EVR - ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ РЕГУЛЯТОР ВИРУЛЕНТНОСТИ PЕСТОВАСТЕРIUM SP. Кучинская М.А. ....	133
РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ДЕТЕКЦИИ АМИЛОИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ДРОЖЖАХ SACCCHAROMYCES CEREVISIAE Лашкул В.В., Качкин Д.В., Нужина Ю.В., Чернов Ю.О., Рубель А.А. ....	133
ВЫДЕЛЕНИЕ И КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ ДОМЕНОВ РНК-ШАПЕРОНА PROQ ИЗ ESCHERICHIA COLI Леконцева Н.В., Фандо М.С., Михайлина А.О., Коробейникова А.В., Никулин А.Д.....	134
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ КАРТИРОВАНИЯ УЧАСТКА БЕЛКА SUP35 В СОСТАВЕ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ Лихолетова Д.В., Бондарев С.А., Журавлева Г.А. ...	134
ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РII-ПОДОБНОГО БЕЛКА ROTN ИЗ LACTOBACILLUS BREVIS SUBSP GRAVESENSIS С БЕЛКАМИ GLNR, ROTA, ROTD С ПОМОЩЬЮ ДВУГИБРИДНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ Лобанова А.В., Исхакова З.И., Журавлева Д.Э., Каюмов А.Р...	135
РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОЛНЫХ ЧАСТИЦ ВИРУСА ЯЩУРА ТИПА А МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ И ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ Лозовой Д.А., Доронин М.И., Стариков В.А., Михалишин Д.В.....	135
РОЛЬ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ 3-КИНАЗА ПОДОБНЫХ КИНАЗ (PIKK) В ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПЕРТЕРМИЕЙ РЕПЛИКАТИВНОМ СТРЕССЕ Лужин А.В., Величко А. К., Петрова Н. В., Кантидзе О.Л. ....	136
РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ MTHFR, MTR, MTRR И CBS В УВЕЛИЧЕНИИ РИСКА РАЗВИТИЯ СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Лукина С.С., Варачев В.О., Шушарин А.С., Бурденный А.М. ....	137
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА INVITRO ПРОМИЕЛОЦИТАРНОЙ ЛИНИИ HL-60 СОПРОВОЖДАЕТСЯ ДИНАМИЧНЫМ ИЗМЕНЕНИЕМ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ИЗОФОРМ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ POU2F1 Льянова Б.М., Порцева Т.Н., Степченко А.Г, Панкратова Е.В.....	137
ОЦЕНКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ERCC1 И TS Любушкин А.В., Смолякова Р.М. ....	138
ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В ПЕТЛЯХ, СОЕДИНЯЮЩИХ ЭЛЕМЕНТЫ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ АПОМИОГЛОБИНА, НА ЕГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ Мажорина М.А. ....	139



ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ РОДСТВА ВИДОВ ДРОЖЖЕЙ И ТИПА ЗАТРАВКИ АГРЕГАЦИИ НА МЕЖВИДОВУЮ ПЕРЕДАЧУ ПРИОНА [PSI+] Майтова А.В., Гризель А.В., Рубель А.А., Чернов Ю.О. ....	139
НЕСПЕЦИФИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ АМПЛИФИКАЦИИ, ОБРАЗОВАННЫЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ I ИЗ GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS Максимова М.А., Сахабутдинова А.Р., Гарафутдинов Р.Р. ....	140
ПОИСК МУТАЦИЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА АГРЕГАЦИЮ ПЕПТИДА АМИЛОИД-БЕТА, С ПОМОЩЬЮ ДРОЖЖЕВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ Маликова О.А., Аксёнова А.Ю., Рубель А.А., Чернов Ю.О. ....	141
ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК (ВКДНК) СПОСОБСТВУЕТ БОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНОМУ ПРОНИКНОВЕНИЮ ДНК В РАКОВЫЕ КЛЕТКИ Малиновская Е.М., Вейко В.П., Кальянов А.А., Савинова Е.А., Вейко Н.Н., Конькова М.С., Мартынов А.В., Ершова Е.С., Огорокова Н.А., Мордкович Н.Н., Костюк С.В. ....	141
ОЦЕНКА РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В СТРУКТУРНЫХ НАРУШЕНИЯХ ЯДРА Мачигов Э.А. ....	142
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ОТВЕТ РАСТЕНИЙ ЛЬНА (LINUM USITATISSIMUM L.) НА ДЕФИЦИТ ЦИНКА Зяблицин А.В., Рожмина Т.А., Дмитриев А.А., Кудрявцева А.В., Мельникова Н.В. ....	143
ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ HYDRANGEA PANICULATA С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ Михеева А.М., Виноградова С.В., Сухих Н.А. ....	143
ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИГНАЛА ЯДЕРНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКА УВ-1 Мордовкина Д.А., Овчинников Л.П. ....	144
ВЛИЯНИЕ БУТИРАТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ FOXO Моршнева А.В., Гнедина О.О., Иготти М.В. ....	145
ПРОЕКТИРОВАНИЕ СТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ ДИСУЛЬФИДНОЙ СВЯЗИ В БЕЛКЕ L1 Нагибина Г.С. ....	145
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ГРИБА FUSARIUM OXYSPORUM ПРИ ЗАРАЖЕНИИ УСТОЙЧИВЫХ И ВОСПРИИМЧИВЫХ СОРТОВ ЛЬНА Новаковский Р.О., Краснов Г.С., Рожмина Т.А., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А. ....	146
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ УЗБЕКИСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ Норбеков Ж.К., Адылова А.Т., Дармонов М.М., Тураев О.С., Хусенов Н.Н., Кушанов Ф.Н., Буриев З.Т. ....	147
СОЗДАНИЕ МОДЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ МЫШИ, НОКАУТИРОВАННОЙ ПО ГЕНУ FCRLA, ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИИ БЕЛКА FCRLA Орлова Е.А., Кулемзин С.В., Мечетина Л.В. ....	147
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЧИСЛА КОПИЙ И СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ РРНК-КОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ Орлова М.Д., Честков И.В., Вейко Н.Н., Ершова Е.С., Костюк С.В. ....	148
ПОИСК БЕЛКОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С G-КВАДРУПЛЕКСАМИ В РНК Поляков Д.Н., Елисеева И.А., Кулаковский И.В., Овчинников Л.П. ....	149



ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕГО ШТАММА БАКТЕРИИ TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS PS2 ПУТЕМ ПОЛНОГЕНОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ Романова В.А., Булыгина Е.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В. ....	149
ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА В СОСТАВЕ ХИМЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ SUP35NM-MCHERRY НА СВОЙСТВА ПРИОНА [PSI <sup>+</sup> ] У ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE Рыжкова В.Е., Матвеевко А.Г., Журавлева Г.А. ....	150
РАЗЛИЧИЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗОМЕРОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ Фуллереина В ОТНОШЕНИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ ЛЕГКОГО ЧЕЛОВЕКА Савинова Е.А., Сергеева В.А., Ершова Е.С., Вейко Н.Н., Трошин П.А., Мартынов А.В., Каменева Л.В., Костюк С.В. ....	151
РАЗНООБРАЗИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ HCN-ПОДОБНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ ЭУКАРИОТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ Сафонов П.Ю., Поздняков И.А. ....	152
КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА RHODOBACTER SPHAEROIDES С МУТАЦИЕЙ I(L177)У Селиханов Г.К., Фуфина Т.Ю., Васильева Л.Г., Шувалов В.А., Габдулхаков А.Г. ....	152
ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ ВИДАМИ СПОРТА НА ВЫНОСЛИВОСТЬ Семенова Е.А., Кострюкова Е.С., Кулемин Н.А., Ларин А.К., Оспанова Е.А., Павленко А.В., Попов Д.В., Виноградова О.Л., Генерозов Э.В., Говорун В.М., Фуку Н., Ахметов И.И. ....	153
ВЛИЯНИЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ НА ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ШАХТЕРОВ КУЗБАССА Сердюкова Е.С., Романова Е.Л. ....	154
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ООГЕНЕЗЕ Синюкова В.А., Сопова Ю.В., Рыжова Т.А., Галкина С.А., Кошель Е.В., Галкин А.П. ....	154
ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВЫХ МАРКЕРОВ PCNA И P53 ПРИ РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ Скоповец Е.Я., Смолякова Р.М. ....	155
БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP72 КАК ФАКТОР ЦИТОЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ПРОТИВ ЭНДОТОКСЕМИИ Слущкая Е.А., Зарудная Е.Н. ....	156
ХАРАКТЕРИСТИКА ДУАЛИСТИЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПОДСЕМЕЙСТВА SUP74C Смирнова Е.О., Горина С.С., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н. ....	157
МУТАЦИИ В ГЕНЕ IDN1 ПРИ КАРОТИДНЫХ ПАРААНГЛИОМАХ Снежкина А.В., Лукьянова Е.Н., Калинин Д.В., Федорова М.С., Пудова Е.А., Садритдинова А.Ф., Краснов Г.С., Степанов О.А., Харитонов С.Л., Киселева М.В., Каприн А.Д., Кудрявцева А.В. ....	157
ДЕЛЕЦИИ И ТОЧКОВЫЕ МУТАЦИИ ГЕНА AVL1 КАК ПРИЧИНА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ИНГИБИТОРАМ ТИРОЗИНАЗИН У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ Судариков А.Б., Абдуллаев А.О., Нестерова О.Ю., Михайлов И.А. ....	158
РАСШИФРОВКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧНОСТИ СИМБИОЗА У ПРИМИТИВНЫХ ЛИНИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (PISUM SATIVUM L.) ИЗ ПЕРЕДНЕЙ АЗИИ Сулима А.С., Жуков В.А., Тихонович И. А. ....	159



ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ МАСТЕР РЕГУЛЯТОРОВ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Тарасенко А.И., Кондратьева Л.Г. ....	160
ИЗУЧЕНИЕ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ХЕЛИКАЗЫ-НУКЛЕАЗЫ CAS3B <i>ESCHERICHIA COLI</i> Титова Д.Г., Мушарова О.С., Савицкая Е.Е., Северинов К.В. ....	161
ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ СПОСОБСТВУЕТ ПРОНИКНОВЕНИЮ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В НЕЙРОНЫ IN VITRO Филев А.Д., Табаков В.Ю., Вейко Н.Н., Костюк С.В. ....	161
ЛОКАЛИЗАЦИЯ ОКИСЛЕННЫХ ГУАНИНОВ В G-КВАДРУПЛЕКСЕ ПРОМОТОРА ОНКОГЕНА С-МУС Чащина Г.В., Бениаминов А.Д., Калюжный Д.Н. ....	162
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА IВРА ИЗ <i>ACHOLEPLASMA LAIDLAWII</i> С БЕЛКОВЫМИ СУБСТРАТАМИ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ Чернова Л.С., Каюмов А.Р., Вишняков И.Е. ....	162
БЕЛОК MUNC18-1 КРЫСЫ <i>RATTUS NORVEGICUS</i> – НОВЫЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АМИЛОИД? Чиринскайте А.В., Сопова Ю.В., Рыжова Т.А., Галкин А.П., Велижанина М.Е. ....	163
ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВАЦИЯ ГЕНА ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА В МУТАНТНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОЖИ ПАЦИЕНТА С ДИСФЕРЛИНОПАТИЕЙ Шаймарданова А.А., Аглиуллина Д.Р., Старостина И.Г., Соловьева В.В., Яковлев И.А., Деев Р.В., Ризванов А.А. ....	164
ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК С ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ КОСТНЫМ ФЛЮОРОЗОМ Шамигова С.Ф., Калюжная Е.Э., Романова Е.Л., Сердюкова Е.С. ....	164
ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКА РОТЕЕ, ФОРМИРУЮЩЕГО АГРЕГАТЫ В СТАРЕЮЩЕМ МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА Шенфельд А.А., Рыжова Т.А., Сопова Ю.В., Галкин А.П. ....	165
РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО РЕГУЛЯТОРА SlyA В ВИРУЛЕНТНОСТИ <i>RESTOVACTERIUM SAROTOVORUM</i> Яроцкая М.А. ....	167

### Биохимия

ВЛИЯНИЕ АУКСИНОВ НА РИЗОГЕНЕЗ <i>NYOSCYAMUS MUTICUS L.</i> IN VITRO Абделаиз В.М.А. ....	167
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА АКТИВАЦИЮ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ МОЗГА КРЫС Абдулханов М.Р. ....	167
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙТРАЛЬНЫХ ПРОТЕАЗ В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ Абдулханов М.Р., Алибекова Д.М. ....	168
ИНГИБИРОВАНИЕ NADH – ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ИЗ <i>METHYLOCOCCUS CAPSULATUS</i> (M) ИОНАМИ МЕДИ Авдеева Л.В., Гвоздев Р.И. ....	168
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ СПОРТИВНЫХ ЛОШАДЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ MARSTAL TURNIE Авдоница Е.Д., Зарудная Е.Н., Курилова Н.М. ....	169



БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СЕРДЦА У ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ Азарова Д.Ю., Зарудная Е.Н.....	170
РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В ИНИЦИИРОВАНИИ АПОПТОЗА Акименкова А.Д., Зарудная Е.Н.....	171
ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ENERGIE PELLETS НА ПОКАЗАТЕЛИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЛОШАДЕЙ В СПОРТИВНОМ КОНЕВОДСТВЕ Алексева И.А., Зарудная Е.Н., Курилова Н.М.....	172
КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МЕМБРАН СИНАПТОСОМ ИЗ МОЗГА КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ Алибекова Д.М. ....	172
ПРОЛИФЕРАЦИЯ И АПОПТОЗ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭУТОПИЧЕСКОГО И ЭКТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ РЕГУЛИРУЮТСЯ ЭНДОГЕННЫМ КАННАБИНОИДОМ N-АРАХИДОНОИЛДОФАМИНОМ Ашба А. М., Бобров М.Ю., Акимов М.Г., Гречкая Н.М., Безуглов В.В.....	173
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС Бахулова Х.А., Цаликова П.А., Халилов Р.А., Джафарова А.М. ....	174
ПЕРВАЯ АЛЛЕНОКСИДСИНТАЗА ЦИТОХРОМОВ ПОДСЕМЕЙСТВА СYP74В P450 Бессолицына Е. К., Горина С. С., Топоркова Я. Ю., Мухтарова Л. Ш., Мухитова Ф. К., Гречкин А. Н.....	174
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ПЛАЗМЕННОГО ФИБРИНСТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ФАКТОРА: СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ Васильева А.Д., Юрина Л.В., Индейкина М.И., Бугрова А.Е., Бычкова А.В., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Розенфельд М.А. ....	175
РОЛЬ NF1-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ РЕАКЦИЙ МОЗГА НА ПАТОЛОГИЧЕСКУЮ ГИПОКСИЮ Ветровой О.В. ....	176
СОДЕРЖАНИЕ КАТИОННЫХ БЕЛКОВ В ГРАНУЛОЦИТАХ СОБАК Воронина О.А., Царькова М.С. ....	176
АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И КАНЦЕРОГЕНЕЗ Галкина А.А., Зарудная Е.Н. ....	177
ТЕНЗИОМЕРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОКА КОЗ Гейдарова С.Р., Зарудная Е.Н. ....	178
ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА Горбач Д.П., Миттенберг А.Г.....	178
ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОТОН-ТРАНСЛОЦИРУЮЩЕГО ДОМЕНА NADH-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ Дельцов А.С., Зарудная Е.Н.....	179
ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СИНАПТОСОМАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ИШЕМИИ Джалиев А.А., Абдуселимова Н.М., Исмаилова Ж.Г. ....	180
МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАВЕОЛИНА-1 И GCAPS ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ КЛЕТКИ Доктор А.О., Владимиров В. И., Зерний Е. Ю., Бакшеева В.Е., Сенин И.И., Зинченко Д.В. ....	181



СОПОСТАВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ТРОМБОДИНАМИКИ И КОНТРАКЦИИ СГУСТКОВ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ Евдокимова Т.А., Пешкова А.Д., Сибгатуллин Т.Б. ....	181
ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАТОНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ Жарская А.В. ....	182
БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ Зарудная Е. Н., Зиневич М.И. ....	183
ГИПОТЕЗА CORR Карташова Н.П., Зарудная Е.Н. ....	184
РОЛЬ ПРОТЕИНАЗИНЫ HOG1 В ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЯХ НАРУШЕНИЙ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В СЕКРЕТОРНОМ ПУТИ У ДРОЖЖЕЙ HANSENULA POLYMORPHA Красовитов К.В. ....	184
НА-АЦЕТИЛИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ЭУКАРИОТ В УСЛОВИЯХ IN VITRO НА ПРИМЕРЕ ПАРВАЛЬБУМИНОВ Лаптева Ю.С., Вологжанникова А.А., Соколов А.С., Исмаилов Р. Г., Пермяков С. Е. ....	185
СУЛЬФОКСИД S-ПРОПИЛ-L-ЦИСТЕИНА: КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С МЕТИОНИН-Г-ЛИАЗОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ Лебедева Л.А., Куликова В.В., Родионов А.Н., Ануфриева Н.В., Ревтович С.В., Коваль В.С., Демидкина Т.В. ....	186
СУБКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА Линов А.В., Моисеенко А.В. ....	186
ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ НАД-МАЛИК-ЭНЗИМА В ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА Линова Н.В., Селиванова Н.В. ....	187
АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ПРАВОГО И ЛЕВОГО ПОЛУШАРИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ У КРЫС Малащук А.Д., Щелчкова Н.А., Логинов П.А., Самсонова К.И., Мухина И.В. ....	187
ПОЛУЧЕНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ СТАРТОВЫХ КОРМОВ АКВАКУЛЬТУРЫ Меланьина Л.А., Зинченко Д.В., Муранова Т.А., Мирошников А.И. ....	188
ВЛИЯНИЕ АКТИВИРОВАННОГО УГЛЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ И РАЗВИТИЕ КОРНЕЙ VACCINIUM CORYMBOSUM L. IN VITRO Мохамед Г.Р.А. ....	189
ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ СУСЛИКОВ В ДИНАМИКЕ БАУТА ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ Налибиева Д., Шихамирова З.М., Астаева М.Д. ....	189
РОЛЬ ЦИТОХРОМ В5 РЕДУКТАЗЫ 3 В АДАПТАЦИИ КЛЕТКИ К ГИПОКСИЧЕСКИМ УСЛОВИЯМ Никифорова А.Б., Харечкина Е.С., Круглов А.Г. ....	190
ПАРАМЕТРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ СПОРАДИЧЕСКОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬЦГЕЙМЕРСКОГО ТИПА Носова М.В., Зарудная Е.Н. ....	191
ДЕЙСТВИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ДИАРИЛСУЛЬФОНОВ НА ВЫБРОС ГИСТАМИНА ТУЧНЫМИ КЛЕТКАМИ Перемотова Д.А., Бондарюк Е.В., Яценко В.С. ....	191



ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОСТАНОИДА ЛІК НА КЛЕТКАХ ЛИНИИ MCF-7 Петрова С.М., Юрченко А.А. ....	192
БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ В МОЛОКЕ ЧЕЛОВЕКА Принц В. В. ....	193
АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ РАССТРОЙСТВАМИ ПСИХИКИ Пронина А.А., Зарудная Е.Н. ...	193
ЭКЗОСОМЫ МОЛОКА: ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ И МОРФОЛОГИИ, БЕЛКОВЫЙ И НУКЛЕИНОВЫЙ СОСТАВ Пурвиньш Л.В. ....	194
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ И ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС Раджабова З.Г., Чалабов Ш.И. ....	195
СВОЙСТВА МАЛИК-ФЕРМЕНТОВ ИЗ ОБЛИГАТНЫХ МЕТАНОТРОФ МЕТНУЛОМІСРОВІУМ АLCALIPHILUM 20Z И МЕТНУЛОСІНУС TRICHOSPORIUM ОВЗВ Розова О.Н., Егорова С.В., Бочарова К.А., Солнцева Н.П. ....	195
ВОССТАНОВЛЕНИЕ СПОРТИВНЫХ ЛОШАДЕЙ ПОСЛЕ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК ПРИ СКАРМЛИВАНИИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ MARSTAL TURNIER Рябова Е.И., Зарудная Е.Н., Курилова Н.М. ....	196
ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА НА КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПАЗЫ Савина А.А., Абрамова О.В., Зайцев С.Ю. ....	197
АНАЛИЗ БЕЛКОВ И БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА Скрипкин С.С., Буркова Е.Е., Невинский Г.А. ....	197
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ НАРАБОТКИ ДВУХДОМЕННЫХ ЛАККАЗ СТРЕПТОМИЦЕТОВ Трубицина Л.И., Трубицин И.В., Лисов А.В., Леонтьевский А.А. ....	198
ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА НА ЭКСПРЕССИЮ БЕКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP/HSC70 В КЛЕТКАХ ХОЛОДНОВОДНЫХ МОРСКИХ ГУБОК HALICHONDRIA PANICEA Финошин А.Д., Кравчук О.И., Люпина Ю.В. ....	199
РЕГУЛЯЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ СУПЕРОКСИД АНИОНА ПИРИДИНОВЫМИ НУКЛЕОТИДАМИ В ПЕРМЕАБИЛИЗОВАННЫХ МИТОХОНДРИЯХ Харечкина Е.С., Никифорова А.Б., Круглов А.Г. ....	199
АКТИВНОСТЬ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ГЛУБИНЫ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ Хизриева С.И., Арсланова Р. М., Шапиева М.Ш. ....	200
РОЛЬ ЦИТОХРОМА P450 В БИОТРАНСФОРМАЦИИ КОДЕИНА Цыбина В.И., Зарудная Е.Н. ....	201
ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ВИТАМИНА С НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МЕМБРАНАХ СИНАПТОСОМ ИЗ МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ Чалабов Ш.И. ....	201
ЛИПОФУСЦИН МИТОХОНДРИЙ МОЗГА МОЛОДЫХ И УМЕРЕННО СТАРЫХ КРЫС Чаплыгина А.В., Векшин Н.Л. ....	202



НОРАДРЕНАЛИН ПЕРЕКЛЮЧАЕТ МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ/СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ФЕНОТИП Чечехин В.И., Иванова А.М., Тюрин-Кузьмин П.А., Калинина Н.И., Нимирицкий П.П. ....	203
ИЗМЕНЕНИЕ ПУЛА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ Чумаченко М.С., Корик Е.О. ....	204
ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕКСАРОТЕНА И N-АЦИЛДОФАМИНОВ ДЛЯ 2D И 3D КУЛЬТУР ГЛИОМ Шамшуварова М.Г., Ашба А.М., Акимов М.Г., Акасов Р.А., Грецкая Н.М., Безуглов В.В. ....	205
ФЕРРИТИН И ТРАНСФЕРРИН КАК БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХОЛЕЦИСТИТЕ Шарипова М.Е., Зарудная Е.Н. ....	205
ОЦЕНКА БАЗОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И УРОВНЯ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД РОДА ОММАТОГАММАРУС, ОБИТАЮЩИХ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ГЛУБИНЫ Широкова Ю.А., Мадьярова Е.В., Лубяга Ю.А., Ржечицкий Я.А., Дмитриев И.А., Тимофеев М.А. ....	206
ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КРОВИ СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ И ПРОБУЖДЕНИИ Шихамирова З.М. ....	207
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ МОЛЕКУЛ ФИБРИНОГЕНА: ИХ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ И ВЛИЯНИЕ НА ПРЕВРАЩЕНИЕ В ФИБРИН Юрина Л.В., Васильева А.Д., Идейкина М.И., Бугрова А.Е., Бычкова А.В., Подоплелова Н.А., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Пантелеев М.А., Розенфельд М.А. ....	208
ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ Юсупова С.А. ....	208

#### **Биомедицина и биофармацевтика**

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE PEPTIDES EXTRACTED FROM BOVINE COLOSTRUM Artykbaeva G.M., Sagdiev N.D., Yalalova I.R., Mamadjanov A., Saatov T.S. ....	210
СРАВНЕНИЕ КИСЛОРОДЗАВИСИМОГО И КИСЛОРОДНЕЗАВИСИМОГО МЕТАБОЛИЗМА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В РЕАКЦИЯХ С НАНОЧАСТИЦАМИ МАГНЕТИТА И БАКТЕРИЯМИ Абарбанель Н.В., Разумкова Е.В., Силантьева А.Ю., Плескова С.Н. ....	210
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО ПРОИЗВОДНОГО ФУЛЛЕРЕНА С БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ ПО ДАННЫМ ЯМР С ИМПУЛЬСНЫМ ГРАДИЕНТОМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ Авилова И.А., Солдатова Ю.В., Файнгольд И.И., Полетаева Д.А., Хакина Е.А., Краевая О.А., Котельников А.И., Котельникова Р.А., Трошин П.А., Волков В.И. ....	211
ВЛИЯНИЕ КАРБЕНОКСОЛОНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ CA <sup>2+</sup> -ЗАВИСИМОЙ, CSA – ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ПОРЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ Бабурина Ю.Л., Крестинина О.В., Одиноква И.В., Азарашвили Т.С. ....	212
СОЗДАНИЕ И ТЕСТИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СЕНСОРОВ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ Байрамова Э.М., Коваленко В.Р., Медведев С.П. ....	212





ПРОТИВОАНЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА ПЕКТИНА С ЖЕЛЕЗОМ И КАЛЬЦИЕМ НА МОДЕЛИ ФЕНИЛГИДРАЗИНОВОЙ АНЕМИИ У КРЫС Беляев Г.П., Выштакалюк А.Б., Минзанова С.Т., Порфирьев А.Г. ....	213
ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ПЕПТИДЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ Волкова Л.В., Гришина Т.А. ....	214
КОМПОНЕНТЫ КОРЫ ДУБА КАК ИНГИБИТОРЫ СИСТЕМЫ «КВОРУМ СЕНСИНГА» У БАКТЕРИЙ Галаджиева А.А., Инчагова К.С. ....	214
РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ Глубокова Е.А., Карташова Н.П., Махмудова Н.Р., Фалынскова И. Н., Леонова Е.И., Михайлова Н.А., Поддубиков А.В. ....	215
ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 1 ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ – РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК Гончаров Р.Г., Шарипов М. Г. ....	216
ЭФФЕКТ АНТИОКСИДАНТА SKQ1 В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИАБЕТА И АНАЛИЗ МИКРОРНК КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ Дворецкая Ю.Д., Гланц В.Ю., Попов В.Н. ....	216
ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧНОСТИ СПЕРМИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ Доднаева Л.Р. ....	217
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ Гуноев М.Б., Джамбетова П.М. ....	218
ИЗМЕНЕНИЕ СЕКРЕЦИИ ЦИТОКИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У МАКРОФАГОПОДОБНЫХ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА Евстратова Я.В., Кобякова М.И., Фадеев Р.С. ....	218
ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ К ГЛИКОПРОТЕИНУ ВИРУСА БЕШЕНСТВА ДЛЯ ЭКСТРЕННОЙ ПОСТЭКСПОЗИЦИОННОЙ ПРОФИЛАКТИКИ Ильина Е.Н., Солопова О.Н., Ларина М.В., Зайкова О.Н., Лосич М.А., Алиев Т.К., Балабашин Д.С., Варламов Н.Е., Долгих Д.А., Гребенникова Т.В., Свешников П.Г., Кирпичников М.П. ....	219
ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО И ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДЖЕНЕРИКОВ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ Каркусова М.Д., Чопикашвили Л.В. ....	220
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСОВ ГРИППА, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ЛЕТАЛЬНЫМИ ИСХОДАМИ, К ПРОТИВОГРИППОЗНЫМ ПРЕПАРАТАМ Карташова Н.П., Фалынскова И.Н., Глубокова Е.А., Ленева И. А., Бурцева Е.И. ....	221
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ CUSCUTA EUROPEAE Кахорова К.А., Хашимова З.С. ....	221
ПОЛУЧЕНИЕ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ MEDICAGO TRUNCATULA, ПРОДУЦИРУЮЩИХ ГАММА ИНТЕРФЕРОН БЫКА Квитковская В.А., Ткаченко А.А., Бурлаковский М.С., Емельянов В.В. ....	222



ОЦЕНКА НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ БИОМАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ДОНОРСКОЙ КОСТНОЙ ТКАНИ В МОДЕЛИ IN VITRO Кирсанова П.О., Сенотов А.С., Теплов И.Ю., Фадеева И.С., Звягина А.И., Акатов В.С.....	223
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОПУХОЛЕВЫХ И СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА АНАЛОГЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МАТРИГЕЛЬ Китаева К.В., Прудников Т.С., Гомзикова М.О., Тазетдинова Л.Г., Ризванов А.А., Соловьева В.В. ....	223
ИССЛЕДОВАНИЕ СОЗРЕВАНИЯ В МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА В МНОГОКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ Кобякова М.И., Евстратова Я.В., Фадеев Р.С., Акатов В.С. ....	224
РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ НЕЙРОПЕПТИДА «СЕМАКС» ПРИ ЛУЧЕВОЙ ПАТОЛОГИИ Колесникова И.А., Ляхова К.Н., Северюхин Ю.С., Буденная Н.Н., Молоканов А.Г., Утина Д.М., Иванов А.А., Булынина Т.М., Никитенко О.В.....	225
РОЛЬ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО В-ГЛИКОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕХОДА Т-КЛЕТОК ИЗ НАИВНЫХ В ЭФФЕКТОРНЫЕ Кочурова С.В., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Заморина С.А.....	226
СОЗДАНИЕ ВИРУСНОГО КОНСТРУКТА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ГЕН ВАСЕ1 Круть В.Г., Епифанова Е.А., Бабаев А.А.....	226
КОНСТРУИРОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ПАНЕЛИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ОНКОЛОГИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ У ДЕТЕЙ Литасова А.С., Максимов А.Ю.....	227
ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И ЦИТАРАБИНА НА АКТИВАЦИЮ ПРОЛИФЕРАЦИИ В КЛЕТКАХ ОСТРОГО ПРОМИЕЛОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА (HL-60) Ломовский А.И., Бабурина Ю.Л., Кобякова М.И., Фадеев Р.С., Сотникова Л.Д., Крестинина О.В.....	228
РЕМИНЕРАЛИЗАЦИЯ КОСТНЫХ МАТРИЦ ФОСФАТАМИ КАЛЬЦИЯ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ОСТЕОИНДУКТИВНОСТИ Меньших К.А., Сенотов А.С., Минайчев В.В., Фадеева И.С., Фадеев Р.С., Кирсанова П.О., Акатов В.С.....	229
РОЛЬ ТИРОЗИН КИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА В ТИПА В РАЗВИТИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КАЛЬЦИЕВОЙ АКТИВНОСТИ В НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЯХ В ДИССОЦИИРОВАННЫХ КУЛЬТУРАХ ГИППОКАМПА Воронова Н.В., Митрошина Е.В., Мищенко Т.А., Ведунова М.В.....	230
ПОЛУЧЕНИЕ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МИКРОКОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ СОВМЕСТНОЙ ДОСТАВКИ ГИДРОФИЛЬНЫХ И ГИДРОФОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ Петухова Д.Д., Кобякова М.И., Кочеткова О.Ю., Антонова О.Ю. ....	230
ИНКАПСУЛЯЦИЯ ЛЮЦИФЕРАЗЫ В ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ Попова Н.Р., Попов А.Л., Иванов В.К. ....	231
РОЛЬ АКТИВАЦИИ ГЕТЕРОДИМЕРНОГО РЕЦЕПТОРА К ЭРИТРОПОЭТИНУ В ИЗМЕНЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В РЕПЕРФУЗИОННОМ ПЕРИОДЕ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 Пчелин П.В., Глявина М.М., Жученко М.А., Щелчкова Н.А., Мухина И.В. ....	232



ВЛИЯНИЕ АЛЛЕРГЕНА DER P 2 НА АКТИВАЦИЮ КЛЕТОК КРОВИ ЭНДОТОКСИНАМИ Радзюкевич Я.В., Морозова А.А., Прохоренко И.Р. ....	233
IN VITRO МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ИНДУЦИРУЕМУЮ ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА МАКРОФАГАМИ Румянцев Т.С. ....	233
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА Сабилова А.Э., Павельев Р.С., Гарипов М.Р., Каюмов А.Р. ....	234
ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ЦИНКА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В СТРУКТУРАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС Серёгина Е.С., Стельмашук О.А., Пьявченко Г.А., Алексеев А.Г., Воробьев Е.К., Кузнецова Е.А., Дрёмин В.В., Жеребцов Е.А. ....	235
ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПРОДУКЦИЕЙ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 4, 6 И ЭКСПРЕССИЕЙ К НИМ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ Виткина Т.И., Сидлецкая К.А. ....	236
ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛИПЕПТИДА АРНСЗ НА МЫШАХ CD-1 Скобцова Л.А. ....	236
ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ ЧАСТИЦЫ КАК ИНСТРУМЕНТ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ Случанко Т.Е., Шинкаренко Т.О., Стельмашук О.А., Винокуров А.Ю. ....	237
ВЛИЯНИЕ ПЕНТАМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C60 НА АКТИВНОСТЬ АЛЬДОЗОРЕДУКТАЗЫ И ПРОЦЕСС ГЛИКИРОВАНИЯ Солдатов Ю.В., Жиленков А.В., Файнгольд И.И., Полетаева Д.А., Трошин П.А., Котельникова Р.А. ....	238
ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЕЙ АСТРАГАЛА ОБНАЖЕННОГО ASTRAGALUS DENUATUS Сулейманова М.Н. ....	239
ОЦЕНКА МИКРОБИОМА ТОНКОГО КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ Тажитдинова Э.М., Полякова Е.А., Сташкевич Д.С. ....	239
ВЛИЯНИЕ ЦИСЛАТИНА И ПАКЛИТАКСЕЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА Газетдинова Л.Г., Алексева Е.А., Соловьева В.В., Гилязиева З.Е., Архипова С.С., Ризванов А.А. ....	240
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОТРИХИНЕЛЛЕЗНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛУПАРАЗИТИЧЕСКОГО КУСТАРНИКА ОМЕЛА БЕЛАЯ (VISCUM ALBUM L.) Багаева У.В., Темботова М.Р. ....	241
ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮКС-ШТАММОВ E.COLI Тесаев С. А. ....	241
АКТИВАЦИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО СИГНАЛЬНОГО ПУТИ С УЧАСТИЕМ PI3K ИНДУЦИРУЕТ ПОЯВЛЕНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ В НЕЙРОНАХ КОРЫ МОЗГА С МУТАЦИЕЙ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SIP1 Туровский Е.А., Туровская М.В., Бабаев А.А., Тарабыкин В.С., Зинченко В.П. ....	242
ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ СЕТЧАТКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ СИНИМ СВЕТОМ Фахранурова Л.И., Ермаков А.М. ....	243



ЗАКИСЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЫ ЛАКТАТОМ И ПИРУВАТОМ АКТИВИРУЕТ МИТОФАГИЮ В КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SH-SY5Y Федотова Е.И., Мальцева В.Н., Бережнов А.В. ....	244
АНАЛИЗ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ Хасаева А.И. ....	244
РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ СХЕМЫ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ НА ПРИМЕРЕ МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА VCD-089 Хахулина А. И., Митрошин И.В., Коржавин Д.В., Чевновская Т.В. ....	245
МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫЙ АНТИОКСИДАНТ SKQ1 ИНГИБИРУЕТ ДЕГРАДУЛЯЦИЮ БАЗОФИЛОВ КРЫСИНОЙ ЛЕЙКЕМИИ RVL-2H3 Челомбитько М.А. ....	246
ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ Черных И.В., Щулькин А.В., Мыльников П.Ю., Гацаного М.В., Якушева Е.Н., Есенина А.С., Градинарь М.М. ....	247
ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ СТАБИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ IL-2 Чулпанова Д.С., Соловьева В.В., Тазетдинова Л.Г., Клетухина С.К., Ризванов А.А. ....	247
ПОЛИЭТИЛЕНИМИН В КАЧЕСТВЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО НОСИТЕЛЯ ДНК-ВАКЦИН Шинкевич В.А., Стёганцева М.В., Мелешко А.Н. ....	248

#### **Физиология растений и фотобиология**

УЧАСТИЕ КАРОТИНОИДОВ В ФОТООКИСЛЕНИИ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА В КОМПЛЕКСАХ LH2 СЕРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ Ашихмин А.А., Большаков М.А. ....	250
ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> С НОКАУТ-МУТАЦИЯМИ ПО ГЕНАМ, КОДИРУЮЩИМ БЕЛКИ С ДОМЕНОМ ХОЛОДОВОГО ШОКА, С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/CAS9 Батырева А.М., Злобин Н.Е., Гребенкина Н.А., Таранов В.В., Куприянова Е.В. ...	250
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ РАСТЕНИЙ ПРИ ГИПОКСИИ Бердникова О.С., Ершова А.Н., Возгорькова Е.О. ....	251
РЕГУЛЯЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> МЕЛАТОНИНОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ Бойко Е.В, Коломейчук Л.В., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В. ....	252
ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ УЧАСТИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КАРОТИНОИДОВ В ОБРАЗОВАНИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ Большаков М.А., Ашихмин А.А. ....	252
ВЛИЯНИЕ НИКЕЛЯ И ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА РОСТ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. Гамоненко О.В., Смирнова Ю.В., Курамшина З.М. ....	253
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ НАД <sup>+</sup> -ЗАВИСИМОЙ МДГ И СДГ В ЗЕЛЁНЫХ ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ Гатауллина М. О., Анохина Г. Б., Карабутова Л. А., Селиванова Н. В. ....	254



ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ И МЕЛАТОНИНА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН И РОСТ ПРОРОСТКОВ <i>HORDEUM VULGARE</i> Данилова Е. Д., Кайлер О. А., Ефимова М. В. ....	254
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ЯРОВОГО ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ ( <i>HORDEUM VULGARE L.</i> ) ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ДЕЙСТВИЮ КАДМИЯ Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. ....	255
ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА МХА <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i> НА БИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС Егорова Е.Д., Виноградова С.В. ....	256
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ТМТД-ПЛУС В БОРЬБЕ С ПАТОГЕННАМИ НА ВЕГЕТИРУЮЩИХ РАСТЕНИЯХ <i>FRAGARIA ANANASA DUCH.</i> Картабаева Б.Б., Глинушкин А.П., Яфаров С.Ф. ....	257
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, КОДИРУЮЩИХ NCR-ПЕПТИДЫ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>PISUM SATIVUM L.</i> ) Клюкова М.С., Афонин А.М., Жуков В.А., Тихонович И.А. ....	257
ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОЛИНА В РАСТЕНИЯХ <i>SOLANUM TUBEROSUM L.</i> Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Ефимова М.В. ....	258
ФЛУКТУАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СТРУКТУРЫ ЦВЕТКА У СЕДМИЧНИКА ЕВРОПЕЙСКОГО Курмазов Н.С., Лебедева М.А., Творогова В.Е., Тиходеева М.Ю., Тиходеев О.Н., Гурина А.А. ....	259
ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КАДМИЯ НА РОСТ <i>SINAPIS ALBA</i> , ОБРАБОТАННЫХ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ Кусяпкулова Л.Н., Курамшина З. М., Смирнова Ю. В. ....	259
ОБРАБОТКА ПРОДУКТАМИ ПОВЕРХНОСТНОГО РАЗРЯДА СЕМЯН ОЗИМОЙ РЖИ Лазукин А.В., Сердюков Ю.А., Алёшин И.Н., Забелин М.А., Кауэр Е.А., Низамов Д.Ю., Кривов С.А. ....	260
ЛОКАЛИЗАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ ПЕПТИДОВ <i>CLE</i> В ОПУХОЛЯХ РЕДИСА ( <i>RAPHANUS SATIVUS L.</i> ) Маловичко Ю.В., Ткаченко А.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А. ....	261
РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ МАГНИЙ-ХЕЛАТАЗЫ В УСЛОВИЯХ НАРУШЕНИЯ БИОСИНТЕЗА ХЛОРОФИЛЛА У ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРΟΣЛИ <i>CHLAMYDOMONAS REINHARDTII</i> Матив А.Б., Чекунова Е.М. ....	261
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА РОСТ КОРНЕЙ АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> Матюш И.Д., Крытынская Е.Н. ....	262
РОЛЬ ВЕТРООПЫЛЯЕМЫХ РАСТЕНИЙ В РАЗВИТИИ ПОЛЛИНОЗА В ГОРОДЕ СТЕРЛИТАМАК Меликова Д.А., Гильванова Э.Р. ....	263
РОЛЬ <i>CLE</i> -ПЕПТИДОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ КЛУБНЕЙ У КАРТОФЕЛЯ ( <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> ) Полюшкевич Л.О., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А. ....	264
ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДА И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ЛИСТЬЯХ <i>TRITICUM AESTIVUM L.</i> И <i>SECALE CEREALE L.</i> ПРИ КИСЛОТНОМ И ЩЕЛОЧНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ Правкова А.А. ....	264
ФОТОАКТИВАЦИЯ ОРАНЖЕВОГО КАРОТИНОИДПРОТЕИНА В ПРИСУТСТВИИ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФОСФАТОВ Слатинская О.В., Максимов Г.В. ....	265



ВЛИЯНИЕ СВИНЦА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ПОБЕГАХ *SINAPIS ALBA*, ОБРАБОТАННЫХ КЛЕТКАМИ *BACILLUS SUBTILIS* Смирнова Ю.В., Курамшина З.М., Матлашова А.Г. ....266

РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СООТНОШЕНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И КАЛИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ТОМАТОВ В ГИДРОПОННЫХ УСЛОВИЯХ Стафеев В.И., Якимов Ю.Е., Куровский А.В. ....266

ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА Усербаева А.А., Косалбаев Б.Д., Карабекова А.Н., Ахметкалиева А.Е., Талпакова А.Е., Заядан Б.К. ....267

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *AJUGA TURKESTANICA* Харитонов Т.Д., Титова М.В., Собољкова Г.И., Кочкин Д.В., Носов А.М. ....268

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА И НИКЕЛЯ НА КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ ПШЕНИЦЫ СОРТА ИРЕНЬ Шептор А.С., Муханбетжанова К.Т., Годымчук А.Ю., Куровский А.В. ....269

ПРОТЕКТИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КАРБОАНГИДРАЗЫ СРСАНЗ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В УСЛОВИЯХ ЗАЩЕЛАЧИВАНИЯ СРЕДЫ ЛЮМЕНА Шукшина А.К., Терентьев В.В., Шитов А.В. ....270

#### **Микробиология и вирусология**

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНОМА ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ ЭЛЬ ТОР В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД ЭВОЛЮЦИИ ЭТОГО ПАТОГЕНА Агафонов Д.А., Краснов Я.М., Смирнова Н.И. ....271

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСА БАКТЕРИЙ ИЗ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ АЛЬМЕТЬЕВСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН Аетдинова С.Э., Миндубаева Л.Н., Шах Махмуд Р.З. ....271

МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ ХВОСТОХРАНИЛИЩА АРЦВАНИК: ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ИХ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТЬ Айвазян И.С., Маргарян А.А., Трчунян А.А. ....272

ПОЯВЛЕНИЕ МУТАНТНОЙ КУЛЬТУРЫ *A. NIGER*, БОЛЕЕ УСТОЙЧИВОЙ К БЕЛОМУ ФОСФОРУ Акосах Й.А., Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К. ....273

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM* НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА Александрова А.М., Карпова О.В., Наргилова Р.М., Екатеринбургская Е.М., Кушнаренко С.В., Каримов Н.Ж., Искаков Б.К. ....274

*CLOSTRIDIUM FRIGORIPHILUM* - НОВЫЙ ВИД АНАЭРОБНЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ ПСИХРОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ Алексеенко Н.А., Трошина О.Ю., Печерицына С.А., Щербакова В. А. ....274

ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ К КЛИНИЧЕСКИ РАСПРОСТРАНЕННЫМ АНТИБИОТИКАМ Анисимова Е.А., Горохова И.В., Каримуллина Г.Р., Яруллина Д.Р. ....275

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕСВЕРАТРОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* К СТРЕПТОМИЦИНУ Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ....276



РОЛЬ БЕЛКОВ GROESL В ДЕГРАДАЦИИ УГЛЕВОДОДОРОВ БАКТЕРИЯМИ <i>R. PYRIDINIVORANS</i> 5AP Букляревич А.А., Евдокимова О.В., Титок М.А. ....	277
КАРТИРОВАНИЕ Т-КЛЕТОЧНЫХ ЭПИТОПОВ БЕЛКА С-TYPE LECTIN-LIKE PROTEIN ВИРУСА АЧС Бурмакина Г.С., Малоголовкин А.С. ....	277
ИЗМЕНЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ Бырса М.Н., Березюк Ю.Н. ....	278
IS100-ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ <i>YERSINIA PESTIS</i> , ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ КАВКАЗА Вагайская А.С., Дентовская С.В., Анисимов А.П. ....	279
РОСТСТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>PISUM SATIVUM</i> L.) Васильева Е.Н., Афонин А.М., Ахтемова Г.А., Жуков В.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. ....	280
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ <i>STREPTOMYCES MASSASPOREUS</i> CNMN AC-06 ЧЕРЕЗ ГОД ХРАНЕНИЯ В ЛИОФИЛЬНОМ ВИДЕ В ПРИСУТСТВИИ ПРЕПАРАТОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ Васильчук А.В., Бырса М.Н. ....	281
ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ <i>PSEUDOMONAS AUREOFACIENS</i> ПРИ ИХ АДАПТАЦИИ К ТЕТРАЦИКЛИНУ Власова А.И., Минаева О.М., Апеньшева М.В. ....	281
ОЦЕНКА АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СИЛОСА Гаврилова Е.А., Яруллина М.Н., Анисимова Е.А. ....	282
СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, ДЛЯ БОРЬБЫ С АСПЕРГИЛЕЗОМ ЗЕРНА Галлямова С.Р., Идиятов И.И., Бирюля В.В. ....	283
УСТОЙЧИВОСТЬ К В-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ СРЕДИ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ Г. РЯЗАНИ Гаськова А.С., Зацаринная Е.А., Ефремова Е.С. ....	283
ЦИТОТОКСИЧНЫЕ СВОЙСТВА ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ФУРАНОНОВ Глазкова Р.М. ....	284
ЧИСЛЕННОСТЬ ПОЛЕЗНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ В СИДЕРАЛЬНЫХ ПАРАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМПЛЕКСА МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И РАЗНЫХ СПОСОБОВ ЗАДЕЛКИ ФИТОМАССЫ Гритчин М.В. ....	285
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИБИОТИКОВ НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ ЙОГУРТА Демьянова А. В., Никонова Д. О., Асланова А. А., Казакова С. А., Натапов В. А., Хабибулина Р. Н. ....	285
ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАЦИЛЛАМИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА Динь Т.Л., Ахметова Г.Р., Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р. ....	286
ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ <i>GRAPEVINE FLECK VIRUS</i> В ЗАПАДНОМ ПРЕДКАВКАЗЬЕ Дмитренко Ю.Д., Поротикова Е.В., Юрченко Е.Г., Виноградова С.В. ....	287
ФУНКЦИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ МОНГОЛИИ Дуламсурэн Х., Норовсурэн Ж. ....	287
ОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОЙ ФЛОРЫ МИДИЙ ГРЕЯ ( <i>CRENOMYTILUS GRAYANUS</i> ) ЯПОНСКОГО МОРЯ Дункай Т. И., Богатыренко Е.А., Бузолева Л.С. ....	288



ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SP7 В ПРИСУТСТВИИ КВЕРЦЕТИНА В ДИНАМИКЕ РОСТА Дымо А.М., Борисова С.В., Жадаева А.А., Каневский М.В., Коннова С.А. ....	289
АНАЛИЗ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕКОМБИНАНТНЫХ ВЕКТОРНЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIA</i> Евсина А.С., Смолоногина Т.А., Котомина Т.С., Исакова-Сивак И.Н. ....	290
ХАРАКТЕРИСТИКА ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ ГРУППЫ АМИНОБЕНЗИМИДАЗОЛОВ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ГРИППА <i>IN VITRO</i> Есаулкова Я.Л., Морковник А.С., Диваева Л.П., Зарубаев В.В. ....	290
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЕК Г. РЯЗАНИ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД Ефремова Е.С., Зацаринная Е.А. ....	291
БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИД ПРОДУЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОЗЕРА КАРУН ФАЙОМСКОГО ОАЗИСА, ЕГИПЕТ Ибрахим И.М., Коннова С.А., Сигида Е.Н., Федоненко Ю.П. ....	292
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ПИЕЛОНЕФРИТОМ И ЦИСТИТОМ НА ТЕРРИТОРИИ Г. САРАТОВ Казанцев А.В., Осина Н.А., Абдрашитова А.С., Проскуракова М.В., Ситмбетов Д.А. ....	292
БАКТЕРИОФАГИ ФВ83, ФК1R1 И Ф1ZH57, ИНФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ ГРУППЫ <i>BACILLUS CEREUS</i> Казанцева О.А., Пилигримова Э.Г., Загородный В.А., Кулябин В.А., Шадрин А.М. ....	293
АУКСОТРОФНЫЕ ВАРИАНТЫ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ Г. РЯЗАНИ Калчугина В.Д., Зацаринная Е.А. ....	294
МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ СИМБИОНТОВ ИНФУЗОРИЙ РОДА <i>PARAMECIUM</i> Коротаев А.В., Бенкен К.А., Сабанеева Е.В. ....	294
АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ И АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА Костеневич А.А., Фальковская У. В., Бирюков Р.Н., Губчик К.А. ....	295
ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ НУТРИЦИОННОГО ОБМЕНА НА ВИРУЛЕНТНОСТЬ ШТАММОВ <i>YERSINIA PESTIS</i> НА ПРИМЕРЕ АВС-ТРАНСПОРТЕРА МЕТИОНИНА Красильникова Е.А., Иванов С.А., Шайхутдинова Р.З., Комбарова Т.И., Светоч Т.Э., Дентовская С.В., Анисимов А.П. ....	296
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДОНОРОВ АТТЕНУАЦИИ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ <i>IN VIVO</i> Крутикова Е.В., Литфуллоев А.А., Степанова Е.А. ....	296
ИНТЕГРОНЫ В ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММАХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В 2003-2015 ГГ Леонова Е.С., Асташкин Е.И., Лев А.И., Агеева Е.Н., Карцев Н.Н., Тазина О.И., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. ....	297
ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ, СУПРЕССИРУЮЩИХ МУТАЦИИ В ПОЗДНИХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНАХ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>P.SATIVUM</i> ) Масликова Т.И., Афонин А.М., Сулима А.С., Жуков В.А. ....	298





КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСОВ ГРИППА - КАНДИДАТОВ В УНИВЕРСАЛЬНУЮ ЖИВУЮ ГРИППОЗНУЮ ВАКЦИНУ Меженская Д.А., Котомина Т.С., Исакова-Сивак И.Н. ....	299
СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА КИШЕЧНИКА ЛИЧИНОК ЖУКОВ <i>ASMAEOPS SEPTENTRIONIS</i> (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE) Мохаммед В.Ш., Зиганшина Э.Э., Зиганшин А.М. ....	299
ВЛИЯНИЕ АКРИЛАМИДА НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ <i>ESCHERICHIA COLI</i> K12 TG1 (PXEN7) Мочалова Е.М., Максимова Ю.Г. ....	300
ПРОТЕОМНЫЙ ФАЗОВЫЙ ПЕРЕХОД БАКТЕРИИ <i>MYCOPLASMA GALLISEPTICUM</i> ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С КЛЕТКОЙ-ХОЗЯИНОМ Мусарова В.А., Матюшкина Д.С., Бутенко И.О., Побегуц О.В., Фисунов Г.Ю., Говорун В.М. ....	301
ВЛИЯНИЕ ПОНИЖЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ДЕЙТЕРИЯ В СРЕДЕ НА ПРОДУКЦИЮ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА И ПРИРОСТ БИОМАССЫ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISAE</i> Никитина М.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Джимаков С.С. ....	301
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ДРОЖЖЕЙ <i>PICHLIA PASTORIS</i> С ИНТЕГРИРОВАННЫМ ГЕНОМ БАЦИЛЛЯРНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ Ногманова С.Р., Валеева Л.Р., Трошагина Д.С., Сулейманова А.Д. ....	302
МОБИЛЬНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ БАКТЕРИЙ <i>RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS</i> 5AP Охремчук А.Э., Чернявская М.И., Валентович Л.Н., Титок М.А. ....	303
ПРОИЗВОДНОЕ 2(5Н)-ФУРАНОНА ИНГИБИРУЕТ РОСТ БИОПЛЕНОК И УСИЛИВАЕТ ДЕЙСТВИЕ АМИНОГЛИКОЗИДОВ ПРОТИВ <i>BACILLUS CEREUS</i> Павлова А.С., Шарафутдинов И.С., Хабибрахманова А.М., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р. ....	303
АНАЛИЗ МИКРОФЛОРЫ У РЫБ СЕМЕЙСТВА COTTIDAE ОЗЕРА БАЙКАЛ Павлова Ю.А., Литасова А.С., Максимов А.Ю. ....	304
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В УКРАИНЕ, К ВОЗБУДИТЕЛЮ БАЗАЛЬНОГО БАКТЕРИОЗА Пастошук А.Ю., Буценко Л.Н., Скивка Л.М. ...	305
ПОИСК СПОСОБОВ ИНГИБИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ Пиядина А.Ю., Сухина М.А. ....	305
ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНЫХ И ЦИСТОПОДОБНЫХ ПОКОЯЩИХСЯ КЛЕТОК ХИЩНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ <i>KAISTIA SP.</i> , ШТАММ NF1 И <i>CHRYSEOBACTERIUM SP.</i> , ШТ. NF4 – УМЕРЕННЫХ АНТАГОНИСТОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ Погодина Е.И., Поливцева В.Н., Абашина Т.Н., Мачулин А.В., Шорохова А.П., Сузина Н.Е. ....	306
ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ФИТОПЛАЗМ НА ВИНОГРАДЕ Поротикова Е.В., Юрченко Е.Г., Виноградова С.В. ....	306
ГЕНЫ ПОЛИКЕТИДСИНТАЗ 1-ГО И 2-ГО ТИПОВ У АКТИНОБАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БАЙКАЛЬСКИМИ ЭНДЕМИЧНЫМИ АМФИПОДАМИ Протасов Е.С., Аксенов-Грибанов Д.В., Лубяга Ю.А., Краснова М.Е., Тимофеев М.А. ....	307
ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>PISUM SATIVUM</i> L.) К ВЫСОКОЙ КИСЛОТНОСТИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ИОНАМ	



АЛЮМИНИЯ Пухальский Я.В., Макарова Н.М., Азарова Т.С., Шапошников А.И., Сафронова В.И., Белимов А.А. ....	308
ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ЗАКВАСОК НА ПИТАТЕЛЬНОСТЬ СИЛОСА Рахманина А.К., Азимова Н.Ш. ....	309
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА "СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ" ДЛЯ ОТБОРА И ХРАНЕНИЯ ПРОБ БИОМАТЕРИАЛА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ Сальников Н.И., Кольцов А.Ю., Сухер М.М., Усадов Т.Р., Янжиева Д.В., Луницин А.В.....	310
ВЛИЯНИЕ FUR-РЕГУЛОНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ....	310
МИКРООРГАНИЗМЫ-ДЕСТРУКТОРЫ КУРИНОГО ПОМЕТА Слепцова Н.А., Сидоренко М.Л., Бойко А.Н. ....	311
ШТАММЫ РОДА <i>AZOTOBACTER</i> – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ Смирнова И. И. ....	312
ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ, ОПТИМАЛЬНЫХ ДЛЯ НАКОПЛЕНИЯ ФИОЛЕТОВОГО ПИГМЕНТА ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ <i>JANTHINOBACTERIUM LIVIDUM</i> , ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ Совгир Н.В., Гетко Е.Ю., Костюшевская М.А., Сидоренко А.В. ....	312
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ КУЛЬТУР <i>YERSINIA PESTIS</i> ИЗ ФОНДА ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ-ОБОЛЕНСК» Соломенцев В.И., Кисличкина А.А., Кадникова Л.А., Майская Н.В., Богун А.Г. ....	313
ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ГЕМАГГЛЮТИНИНА РЕАССОРТАНТОВ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ВИРУСА ГРИППА А/Н7N9 Степанова Е.А., Баженова Е.А., Матюшенко В.А., Киселева И.В.....	314
СЕКВЕНИРОВАНИЕ DE NOVO ГЕНОМОВ <i>LACTOBACILLUS HELVETICUS</i> D75 И D76 И ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИХ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ Торопов В.А., Шалаева О.Н., Рощина Е.К., Вахитов Т.Я., Ситкин С.И. ....	315
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ОКБ И ТКБ МАЛЫХ ВОДОЕМОВ Г. РЯЗАНИ Трунякова А.С., Зацаринная Е.А. ....	315
РОЛЬ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ИНДУКЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛА В АЭРОБНЫХ КУЛЬТУРАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ....	316
МИКРОФЛОРА ОЖОГОВ У КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Шорина Л.Н., Савина С.В., Карпунина Л.В. ....	317
ПРОДУКЦИЯ СЕРОВОДОРОДА БАКТЕРИЯМИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПРИ СТРЕССАХ Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ....	318
АНАЛИЗ ШТАММОВ ТРЕХ ВИДОВ АСКОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ РЕАКЦИЕЙ НА МИКОЦИНЫ <i>WICKERHAMOMYCES ANOMALUS</i> ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА	



MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ Фарофонова В.В., Присяжная Н.В., Стародумова И.П., Томашевская М.А. ....	318
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ОЖОГОВ У КРЫС Фокина Н.А., Урядова Г.Т., Шорина Л.Н., Карпунина Л.В. ....	319
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА <i>THYMUS CAPITATUS</i> В ОТНОШЕНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ Хассан Г. О. О., Шарифуллина Э.С., Ягудина И.Р., Хабибрахманова В.Р., Карамова Н.С. ....	320
БАКТЕРИИ <i>PARACOCCLUS YEEI</i> КАК ОСНОВА МЕДИАТОРНОГО БПК-БИОСЕНСОРА Харьковская А.С., Автух А.Н., Арляпов В.А. ....	320
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕДИАТОРОВ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА ДЛЯ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ <i>DEBARYAMYCES HANSENI</i> Харьковская А.С., Туровская А.Д., Чекмазова Д.С., Арляпов В.А. ....	321
ДЫХАТЕЛЬНЫЕ РЕДУКТАЗЫ <i>ANAEROMYXOBACTER DEHALOGENANS</i> 2CP-1 Хохлова Г.В., Бирюкова Е.Н., Ашин В.В., Архипова О.В. ....	322
ОПТИМИЗАЦИЯ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФИТАЗЫ В ДРОЖЖАХ <i>PICHLIA PASTORIS</i> Хузина Р.Р., Валеева Л.Р., Трошагина Д.С., Шарипова М.Р. ....	322
<i>ANCYLOBACTER PLANTIPHILUS</i> SP. NOV-НОВЫЙ МЕТИЛОТРОФНЫЙ ФИТОСИМБИОНТ Чемодурова А.А., Агафонова Н.В., Доронина Н.В. ....	323
АНАЛИЗ ДЕТЕРМИНАНТ БАКТЕРИЙ <i>RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS</i> 5AP, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И СПОСОБНОСТЬ УТИЛИЗИРОВАТЬ УГЛЕВОДОРОДЫ Чернявская М.И., Букляревич А.А., Охремчук А.Э., Валентович Л.Н., Делеган Я.А., Филонов А.Е., Титок М.А. ....	324
АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ РОСТА КЛОСТРИДИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ У ПАЦИЕНТОВ АНТИБИОТИКОАССОЦИИРОВАННОЙ ДИАРЕЕЙ Чистякова Д.А., Сухина М.А. ....	324
ИССЛЕДОВАНИЕ ЛАКТОНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ РОДА <i>BACILLUS</i> Чугунова М. С., Каримов И. Ф. ....	325
РОЛЬ ЛЕКТИН-УГЛЕВОДНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В СТАНОВЛЕНИИ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ <i>PARAMECIUM CAUDATUM</i> — <i>HOLOSPORA UNDULATA</i> Шайдуллина А.И., Сабанеева Е.В. ....	326
ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОФЛОРЫ ШЛАМОХРАНИЛИЩА ОАО «СОДА» Г. БЕРЕЗНИКИ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ) Шилова А.В., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г. ....	327
ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ФОСФОНУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ Шкаликова М.В., Зубаиров М.М., Малоголовкин А.С. ....	327
ОЦЕНКА АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ <i>MORGANELLA MORGANII</i> Юдина Ю.С., Миннуллина Л.Ф., Тошева З.С., Марданова А.М., Яруллина Д.Р. ....	328



*GLOBOSPORIDIUM PARAMECII*, GEN. NOV., SP. NOV. – МИКРОСПОРОДИЯ ИЗ ЦИТОПЛАЗМЫ ИНФУЗОРИИ *PARAMECIUM PRIMAURELIA* Яковлева Ю.А., Насонова Е.С., Лебедева Н.А., Ланцони О., Сабанеева Е.В. ....329

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АССОЦИАТИВНОГО ШТАММА *PHYLLOBACTERIUM IFRIQIYENSE* 6 В ПОСЕВАХ РИСА Якубовская А.И. ....329

ВЫЖИВАНИЕ *STAPHYLOCOCCUS* SPP В ПОЛИМИКРОБНОЙ БИОПЛЕНКЕ В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ Яруллина М.Н., Гаврилова Е.А., Тризна Е.Ю., Чернова Л.С., Каюмов А.Р. ....330

### **Физиология животных и биомедицина**

ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА СЕРОТОНИНА В ЯИЧНИКЕ МЫШИ Алёшина Н. М., Никишин Д.А.....331

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ТЕЛЯТ Андреева И.Н., Петраков Е.С., Овчарова А.Н.....332

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ НА СТРЕСС РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЫШЕЙ Арсланова А.Н., Рудич М.П. ....333

ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГИППОКАМПА КРЫС ПРИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ Березовская А.С., Тыганов С.А. ....333

СЕРОВОДОРОД И МУСКАРИНОВЫЕ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ ПРЕДСЕРДИЙ МЫШИ Блохина А.С., Хаертдинов Н.Н.....334

ИНДУЦИРОВАНИЕ АРТРИТА С ПОМОЩЬЮ КУРИНОГО КОЛЛАГЕНА II У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 Большакова Е.В., Горшкова Е.Н., Астраханцева И.В.....335

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУСТАВНОГО ХРЯЦА ПРИ ВВЕДЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС Бороздина Н.А..336

ВЛИЯНИЕ НИКОТИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ САМЦОВ И САМОК DANIO RERIO В ТЕСТЕ NOVEL TANK Борыгина В.Г., Жданов А.В., Колесникова Т.О., Хацко С.Л.....337

ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ STREPTOMYCES MASSASPOREUS CNMN -Ac-06 И ЦИАНОБАКТЕРИЙ Васильчук А.В.....337

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПИГМЕНТАЦИИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА Васютинская А.А., Чекунова Е.М.....338

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА CD131 РЕЦЕПТОРА НА ДИНАМИКУ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ ЛОКАЛЬНОЙ ТРАНЗИТОРНОЙ ИШЕМИИ Глявина М.М., Логинов П.А., Наумов М.А., Дорогин Д.В., Жученко М.А., Щелчкова Н.А., Мухина И.В.....339

ВЛИЯНИЕ АУДИОГЕННОГО КИНДЛИНГА НА АКТИВНОСТЬ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ Горбачёва Е.Л., Нургалиев Т.И., Никитина Л.С.....339



ИЗМЕНЕНИЕ СОЛЕВОГО АППЕТИТА ПРИ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ У МЫШЕЙ Горшкова А.А., Лагерева Е.А., Андреев-Андриевский А.А.....	340
РОЛЬ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА IQGAP В ПСОРИАТИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ Гурская А.А., Чекалин Е.В., Брускин С.А., Пирузян Э.С., Золотаренко А.Д.....	341
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ ММСК, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ДОНОРОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА Данилина Т.И., Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Зоров Д.Б. ....	342
ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ОНТОГЕНЕЗА МУТАНТОВ ПО ГЕНУ "WHITE" ИМАГО DROSOPHILA MELANOGASTER Емелина Ю.А., Костенко В.В.....	342
ВЛИЯНИЕ СТРЕСС-СВЯЗАННЫХ ГОРМОНОВ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ТЕПЛОМ СТРЕССЕ У САМОК DROSOPHILA MELANOGASTER Еремина М.А., Карпова Е.К., Груntenко Н.Е.....	343
ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ мРНК РЕЦЕПТОРА КОРТИКОЛИБЕРИНА 2-ГО ТИПА (CRF-R2) В МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ Ереско С.О., Айрапетов М.И., Сексте Э.А., Иванищева К.А.....	344
УЧАСТИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЗАЖИВЛЕНИИ КОЖНОЙ РАНЫ Жданова А.В, Высокова О.А., Петрова И.М., Хацко С.Л., Колесникова Т.О., Глухарева Т.В.....	345
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ У ЛЯГУШКИ ОЗЕРНОЙ Жидоморова Е.В.....	345
ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ГИСТОФИЗИОЛОГИИ ПОКРОВОВ ТЕЛА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ КЛАССОВ Завьялов С.Н., Едоменко Н.В. ....	346
ВЛИЯНИЕ ПРИЕМА САХАРОЗЫ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВООБРАЩЕНИЯ МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ В ПЕРИОД ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА Кальдинова О.В. ....	347
ИЗУЧЕНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ 5-АМИНОИМИДАЗОЛ-4-КАРБОКСАМИДРИБОФУРАНОЗИДА (АИКАР) НА МОДЕЛЬНОМ ОРГАНИЗМЕ CAENORHABDITIS ELEGANS Каткова-Жукоцкая О.А., Еремина С.Ю., Миронов А.С.....	348
ВЛИЯНИЕ ТКАНЕВЫХ СТИМУЛЯТОРОВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С БОЛЬНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ Кахоров Б.А., Саидова Д.Э.....	348
СРАВНЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ЭНДОГЕННЫХ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ IMIN И ICRAС В КЛЕТКАХ HEK293 Колесников Д.О., Перевозникова А.В., Скопин А.Ю., Глушанкова Л.Н., Казначеева Е.В., Шалыгин А.В.....	349
ПУРИНЕРГИЧЕСКИЕ P2U РЕЦЕПТОРЫ В НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Котова П.Д. ....	350
МСК ГЕНЕРИРУЮТ Ca <sup>2+</sup> -ОТВЕТЫ НА АДЕНОЗИН ПО ПРИНЦИПУ «ВСЁ ИЛИ НИЧЕГО» Кочкина Е.Н., Черкашин А.П., Котова П.Д. ....	351



ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СЕРДЕЧНОГО МИОЗИНА ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ПРЕДСЕРДИЙ С ПОМОЩЬЮ IN VITRO ПОДВИЖНОЙ СИСТЕМЫ Кощеева О.И., Ощепкова В.Ю., Щепкин Д.В., Копылова Г.В. ....	351
ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ХЕЛАТОРА ЖЕЛЕЗА (ДЕФЕРОКСАМИНА), НА КЛЕТКИ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА IN VITRO Крицкая К.А., Петренко В.С., Ларюшкин Д.П., Наумов А.А., Поцелуева М.М.....	352
МОРФОЛОГИЯ ТИБИОФЕМОРАЛЬНОГО СУСТАВА КРЫСЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ: 3D-РЕКОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ТЕХНИКИ ВЫСОКОТОЧНОГО СОШЛИФОВЫВАНИЯ Крылов П.А., Астахов А.С. ....	353
ИЗМЕНЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6J ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЫ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ Кузьмина Д.М., Белоусова И.И., Мухина И.В. ....	353
РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ-КИНАЗ В АДАПТАЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ГИПСОКАМПА К ДЕЙСТВИЮ ГИПОКСИИ IN VITRO Логинова М.М., Шишкина Т.В., Мищенко Т.А., Ведунова М.В., Митрошина Е.В.....	354
СПОСОБЫ СТАБИЛИЗАЦИИ СЕКРЕТОРНЫХ ГРАНУЛ В СОСТАВЕ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА Макаров М.С.....	355
УЧАСТИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА МОЛЕКУЛ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА МОДЕЛИ IN VITRO С УЧАСТИЕМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ EA.HY926 Мальцева О.Н. ....	356
МОФРОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУСТАВНОГО ХРЯЩА ПРИ КОРРЕКЦИИ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ СУРФАКТАНТ-АССОЦИИРОВАННЫМИ БЕЛКАМИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ОСТЕОАРТРОЗЕ Несмеянова Е.Н. ....	356
24S-ГИДРОКСИХОЛИСТЕРИН ЗАВИСИМАЯ МОДУЛЯЦИЯ ИНОТРОПНОГО ЭФФЕКТА АКТИВАЦИИ БЕТА1/2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ Одношивкина Ю.Г., Старостин О.С., Петров А.М. ....	357
ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ЗНАЧЕНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНОЙ ЛЕГКОЙ ЦЕПИ МИОЗИНА В МИОКАРДЕ В IN VITRO ПОДВИЖНОЙ СИСТЕМЕ Ощепкова В.Ю., Копылова Г.В., Щепкин Д.В. ....	358
ПЕПТИД ТРЕ-СЕР-ЛИЗ-ТИР ПОЛИМЕРИЗУЕТ ГЛОБУЛЯРНЫЙ АКТИН В УСЛОВИЯХ IN VITRO Пенькова Н.А., Бобылёва Л.Г., Михайлова Г.З. ....	359
ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОВЕДЕНИИ МЫШЕЙ НА МОДЕЛИ АУТОИММУННОГО ДЕФИЦИТА S100B У БЕРЕМЕННЫХ Перепеченова Н.А., Лобанов А.В., Давыдов Д.М., Аникина В.А., Замятина Е.А., Сидякин А.А., Захарова И.А., Морозов С.Г., Мурашев А.Н. ....	359
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ НАТИВНОГО ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И ЕГО КОМПЛЕКСА С $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ НА РОСТ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА IN VITRO Петренко В.С., Крицкая К.А., Ларюшкин Д.П., Наумов А.А., Поцелуева М.М. ....	360



ВЛИЯНИЕ ЛЕТАЛЬНОЙ МУТАЦИИ (A <sup>Y</sup> ) В ГЕНЕ АГУТИ НА МОЗГ И ПОВЕДЕНИЕ У МЫШЕЙ Плюснина А.В., Хоцкин Н.В., Куликова Е.А., Баженова Е.Ю., Фурсенко Д.В., Сорокин И.Е., Колотыгин И., Шевелев О.Б., Куликов А.В.....	361
РОЛЬ АНИОННОГО ОБМЕННИКА И НКСС В РЕГУЛЯЦИИ GARDOS-КАНАЛОВ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СЕРОВОДОРОДОМ Бирулина Ю.Г., Розенбаум Ю.А., Петрова И.В., Тесля Е.С., Трубачева О.А. ....	362
ГИПОКСИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НИТРИТА НАТРИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ Рубец Е.Д., Петенкова А.А., Юдаева Е.С. ....	362
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ РИТМА СЕРДЦА И ЦЕРЕБРАЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ СТУДЕНЧЕСКОЙ МОЛОДЕЖИ В ДИНАМИКЕ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА Сазонова М.М., Исупов И.Б.....	363
ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТАРНОГО БАЛАНСА В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ ОСТРЫХ ЛИМФО- И МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СИСТЕМЕ КРОВИ Селиверстов Е.С., Беляева С.С. ....	364
ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВАЦИИ NF-κB МОНОЦИТОВ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ЭНДОТОКСИНАМИ С РАЗНОЙ СТРУКТУРОЙ, АЛЛЕРГЕНОМ DER P 2 И ИХ КОМБИНАЦИЯМИ Серов Д.А., Прохоренко И.Р. ....	365
ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ ТИТИНА Слядовский Д.А., Якупова Э.И., Фадеев Р.С., Вихлянцев И.М., Бобылёв А.Г.....	365
ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦЕПТОРОВ СОМАТОТРОПИНА В ГРАНУЛЕЗНОМ СЛОЕ ПРЕОВУЛЯТОРНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ КУР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И РЕПРОДУКТИВНОГО СТАРЕНИЯ Смекалова А.А., Лебедева И. Ю.....	366
ЯДРЫШКОВЫЙ ОРГАНИЗАТОР ТИРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ Сметанина М.В., Тукмачева К.А.....	367
РОЛЬ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА НА ВЫЗВАННЫЕ КАРБАХОЛИНОМ СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Шарафиева Ч.Р.....	368
КАЛЬПАИН И L-ТИП КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ ВЫЗВАННОЙ СЕКРЕЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ Тарасова Е.О., Гайдуков А.Е., Балезина О.П.....	368
ОСОБЕННОСТИ ПОТЕНЦИАЛА ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ В НОРМЕ И ПРИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНОМ ПРОЦЕССЕ В УСЛОВИЯХ МЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА Тищенко А.Ю., Сладкова Е.А.....	369
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ Тукмачева К.А., Пазиненко О.А., Пантелеев К.Э.....	370
ЭКСПРЕССИЯ И ДОСТАВКА ГЕНА GDNF В ПОМОЩЬЮ ВИРУСНОГО КОНСТРУКТА Турубанова В.Д., Гавриш М.С., Бабаев А.А.....	371



ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ТИТИНА И ПАССИВНАЯ ЖЕСТКОСТЬ МЫШЦЫ ПРИ МОДЕЛИРУЕМОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ Уланова А.Д., Вихлянцев И.М., Салмов Н.Н., Тыганов С.А., Шарло К.А., Шенкман Б.С.....	371
ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГОЛОВНОГО МОЗГА НА УСТОЙЧИВОСТЬ МЫШЕЙ ЛИНИИ SHK К ХРОНИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ IN VIVO Уразов М.Д., Астраханова Т.А., Усенко А.В., Мищенко Т.А., Ведунова М.В., Митрошина Е.В. ....	372
СПОНТАННАЯ СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА И ЭКЗОЦИТОЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ ПРИ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ СЕПТИНОВ Хисамиева Г.А., Григорьев П.Н. ....	373
ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОДИСПЕРСНОГО ДИОКСИДА ТИТАНА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕЗЕНКИ Цайзель В.Ю., Романова А.Р., Шарафутдинова Л.А.....	373
ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК- КАК МЕДИАТОР КЛЕТОЧНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ АУТИЗМОМ Чудакова Ю.М., Канонирова С.А., Ершова Е.С., Вейко Н.Н., Никитина С.Г., Вейко Р.В., Симашкова Н.В., Костюк С.В. ....	374
ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА ВЫЗВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ ГЛАДКИХ МЫШЦ ТРАХЕИ КРЫС Шайдуллоев И.Ф., Шафигуллин М.У., Сорокина Д.М., Ситдикова Г.Ф.....	375
МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАЗВИТИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В СИСТЕМЕ КРОВИ Шамрай Е.А., Тикунова Т.С. ....	375
ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНОЙ АГРЕГАЦИИ МИОЗИНСВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА С IN VITRO Шумейко С.А., Бобылёва Л.Г., Бобылёв А.Г., Якупова Э.И., Уланова А.Д., Салмов Н.Н., Вихлянцев И.М. ....	376
ОСОБЕННОСТИ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И СТРУКТУРЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ ЛИМФОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА Щетинина Е.Н., Сладкова Е.А.....	377
РЕГУЛЯЦИЯ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА Р-ГЛИКОПРОТЕИНА ПОЛОВЫМИ ГОРМОНАМИ Щулькин А.В., Черных И.В., Мыльников П.Ю., Есенина А.С., Якушева Е.Н.....	377
СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГИГАНТСКИХ БЕЛКОВ САРКОМЕРНОГО ЦИТОСКЕЛЕТА И УРОВНЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТИТИНА В ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА SPERMOPHILUS UNDULATUS Юцкевич Я.А., Попова С.С., Вихлянцев И.М., Рогачевский В.В., Захарова Н.М.....	378
ОКРАСКА КОНГО КРАСНЫМ КАК МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ АМИЛОИДОВ Якупова Э.И., Вихлянцев И.М., Бобылёв А.Г. ....	379

### Экология

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ИНВАЗИВНОГО ВИДА <i>HARMOZICA RAVERGIENSIS</i> (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA) Адамова В.В.....	381
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ТОПОЛЯ ( <i>POPULUS</i> SP.) IN VITRO КАК НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП СОЗДАНИЯ БИОТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ИСХОДНЫХ РАСТЕНИЙ Аминова Е.Ю., Табацкая Т.М., Машкина О.С.....	382





ЭКОЛОГИЯ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ-АЛАНИЯ Багаева У.В., Багаури Л.Ш.....	382
ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ ПЧЕЛ ЮГО-ВОСТОКА НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ (HYMENOPTERA: APOIDEA, APIFORMES) Белова К.А.....	383
СОСТАВ И ЧИСЛЕННОСТЬ НОЧНОГО МИГРАЦИОННОГО СООБЩЕСТВА В ЗИМНИЙ ПЕРИОД НА ЛИТОРАЛЬНОЙ ТОЧКЕ В ОЗ. БАЙКАЛ Бирицкая С.А., Карнаузов Д.Ю., Долинская Е.М., Зилов Е.А.....	384
ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ НЕФТЕПРОДУКТАМИ НА ФИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ В УСЛОВИЯХ УЖГОРОДСКОГО РАЙОНА ЗАКАРПАТЬЯ (УКРАИНА) Боднарюк Р.Н., Вакерич М.М., Николайчук В.И., Гасинец Я.С., Король М.В.....	385
ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ И ТЕПЛОЙ АККЛИМАЦИИ Верещагина К.П., Кондратьева Е.С., Аксенов-Грибанов Д.В., Емшанова В.Н., Тимофеев М.А.....	385
ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ <i>HALIMIONE VERRUCIFERA</i> (M.VIEB.) AELLEN. НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОМАССЫ ПРОРОСТКОВ <i>SUAEDA PROSTRATA</i> RALL. Ганусяк А.П., Кузьмина В.С., Симагина Н.О.....	386
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБИОМА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ГРУППЕ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ ЛИТОРАЛЬНЫХ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ РОДА <i>LITTORINA</i> Гафарова Е.Р., Мальцева А.Л., Михайлова Н.А., Гранович А.И.....	387
ВЛИЯНИЕ СТРЕССИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОРМОВЫХ ТРАВАХ ПАСТБИЩНЫХ УГОДИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ Григорьева А.А.....	387
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА "А" В ВОДЕ Ермакова Я.С., Экилик В.С.....	388
БИОГЕОХИМИЯ РАДИОЦЕЗИЯ В ПОДТАЕЖНЫХ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ДАЛЬНЕЙ ЗОНЫ ВЫПАДЕНИЙ СПУСТЯ 30 ЛЕТ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧАЭС Железнова О.С.....	389
РЕДКИЕ ВИДЫ ПТИЦ ЗОНЫ БЕРЕЗОВЫХ ЛЕСОВ И РЕДКОЛЕСИЙ СЕВЕРО-ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ Зацаринный И.В., Варюхин В.С., Собчук И.С.....	389
ПРИРОДНАЯ РАДИОАКТИВНОСТЬ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ( <i>MOLLUSCA BIVALVIA UNIONIDAE</i> ) (НА ПРИМЕРЕ ВИДА РОДА <i>SINANODONTA</i> ) Иззатуллаев З.И., Боймуродов Х.Т., Отакулов Б.Н. Эгамкулов А.Н.....	390
СОСУЩЕСТВОВАНИЕ ПОЛНЫХ КОНКУРЕНТОВ С НЕРАВЕНСТВОМ ПО ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ, КОНКУРЕНТНОЕ ИСКЛЮЧЕНИЕ И НЕЙТРАЛЬНОСТЬ В ОДНОЙ МОДЕЛИ Калмыков Л.В., Калмыков В.Л.....	391
ДИНАМИКА МИГРАЦИОННОГО СООБЩЕСТВА В ТЕЧЕНИИ НОЧИ В Б. БОЛЬШИЕ КОТЫ (ОЗ. БАЙКАЛ) В ОСЕННИЙ ПЕРИОД Карнаузов Д.Ю., Долинская Е.М., Бирицкая С.А., Зилов Е.А.....	391
ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ С/Н ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ТРАНСФОРМАЦИЮ ПОЧВЕННЫХ МИНЕРАЛОВ Квиткина А.К., Дударева Д.М.....	392



БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЙМЕННЫХ ОЗЁР РЕКИ ВЯТКИ В ДИНАМИКЕ ЗА 2015-2017 ГГ. Козвонин Д.В.....	393
ОЦЕНКА АНАЭРОБНОГО МЕТАБОЛИЗМА АМФИПОД ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ АККЛИМАЦИЯ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУР Кондратьева Е.С., Верещагина К.П., Аксенов-Грибанов Д.В., Тимофеев М.А.....	394
ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ЮЖНОГО БАЙКАЛА НА ПРИМЕРЕ МАЛОЙ МОНИТОРИНГОВОЙ ТОЧКИ «МАНГУТАЙ» Кондратьева Е. М., Зилов Е. А.....	394
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ CU НА МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МИКРОБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА КРЫС W1STAR Короткова А. М., Лебедев С. В.....	395
ЛЕТНЕЕ НАСЕЛЕНИЕ ПТИЦ ПРИПОЙМЕННЫХ СОСНЯКОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «МЕЩЁРСКИЙ» Косякова А.Ю.....	396
РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МАТЕРИАЛА ОТ АТЛАНТИЧЕСКОГО МОРЖА ( <i>ODOBENUS ROSMARENSIS</i> ) Ерещенко М.И., Денисенко Т.Е., Болтунов А.Н., Семёнова В.С., Болтунов Н.А., Никифоров В.В.....	396
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ ЛИПЫ МЕЛКОЛИСТНОЙ ( <i>T. CORDATA</i> ) ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ МЕТОДОМ ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ Неокина М.А., Ломсков М.А.....	397
МЕТОДЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОКЛИМАТИЧЕСКИХ ПЕРЕМЕННЫХ И ДАННЫХ О РАСПРОСТРАНЕНИИ РАСТЕНИЙ Гаврилова Т. М., Орлов М.А.....	398
РАЗРУШЕНИЕ БИОПЛЕНКИ ПОСРЕДСТВОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЫ Погорелова М.А., Панаит А.И., Суворов О.А., Кузнецов А.Л.....	398
СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ВОЛОСАХ ЖИТЕЛЕЙ ЗАПАДНЫХ И ВОСТОЧНЫХ РАЙОНОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ Румянцева О.Ю., Иванова Е.С.....	399
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АМФИБИЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННЫХ СИСТЕМ Рябинина Е.С., Романова Е.Б.....	399
ПРИМЕНЕНИЕ РОГОЛИСТНИКА В КАЧЕСТВЕ КАТАЛИЗАТОРА ПРОЦЕССОВ НИТРИФИКАЦИИ В АКВАРИУМИСТИКЕ Рябчикова Е.В., Ломсков М.А., Суханова К.Д., Денисенко Т.Е. ....	400
РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕМАТОД ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ НА РАВНИННЫХ И ПРЕДГОРНО-ГОРНЫХ ЗОНАХ УЗБЕКИСТАНА Саидова Д.Э., Амиров О.О., Кучбоев А.Э.....	401
СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ОТРЯДА КОПЫТНЫЕ ООПТ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК "РУССКИЙ СЕВЕР" Селезнева А. П.....	401
ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ РОДА <i>VIPERA</i> СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ Романова Е. Б., Соломайкин Е.И.....	402
ФАУНА МАЛЫХ РЕК И РУЧЬЕВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИЭЛЬБРУСЬЕ» Таманова Д.В.....	403



БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА БИОМОДИФИКАЦИИ БУРОГО УГЛЯ Жубанова А.А., Акимбеков Н.Ш., Тастамбек К.Т., Цяо С., Токен А., Бекдикулов Б.Т.....	403
СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ТКАНЯХ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ Хабарова Л.С., Иванова Е.С., Кузнецова Л.В.....	404
ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПЕРТЕРМИИ НА НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТИ У <i>LYMNAEA STAGNALIS</i> Хомич А.С., Широкова Ю.А., Лубяга Ю.А., Краснова М.А., Бодиловская О.А., Голубев А.П., Аксенов-Грибанов Д.В.....	405
ENRICHMENT CULTURING AND BACTERIAL COMMUNITY STRUCTURE ANALYSIS OF SOLUBILIZING-BROWN COAL MICROFLORA THROUGH ILLUMINA MISEQ HIGH-THROUGHPUT SEQUENCING TECHNOLOGY Цяо Сяохуэй, Тастамбек К.Т., Акимбеков Н. Ш., Жубанова А. А.....	406
СОСТОЯНИЕ МУЖСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ СОСНЫ РУМЕЛИЙСКОЙ ( <i>PINUS PEUCE GRISEB.</i> ) В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ Чугреев М. Ю.....	406
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ НА ОРГАНИЗМ ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД Шапова Е.П., Гурков А.Н., Дмитриев И.А., Назарова А.А., Тимофеев М.А.....	407
АДАПТАЦИЯ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> К ПРОСТРАНСТВЕННО ГЕТЕРОГЕННОЙ СРЕДЕ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМИ КОРМОВЫМИ СУБСТРАТАМИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭВОЛЮЦИОННОГО ЭКСПЕРИМЕНТА Яковлева Е. Ю., Горшкова А. А., Фетисова Е. С.....	408
<b>Биофизика и биоинформатика</b>	
ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РЕПАРАЦИЮ ДНК И УРОВЕНЬ ГЕТЕРОПЛАЗМИИ МТДНК В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС Абдуллаев С.А., Губина Н.Е., Евдокимовский Э.В., Митрошина И.Ю.....	409
АНАЛИЗ ОДНОРОДНОСТИ БОЛЬШИХ МАССИВОВ ДАННЫХ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ НА ОСНОВЕ ТЕСТА СТЬЮДЕНТА Алиев Р.О., Борисов Н.М.....	410
ДВИЖЕНИЕ КИНКА ДНК ПРИ СИНХРОННОМ И АСИНХРОННОМ ВКЛЮЧЕНИИ/ВЫКЛЮЧЕНИИ ВНЕШНЕГО ПОЛЯ Балашова В.Н., Якушевич Л. В., Закирьянов Ф.К.....	410
РАЗРАБОТКА БИОМЕХАНИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИНАКТИВИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ УКОРОЧЕНИЯ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ Бутова К.А., Лукин О.Н.....	411
ПРОГРАММИРОВАНИЕ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ CRISPR/dCAS9 Велегжанинов И.О., Рыбак А.В., Пылина Я.И., Иевлев В.А., Шадрин Д.М., Белых Е.С. ....	412
ВЛИЯНИЕ ЭМИ КВЧ 42,2 ГГц НА РОСТ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР МСК, HaCaT и HeLa Великанов А.Н., Тамбиев А.Х., Голиченков В.А.....	412
ДИНАМИЧЕСКАЯ МОРФОМЕТРИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ – ДИСТАНЦИОННЫЕ МЕТОДЫ РЕГИСТРАЦИИ МОРФОГЕНЕЗА Воробьева У.М., Тирас Х.П., Новиков К.Н., Емельяненко В.И., Местецкий Л.М.....	413



ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОГЕННОГО АМИНА, СЕРОТОНИНА У PLATYHELMINTHES Гребенщикова Е.В., Крещенко Н.Д., Мочалова Н.В., Теренина Н.Б.....	414
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ Гринберг М.А., Ладейнова М.М., Громова Е.Н., Гудков С.В., Воденеев В.А.....	414
ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ТРАДИЦИОННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ РАКА НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ПРОЕКТА TCGA Краснов Г.С., Новаковский Р.О., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А.....	415
РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРЕДКОВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ БЕЛКА ОХУР Драненко Н.О., Бочкарёва О.О.....	416
ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ТЕТРА(4-(БЕНЗИЛОКСИ)ФЕНИЛ) ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА В СВОБОДНОЙ ФОРМЕ И В СОСТАВЕ ЛИПОСОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO Дьякова Д.В., Шилягина Н.Ю., Лермонтова С.А., Клапшина Л.Г., Балалаева И.В., Юдинцев А.В.....	416
ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА: ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ Ермакова А.В., Велегжанинов И.О.....	417
ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ В ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ Ефимова С.С., Захарова А.А., Щагина Л.В., Остроумова О.С.....	418
АНАЛИТИЧЕСКОЕ УСЛОВИЕ СПАЙКОВОГО ОТКЛИКА LIF-НЕЙРОНА НА ВХОДЯЩИЙ ИМПУЛЬС ТОКА С ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНЫМ ЗАТУХАНИЕМ Земскова Т.С.....	418
ВОЗДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ НЕЙРОНЫ ИЗ ГИППОКАМПА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС Знобищева А.В., Ермаков А.М., Фахранурова Л.И., Ермакова О.Н.....	419
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОТОЛАБИЛЬНОГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА IP3 ДЛЯ АНАЛИЗА CA2+-СИГНАЛИЗАЦИИ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА Ивашин Д.С., Котова П.Д.....	420
ПЛАНАРИИ КАК МОДЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ РАДИОПРОТЕКТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ Каменских К.А., Ермаков А.М.....	420
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА НАТРИЙ ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NAPI2B Козлова А. С., Акберова Н. И.....	421
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРФИРАЗИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛЬНОЙ ВЯЗКОСТИ Коныгин К.А., Шилягина Н.Ю., Лермонтова С.А., Клапшина Л.Г., Воловецкий А.Б., Балалаева И.В.....	422
БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАЛЫХ ЯДРЫШКОВЫХ РНК КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ЗАРАЖЕННЫХ ВИРУСОМ ГРИППА Летова И. А., Сысоева М. А., Шах Махмуд Р.....	422
ОСТАТОЧНАЯ ДЫХАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БЛОКИРОВКЕ ЯДАМИ Львов А.М., Фролова М.С., Векшин Н.Л.....	423



КОНЕЧНО-ЭЛЕМЕНТНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАХЕОБРОНХИАЛЬНОГО ДЕРЕВА ДЛЯ ВСЕХ 23-х ГЕНЕРАЦИЙ Макевнина В.В.....	424
СОДЕРЖАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В МОЧЕ КРЫС РЕЗКО УВЕЛИЧИВАЕТСЯ ПОСЛЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ВВЕДЕНИЯ БЛЕОМИЦИНА Минкабирова Г.М., Абдуллаев С.А.....	424
РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА МЕТФОРМИНА Митрошина И.Ю., Минкабирова Г.М., Карманова Е.Е., Абдуллаев С.А.....	425
ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ТКАНЯХ ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ Мочалова Н.В., Теренина Н.Б., Крещенко Н.Д.....	426
МЕТОД ОЦЕНКИ СООТВЕТСТВИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ДЛИНЫ ИЗОЛИРОВАННОГО КАРДИОМИОЦИТА И ЕГО САРКОМЕРОВ В МЕТОДЕ КАРБОНОВЫХ ВОЛОКОН Мячина Т.А., Лукин О.Н., Хохлова А.Д.....	427
ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ПРОЦЕССЫ АТРОФИИ И ТРАНСФОРМАЦИИ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ПРЕБЫВАВШИХ В УСЛОВИЯХ ГИПОКИНЕЗИИ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ВОССТАНОВЛЕНИЕМ Нигметзянов И. Р., Газизова Г. Р., Тяпкина О. В., Девятяров Р. М., Гусев О. А.....	428
ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ ДУПЛЕКСА ДНК УЧАСТВУЮЩИХ В РЕПЛИКАЦИИ ПРОМОТОРОВ БАКТЕРИОФАГОВ Орлов М.А., Рясик А.А., Зыкова Е.А., Сорокин А.А.....	428
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ГИПОКСИИ, ПЕРЕНЕСЕННОЙ IN VIVO НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОРГАННОЙ КУЛЬТУРЫ Пахомова В.Г.....	429
ВЫЯВЛЕНИЕ КЛЮЧЕВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ГЕНОВ, ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ В КЛЕТКАХ ГИПОКАМПА ПРИ РАЗРУШЕНИИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МОЗГА Першин В.И., Гайнуллин М.Р., Гурьев Е.Л., Курбатов Л.К., Мухина И.В.....	430
ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ 400 И 460 НМ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO И IN VIVO Плеханова Е.С., Чернигина И.А., Чернов В.В., Щербатюк Т.Г.....	430
РОЛЬ ПЛОИДНОСТИ КЛЕТОК В ПРОЯВЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ПОСЛЕ УФ ИЗЛУЧЕНИЯ Подобед М.Ю., Евстратова Е.С.....	431
РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТКАНЕЙ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ОСНОВАННЫХ НА АНАЛИЗЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРОВ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ Поляков Д.В., Сорокин А.А., Жванский Е.С.....	432
ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ТКАНЯХ ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ Пьянков В. Ф.....	432
ВЛИЯНИЕ ТРИПСИНА НА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ТОЛУИДИНОВОГО СИНЕГО В СРЕДЕ ЖЕЛАТИНОВОГО ГЕЛЯ Раевских К.С., Камашева Е.А.....	433
КУМАРИН-АКТИВИРОВАННАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ В ИССЛЕДОВАНИИ ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Зарудная Е.Н., Лысенко Н.П.....	434



МОНИТОРИНГ ОТВЕТА ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПОРФИРАЗИНОВОЙ ПРИРОДЫ СО СВОЙСТВАМИ ВЯЗКОСТНОГО СЕНСОРА Сороко С.С., Воловецкий А.Б., Лермонтова С.А., Клапшина Л.Г., Плеханов В.И., Балалаева И.В., Воденеев В.А., Шилягина Н.Ю.....	435
ВЛИЯНИЕ БЕДАКВИЛИНА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ЛИПОСОМ Старинец В.С., Дубинин М.В., Теньков К.С., Белослудцева Н.В., Белослудцев К.Н. ....	435
ДИНАМИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ВАЗОРЕАКТИВНОСТИ Стюхина Е.С., Постнов Д.Э.....	436
RULE-BASED МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА. СИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ Талызина А. А., Сорокин А. А.....	437
КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА И УФ СВЕТА Толкаева М.С., Евстратова Е.С.....	437
ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТА МЕДИ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ГИПЕРТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ Филимонова А.Н., Воробей О.А.....	438
ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА Хотина В.А., Наквасина М.А.....	439
ДЛЯ ГЕНЕРАЦИИ Ca <sup>2+</sup> -ОТВЕТОВ НА АДЕНОЗИН МСК ИСПОЛЬЗУЮТ ФОСФОЛИПАЗНЫЙ ПУТЬ Черкашин А.П., Кочкина Е.Н., Котова П.Д.....	440
АКТИВНОСТЬ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ РЕГУЛИРУЕТСЯ ЛАТЕРАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ В ГИДРОФИЛЬНОЙ ОБЛАСТИ МЕМБРАНЫ Чулков Е.Г., Ефимова С.С., Остроумова О.С.....	440
ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ИЗОЛИРОВАННОГО ПЕРФУЗИРУЕМОГО ОРГАНА ПРИ ГИПОКСИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ Шадрин К.В.....	441
МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СИНУСОВОГО РИТМА ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ НАТРИЕВОГО ТОКА В КЛЕТКАХ СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА СЕРДЦА Шмарко Д.В., Хохлова А.Д., Лебедева Е.А.....	442
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АЛГОРИТМОВ СБОРКИ ГЕНОМОВ DE NOVO ДЛЯ ДАННЫХ ПОЛНОГЕНОМОНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ARNIS FABAE MORDVILKOI Шулинский Р.С., Кветко П.Ю.....	443
БИОСОКРАТИМЫЕ МИКРОКАПИЛЛЯРЫ НА ОСНОВЕ СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ ДЛЯ ПЕРИСТАЛЬТИЧЕСКОЙ ПРОКАЧКИ ЖИДКОСТИ Шутько А.В., Горбунов В.С., Гурия К.Г., Агладзе К.И.....	443
ПЕРОКСИД ВОДОРОДА В ОТВЕТЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ЦИСПЛАТИНА Щукина К.М., Неруш А.С.....	444



## СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»

### АКТИВНОСТЬ ТЕРРАСНЫХ ПОЧВ ГОРНОГО ДАГЕСТАНА, СФОРМИРОВАННЫХ В РАЗНЫХ ЛИТОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Асадова Г.Я.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>, Борисов А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия; <sup>2</sup> ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

*tulskiy71@list.ru*

Древнейший очаг террасного земледелия - Восточный Кавказ. Большая часть террас расположена на территории горного Дагестана. До сегодняшнего времени не были получены ответы на вопросы о биологической активности этих почв. Основными показателями состояния микробного сообщества являются его биомасса и активность почвенных ферментов, отражающие условия почвообразования. Целью данной работы явилось изучение активности террасных почв, сформированных в разных литологических условиях.

Для исследования были выбраны террасные почвы следующих ключевых участков: Гуниб (Гунибский район, почвы сформированы на делювии глин и известняков); Муги (Акушинский район, окрестности с. Муги, почвы сформированы на известняках); Джаба (Ахтинский район, окрестности с. Джаба, почвы сформированы на сланцах). Для оценки активной микробной биомассы использовали метод С-СИД, уреазной активности - модифицированным индофенольным методом, фосфатазной активности - методом Галстяна – Арутюнян.

Получены следующие результаты. Показатели активной микробной биомассы почти во всех слоях профиля земледельческой террасы, сформированной на делювии глин и известняков (ключевой участок Гуниб), были намного выше по сравнению с соответствующими слоями террасы, сформированной на известняках (ключевой участок Муги). Пик уреазной активности также был отмечен в профиле террасы сформированной на делювии глин и известняков. Фосфатазная активность в верхней части профиля этой почвы также была значительно выше, чем в соответствующих слоях террасных почв, сформированных на известняках и сланцах. При этом по профилю изменение фосфатазной активности в почве, сформированной на делювии глин и известняков и в почве, сформированной на сланцах, почти не различалась: уменьшение фосфатазной активности происходило с глубиной. В нижней части профиля этих двух террасных почв фосфатазная активность практически не различалась. Существенные отличия по динамике фосфатазной активности были выявлены в почвенном профиле террасы, сформированной на известняках. Здесь в нижней части профиля происходило увеличение фосфатазной активности с глубиной. Поэтому в наиболее глубоких слоях почвы, сформированной на известняках, величины данного показателя были выше, чем у террасной почвы, сформированной на делювии глин и известняков. В верхней и центральной частях профиля почвы, сформированной на делювии, наблюдался максимум фосфатазной активности.

На основании полученных результатов можно сделать вывод: наибольшей биологической активностью характеризовалась почва земледельческой террасы, сформированная на делювии глин и известняков.

### ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ СООБЩЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В КРУГОВОРОТ АЗОТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВНЕСЕНИИ УДОБРЕНИЙ

Бойко А.Н.<sup>1</sup>, Слепцова Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия; <sup>2</sup> Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

*nastya28.92@mail.ru*

Обеспечение населения продовольствием связано с интенсивной эксплуатацией сельскохозяйственных земель, что требует постоянного применения минеральных удобрений. Анализ последствий химизации и применения интенсивных технологий показывает, что, наряду с несомненными достижениями в этой области, все больше стали проявляться ее отрицательные



стороны. Вместе с тем вопросы, связанные с разработкой новых способов повышения плодородия почв, урожайности сельскохозяйственных растений, не могут быть решены без изучения микрофлоры сельскохозяйственных почв.

Цель - оценка изменений сообщества микроорганизмов, принимающих участие в цикле азота в результате длительного внесения удобрений.

Объектами исследования послужили агротемногумусовые отбеленные почвы Приморского края, вовлеченные в длительный опыт (74 года). Для работы отобраны 9 почвенных образцов с различных участков: 1) контрольная, без внесения; 2) с внесением НРК ( $N_{2500}+P_{2675}+K_{1920}$ ); 3) с внесением НРК, навоза и извести ( $N_{2513}+P_{2600}+K_{1975}+H_{220}+I_{22}$ ).

Численность аммонификаторов в почвах, с внесением минеральных удобрений, оказалась на 1 порядок ниже, чем в почвах контрольного поля, и сопоставима с уровнем поля, удобряемого минеральными удобрениями и навозом. Сходная картина наблюдается и для бактерий, способных к азотфиксации. В опытных полях численность бактерий данной группы микроорганизмов на 1 порядок ниже, чем в почве контрольного поля. Что касается бактерий, использующих минеральные формы азота, в почвах с внесением минеральных удобрений, оказалась на 1 порядок выше, чем в почвах контрольного поля, и сопоставима с уровнем поля, удобряемого минеральными удобрениями и навозом. Увеличение численности аминоавторофов, свидетельствует о повышении его содержания в почве, а значит и о том, что процесс минерализации идет активно, прежде всего, за счет аммонификации.

Интенсивность трансформации свежего органического вещества принято выражать в виде коэффициента минерализации. Существенное снижение коэффициента минерализации в почвах контрольного поля служит ясным указанием на нарушение нормальных эколого-трофических связей.

Подводя итог, можно отметить, что в целом, все исследованные группы микроорганизмов демонстрируют сходное распределение численности по образцам почвы, что подтверждается методами статистического анализа. Вероятно, это распределение связано с тесными трофическими связями в микробном сообществе каждой исследованной почвы, явлениями метабиоза и протокооперации при разложении поступающих органических веществ.

## **ЗНАЧЕНИЕ КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ДРЕВНИХ ЗАХОРОНЕНИЙ**

**Воробьев С.Ф.<sup>1</sup>, Каширская Т.П.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН

В современной археологии при изучении древних погребений все чаще используются методы естественных наук. Исследование микроорганизмов, населяющих погребальные грунты древних захоронений, может оказать неоценимую помощь археологам в поисках ответов на многие важные вопросы. Из каких материалов были изготовлены одежда и обувь погребенного? Использовались ли в погребальном обряде подушки и циновки? Какими способами употребляли охру для украшения усопших, согласно обычаям, той или иной эпохи? Микроорганизмы в состоянии ответить на все эти вопросы, если исследователь сумеет правильно их сформулировать и задать на понятном для микробов языке. Наиболее простой исследовательский язык в общении с почвенными микроорганизмами заключается в использовании различных питательных субстратов, которые попадали в погребальные грунты древних курганов и подвергались разложению за счет почвенного микробного сообщества. Логично предположить, что в погребениях под курганами присутствовали материалы растительного и животного происхождения, применяемые в быту древних людей для изготовления одежды. Попадая в почву вместе с человеческим телом, эти материалы служили источниками питания для определенных групп микроорганизмов и способствовали увеличению их численности. Одним из наиболее труднодоступных источников питания для почвенных микроорганизмов является  $\alpha$ -кератин – белок, входящий в состав кожи и шерсти. Немногие из микроорганизмов обладают способностью к разрушению длинных и прочных молекул  $\alpha$ -кератина на короткие фрагменты, которые затем могут использоваться в качестве питательного субстрата. Наиболее активными кератинолитами являются грибы-дерматомицеты следующих родов: *Microsporum*, *Trichophyton*, *Chrysosporium*, *Geomyces*, *Gymnoascus*, *Sporendonema*, *Cladobotryum*, *Pectinotrichum*, *Renispora*, *Malbranchea* и *Myceliophthora*.





Кроме того, к разрушению кератина способны некоторые почвенные грибы, принадлежащие к аскомицетам, митоспоровым грибам и мукорам. Из них многие виды являются зоофильными и антропофильными паразитами, однако есть и геофильные виды – сапротрофы, обитающие на остатках животного происхождения, содержащих кератин. Мы полагаем, что численность сапротрофных кератинолитических грибов в грунтах из погребений, где присутствовали кожа и шерсть, будет значительно выше, чем численность этой же группы в грунтах из погребений с материалами растительного происхождения. При оценке численности кератинолитических грибов в погребальных грунтах методом посева на твердую питательную среду с добавлением шерстяного субстрата было показано, что значения данного показателя существенно различаются в отдельных образцах погребального грунта, при этом значительное увеличение численности нередко наблюдается в тех образцах, где отсутствует реакция микробного сообщества почвы на добавление в среду целлюлозного (растительного) субстрата. Таким образом, исследование кератинолитических микроорганизмов, сохранившихся в погребальных грунтах древних захоронений до наших дней, можно с успехом применять для выявления материалов животного происхождения, используемых в погребальных обрядах прошлых эпох.

## **АКТИВНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО В ПОЧВАХ ЗОНАЛЬНОГО РЯДА**

**Гурченко Е.А.<sup>1</sup>, Паутова Н.Б.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>АНО Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

*evas888@mail.ru*

При классификации почв и определении их качества и бонитета основное внимание обращается на содержание  $C_{\text{орг}}$  в гумусово-аккумулятивном горизонте; менее изученными остаются вопросы распределения активного органического вещества. Активным органическим веществом обозначается потенциально-минерализуемая, высокого энергетического статуса, быстро утилизируемая микроорганизмами, часть почвенного органического вещества с продолжительностью существования менее 3-10 лет.

Объектом исследований были некоторые типы зональных почв. Содержание валового органического углерода ( $C_{\text{орг}}$ ) и общего азота в образцах почв определяли с помощью CNHS-анализатора (Лесо 932). Активное органическое вещество ( $C_0$ ) измеряли биокинетическим методом по количеству продуцируемого  $C\text{-CO}_2$  за длительный период инкубации.

Среди зональных почв содержание  $C_{\text{орг}}$  в гумусовых горизонтах изменялось в следующей последовательности: чернозем обыкновенный > темно-серая лесная почва > каштановая солонцеватая > серая лесная почва. Увеличение содержания  $C_{\text{орг}}$  в гумусовых горизонтах по направлению от серых лесных почв к чернозему обыкновенному и постепенное уменьшение более южных зон и провинций – классическая зонально-географическая закономерность. Исследуемые почвы отличались между собой как по уровню содержания активного органического вещества, так и по характеру внутрипрофильного его распределения. Среди зональных почв пределы содержания активного органического вещества в гумусовом горизонте чернозема обыкновенного и темно-серой лесной почвы были выше, чем в каштановой и серой лесной почве. Для гумусового горизонта пахотных аналогов серой лесной почвы и обыкновенного чернозема характерно обеднение активным органическим веществом. Константы скорости минерализации органического вещества в разных горизонтах зональных почв были одного и того же порядка (0,060-0,011 сутки<sup>-1</sup>), но варьировали в зависимости от глубины расположения генетических горизонтов. Так, в черноземе обыкновенном с увеличением глубины константа скорости минерализации органического вещества уменьшалась, в натриево-кальциевом солончаке, наоборот, возрастала, а в других почвах значения констант в отдельных горизонтах существенно отличались по сравнению со смежными горизонтами. Из полученных данных следует, что активный пул в ряду почв представлен примерно одним и тем же набором органических веществ, а внутрипрофильные различия в размерах активного пула обусловлены особенностями физико-химических свойств, от которых зависит доступность органических компонентов почвенным микроорганизмам.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №17-04-00707).



## ВЛИЯНИЕ БИОКОКСА ИЗ ОСАДКА СТОЧНЫХ ВОД НА СВОЙСТВА ПОЧВЫ И ЕЕ ПЛОДОРОДИЕ

**Даньшина А.В.<sup>1,2</sup>, Стрижакова Е.Р.<sup>1</sup>, Васильева Г.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*adanishina0906@gmail.com*

В настоящее время на городских очистных сооружениях нашей страны ежегодно накапливаются миллионы тонн осадков сточных вод. Несмотря на множество полезных свойств осадка сточных вод (высокое содержание биогенных элементов), до сих пор не найден адекватный метод утилизации из-за присутствия патогенов, а также повышенной концентрации тяжелых металлов (ТМ). Компания «Активил» разработала подходы к производству биококса (БК) из осадка сточных вод в реакторе на основе многоподовой пиролизной печи. Его элементарный состав (%): 35 - С, 2 - N, 15 - P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 8,5 - CaO, 2,7 - MgO, 1,3 - Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 4,6 - Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, суммарное содержание обменных форм ТМ (Zn>Cu>Cr>Pb) <0,35%. Содержание ПАУ в самом БК лишь незначительно превышает допустимый уровень в почве.

Основной целью данной работы было изучение влияния дробленого БК (2-5 мм) на свойства почвы, содержание доступных биогенных элементов и рост растений райграса (*Lolium perenne*), а также накопление в почве и растениях тяжелых металлов. Испытания проводили в условиях вегетационного эксперимента на 2 типах почв: суглинистая серая лесная (СЛ) и песчаная аллювиальная луговая (АЛ), отобранных на залуженных участках вблизи г. Пущино. Сосуды с почвой, смешанные с разными дозами БК, засевали райграсом и инкубировали на экспериментальной площадке вблизи Института при регулярном поливе в течение 4 месяцев.

Установлено, что внесение БК в почву в дозах 2-10% повышало влагоемкость и пористость почвы. При этом содержание доступного фосфора и обменного калия в почвах увеличилось до уровня хорошей или высокой обеспеченности, а содержание доступного азота – до уровня слабой или средней обеспеченности в зависимости от исходного уровня их содержания. Зеленая масса райграса увеличилась на 44-175%, а масса корней - на 55-100% по сравнению с контролем. Между тем в присутствии БК концентрации подвижных форм Zn и Pb (экстрагируемые ацетатно-аммонийным буфером, рН 4,8) в почве увеличились незначительно, а их содержание в зеленой массе и корнях почти не изменилось.

Таким образом, биококс компании «Активил» является хорошим источником биогенных элементов (фосфора и калия), что указывает на перспективность его применения в качестве мелиоранта, например, в проектах городского ландшафтного озеленения. Однако необходимы дополнительные эксперименты для более детального изучения его влияния на разные свойства почвы и ее плодородие.

Работа выполнена в рамках совместных исследований по НИР, проведенных в интересах ООО «Активил».

## СДВИГИ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКЕЛА ПОПУТНОГО ГАЗА

**Дударева Д.М.<sup>1,2</sup>, Квиткина А.К.<sup>2</sup>, Евдокимов И.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

*darya\_dudareva@mail.ru*

Потепление климата влияет на все компоненты лесной экосистемы. Факелы для сжигания попутного газа могут выполнять роль модельной системы для изучения влияния потепления на почву и древостой. Целью нашего исследования было оценить тепловое и иссушающее воздействие факелов попутного газа на биологическую активность микробного сообщества подзолистых почв. Мы предположили, что на участке почвы с максимальным воздействием факела должно наблюдаться угнетающее воздействие повышенной температуры и иссушения на биологическую активность почвы.

В окрестностях г. Покачи на территории Покачевского лесничества (ХМАО-Югра) в 2000 году была заложена пробная площадь в сосняке лишайниковом, произрастающем в сухих



дренированных условиях на подзолистых почвах. Пробная площадь была разделена на 7 секций. Ширина каждой секции составила 10 м, а длина - около 60 м. На расстоянии 70 м от внешней границы ближайшей к факелу секции I находится действующий факел попутного газа. Пробы отбирались с глубины 1 - 3 см. Отбор проводился в секциях I, III, и VII в 5 биологических повторностях.

Как по температуре, так и по влажности секции пробной площади различались между собой. Максимальная температура почвы зафиксирована в секции I, далее наблюдалось ее снижение по мере удаления секции от факела; для почвенной влажности была обнаружена обратная тенденция.

Базальное дыхание увеличивалось по мере удаления от факела - с 3,9 (секция I) до 9,6 (секция VII) мкг C-CO<sub>2</sub>/(г почвы × час). Минимальное значение почвенной микробной биомассы, определенной методом субстрат-индуцированного дыхания (СИД) было обнаружено на ближайшей к факелу секции I (673 мкг C/г почвы), максимальное в секции III (1057 мкг C/г почвы), где уже не наблюдалось значительного иссушения почвы, а условия для микробного сообщества, вероятно, были максимально благоприятными среди трех протестированных нами секций.

Таким образом, секция I с максимальным тепловым и иссушающим воздействием факела показала минимальные значения как для базального дыхания, так и для микробной биомассы, то есть наша рабочая гипотеза об угнетающем воздействии факела на биологическую активность почвы подтвердилась. Кроме того, было обнаружено закономерное увеличение соотношения «базальное дыхание/СИД-биомасса» (метаболического коэффициента) по мере удаления от факела, то есть при уменьшении теплового и иссушающего воздействия факела.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-04-01933-а).

## **ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Дущанова К.С.<sup>1</sup>, Хомутова Т.Э.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Пушчинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

*kamilla.dushchanova@gmail.com*

Оценивали изменения функционального разнообразия микробного сообщества в серой лесной почве при разложении органических субстратов различного происхождения в модельном долгосрочном эксперименте с целью поиска индикаторов, указывающих на исходное присутствие органических материалов в почве. Такие индикаторы предполагается использовать для реконструкции содержимого ритуальных сосудов из археологических памятников. Эксперимент проводили в оптимальных и постоянных условиях влажности и температуры (60% ППВ и 25°C), использовали субстраты белковой - казеинат натрия, желатин и шерстяные нити, липидной - пищевое подсолнечное масло и бараний жир и полисахаридной природы - крахмал и высушенный сбор разнотравья, контролем служила почва без субстрата. Катаболическое разнообразие микробных сообществ в экспериментальных вариантах определялось методом мультисубстратного тестирования дыхательной активности (МСТ, Degens, Harris, 1997). Использовали низкомолекулярные субстраты 3х групп, различающихся по химической природе, обозначенных как «гильдии» (Данилогорская и др., 2015): аминокислоты (глицин, аланин, аргинин, гистидин, тирозин и цистеин), углеводы (манноза, арабиноза, сахароза, фруктоза, мальтоза, глюкоза) и натриевые соли карбоновых кислот (аскорбиновая, лимонная, молочная, уксусная, щавелевая и янтарная). Дыхательный отклик микробных сообществ на гильдию углеводов характеризует их биомассу, а отклик на гильдии карбоновых и аминокислот был специфичен для разных вариантов модельного эксперимента и, по-видимому, связан с функциональным разнообразием сообществ. Отношение величины отклика микробных сообществ на гильдию карбоновых кислот к таковым аминокислотам в вариантах с белковыми субстратами было выше, чем в контроле в 1,4-5,7 раз, а в остальных вариантах (бараний жир, растительное масло, крахмал и растительные остатки) составляло 23-67% от контроля. Выявленные закономерности сохранялись на протяжении 8 месяцев эксперимента. Полученные результаты позволяют надеяться на перспективность применения МСТ для реконструкции исходного



присутствия органических материалов различной природы в почвогрунтах археологических памятников.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект №17-06-00412.

## **ДИНАМИКА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ПРОЦЕССЕ ПОЧВООБРАЗОВАНИЯ**

**Железова А.Д.<sup>1</sup>, Чернов Т.И.<sup>1</sup>, Бгажба Н.А.<sup>1,2</sup>, Иванова Е.А.<sup>1</sup>, Тхакахова А.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Почвенный институт имени В.В. Докучаева, Москва, Россия; <sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*alferrum@mail.ru*

Для изучения почвообразовательного процесса используется метод временных рядов (хронорядов), при котором проводится сравнение разновозрастных почв. В настоящее время почвообразовательный процесс наблюдается как в результате естественных процессов, так и антропогенных нарушений. Целью работы было выявление закономерностей изменения микробного сообщества в процессе почвообразования в естественных и антропогенных ландшафтах.

Были исследованы изменения микробного сообщества в хронорядах почвообразовательного процесса на разновозрастных отвалах железорудных карьерных разработок (ГОК Михайловский, Курская область) и в процессе закрепления перевиваемых песков на берегу р. Печора (Ненецкий автономный округ). Образцы с разновозрастных отвалов и с разных типов поверхности (от перевиваемого песка до фоновой почвы) отбирали из подповерхностного слоя и проводили выделение ДНК коммерческим набором MPBio FastDNA® SPIN Kit for Soil по протоколу производителя. Оценку численности рибосомальных генов и функциональных генов, связанных с процессами азотного цикла, проводили методом количественной ПЦР.

Во всех хронорядах было выявлено закономерное возрастание численности бактериальной и архейной 16S рРНК на 1-2 порядка с увеличением возраста почвы. В хронорядах закрепления перевиваемого песка наблюдалась аналогичная закономерность для количества функциональных генов, связанных с процессами азотного цикла (*nifH*, *amoA*, *nirK* и *nirS*). Однако в образцах средневозрастных отвалов было выявлено большее количество копий генов *amoA*, *nirK* и *nirS* по сравнению с фоновой почвой. В хронорядах закрепления перевиваемого песка наблюдалась четко выраженная сукцессия растительного сообщества (от разрастаний мхов и лишайников до типичной тундровой растительности) и связанное с ней увеличение количества органического вещества. В то время как растительность в хроноряду на отвальной породе различалась только по видовому составу, но не по обилию; почвенные профили на средневозрастных отвалах включали в себя гумусово-аккумулятивные горизонты. Наблюдаемые распределения численности рибосомальных и функциональных генов в хронорядах могут быть обусловлены изменениями характера растительности и накоплением органического вещества.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-16-01057).

## **ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ И ДЛИТЕЛЬНОЙ ЗАСУХИ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ В ВЕГЕТАЦИОННОМ ОПЫТЕ**

**Журавлева А.И.**

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,  
Пушино, Россия

*zhuravlevaai@rambler.ru*

Почва представляет собой крупнейший наземный резервуар углерода, содержание углерода в котором втрое превышает содержание углерода в атмосфере. Изменение потоков углекислого газа из почвы может привести к накоплению CO<sub>2</sub> в атмосфере. На фоне наблюдающегося глобального изменения климата увеличивается частота и продолжительность экстремальных природных явлений - засух, проливных дождей. Насколько изменится микробиологическая активность почв остается невыясненным.

Был проведен вегетационный эксперимент с подзолистой, серой лесной и черноземной почвой. Дизайн вегетационного опыта включал режим с экстремальной температурой и



влажностью почвы и контрольный режим с оптимальной температурой и влажностью в течение всего эксперимента. Содержание микробной ДНК в серой лесной почве оказалось практически индифферентным к циклам высушивания-увлажнения. В подзолистой почве наблюдалось 1.5-кратное уменьшение содержания ДНК к концу засухи, с последующим полным восстановлением в течение 3 суток после увлажнения и почти 2-кратным превышением в количестве ДНК через 8 суток по сравнению с почвой с оптимальными условиями увлажнения. Выявлено, что для подзола обнаружен максимальный ризосферный эффект в изученном ряду почв - почти 2-кратное увеличение содержания ДНК в почве в присутствии растений по сравнению с паром. Наиболее радикальные изменения в структуре почвенного микробного сообщества в результате засухи также происходили в подзолистой почве. Изменения происходили не только на уровне классов, но и филлумов. Периодическая и длительная засухи в целом снижали активность гидролитических ферментов –  $\beta$ -глюкозидазы, хитиназы, фосфатазы, целлюбиогидролазы и активность ксиланаз по сравнению с контролем. Для разных типов почв выявлено фермент-специфичная реакция микроорганизмов на засуху. В черноземной почве засуха вызывала увеличение активности хитиназы, продолжающееся и после увлажнения. В серой лесной почве экстремальная засуха приводила к снижению активности  $\beta$ -глюкозидазы и пост-эффект сохранялся даже после переувлажнения, аналогичный тренд был обнаружен и для подзолистой почвы.

Работа выполнена при поддержке фондов РФ (грант № 14-14-00625) и РФФИ (грант № 17-04-01933).

## **ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ И МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА СКОРОСТЬ БИОРЕМЕДИАЦИИ И СВОЙСТВА ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ**

**Зиннатшина Л.В.<sup>1,2</sup>, Васильева Г.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*l.zinnatshina@mail.ru*

Биоремедиация наиболее экологически безопасная и экономичная технология рекультивации почвы. В настоящее время активно ведется поиск средств и методов, позволяющих расширить возможности биоремедиации, повысить ее эффективность. Был проведен микрополевой эксперимент по ремедиации серой лесной почвы, загрязненной средней нефтью. Исходная концентрация углеводородов нефти в загрязненной почве составила 50 г/кг. Почву очищали методом активации аборигенных микроорганизмов на фоне внесения минеральных удобрений и натуральных сорбентов: минеральных в дозах 0,2 и 0,5% (цеолит, каолинит, вермикулит и диатомит), углеродистых (гранулированный активированный уголь и биочар) и органических (торф) (в дозах 0,5-2%). В основу эксперимента была положена методика биологической рекультивации *in situ* для поверхностно загрязненных почв, описанная в руководящем документе компании ОАО «Транснефть», утвержденного Минприроды. Исследования проводили в условиях микрополевого эксперимента на территории экспериментальной площадки Института. Почву инкубировали в течение 2-х лет. Показано, что значительное влияние на ускорение биоремедиации оказало внесение оптимальных доз минеральных удобрений. Уже через 2-3 недели обработки в присутствии повышенных доз удобрений наблюдалось более быстрое разложение нефтяных углеводородов, и эта разница сохранялась до конца 2-го сезона. Значительно улучшились водно-физических свойств загрязненной почвы. Предельная полевая влагоёмкость загрязненной почвы, куда вносили большую дозу минеральных удобрений выросла по сравнению с контролем на 31%. Внесение натуральных сорбентов в нефтезагрязненную почву послужило дополнительным фактором, ускоряющим биоремедиацию. Показано, что в присутствии ряда сорбентов заметно быстрее снижается токсичность загрязненной почвы. Особенно в присутствии гранулированного активированного угля, где фитотоксичность почвы оказалась ниже на 50%, чем в контрольной почве уже на 2 месяц с начала очистки. Также сорбенты оказали стимулирующие действие на рост и развитие растений. Ускорение разложения углеводородов нефти наблюдалось в период от 2 недель до 9 месяцев, особенно в вариантах с торфом, гранулированным активированным углем, диатомитом и каолинитом. Таким образом, внесение оптимальных доз минеральных удобрений и



натуральных сорбентов способствует ускорению биоремедиации нефтезагрязненной серой лесной почвы за счет снижения ее фитотоксичности и гидрофобности.

Работа выполнена при поддержке РФФИ проект №16-05-00617.

## **АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ К- И R-СТРАТЕГОВ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ ПРИ ЕЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ПРИРОДНЫМИ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩИМИ МАТЕРИАЛАМИ**

**Козлов А.В.**

ФГБОУ ВО Нижегородский государственный педагогический университет имени К. Минина, Нижний Новгород, Россия

*a\_v\_kozlov@mail.ru*

Одним из актуальных направлений современных исследований в области почвоведения, в том числе и в его прикладных аспектах, является изучение состояния почвенно-биотического комплекса (ПБК) в условиях его взаимодействия с альтернативными источниками элементов питания для сельскохозяйственных культур и почвоулучшителями при внесении таковых в пахотный горизонт в высоких (мелиоративных) дозах.

Главными ассоциациями «медленной» части бактериального цикла трансформации вещества в почве являются представители олиготрофной и автохтонной групп микроорганизмов – К- и R-стратеги. В превращении органического вещества почвы и растительных остатков их активное развитие наблюдается после типичных зимогенных гидролитиков (L-стратегия развития) и, по сути, оно представляет собой основной этап утилизации почвенных органических матриц на конечной стадии их превращения в компоненты гумуса и его производных.

Исследования проводили в микрополевом опыте на базе картофелеводческого предприятия ООО «Элитхоз» Борского района Нижегородской области в 2015-2016 гг. Микрополевой опыт включал контрольный вариант и 9 вариантов с внесением в пахотный слой разных доз диатомита Инзенского, цеолита Хотынецкого и бентонитовой глины Зырянского месторождений.

Почвенные образцы отбирали непосредственно после уборки культур и анализировали в течение первой недели после отбора. В них определяли численность олиготрофных и автохтонных микроорганизмов с помощью традиционного чашечного метода Коха с разделением почвы по Пастеру.

В первый год взаимодействия, вещества внесенных пород с почвой, оказался неоднозначным как по степени, так и по направленности изменений. В частности, численность олиготрофных бактерий в почве увеличивалась только к третьей дозе всех пород (до 19% на варианте с диатомитом, до 15% – с цеолитом и до 35% – с бентонитовой глиной) в первый год исследования, однако на второй год она снижалась и практически в равносильной мере первого года – до 20%, 10% и до 27% по аналогичным вариантам третьей дозы каждой из пород.

Количество автохтонных бактерий в почве имело закономерность уменьшения в оба года исследования, которое только усилилось ко второму году: примерно в одинаковой степени (на 27% и 25%) на вариантах с максимальной дозой диатомовой и цеолитовой пород, а также на 40% – на аналогичном варианте с бентонитом.

За два года исследований под действием кремнийсодержащих пород установлена стабилизация олиготрофной микробной ниши в почве и снижение активности микроорганизмов, участвующих в минерализации гумусовых компонентов почвы.

## **ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО И КОЭФФИЦИЕНТ ГУМУСООБРАЗОВАНИЯ ЛУГОВЫХ ВЫПАСНЫХ ПОЧВ ПОЙМЫ ДОНА**

**Косилова В.П.<sup>1</sup>, Каширская Т.П.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

Известно, что плодородие почвы зависит не только от наличия в ней питательных элементов, но и от почвенной структуры, за счет которой почва обеспечивается кислородом, удерживает ионы солей и воду. Структура почвы зависит от наличия гумуса, склеивающего



отдельные почвенные частицы в агрегаты и структурирующего почву на микроуровне благодаря формированию почвенных мицелл на основе гумусовых кислот. Образование и разложение гумусовых кислот происходит при участии почвенных окислительно-восстановительных ферментов – полифенолоксидаз и пероксидаз. В процессе гумусообразования продукты разложения лигнина – фенолы и хиноны – связываются с продуктами разложения белков. Однако, считается, что фенолы в большей степени участвуют в этом процессе, а хиноны – в меньшей степени. Оба фермента – и пероксидаза, и полифенолоксидаза, окисляют фенолы в хиноны. При этом только полифенолоксидаза катализирует обратную реакцию восстановления. По соотношению полифенолоксидазной и пероксидазной активности почвы принято рассчитывать ее условный коэффициент гумусообразования. Когда активность полифенолоксидазы в почве выше, чем активность пероксидазы, то есть условный коэффициент гумусообразования больше единицы, мы можем предположить, что процессы образования гумуса в почве идут быстрее, чем процессы его расходования. Целью нашей работы было определить содержание органического вещества и рассчитать условный коэффициент гумусообразования в верхнем слое (0-10 см) целинных лесных и луговых выпасных почв поймы Дона.

Количество органического вещества в почвах определялось методом прокаливания; оценка полифенолоксидазной и пероксидазной активности проводилась методом Михайловой – Карягиной по интенсивности окраски бензохинона, образованного из гидрохинона под воздействием окислительно-восстановительных ферментов почвы. Наиболее высокое содержание органики было зафиксировано в лесных почвах, а также в почве под осоками на границе луга и болота. В лесной почве под тополем и в почве на границе луга и болота содержание органического вещества было высоким за счет неразложившихся растительных остатков; коэффициент гумусообразования здесь был значительно выше единицы, что свидетельствует об интенсивном накоплении гумуса. В почве под дубом растительных остатков было немного, а коэффициент гумусообразования, равный единице, свидетельствовал о равновесии между процессами накопления и расходования гумуса. К подобному равновесию были близки и некоторые почвы на луговых участках. По результатам работы можно сделать следующее заключение: верхние слои целинных выпасных почв поймы Дона в зависимости от растительного покрова различались по содержанию органического вещества, при этом высокое его содержание сопровождалось высокими значениями условного коэффициента гумусообразования.

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОГЛОТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ПОЧВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЦИНКУ В ПОЧВАХ ЛЕСОСТЕПИ В УСЛОВИЯХ АТМОСФЕРНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

**Костин А.С., Кречетов П.П.**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*kostin-alexsandr@yandex.ru*

Цинк (Zn) относится к элементам первого класса опасности и способен оказывать токсическое воздействие на почвенную микробиоту вследствие его высокой подвижности и биофильности в верхнем корнеобитаемом слое.

С выбросами летучей золы при сжигании бурого угля на Щекинской ГРЭС (Тульская обл.) в окружающие почвы поступает значительное количество цинка, достигающее 500 мг/кг. Содержание подвижных соединений цинка в летучей золе, потенциально доступных растениям и почвенным микроорганизмам, составляет 5 мг/кг. Исследовались почвы на фоновом участке в 10 км от ГРЭС: черноземы оподзоленные и агрочерноземы, черноземы глееватые понижений и аллювиальные глееватые почвы поймы р. Упы.

Гумусовые горизонты почв отличаются положительными сорбционными свойствами - значительным содержанием фракции физической глины (25-45%), гумуса (до 5%) и емкостью катионного обмена (до 30 ммоль/100 г почвы).

При проведении лабораторного эксперимента к серии навесок по 1 г. из верхних горизонтов почв (0-20 см) приливалось по 20 мл. рабочих растворов  $ZnCl_2$  (в соотношении почва: раствор 1:20). Рабочие растворы были приготовлены на фоновом растворе 0,01М  $CaCl_2$  из расчета реально существующих уровней загрязнения почв Zn, мкг/л: 1) 0 (контроль); 2) 10 мкг/л (ПДК<sub>рх</sub> – норматив ПДК в воде водных объектов рыбохозяйственного назначения); 3) 50 мкг/л; 3) 100 мкг/л;



4) 500 мкг/л. Равновесные концентрации Zn были определены атомно-абсорбционным методом. По разности между содержанием Zn в рабочем и равновесном растворах находили количество Zn, поглощенного почвой (в мкг/кг).

Экологически важное значение играет количество поглощенного почвой Zn (мкг/кг) при уровне загрязнения эквивалентного нормативу ПДК<sub>рх</sub>, что учитывает возможное поглощение Zn живыми организмами из почвенно-грунтовых вод, а также поступление металлов в растения через корневую систему.

Во всех почвах поглощается более 98% внесенного Zn до уровня ПДК<sub>рх</sub>. Наиболее высокой сорбционной емкостью характеризуются черноземы оподзоленные (199,1 мкг/кг) и агрочерноземы (198,3 мкг/кг) с повышенным содержанием гумуса и тяжелым гранулометрическим составом, менее гумусированные черноземы глееватые (196,8 мкг/кг) и аллювиальные глееватые почвы (195,8 мкг/кг) более легкого механического состава отличаются меньшей сорбционной емкостью к Zn.

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОГЛОТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ПОЧВ ЛЕСОСТЕПИ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЦИНКУ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ТЕПЛОЭЛЕКТРОСТАНЦИЙ**

**Костин А.С., Кречетов П.П.**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*alexanderk640@gmail.com*

Цинк (Zn) относится к элементам первого класса опасности и способен оказывать токсическое воздействие на почвенную биоту в верхнем корнеобитаемом слое вследствие его высокой подвижности и биофильности. С выбросами летучей золы при сжигании бурого угля на Щекинской ГРЭС (Тульская обл.) в почвы поступает значительное количество цинка, достигающее 500 мг/кг.

Экологически важное значение имеет количество поглощенного почвой Zn (мкг/кг) при котором в растворе будет поддерживаться концентрация в равновесном растворе ниже норматива ПДК<sub>рх</sub> (норматив ПДК в воде водных объектов рыбохозяйственного назначения). Это позволит учитывать возможное отрицательное воздействие при поглощении Zn живыми организмами из почвенных растворов.

Экспериментальное определение поглотительной способности почв проводили путем построения изотерм сорбции при соотношении почва раствор как 1:20. Различные концентрации ZnCl<sub>2</sub> готовились на фоновом растворе 0,01М CaCl<sub>2</sub>: 1) 0 (контроль); 2) 10 мкг/л (ПДК<sub>рх</sub>); 3) 50 мкг/л; 3) 100 мкг/л; 4) 500 мкг/л; 5) 1000 мкг/л (ПДК<sub>кб</sub>), соответствующая нормативу ПДК в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения. Равновесные концентрации Zn были определены атомно-абсорбционным методом. По разности между содержанием Zn в исходном и равновесном растворах рассчитывали количество Zn, поглощенного почвой (в мкг/кг).

Исследовались почвы фонового участка в 10 км от ГРЭС: чернозем оподзоленный, агрочернозем, чернозем глееватый в понижении и аллювиальная глееватая почва поймы р. Упы.

Гумусовые горизонты почв отличаются высокими сорбционными свойствами - значительным содержанием физической глины (25-45%), гумуса (до 5%) и емкостью катионного обмена (до 30 ммоль(+)/100 г почвы).

Результаты эксперимента показали, что все исследованные почвы характеризуются высокими значениями поглотительной способности по отношению к цинку (более 98% внесенного в почву Zn), обеспечивающей величину ПДК<sub>рх</sub>. По величине экологической емкости поглощения почвы располагаются в следующий ряд: чернозем оподзоленный (199,1 мкг/кг), агрочернозем (198,3 мкг/кг), чернозем глееватый (196,8 мкг/кг) и аллювиальная глееватая почва (195,8 мкг/кг). Статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между величинами экологической емкости почв.





## **ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ И МЕТОДЫ ЕЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ШКОЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИИ**

**Кравченко В.В.<sup>1</sup>, Каширская Т.П.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

Почвенные ферменты участвуют в разложении растительных, животных и микробных остатков, а также в синтезе гумуса. В результате ферментативных процессов питательные вещества из трудноусвояемых соединений переходят в легкодоступные формы для растений и микроорганизмов. Определение ферментативной активности почв является важной задачей при оценке их плодородия. В почвенной энзимологии ферментативную активность принято измерять по количеству продукта ферментативной реакции, который образуется на протяжении установленного временного интервала из субстрата, добавленного в почвенную суспензию. Наиболее простые методы определения ферментативной активности почв основаны на измерении концентрации продукта ферментативной реакции по интенсивности окраски его раствора, полученного непосредственно после фильтрования почвенной суспензии. В этой связи представляет интерес оценка фосфатазной активности методом Галстяна – Арутюнян и оценка полифенолоксидазной и пероксидазной активности методом Михайловой – Карягиной. Суть метода Галстяна – Арутюнян состоит в том, что почвенные фосфатазы отщепляют фосфат от бесцветного низкомолекулярного вещества – фенолфталеинфосфата натрия с образованием фенолфталеина, имеющего малиновую окраску в щелочной среде. При использовании метода Михайловой – Карягиной, в качестве субстрата для почвенных окислительно-восстановительных ферментов берется гидрохинон. При ферментативном окислении он превращается в бензохинон, имеющий в растворе желто-коричневую окраску. Оба метода достаточно безопасны и просты, чтобы найти свое применение в школьной лаборатории. В связи с этим, мы поставили целью разработать модификации данных методов, позволяющие проводить полуколичественный анализ ферментативной активности почв. Основное различие классических методов и разработанных нами модификаций заключается в том, что в качестве прибора, отчасти способного заменить фотокolorиметр, используется человеческий глаз. Именно он сравнивает интенсивность окраски анализируемых растворов с интенсивностью окраски шкалы – ряда растворов с известными концентрациями продукта ферментативной реакции, расположенными в порядке возрастания. Необходимо отметить, что шкала, используемая в данной модификации, значительно более подробно по сравнению с классическими вариантами рассматриваемых методов. Полученные результаты полуколичественного анализа достаточно убедительно выявляют динамику ферментативной активности как в ряду естественных целинных почв, так и в ряду сельскохозяйственных огородных почв с различными нормами внесения удобрений.

## **ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛАЗ В СОВРЕМЕННЫХ И ПОГРЕБЕННЫХ ПОЧВАХ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ**

**Кузнецова И.Н.**

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

*kuz.irene@gmail.com*

В связи с явлением глобального потепления климата, повышение температуры окружающей среды может привести к усилению ферментативной активности и минерализации устойчивого почвенного органического вещества.

Ферменты поступают в почву из микроорганизмов, растений и почвенной фауны в виде прижизненных выделений и после отмирания организмов при разрушении тканей и лизисе клеток. Часть этих ферментов подвергается протеолизу, а другая часть связывается с почвенными минералами, образуя иммобилизованный ферментный пул в почве. Общий ферментный пул состоит из сложного комплекса источников по локализации и состоянию ферментов. Комплекс этих ферментов, осуществляет разложение поступающего в почву растительного опада (состоящего преимущественно из целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнина) и контролирует разные стадии деградации гетерогенного пула органических соединений в почве. Целлобиогидролаза



участвует в отщеплении целлобиозы от полимерных молекул целлюлозы.  $\beta$  – глюкозидаза продолжает процесс разложения целлюлозы, осуществляя отделение мономерных единиц глюкозы от олигомерных и полимерных цепочек. Ксиланаза, гидролизует линейные полисахариды (гемицеллюлозы) с образованием ксилана, тогда как хитиназа, участвует в отщеплении хитоолигосахаридов и является индикатором активности мицелиальных грибов в почве.

В инкубационных экспериментах, исследовали ферментативную активность при разных физиологических состояниях почвенных микроорганизмов в ходе инкубации активированной глюкозой почвы при 10 и 20°C. Наибольшая активность гидролаз ожидаемо приурочена к горизонту А. Увеличение активности при повышении температуры в горизонте А характерно для хитиназ, глюкозидаз, целлобогидролаз и слабо проявляется для ксиланаз. Увеличение активности ферментов при повышении температуры слабо проявляется для нижних горизонтов. Наиболее влиятельна температура для хитиназ, а погребение для целлобогидролаз.

## **ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ АНТРОПОГЕННО-ИЗМЕНЕННЫХ ПОЧВ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Лазарева М.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Центральный музей почвоведения имени В.В. Докучаева, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Почвенный институт имени В.В. Докучаева, Москва, Россия

*margoflams@mail.ru*

На базе цифровой почвенной карты (ЦПК) ЛО, масштаба 1:200 000, которая создается в ЦМП им. В.В. Докучаева в соответствии с госзаданием № 0671-2014-0002, проведена инвентаризация и определен систематический список почв, почвенных комбинаций Ленинградской области. Список составлен в соответствии с классификацией и диагностикой почв России 2004 года (КиДПР). Соответственно масштабу карты, почвы выделены на уровне типов и подтипов.

Почвы территории ЛО можно разделить на 3 группы: естественные, антропогенно-измененные и антропогенные.

Естественные почвы - почвы, профиль которых не затронут антропогенным влиянием (подзолы, подбуры, дерново-подзолистые и др.).

Антропогенно-измененные почвы - почвы, горизонты которых изменены человеком. В них могут содержаться: признаки урбопедогенеза (артефакты), распашки, проведения осушительной мелиорации, механического нарушения естественного залегания почвенных горизонтов, искусственного поступления материала (турбированные, торфоземы, агрогенные и др.).

Антропогенные почвы - это почвы, профиль которых сконструирован человеком (стратоземы, интродуцированные).

На ЦПК ЛО выделены:

- 31 тип, 54 подтипа естественных почв;
- 100 почвенных комбинаций с естественными почвами, относящиеся к 30 типам почвенных комбинаций;
- 35 типов, 69 подтипов антропогенно-измененных почв;
- 206 почвенных комбинаций с антропогенно-измененными почвами, относящиеся к 93 типам почвенных комбинаций;
- 5 почвенных комбинаций с антропогенными почвами, относящиеся к 5 типам почвенных комбинаций.

На территории ЛО выделены комбинации на уровне типов и подтипов, стволов и отделов почв. Типы почвенных комбинаций выделены по преобладающей почве в комбинации.

Выявлено существенное преобладание антропогенно-измененных почв над естественными. Доля антропогенно-измененных почв составляет >50 % почвенного покрова ЛО. Среди антропогенно-измененных преобладающими являются почвы и почвенные комбинации агрогенных почв (>50% от общего числа антропогенно-измененных почв). Широко распространены турбированные и подвергнутые осушительной мелиорации почвы (1/3 от общего числа антропогенно-измененных почв), комбинации антропогенных и естественных почв с НПО (50% от общего числа почвенных комбинаций). В местах обнажения породы вследствие техногенного воздействия (добычи полезных ископаемых, заложения трубопроводов,



строительства водохранилищ, зданий, сооружений) встречаются непочвенные образования. Распространены комбинации интродуцированных почв с непочвенными образованиями.

## **ПОЧВЕННЫЕ ТЕРМОФИЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И УСЛОВИЯ ИХ ОБИТАНИЯ**

**Малыхин И.А.<sup>1</sup>, Каширская Т.П.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

*nkashirskaya81@gmail.com*

Термофильные микроорганизмы, способные развиваться при 60<sup>0</sup>С, встречаются в почвах различных природных зон. Следовало бы ожидать, что на юге их численность окажется значительно выше, чем в холодных северных районах. Однако к настоящему времени известно, что обеспеченность почвы термофилами практически не зависит от географических условий. В одной и той же местности отдельные почвы могут содержать совершенно различное количество термофильных микроорганизмов. Их численность зависит от степени окультуренности почвы, которая тесно связана с применением навоза. Очевидно, что термофильные микроорганизмы вносятся в почву с навозом и компостами. Созревание навоза происходит при повышенной температуре, поэтому термофилы играют важную роль в этом процессе. При повышенной температуре, когда мезофильные микроорганизмы не в состоянии активно развиваться, большинство биохимических процессов осуществляется за счет теплолюбивой микрофлоры. Целинные почвы, в отличие от окультуренных, во всех природных зонах чрезвычайно бедны термофилами.

Установлено, что термофильные микроорганизмы сохраняются в почвах древних сельскохозяйственных полей, а также в глубоких слоях заброшенных террас, используемых для земледелия на горных склонах. Высокая численность термофильных микроорганизмов на определенной глубине в толще террасы указывает на то, что в свое время, когда этот почвенный слой находился в открытом состоянии, сюда вносили органические удобрения. Таким образом, исследуя термофильные микроорганизмы в террасных слоях на различной глубине, можно установить чередование временных интервалов, соответствующих сельскохозяйственной обработке террасы, и периодов запустения, когда терраса не обрабатывалась и покрывалась делювиальными наносами с верхней части склона. Например, для сельскохозяйственной террасы в окрестностях с. Гуниб (Республика Дагестан) установлено увеличение численности термофилов в слое на глубине 140-180 см, представляющем пахотную почву XI – XIII в.в. н.э. Для этого же слоя было показано снижение численности сапротрофных микроорганизмов – индикаторов бытового загрязнения почвы. Уменьшение численности сапротрофных микроорганизмов и одновременное увеличение численности термофилов, по-видимому, указывает на отсутствие бытового мусора в почве сельскохозяйственной террасы и на внесение навоза в качестве удобрения.

## **УРОВНИ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ В ПОЧВЕ ПРИ СИСТЕМАТИЧЕСКОМ ВНЕСЕНИИ УДОБРЕНИЙ**

**Медведева О.О.<sup>1</sup>, Паутова Н.Б.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МБОУ "Гимназия Пушкино", Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

*nakhodkanbz@mail.ru*

Систематическое применение минеральных и органических удобрений – прием оптимизации питательного режима почвы. В удобренной почве увеличивается содержание общего азота, подвижного фосфора и калия, что положительно сказывается на продуктивности возделываемых культур. Однако, при внесении высоких доз удобрений возможны изменения физико-химических свойств почвы, которые негативно сказываются на жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, что приводит к снижению стабильности почвенной экосистемы. Почвенные микроорганизмы осуществляют минерализацию с выделением в атмосферу CO<sub>2</sub>, азотфиксацию, нитрификацию, денитрификацию, образование и окисление метана, формируют



ферментный пул. Дыхание микроорганизмов – основной показатель биологической активности почвы. В микрополевом опыте изучали влияние органических и минеральных удобрений на размеры микробного пула серой лесной почвы и ее агрохимические свойства. Вносили ежегодно возрастающие дозы минеральных (от 90 до 360 кг/га NPK) и органических (навоз КРС от 25 до 100 т/га) удобрений в течение семи лет. Контролем была почва без удобрений. Содержание валового органического углерода ( $C_{org}$ ) и общего азота в образцах почв определяли с помощью CNHS-анализатора (Лесо 932). Содержание микробной биомассы почвы определяли методом субстрат-индуцированного дыхания (СИД). Внесение удобрений увеличивало содержание Сорг в почве: в вариантах с минеральными удобрениями в возрастающих дозах – в 1.1 раза, с органическими удобрениями – в 1.3-2 раза по отношению к контролю. Внесение минеральных удобрений, в зависимости от дозы, или не влияло или снижало в 1.1-1.3 раза по отношению к контролю содержание микробной биомассы, в то время как внесение навоза КРС увеличивало в 1.3-2 раза, в том числе за счет прямого поступления микроорганизмов в почву с органическим удобрением. Доля микробной биомассы от Сорг уменьшалась на минеральном фоне и увеличивалась на органическом до 3.1% по отношению к контролю. Скорость базального дыхания мало зависела от дозы минеральных удобрений, но заметно возрастала после внесения органического субстрата. При применении органических удобрений были получены самые низкие показатели дыхательного коэффициента ( $qCO_2$ ), что может свидетельствовать о более эффективном использовании субстрата микроорганизмами. Из полученных результатов следует, что в почве при минеральной системе удобрений складываются менее благоприятные условия для развития и функционирования микробного сообщества, чем при органической системе.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №17-04-00707).

## **ОСОБЕННОСТИ ПОЧВ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЕЛЕНИЙ СТЕПНОЙ ЗОНЫ НИЖНЕГО ЗАВОЛЖЬЯ**

**Овчинников А.Ю.**

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино,  
Россия

*ovchinnikov\_a@inbox.ru*

Проведены почвенные исследования на поселениях неолитического времени (5-7 тыс. лет до н.э.): «Алгай» и «Орошаемое-1» расположенных в Александрово-Гайском районе Саратовской области. Поверхность, на которой располагались археологические памятники и прилегающая к ним территория - ровная, практически плоская, без древесной растительности. Ландшафтная зона представляет собой опустыненную степь, которая в XX веке подвергалась интенсивной распашке, о чем свидетельствует вскрытый в разрезах четко выраженный старопахотный горизонт.

Почвы, исследовались в разрезах, заложенных в бровках археологических раскопов и для сравнения параметров в фоновых разрезах. На двух памятниках проведен морфологический анализ почв разрезов, проанализированы физические, химические и палеоботанические свойства почв.

Исследования показали, что стратиграфия горизонтов двух памятников идентична, но на памятнике «Орошаемое-1» горизонты, более растянутые по профилю. Это объясняется тем, что поселение «Орошаемое-1» в отличие от поселения «Алгай» располагается в краевой (береговой) зоне водораздельной поверхности, и здесь существует латеральный сток минеральной массы с более высоких водораздельных поверхностей к урзу реки Бол. Узень.

Анализ морфологических и химических свойств почв, также подтвердил наблюдения археологов о существовании культурных слоев (погребенных голоценовых почв и/или разновременных культурных слоев) и переслаивающих их «стерильных» горизонтов (определены по отсутствию артефактов). По некоторым показателям, а в частности содержание гумуса и его преобладание именно в культурных слоях, а также реконструированные растительные группировки по результатам микробиоморфного анализа, могут говорить о том, что действительно на данной территории преобладали благоприятные климатические условия в разные временные интервалы. Вероятнее всего, в эпохи накопления культурных слоёв существовали гумидные условия, с разнообразной растительностью, что способствовало заселению человеком и занятию скотоводством на исследуемой территории. Однако, данные палеоботанических исследований не



выявили остатки жизнедеятельности домашних животных. В свою очередь, «стерильные» горизонты не содержат артефактов и содержат малое количество гумуса. Предположительно, «стерильные» горизонты могли формироваться в более континентальных аридных условиях, при произрастании скудной растительности и инициальном почвообразовании. Вероятнее всего, происходило эоловое осадконакопление (в данном месте высокий берег реки и по морфологии гидроморфность в голоцене исключается). Результаты микробиоморфного анализа также не подтвердили затопляемость территории.

Согласно полученным датам  $^{14}\text{C}$  по культурным слоям и морфологии «стерильных» горизонтов (малая мощность), можно предположить, что процессы осадконакопления были непродолжительными, а к концу голоцена в «малую ледниковую эпоху» видимо существовали криоаридные условия (выявлены языки-клинья в подгумусовых горизонтах). Палеоботанические данные, также показали аридизацию климата в разные археологические эпохи. Сильно был преобразован растительный покров вокруг поселений человека за счет разведения скота и активной хозяйственной деятельности. Нужно отметить, что культурные слои поселения «чистые» в отношении земледелия. Домашние животные не содержались в загонах, по крайней мере на памятнике «Орошаемое-1». Территория самих поселений (сооружений) была «закрытой» или «изолированной», предположительно навес и/или хозяйственная постройка. В образцах присутствуют формы, характерные для тростника, и его малое содержание в образцах не предполагает многократного сооружения настила (циновки или устланный пол) в прошлые эпохи. В одном из проанализированных образцов, взятом из горизонта [A1<sub>7</sub>]са на глубине 150-160 см поселения «Орошаемое-1» обнаружены угли и детрит. Вероятно, это мог быть зольник, часть очага или кострище. Палеоботанический анализ показал, что антропогенная нагрузка на территорию (по сравнению с современностью) была минимальна или соотносима с современной. Скотоводство было «периодическим», вероятнее всего люди кочевали. Многие параметры почв завуалированы, затушеваны в результате хозяйственной деятельности человека в XX веке особенно на археологическом памятнике «Алгай» (распашка территории, дополнительное орошение, сооружение искусственных водохранилищ).

Работа частично выполнена при поддержке РФФИ, проект № 17-04-00078-а.

## ЦЕЛЛЮЛАЗНАЯ И КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ И КУЛЬТУРНЫХ СЛОЕВ АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА КРЕМЕНЬЕ

**Петросян А.А.<sup>1</sup>, Плеханова Л.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

*alisa\_mayakovskaya@bk.ru*

Объектом для экспериментов по изучению целлюлазной и кератинолитической активности почв послужили почвы могильника Кременье, включающие в числе прочих курган XII века (русское население, вятичи) и захоронения кремированных останков (кремации) также XII века в виде ореола кремации погребение №5,8,9 И 10. И непосредственно кремации раскоп 1 погребение 5,8, 9 и 10. Археологические памятники расположены в Московской области в зоне серых лесных супесчаных почв. Определялись рН почв, влажность, полная полевая влагоемкость и фосфор по методу Сэндерса и Вильямса.

Целлюлазная активность – это способность к синтезу и продуцированию целлюлаз бактериями рода *Bacillus* при культивировании на целлюлозе в глубинных условиях. Ферментативный гидролиз целлюлозы бациллами осуществляется под действием целлюлазного комплекса, состоящего из разного типа.

В целях определения целлюлазной активности на примере среднего образца ореола кремации впервые для подобного объекта был заложен 60-суточный эксперимент по разложению льняной ткани и чистой целлюлозы (термостат 30°C, в пяти повторностях) с последовательным снятием результатов через 10, 30, 40, 60 суток экспозиции.

Кератин – чрезвычайно прочные серосодержащие биополимеры белковой природы, входящие в состав волос, шерсти, кожи животных и человека. Кератинолитические ферменты образуются многими бактериями, включая актиномицеты, и грибами. Среди последних значительная роль принадлежит дерматомицетам, которые в сапротрофном состоянии обладают



способностью переваривать кератин и использовать его как субстрат, а некоторые могут проникать в ткани и провоцировать дерматомикозы у людей и животных.

В целях определения наличия кератинолитических микроорганизмов использованы чашечные посеы на среды с прямым подсчетом колониеобразующих единиц. В условиях ламинар-боксов произведены посеы на среды с шерстяными дисками в трех повторностях со сроком экспозиции 14 суток и последовательным двукратным подсчетом кератинолитических микроорганизмов (на срок 7 суток и на 14 суток, для идентификации периода прекращения роста объектов на чашках). Кремированные средневековые захоронения впервые используются как объект с целью идентификации наличия шерстяных субстратов.

Используя данные разрабатываемые подходы возможно судить о наличии шерстяных фрагментов одежды в образцах с повышенной численностью кератинолитических грибов. В докладе будут подробно изложены результаты первых экспериментов для почвогрунтов ореолов кремаций и кремаций XII в. (русское население) в средней полосе РФ.

## **АКТИВНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО В ИНТРАЗОНАЛЬНЫХ ПОЧВАХ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ**

**Плотникова О.О.<sup>1</sup>, Мирошниченко Е.Д.<sup>1</sup>, Паутова Н.Б.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МБОУ "Гимназия Пушкино", Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

*nakhodkanbz@mail.ru*

Активный пул почвенного органического вещества включает в себя доступные микроорганизмам фрагменты остатков растений, животных и микробной биомассы, свободные и связанные в гуминовые вещества, индивидуальные соединения. Определение биологически активного органического вещества в интразональных почвах, занимающих большие площади в степной и сухостепной зонах Европейской части России, до сих пор практически не проводилось.

Объектом исследований были ряд интразональных почв степной и сухостепной почвенно-биолиматических зон: луговая слитизированная, луговой солонец солончаковый мелкий, лугово-каштановая, солонец степной мелкий, каштановая солонцеватая, лугово-болотная глееватая, пойменная луговая на повышении, натриево-кальциевый солончак. Содержание валового органического углерода ( $C_{орг}$ ) и общего азота в образцах почв определяли с помощью CNHS-анализатора (Leco 932). Активное органическое вещество ( $C_0$ ) измеряли биокинетическим методом. Содержание микробной биомассы почвы определяли методом субстрат-индуцированного дыхания (СИД).

В исследуемом ряду интразональных почв наибольшим содержанием  $C_{орг}$  характеризовались слои, залегающие непосредственно под дерниной, наибольшим содержанием  $C_{орг}$  отличалась луговая слитизированная почва и пойменная луговая почва под дубняком, а наименьшим – солонцы и солончаки. В засоленных почвах содержалось от 0.69 до 1.76%  $C_{орг}$  от массы, а самое низкое его содержание было свойственно такыровидному солончаку. Наибольшим содержанием углерода активного органического вещества в исследуемых почвах (от 76 до 212 мг С/100 г) характеризуется верхний, залегающий под дерниной, слой гумусового горизонта глубиной от 0-2 до 0-8 см. В смежных слоях на глубине до 15-30 см от дневной поверхности содержится в 1.4-4.9 раза меньше (от 23 до 119 мг С/100 г) активного пула. В слоях почвы от 0-2(8) до 15(30) см содержание активного органического вещества уменьшалось в следующей последовательности почв: пойменная луговая на повышении > луговая слитизированная > луговой солонец солончаковый > солонец степной мелкий > каштановая солонцеватая > лугово-каштановая = лугово-болотная глееватая = натриево-кальциевый солончак. Значительная часть активного органического вещества была представлена микробной биомассой. Из полученных результатов следует, что образование и накопление органического вещества в интразональных почвах зависит не только от биолиматического потенциала, но и от литологической, гидрологической и флористической специфичности местоположений.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №17-04-00707).



## СТРАТИГРАФИЧЕСКИЕ И ПЛАНИГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КАРТИРОВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КУЛЬТУРНОГО СЛОЯ ДРЕВНИХ ПОСЕЛЕНИЙ

Потапова А.В.

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино,  
Россия

[anastassia4272@gmail.com](mailto:anastassia4272@gmail.com)

Как известно, культурный слой археологических памятников является результатом поступления в почву материалов антропогенной природы и изменения условий почвообразования. В первую очередь это относится к поселенческим памятникам эпохи бронзы и раннего железного века, а также средневековым селищам. Как правило, присутствие человека вызывает и усиливает эрозию почв в окрестностях памятника, а на самом памятнике, учитывая, что большинство поселений располагалось не на водоразделах, а в подчиненных элементах рельефа, происходит накопление почвенно-грунтового материала и рост слоя природно-антропогенных напластований. Поэтому, мощность культурного слоя может достигать нескольких метров.

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.

Объектом для комплексных археологических и почвенно-микробиологических реконструкций послужило поселение среднедонской катакомбной культуры эпохи средней бронзы Ксизово-1, расположенное вблизи южных окраин с. Ксизово Задонского района Липецкой области. Поселение может быть датировано третьей четвертью III тыс. до н. э. В процессе раскопок отбирались образцы культурного слоя из каждого квадратного метра на разной глубине. В настоящее время отобрано более 1000 образцов с разных уровней залегания культурного слоя на площади более 270 м<sup>2</sup>.

Культурный слой, сложенный серо-бурым суглинком, выявлен под толщей природных отложений на глубине 1,95-2,2 м от современной поверхности. Массовый археологический материал в виде развалов сосудов, скопления фрагментов лепной посуды и костей животных тяготеет к нижней части культурного слоя.

В результате анализов образцов из каждого квадратного метра слоя были построены площадные диаграммы распределения органического и минерального фосфора.

Исходя из полученных данных, можно сказать, что горизонт 1, соответствующий первым находками археологического материала, сформирован эрозионными процессами и наносами уже после прекращения функционирования памятника. В горизонте 2, несмотря на то что здесь обнаружен развал сосуда, свойства почвы говорят о довольно слабом антропогенном воздействии. Предположительно, это последний этап функционирования поселения, когда антропогенная нагрузка была незначительной или эпизодической. Наиболее информативным для почвенно-археологических реконструкций является горизонт 3. В этом слое содержание валового и минерального фосфора, а также магнитной восприимчивости значительно больше, чем в выше- и нижележащем слое. Высокие значения содержания валового фосфора и, в первую очередь, минеральных форм фосфора объясняются поступлением фосфатов в почву в виде золы, что подтверждается наличием в этом слое ряда прокалов от очагов. В горизонте 4, несмотря на то что этот слой не испытывал антропогенного влияния также присутствует археологический материал и фиксируются изменения химических свойств. Таким образом, несмотря на то, что период функционирования поселения был непродолжительным, и совпал по времени с периодом образования слоя 3, след антропогенного периода эволюции почв отразился в подстилающих слоях почвы и в вышележащих отложениях.



## ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И МЕТОДЫ ИХ ИЗУЧЕНИЯ В ШКОЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИИ

**Сопина А.В.<sup>1</sup>, Каширская Т.П.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

Живые организмы создают почву, которая является для них необходимым условием существования. Во всем мире не найдется почв, лишенных бактерий. Они были обнаружены в почве даже на глубине около 5 м, а их наиболее многочисленные скопления находятся в ее верхнем слое – 0 – 20 см. Актиномицеты также встречаются во всех почвенных типах, и их количество особенно велико в тех почвах, где происходит активное разложение органики, сопровождающееся гумусообразованием. Микроорганизмы почвы адсорбируются на почвенных частицах, их передвижение в почве затруднено, поэтому они находятся в микроскопических зонах с очень изменчивыми условиями и неравномерным питательным режимом. Именно здесь различные группы микроорганизмов растут и размножаются с различной скоростью, в зависимости от условий внутри каждой микрозоны. Определенные условия являются оптимальными для определенных групп микроорганизмов. Остальные группы сохраняются в почве в неактивном состоянии, ожидая своего часа. Таким образом, почва не столько является средой обитания, сколько средой сохранения микробов. Известно, что они могут находиться много лет в сухом или замёрзшем состоянии, сохраняются, но не размножаются. В почве всегда имеется избыточный запас микробов, не обеспеченных органическим веществом и другими элементами питания. На протяжении большей части времени почва представляет собой среду, слабо обеспеченную питательными элементами в расчете на присутствующее в ней количество микроорганизмов. Поэтому большинство почвенных микробов вынуждено усваивать питательные вещества из рассеянного состояния. Эта многочисленная трофическая группа – почвенные олиготрофы – включает в свой состав и бактерии, и актиномицеты, и грибы. В почвенной микробиологии для выращивания олиготрофных микроорганизмов используется твердая питательная среда – 20% почвенный агар. Стерилизация этой среды происходит в два этапа: на первом этапе уничтожаются вегетативные клетки присутствующих в почве микроорганизмов, на втором этапе – проросшие споры, сохранившие жизнеспособность после первого автоклавирования. Знакомство с методом посева на твердые питательные среды в условиях школьной лаборатории представляет собой вполне осуществимую задачу при наличии готовой питательной среды, которую нужно только расплавить перед разливом в стерильные чашки Петри. Для стерилизации посуды, необходимой для посева, можно использовать обычный сухожаровый шкаф, а сам посев проводить в присутствии горячей спиртовки. Следует отметить, что почвенный агар не относится к средам, на которых охотно растут микроорганизмы, присутствующие в воздухе, поэтому воздушное заражение данной среды при нанесении почвенной суспензии практически исключено. Таким образом, определение численности микроорганизмов, образующих колонии на почвенном агаре, может дополнить ряд несложных и безопасных методов оценки биологической активности почв, доступных школьной лаборатории.

## РАЗНООБРАЗИЕ ЖИЗНЕННЫХ ФОРМ ВИДОВ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ЗАРАСТАЮЩИХ ПОЛЯХ ЮЖНОГО ПОДМОСКОВЬЯ

**Сычева Т.А.<sup>1</sup>, Шовкун М.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>2</sup>Администрация Серпуховского муниципального района

*tanya.sycheva.heyhey@gmail.com*

В настоящее время во всем мире происходит прекращение использования сельскохозяйственных земель, превращение их в залежи. Только в России за XX век из сельскохозяйственного оборота было выведено около 70 млн. Га угодий, их них около 2/3 – в ходе кризиса второй половины 1980 – 90-х гг. (Люри и др., 2010). В связи с этим изучение процесса зарастания залежей (восстановительных сукцессий), динамики биоразнообразия в ходе сукцессионного развития является важной и актуальной задачей.





Целью нашей работы являлось определение доминирующих жизненных форм видов растений на зарастающих полях южного Подмосквья. Для этого решались следующие задачи: была дополнена и модифицирована база данных по жизненным формам (ЖФ) и биоморфологическим признакам сосудистых растений флоры среднего течения р. Оки (Алексеев и др., 1992); по геоботаническим описаниям, выполненным в 2016 году на зарастающих полях Заокского участка Серпуховского района Московской обл., проведен анализ частоты встречаемости растений разных ЖФ, сопряженный с ординационным анализом.

Разработанная в MS Access база данных содержит информацию по 960 видам сосудистых растений по ЖФ Серебрякова (1962), Раункиера (Raunkiaer, 1934), Голубева (1984) и Алексеева с соавт. (1992) (всего 19 характеристик). В 138 проанализированных описаниях среди ЖФ видов, выделенных по параметру положения почек возобновления (система Раункиера), доминантом являлись гемикриптофиты (4090 встреч) – многолетние травянистые растения средних широт. Далее по частоте встречаемости отмечены геофиты, фанерофиты, терофиты, травянистые хамефиты и нанофанерофиты (628, 586, 511, 427 и 204 встреч, соответственно). Деревянистые хамефиты и гелофиты встречались единично. Среди ЖФ видов, выделенных по системе Серебрякова, наиболее часто встречались стержнекорневые поликарпические травы (1125 встреч), которые наиболее характерны для растительности залежей на бурьянистой стадии. Далее в порядке убывания встречались многолетние и двулетние монокарпические, длиннокорневищные, корнеотпрысковые и кистекорневые поликарпические травы (955, 898, 593 и 590 встреч, соответственно). Среди видов с видоизмененным подземным побегом наиболее часто встречались виды с каудексом (1760 встреч).

Из сопоставления результатов, полученных по геоботаническим описаниям, с числом видов разных ЖФ, указанных в базе данных для региональной флоры, можно сделать два основных вывода: 1) результаты, полученные по ЖФ Серебрякова, лучше интерпретируются для задач оценки разнообразия растений зарастающих залежей; 2) зарастающие залежи отличаются от региональной флоры по структуре ЖФ видов.

## **БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ УДОБРЯЕМЫХ ОГОРОДНЫХ ПОЧВ СЕЛА РУССКАЯ БУЙЛОВКА**

**Удальцова Е.А.<sup>1</sup>, Каширская Т.П.<sup>1</sup>, Каширская Н.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>МКОУ Русско-Буйловская СОШ, с. Русская Буйловка, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

Охрана сельскохозяйственных почв представляет собой очень важную задачу. Для предотвращения негативных последствий антропогенного воздействия на почвы нужно исследовать их биологическую активность. Особенно это необходимо для легких песчаных почв, где часто используются чрезмерно высокие количества минеральных удобрений. Если черноземные суглинистые почвы при неконтролируемом внесении удобрений быстро засоляются и теряют плодородие, то песчаные почвы в условиях обильного полива дают постоянные урожаи и, по-видимому, не страдают от избытка минеральных удобрений. Однако мы полагаем, что чрезмерное внесение удобрений не только снижает качество картофеля, но и наносит существенный вред плодородию огородных песчаных почв, используемых для его выращивания. Целью нашей работы было определить биологическую активность удобряемых огородных почв села Русская Буйловка по содержанию в них органического вещества и по активности фермента фосфатазы, определенной методом Галстяна – Арутюнян после часовой и суточной инкубации почвенных образцов в присутствии фенолфталеинфосфата натрия. Образцы почв отбирали из пахотного слоя после осенней вспашки. Для контроля исследовалась почва огородчика – без внесения минеральных удобрений, а также торфянистая почва из цветочной площадки, наиболее богатая органическим веществом.

По сравнению с почвой из цветочной площадки содержание органического вещества в песчаных огородных почвах было значительно меньше. В почве, систематически получавшей избыточное количество удобрений, органического вещества было так же мало, как и в почве огородчика, которая практически не удобрялась. Однако, фосфатазная активность в наиболее удобряемой почве после инкубации в течение 1 часа проявлялась наиболее ярко, что свидетельствует о быстрой работе фермента. После суточной инкубации выяснилось, что фосфатазная активность в проблемной почве значительно меньше, чем в остальных огородных



почвах. По-видимому, это свидетельствует о сравнительно малом количестве фосфатазы в данной почве, что может быть связано с низкой активностью микроорганизмов, которые отвечают за выработку этого фермента. Таким образом, по результатам работы можно сделать следующее заключение: хотя внесение удобрений и позволяет получать высокие урожаи на песчаных почвах, не вызывая их засоления, однако избыток минеральных удобрений обедняет почву, уменьшая ее естественное плодородие.

## **ДИНАМИКА РАЗЛОЖЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ, КОМПСТИРУЕМЫХ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ**

**Хромычкина Д.П., Паутова Н.Б.**

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,  
Пушино, Россия

*khromyckina@gmail.com*

Скорость разложения растительных остатков напрямую зависит от исходной прочности биомолекул, слагающих растительные ткани, и совокупности условий, контролирующих ферментодуцирующую активность почвенного микробиома.

В лабораторном опыте исследовали динамику разложения и минерализации разных органических материалов в серой лесной почве при постоянных условиях температуры и влажности на протяжении 319 суток, определяя суточную эмиссию C-CO<sub>2</sub> на газовом хроматографе КристалЛюкс-4000М. Результаты опыта показали, что за весь период инкубации минерализовалось от 27 до 80% от C<sub>орг</sub>, содержащегося в разных органических материалах. Корни и надземная масса клевера, надземная масса луговых трав, зеленые листья дуба относятся к группе сильно разлагаемых материалов (>55% от C<sub>орг</sub>), листья осины, солома ячменя, корни луговых трав и хвоя сосны – к умеренно разлагаемым (от 35 до 55% от C<sub>орг</sub>), а корни ячменя, мелкие ветви деревьев и тонкие корни деревьев – к слабо разлагаемым (< 35% от C<sub>орг</sub>). Свиной навоз подвергался более сильному разложению (54% от C<sub>орг</sub>), чем куриный помет и навоз крупнорогатого скота (43 и 31% от C<sub>орг</sub>, соответственно). Наибольшие константы скорости минерализации были свойственны надземной массе и корням клевера, а также надземной массе луговых трав (0.034-0.054 сут<sup>-1</sup>), а наименьшие – корням ячменя, тонким корням и мелким ветвям деревьев (0.004-0.005 сут<sup>-1</sup>). Константа скорости минерализации разных видов навоза составляла 0.012±0.004 сут<sup>-1</sup>. Чем шире было соотношение C/N в разлагаемом материале, тем меньше была эффективность минерализации ( $r = -0.656$ ,  $P = 0.011$ ) и меньше константа скорости минерализации ( $r = -0.689$ ,  $P = 0.006$ ). Отсутствие корреляций содержания C<sub>орг</sub> в органических материалах с размерами разложения и константой скорости минерализации, с одной стороны, и наличие таковых с содержанием общего азота ( $r = 0.645$ ,  $P = 0.013$  и  $r = 0.716$ ,  $P = 0.004$ , соответственно) указывает, что азот – лимитирующий фактор разложения органических материалов. Минерализуемый пул у большинства растительных остатков и всех видов навоза был представлен умеренно ( $0.1 > k_2 > 0.01$  сут<sup>-1</sup>) и трудно ( $k_2 < 0.01$  сут<sup>-1</sup>) минерализуемыми фракциями и лишь у надземной массы клевера были установлены легко ( $k_1 = 0.143$  сут<sup>-1</sup>) умеренно ( $k_2 = 0.010$  сут<sup>-1</sup>) минерализуемые фракции. На долю умеренно минерализуемой фракции (от 0.090 до 0.042 сут<sup>-1</sup>) приходится от 5 до 65% от всего активного органического вещества, а трудно минерализуемой – 35-95% пула. Таким образом, только часть органического материала, поступающего в почву, преобразуется в почвенное органическое вещество. Прирост почвенного органического вещества обеспечивается медленным разложением органического материала, высокой эффективностью синтеза микробной биомассы или повышенной её оборачиваемостью.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №17-04-00707).



## **ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ДРЕВНИХ ЗЕМЛЕДЕЛЬЧЕСКИХ УГОДИЙ**

**Чернышева Е.В.**

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино,  
Россия

*chernysheva1988@gmail.com*

Проведено исследование почв древнего террасного земельного комплекса Воровские Балки (IX вв. до н.э. – VIII вв. н.э., Кисловодская котловина, Северный Кавказ). Целью работы была оценка изменения ферментативной активности и химических свойств почв древних земледельческих террас, находящихся в залежном состоянии более 1500 лет. Для изученной территории было характерно два мощных этапа сельскохозяйственного освоения региона – в кобанское (IX-VI вв. до н.э.) и аланское время (II-VIII вв. н.э.). После чего здесь не осуществлялось никакой хозяйственной деятельности, которая могла бы изменить свойства почв. Это обусловило исключительную сохранность археологических памятников и позволяет все антропогенные изменения почв связывать именно с влиянием древнего населения. В образцах почв была определена активность ферментов арилсульфатазы,  $\beta$ -глюкозидазы, кислой и щелочной фосфатаз, хитиназы и ксилозидазы, а также содержание органического углерода и минеральных подвижных форм азота.

Во всех почвах наблюдалось накопление нитратной формы азота, при этом содержание аммонийного азота выявлено в следовых количествах, что обусловлено сельскохозяйственным использованием почв в прошлом. По литературным данным известно, что в природных экосистемах, особенно находящихся на последних стадиях сукцессии, аммонийная форма азота в почвах преобладает над нитратной, тогда в почвах агроэкосистем преобладает нитратная форма. Также, показано, что нитратная форма азота преимущественно накапливается в культивируемых почвах. Ферментативная активность имела сложный характер распределения по профилю почв. Во всех случаях наблюдалось значительное возрастание активности изученных ферментов в погребенной почве кобанского времени, в первую очередь активности кислой и щелочной фосфатаз. Сохранение высокого уровня ферментативной активности, вероятнее всего, произошло за счет стабилизации органического вещества в почве, вызванное внесением органических остатков в древности. Известно, что внесение органических материалов приводит к изменению ферментативной активности, и эти изменения могут сохраняться на протяжении нескольких тысяч лет.

Таким образом, внесение органических материалов (растительных остатков и отходов быта с поселения) в древности привело к значительному увеличению ферментативной активности в погребенной почве, а также накоплению нитратного азота, и эти изменения сохранились на протяжении около 3000 лет.



## БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ

### ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФИТОБЕНТОСНЫХ СООБЩЕСТВ ОЗ. БАЙКАЛ

Аксенов-Грибанов Д.В.<sup>1</sup>, Костка Д.В.<sup>1</sup>, Протасов Е.С.<sup>1</sup>, Ржечицкий Я.А.<sup>1</sup>, Краснова М.Е.<sup>1</sup>, Верещагина К.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия; <sup>2</sup>Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

*denis.axengri@gmail.com*

Поиск, синтез и производство биологически активных соединений, и, в первую очередь, веществ с антибиотическими свойствами, является важнейшим направлением современных научных исследований как в российской, так и в мировой науке. Необходимость разработки новых препаратов обусловлена стремительным ростом множественной резистентности микроорганизмов к ранее внедренным в медицинскую и клиническую практику антибиотикам.

Особый интерес для биотехнологии представляют симбионтные штаммы актинобактерий, поскольку данные микроорганизмы являются продуктивными источниками новых биологически активных соединений.

Целью исследования являлась оценка биоразнообразия и антимикробных характеристик культивируемых штаммов актинобактерий, выделенных из пресноводной байкальской водоросли *Draparnaldioides baicalensis*.

В ходе проведенного исследования из пресноводной байкальской водоросли *baicalensis* выделено 10 штаммов актинобактерий, среди которых обнаружены представители как широко распространенного рода *Streptomyces*, так и менее распространенные представители редких родов *Sacharopolispora*, *Nonomuraea*, *Micromonospora*. Установлено, что штаммы, выделенные из байкальской водоросли *D. baicalensis*, активны в отношении грамположительных и/или грамотрицательных бактерий и грибов. Показано, что антибиотическая активность экстрактов, состоящих из комплекса природных соединений, сопоставима с активностью химически очищенных коммерческих антибиотиков.

Установлено, что разнообразие штаммов, выделенных из образцов *D. baicalensis*, сравнимо с разнообразием культивируемых актинобактерий, ассоциированных с растительных сообществ и значительно превышает биоразнообразие культивируемых актинобактерий, ассоциированных с глубоководными обитателями оз. Байкал.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов РНФ (17-14-01063), РФФИ (16-34-60060), проектов Минобрнауки РФ 6.9654.2017/8.9, 6.12738.2018/12.2., а также Фонд поддержки прикладных экологических разработок и исследований «Озеро Байкал».

### ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА И ГЛЮКОЗОДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ БАКТЕРИЙ *GLUCONOBACTER OXYDANS* СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Алферов С.В., Клименова Н.А., Паславская В.О.

ФГБОУ ВПО «Тульский государственный университет», Тула, Россия

*nataly\_ty97@mail.ru*

Одним из перспективных направлений биотехнологии является разработка альтернативных источников электроэнергии - биологических топливных элементов (БТЭ). В качестве катализаторов в БТЭ могут использоваться ферменты, либо клетки микроорганизмов. Использование мембранной фракции бактерий в качестве биокатализатора может служить альтернативой ферментам, так как в этом случае не требуются сложные и дорогостоящие процессы их выделения, очистки и хранения.

Бактерии *Glucanobacter oxydans* обладают мембранной локализацией основных ферментов метаболизма – дегидрогеназ. Для получения мембранной фракции бактерий проводят разрушение



бактериальных клеток и поэтапное центрифугирование. Поэтому, перед созданием макета БТЭ, необходимо определить активность ферментных систем выделенных препаратов.

Целью работы являлось выделение ферментного препарата и оценка глюкозодегидрогеназной активности в мембранных фракциях бактерий *G. oxydans*.

Для получения мембранной фракции бактерий проводили разрушение биомассы с использованием ультразвукового диспергатора. Полученный лизат центрифугировали 40 минут при 3024g, данные условия предполагают оседание клеточного крупного дебриса. На второй стадии проводили центрифугирование 30 минут при центробежном ускорении 12400g, 48400g и 101000g. Для количественного определения белка использовался метод Лоури. Большая часть белка после первого осаждения осталась в надосадочной жидкости. При использовании центробежного ускорения 101000g удельное содержание белка почти в два раза выше, по сравнению с осаждением при 12400g.

Для определения глюкозодегидрогеназной активности проводили измерения оптической плотности для каждой фракции после первого и второго центрифугирования, используя хинониминный краситель 2,6-дихлорфенолиндофенол.

В пробе мембранной фракции, полученной после первого центрифугирования при 3024g удельная активность в надосадочной жидкости в 3 раза превышает удельную активность в осадке, что свидетельствует о преобладании дегидрогеназ в надосадочной жидкости.

При последующем центрифугировании удельная активность осадка мембранной фракции, наблюдаемая после осаждения при 101000g в 20 раз превышает удельную активность ферментного препарата, полученного после осаждения при 48400g.

Таким образом, была произведена оценка содержания белка и глюкозодегидрогеназной активности в мембранных фракциях бактерий *G. oxydans*. Выявлено, что использование центробежного ускорения 101000g позволяет увеличить удельное содержание белка и удельную активность ферментного препарата, поскольку происходит наиболее полное осаждение мембранных компонентов.

## **РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО МЕТОДА МАНИПУЛИРОВАНИЯ МАГНИТНЫМ МИКРОСОРБЕНТОМ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СОРБЦИИ БИОПОЛИМЕРОВ**

**Антифеев И.Е.<sup>1</sup>, Бродская А.В.<sup>2,3</sup>, Константинова Н.Н.<sup>1</sup>, Дженлода Р.Х.<sup>4</sup>, Фёдоров А.А.<sup>1</sup>, Петров Д.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет имени Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия

*antifeev@bk.ru*

Сорбенты на основе магнитных частиц широко используются в задачах биологической пробоподготовки для концентрирования различных биополимеров – ДНК, РНК, белков и пептидов [1, 2].

Ключевым преимуществом использования магнитных частиц является возможность быстрого концентрирования частиц в потоке реагентов под воздействием магнитного поля. В большинстве исследований для формирования удерживающего магнитного поля используются постоянные магниты. Недостатком такого подхода является агрегирование магнитных частиц, и, как следствие, уменьшение «реакционного объема», что приводит к ухудшению сорбции аналита.

Решением данной проблемой может быть формирование сложных турбулентных потоков, приводящих к перемешиванию реакционной смеси, либо подведение дополнительного воздействия, например теплового, или ультразвукового воздействия [3]. У данных решений есть свои преимущества и недостатки. Из вышеперечисленных особенностей и недостатков использования магнитных частиц, встаёт задача разработки универсального метода манипулирования магнитным микросорбентом в задачах анализа биологических объектов.

В данной работе предложен макет устройства, позволяющего создавать переменное магнитное поле в проточной реакционной камере объемом 500 мкл. Амплитуда и частота магнитного поля выбиралась таким образом, чтобы частицы сорбента совершали колебательные движения в заданном реакционном объеме камеры. Переменное магнитное поле создавалось



электромагнитом в зазоре между двумя П-образными магнитопроводниками, на которых расположена обмотка электромагнита. Для локализации и концентрирования магнитного поля, были использованы «направляющие», благодаря которым создавалось магнитное поле силой 0,5 Тл, при частоте 50 Гц.

Оценка эффективности манипулирования магнитными частицами с помощью магнитного поля была выполнена на примере сорбции модельной плазмидной ДНК на микросорбенте. Микросорбент и хим. реактивы предоставлены компанией «Синтол». Для сравнения результатов сорбции использовалась стандартная методика «ручного» выделения.

Анализ выделенных образцов ДНК проводился спектрофотометрически.

В режиме «ручного» выделения ДНК удаётся извлечь порядка 40% всей ДНК за 30 мин. Выбранный режим манипулирования микросорбентом позволил увеличить выход целевого продукта до 89%, при этом длительность сорбционного процесса составила 15 мин.

1. Ramadan, et al, Microfluid Nanofluid , (2012)
2. Moser, et al, 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, (2008)
3. Alexander van Reenen, et al, Lab on a Chip, (2014)

## РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA*

**Барейко А. А., Сидоренко А.В., Пилипчук Т.А., Валентович Л.Н., Титок М.А., Коломиец Э.И.**

Институт микробиологии НАН Беларуси, Республика Беларусь

*bareiko.hanna@gmail.com*

Фитопатогенные грибы рода *Alternaria* поражают широкий круг злаковых, фруктовых и овощных культур, приводя к значительным потерям урожая. Традиционные методы идентификации данных микроорганизмов трудоемки, длительны и не всегда эффективны, что обуславливает необходимость разработки быстрых и чувствительных молекулярных методов, пригодных для их рутинной диагностики.

С целью создания диагностической ПЦР тест-системы проведен анализ полногеномных последовательностей фитопатогенных грибов рода *Alternaria*, представленных в международной базе данных GenBank, выявлены специфические консервативные локусы (фрагмент ITS-области, гены *pksH* (кодирует поликетид синтазу), *cytb* (кодирует цитохром b)), на основании нуклеотидных последовательностей которых сконструированы 3 пары диагностических праймеров для детекции и идентификации представителей *Alternaria* sp., *Alternaria alternata* и *Alternaria solani*.

С помощью биоинформатического анализа *in silico* подтверждена специфичность сконструированных праймеров, рассчитаны параметры проведения ПЦР. При проверке специфичности праймеров на ДНК коллекционных штаммов фитопатогенных грибов рода *Alternaria* получены продукты нужного размера только с ДНК представителей целевого таксона (310 п.н., 661 п.н., 164 п.н. с праймерами к *Alternaria* sp., *A. alternata*, *A. solani* соответственно). Ложноположительных и ложноотрицательных результатов не выявлено. Определение нуклеотидных последовательностей продуктов ПЦР, полученных с диагностическими праймерами, показало, что они идентичны на 96-99% целевым локусам генома фитопатогенных грибов рода *Alternaria*.

Сконструированные праймеры использованы для идентификации 12 культур фитопатогенных грибов, выделенных из пораженных растений томата и огурца, выращиваемых в условиях малообъемной гидропоники РУАП «Гродненская овощная фабрика», а также 6 фитопатогенных грибов, изолированных из прикорневой зоны озимой тритикале. Для 6 культур получены продукты ПЦР целевого размера с праймерами, специфичными к *Alternaria* sp. и *A. alternata*. Принадлежность идентифицированных культур фитопатогенных грибов к виду *A. alternata* подтверждена данными определения нуклеотидной последовательности ITS-области.

Полученные результаты подтверждают высокую диагностическую значимость сконструированных праймеров для детекции и идентификации фитопатогенных грибов рода *Alternaria*.



## ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЦИИ В ГЕНОМ ЭМБРИОНОВ КРОЛИКОВ ГЕНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ ЦЕЛЕВОГО И МАРКЕРНОГО ГЕНОВ

**Белова Н.В., Кутьин И.В., Трубицына Т.П., Колоскова Е.М., Максименко С.В.,  
Езерский В.А., Рябых В.П.**

Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания  
животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «ФНЦ  
животноводства – ВИЖ имени Л.К. Эрнста», Подольск, Россия

*navikbel@mail.ru*

Одной из проблем при получении трансгенных (ТГ) животных является низкий процент интеграции чужеродной ДНК при её введении в зиготы. При работе с малоплодными животными это значительно удорожает технологию. Оптимизировать технологию можно используя репортерные системы, подтверждающие наличие ТГ на стадии эмбриона.

С целью выявления ТГ эмбрионов в лаборатории была создана генно-инженерная конструкция (ГИК), включающая кДНК лактоферрина человека (hLf) под контролем регуляторных последовательностей гена  *$\alpha$ S1-казеина* крупного рогатого скота ( *$\alpha$ S1-Cn*) и репортёрный экспрессирующий ген зелёного белка под цитомегаловирусным промотором (*cmv-EGFP*) - ( *$\alpha$ S1-Cn-hLf-cmv-EGFP*).

Так как ГИК состоит двух генов, есть вероятность того, что в результате манипуляций, связанных с микроинъекцией ГИК в пронуклеусы зигот, может происходить разрушение ГИК на составные части и интеграция этих частей по отдельности.

Целью исследований являлось определение интеграции комплексной ГИК ( *$\alpha$ S1-Cn-hLf-cmv-EGFP*) методами флюоресцентной микроскопии (ФМ) и ПЦР-анализа в эмбрионах предимплантационных стадий.

ПЦР-анализ ДНК эмбрионов, находящихся на стадии бластоцист, с праймерами на GFP и hLf показал, что полное совпадение положительных амплификатов по обоим генам наблюдалось у 54% (29/54) эмбрионов. Полное совпадение отрицательных результатов по обоим генам наблюдалось у 35% (19/54) эмбрионов и только в 7% (4/54) определялся один ген GFP и у 4% (2/54) – один ген hLf. Эти результаты свидетельствуют, что комплексная ГИК хорошо сохраняется при микроинъекции её в пронуклеусы зигот и только в 7% случаев распадается на фрагменты.

Во второй серии экспериментов интеграцию ГИК в эмбрионы изучали методом ФМ. Анализ результатов показал, что только 25% (19/80) эмбрионов светились зелёным цветом, но при ПЦР-анализе положительные результаты были отмечены у 54%. Это несоответствие могло быть обусловлено тем, что в эмбрионах сохранялась не интегрированная ДНК ГИК, которая давала ложноположительные результаты (ЛПР). Для исключения ЛПР лизаты бластоцист обрабатывали рестриктазой DpnI, режущей последовательность GATC с метилированным аденином (<sup>Met</sup>A), которая содержится в неинтегрированной ДНК и не содержится в интегрированной в геном ГИК. Из лизатов 80 бластоцист, обработанных рестриктазой DpnI, ПЦР-анализ показал 23 положительных результатов (29%), что практически соответствовало результатам их визуализации при ФМ (25%).

Таким образом, исследования показали, что комплексная ГИК, включающая целевой и маркерный гены может быть успешно использована для определения интеграции ТГ в геном животных на стадии эмбрионов.



## ПРИМЕНЕНИЕ КОЛЛАГЕН-ЛАМИНИНОВЫХ МАТРИЦ ДЛЯ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ

**Белых Е. И.<sup>1</sup>, Сеницына Т. Ю.<sup>1</sup>, Макаров А. С.<sup>1</sup>, Гумпылов Ю. Б.<sup>1</sup>, Санжитов С. В.<sup>2</sup>,  
Иванова Ю. В.<sup>2</sup>, Цыбденова А. П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Бурятский государственный университет, Улан-Удэ; <sup>2</sup>ООО "МИП  
"Байкальский центр биотехнологий", Улан-Удэ, Россия

*elena.belyx.98@mail.ru*

В настоящее время для лечения длительно незаживающих ран (трофические язвы, ожоги) и восстановления или временного закрытия обширных участков кожи разрабатывают подходы, основанные на применении дерматотропных биомедицинских клеточных продуктов. Применение клеточных технологий в стимуляции регенерации тканей заключается в использовании клеток разных типов, биоматриксом и тканеинженерных конструкций в различных вариантах и сочетаниях.

Целью работы является создание коллаген-ламининовой матрицы предназначенной для лечения повреждений кожи и оценка ее эффективности.

### **Материалы и методы:**

- выделение коллагена I типа, подбор условий полимеризации раствора коллагена в гелевую матрицу;
- культивирование иммортализованных кератиноцитов человека линии HaCaT на коллагеновых матрицах;
- децеллюлирование полимерной матрицы с получением готового продукта для ранозаживления;
- гистологическая и иммуногистохимическая идентификация матричных компонентов (коллаген I типа, ламинин);
- оценка эффективности ранозаживления *in vivo* на моделях раневого дефекта кожного покрова у лабораторных животных (крысы-самцы линии Вистар).

Таким образом, разработана технология получения коллаген-ламининовых матриц, проявляющих свойства биосовместимости и оказывающих влияние на течение раневого процесса. Тканеинженерная раневая композиция создана при помощи сочетания методик экстрагирования коллагена, получения коллагеновых матриц, культивирования иммортализованных кератиноцитов кожи линии HaCaT на коллагеновой подложке с последующей фиксацией и децеллюлированием детергентами (выведением клеток из конечного продукта) и представляет собой полимерную композицию, состоящую из двух основных компонентов – коллагена и ламинина базальной мембраны, находящихся в полном гистотипическом подобии со строением кожи человека.

Полученные данные доклинических исследований (гистохимия, этологические наблюдения) по эффективности восстановления целостности кожного покрова, с применением созданной репаративной матрицы, позволяют рекомендовать конструкцию к оценке безопасности при клинических исследованиях и в дальнейшем к внедрению.

## **ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЬОЖН-БЕЛКА SUMO-Esc-b(1-20), ВКЛЮЧАЮЩЕГО N-КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА-1В**

**Бусленко А.В., Совгир Н.В., Потапович М.И., Жидецкий А.В., Прокулевич В.А.**

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*sovgirnv@gmail.com*

Антимикробные пептиды (АМП) в бактериальных клетках целесообразно получать в составе фьюжн-белков, а в качестве фьюжн-партнёров, в частности, для катионных АМП, выбирать анионные белки для уменьшения внутриклеточной активности пептидов в отношении продуцента.

Ранее полученный N-концевой фрагмент Esc-b(1–20) состоит из первых 20 аминокислотных остатков АМП эскулентина-1b (*Rana esculenta* L., 1758) и имеет заряд полноразмерного лягушачьего пептида (+5), что обуславливает сохранение антимикробных свойств фрагмента.





Целью данной работы являлось создание в клетках бактерий *E. coli* системы биосинтеза и методики последующей очистки фьюжн-белка, в состав которого входят пептид Esc-b(1–20) и его фьюжн-партнёр – анионный малый убиквитин-подобный модификатор дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (далее SUMO), снабженный гистидиновой меткой. В гибридном белке SUMO-Esc-b(1–20) между партнёрами находится сайт узнавания TEV протеазы для разделения пептида и SUMO.

Аmplифицированный ген *SUMO* по сайту рестрикции *Nde* I вводили в состав рекомбинантного вектора pET-*Esc-b(1–20)*, содержащего ген исследуемого АМП, и созданную конструкцию клонировали в клетках штамма *E. coli* XL-1 Blue. Правильность ориентации вставки проверяли рестрикционным анализом ампликона *SUMO-Esc-b(1–20)* с использованием эндонуклеазы *Nhe* I. Рекомбинантной плазмидой трансформировали клетки штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Далее индуцировали экспрессию клонированного гибридного гена ИПТГ в течение 4 часов при 37 °С.

Выявив по результатам ДСН-ПААГ электрофореза, что фьюжн-белок SUMO-Esc-b(1–20) ожидаемой суммарной молекулярной массой 16,5 кДа накапливается в количестве около 30 % от тотального белка клетки, и то, что около 50 % белка синтезируется в клетках в растворимой форме, далее наращивали клеточную массу и разрушали ее с помощью гомогенизатора высокого давления. Целевой белок очищали металл-хелатной хроматографией согласно рекомендациям производителя сорбента HisPur™ Ni-NTA Superflow Agarose («Thermo Scientific»). Степень очистки фьюжн-белка после хроматографии составила 75 %. В целях удаления имидазола и замены буфера проводили гель-фильтрацию на сорбенте Sephadex G-25 («Pharmacia», Uppsala, Sweden), после которой степень очистки белка увеличилась до 90 %. Конечная концентрация белка SUMO-Esc-b(1–20) в результате очистки составила 0,8 мг/мл.

Таким образом, в результате слияния последовательностей ДНК структурных генов катионного пептида Esc-b(1–20) лягушки и анионного белка SUMO дрожжей путем биосинтеза в бактериях *E. coli* получен и очищен растворимый фьюжн-белок.

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КАРБОНОВЫХ ВОЛОКОН ДЛЯ ИМИТАЦИИ ЦИКЛА СОКРАЩЕНИЯ ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА НА УРОВНЕ ОДИНОЧНОГО КАРДИОМИОЦИТА

**Волжанинов Д.А.<sup>1</sup>, Лукин О.Н.<sup>2</sup>, Хохлова А.Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия

*VolzhaninovDenis@yandex.ru*

Анализ пассивной и активной составляющей силы одиночных кардиомиоцитов в условиях, приближенных к тем, в которых клетки сокращаются в интактном сердце, требуют привлечения специальных методов.

Целью данной работы являлось воспроизведение фазового поведения сокращений одиночного кардиомиоцита желудочка в условиях физиологического рабочего цикла интактного желудочка при помощи метода карбоновых волокон (КВ). Использовалась методика четырех КВ [1], при которой каждый конец клетки зажимался двумя КВ. Каждое из КВ устанавливалось на прецизионный пьезо-мотор в рамках системы микропозиционирования «New Triple Axis» (Sensapex, Финляндия).

Для реализации физиологического рабочего цикла кардиомиоцита был разработан программный комплекс для системы из четырёх пьезо-моторов «Sensapex» в среде разработки «LabView» [2]. Сердечный цикл воспроизводился с помощью задания следующей последовательности условий сокращений: изометрическое сокращение, квази-изотоническое укорочение, изометрическое расслабление и квази-изотоническое растяжение в диастолическую фазу [3].

Для получения исходного сигнала записывалось усредненное за 10 циклов расстояние между КВ, интерпретируемое как длина клетки, в ходе ауксотонического (под нагрузкой КВ) сокращения клетки при ее электрической стимуляции частотой 1 Гц [3].

Для изометрических сокращений исходный сигнал необходимо было инвертировать (чтобы вызвать движение пьезо-мотора от центра клетки, шаг 1), его амплитуду уменьшить в два раза



(одновременно работают две пары пьезо-моторов, шаг 2) и отрегулировать усиление сигнала так, чтобы положение кончиков КВ оставалось постоянным (шаг 3). Для квази-изотонических сокращений шаг 1 исключался (чтобы вызвать движение пьезо-мотора к центру клетки), шаг 3 регулировался так, чтобы изгиб КВ оставался постоянным.

В дальнейшем планируется использовать данный подход для исследования зависимостей «длина-сила» кардиомиоцитов здорового сердца и при патологических воздействиях, что позволит дать оценку нарушения сократимости клеток и предложить возможные пути коррекции при исследовании влияния лекарственных средств.

Работа поддержана Постановлением Правительства РФ № 211 от 16.03.2013, РФФИ 16-31-60015 и программой ФНИ государственных академий наук (AAAA-A18-118020590031-8).

Iribe G., Kaneko T., Yamaguchi Y., Naruse K., *Prog Biophys Mol Biol*, 1 (2014).

1. Николаев С.В., *LabVIEWРуководство пользователя*, National Instruments (2007).
2. Iribe G., Helmes M., Kohl P., *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 292, 1487 (2007).
3. Iribe G., Helmes M., Kohl P., *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 292, 1487 (2007).

## ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ПЕКТИНОВЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА IN VITRO

**Волкова М.В., Белозёров В.С., Хасаншина З.Р., Обжорина С.А., Марков П.А.**

ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Центр превосходства Фармацевтическая биотехнология, Киров, Россия

*biotech.volkova@list.ru*

Одной из причин, ограничивающих применение пектиновых гелей в качестве средств пероральной доставки, является их деструкция в верхних отделах пищеварительного тракта. Цель исследования - выявить пектины, гели из которых устойчивы к деструкции в средах, имитирующих физико-химические условия гастроэнтеральной полости человека.

В исследовании использованы пектиновые гидрогели, приготовленные из 2% и 4% растворов пектинов: AU701 (Herbstreith&Fox, Germany); комаруман CP, бергенан BC, танацетан TVC (ФГБУН Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН) и гераклиуман HS (ФГБОУ ВО ВятГУ). В качестве модельного лекарственного препарата применялась 5-аминосалициловая кислота (месалазин). Желирование пектинов проводили ионотропным методом с использованием 1 и 2M растворов хлорида кальция. Инкубирование гранул для изучения высвобождения препарата из пектиновых гелей осуществлялось в растворах SGF и SIF, имитирующих среды желудка и 12-перстной кишки соответственно. Интенсивность деструкции оценивали по изменению массы и размеров гранул. Содержание кальция в гранулах определялось методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (JSM6510LV, JEOL, США). Содержание в гранулах и количество высвободившегося месалазина исследовалось с помощью высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (LCMS-8040, Shimadzu, Япония).

Установлено, что с увеличением молярности раствора кальция при желировании пектинов, деструкция пектиновых гелей в среде желудка снижается. Исключение составляют гелевые гранулы, полученные из 4% растворов пектинов TVC и CP, у которых снижение не наблюдается. Установлено, что деструкция пектиновых гелей сопровождается снижением в них количества кальция. Интенсивность вымывания кальция зависит от типа пектинового геля. Так, например, гранулы из пектина бадана при потере 60% ионов кальция не разрушаются в средах SGF и SIF. Гранулы из пектинов пижмы и борщевика при потере такого же количества на стадии «желудка» в среде SIF разрушаются. Установлено, что из гидрогелей, устойчивых к деструкции в среде SGF, месалазин высвобождается меньше. Выявлена зависимость высвобождения месалазина из гелевых гранул в зависимости от их размера. С увеличением размеров гидрогелей в два раза способность удерживать месалазин увеличивается в 3,5 раза.

Таким образом, для дальнейшего конструирования средств пероральной доставки были выбраны пектиновые гидрогели, полученные из пектинов борщевика HS и пижмы TVC.



## ПРОДУКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В БИОМАССЕ ВОДОРОСЛИ SPIRULINA PLATENSIS ПРИ ПОВТОРНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СРЕДЫ ЗАРРУКА

**Вязов Е.В., Гончарик Р.Г., Филипчик Е.А., Мананкина Е.Е., Шалыго Н.В.**

ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика  
Беларусь

*viazau@yahoo.com*

Сине-зелёную водоросль (цианобактерию) *Spirulina platensis*, биомасса которой используется в различных отраслях народного хозяйства, традиционно культивируют на питательной среде Заррука, содержащей большое количество (16,8 г/л) бикарбоната натрия  $\text{NaHCO}_3$  [Zargouk, 1966]. Ранее нами была показана возможность применения для культивирования спирулины модифицированной среды Заррука (МСЗ) с половинным содержанием бикарбоната натрия в её составе и добавлением гидроксида натрия (по сравнению со стандартной средой Заррука вместо 16,8 г/л  $\text{NaHCO}_3$  содержит 8,4 г/л  $\text{NaHCO}_3$  и 0,1 г/л  $\text{NaOH}$ ) с целью уменьшения затрат на производство биомассы спирулины без снижения её качества [Вязов и др., 2017].

Цель данной работы – изучение влияния повторного использования МСЗ при культивировании спирулины на продуктивность водоросли и содержание пигментов.

Спирулину (штамм IBCE S-2 из коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси) культивировали в течение 7 суток при температуре  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  и освещённости 5000 лк на свежеприготовленной среде МСЗ (контроль), среде МСЗ, использованной ранее для культивирования в течение 7 суток (вариант ИС) и смеси свежеприготовленной и использованной сред МСЗ в пропорции 1:1 по объёму (вариант  $\frac{1}{2}$ ИС). Продуктивность оценивали по содержанию сухой массы в суспензии определяемому спектрофотометрически согласно [Sasaki et al., 1995], содержание хлорофилла и фикоцианина определяли по методикам, описанным в [Мельников и др., 2012] и [Sasaki et al., 1995], соответственно.

Установлено, что продуктивность культуры спирулины при применении однократно использованной среды МСЗ не отличается от контроля в течение всего времени культивирования в обоих опытных вариантах (ИС и  $\frac{1}{2}$ ИС). В тоже время, в варианте ИС после 7 суток культивирования выявлено снижение содержания хлорофилла и фикоцианина на 27% и 26%, соответственно, по сравнению с контролем. В варианте  $\frac{1}{2}$ ИС не обнаружено достоверных отличий от контроля по содержанию как хлорофилла, так и фикоцианина.

Таким образом, показана возможность однократного повторного использования МСЗ для культивирования *Spirulina platensis* без изменения продуктивности водоросли и содержания фотосинтетических пигментов в её биомассе при условии применения смеси свежеприготовленной и однократно использованной модифицированной среды в соотношении 1:1 по объёму. Такая оптимизация процесса культивирования способствует снижению затрат на производство биомассы спирулины.

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ IN VITRO ДЛЯ КОНТРОЛЯ СТАДИЙ ПРОИЗВОДСТВА АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

**Гаврилова Ю.К., Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Кочкин А.В., Галкина М.В., Савицкая Л.В.**

ФКУЗ РосНИПЧИ "Микроб", Саратов, Россия

*ylia-93@list.ru*

Бешенство – остропротекающее вирусное заболевание, которому подвержены все теплокровные животные, а также человек. По данным ВОЗ в результате инфицирования вирусом бешенства ежегодно в мире погибает около 59 тыс. человек. В лечебные учреждения РФ, по данным Роспотребнадзора, ежегодно по причине укусов и других повреждений, полученных в результате контакта с животными, обращается около 470 тыс. человек. Более половины из них нуждается в получении антирабической помощи.

Для определения активности вируса и уровня специфических антител используют широкий спектр методов *in vivo* и *in vitro*. Методы исследования *in vivo* считаются надёжными и достоверными, что определяет их место среди контрольных методов в производстве



антирабических препаратов. При этом тесты *in vivo* отличаются трудоемкостью, длительностью проведения, необходимостью использования большого количества стандартных животных. Более того, Комитет экспертов ВОЗ по бешенству неоднократно подчеркивал необходимость замены методов *in vivo* альтернативными методами *in vitro*.

Целью данной работы явилась оценка возможности применения метода иммунофлуоресценции на клеточных культурах и иммуноферментного анализа на различных стадиях получения антирабического иммуноглобулина.

Показана эффективность использования метода иммунофлуоресценции на клеточных культурах на этапах контроля иммунных сывороток, полученных от продуцентов, а также специфической активности готового препарата антирабического иммуноглобулина. Проведение данного теста занимает меньше времени, чем классическая реакция нейтрализации (72 ч против 21 дня), не требует участия лабораторных животных. Контроль иммунных сывороток и готового препарата иммуноглобулина данным методом выявил наличие высокой степени корреляции между результатами, полученными тестом *in vitro* и классической реакцией нейтрализации. Метод иммунофлуоресценции также был успешно применен при исследовании полноты инактивации материала для иммунизации, приготовленного на основе вирусосодержащей мозговой суспензии. Показана возможность использования ИФА для оценки уровня содержания антигена в инактивированном вирусосодержащем материале, что позволит стандартизировать процесс подготовки материала для иммунизации продуцентов антирабической сыворотки.

Таким образом, использование комплекса методов *in vitro* позволит повысить эффективность производства антирабического иммуноглобулина.

## **КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ДОСТАВКИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА НЕЙРОТРОФИНА**

**Гавриш М.С., Тутукова С.А., Епифанова Е.А., Бабаев А.А.**

ННГУ им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*mary\_gavrish@mail.ru*

Среди многих функций нейротрофинов описывается и их роль в широком спектре явлений, регулирующих деятельность как периферической, так и центральной нервной систем. Основным принято считать их участие в контроле физиологического развития нейронов, а также их дальнейшей фенотипической дифференциации. Особый интерес вызывает нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), способный стимулировать рост нейронов и их отростков не только в раннем онтогенезе, но и в мозге взрослого организма, что ранее считалось невозможным. BDNF оказывает и нейропротекторное действие, что позволяет рассматривать его в качестве перспективного терапевтического агента для коррекции ишемических и нейродегенеративных процессов в нервной ткани.

Доставка целевого гена будет осуществляться при помощи рекомбинантного аденоассоциированного вирусного вектора. Для оценки эффективности трансдукции в вектор внедрен ген mKate2.7 – мономерного дальнекрасного флуоресцентного белка, сигнал которого легко отделяется от фоновой флуоресценции, что позволит использовать сконструированный вектор совместно с другими агентами для комплексного наблюдения процессов в культурах и тканях.

В ходе работы была подобрана система праймеров mKate2.7-BamHI-fw и mKate2.7-EcoRV-rv, в последовательности которых внесены сайты узнавания для рестриктаз. Также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать олигонуклеотидную последовательность флуоресцентного белка. Полученная последовательность и плазмидный вектор pAAV-Syn-BDNF подвергались обработке рестриктазами EcoRV и BamHI, а затем лигированию. Нарботанный рекомбинантный шаттл-вектор очищали из клеток *E.coli*, а наличие клонируемого фрагмента было подтверждено с помощью PCR и рестрикционного анализа. Сборку аденоассоциированного вектора осуществляли в клеточной линии HEK 293 TF при помощи хелперных плазмид – DJ vector и pHelper, несущих гены Rep и Cap, которые не содержатся в шаттл-векторе, но обеспечивают правильное формирование вируса. Трансфекцию проводили с использованием PEI. Затем вирусные частицы очищали, а концентрирование вируса осуществляли на колонках Amicon Ultra-15 (Millipore).



Тестирование полученного конструктора проводили на клеточной линии НЕК 293 ТГ. Эффективность трансдукции оценивали при помощи иммуноцитохимического окрашивания на присутствие BDNF в культуре.

В результате данной работы была сконструирована генно-инженерным путем шаттл-плазида, несущая гены BDNF и mKate2.7. С использованием хелперной системы собран и протестирован аденоассоциированный вектор под специфическим синапсиновым промотором.

## **БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТА *FOMITOPSIS OFFICINALIS* В СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЕ**

**Гаврюшина И.А., Мучкина Е.А.**

ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
Минздрава РФ, Москва, Россия

*irina-alekscandrovna2013@yandex.ru*

Ксилотрофный базидиомицет *Fomitopsis officinalis* (Vill.:Fr.) Bond. Et Sing известный как трутовик лекарственный или листовничная губка, применяется как источник большого числа лекарственных соединений, в числе которых наиболее важным является агарциновая кислота. В медицинской практике для этой цели применяются плодовые тела. Известно, что биологически активные вещества высших грибов содержатся не только в базидиомах, но и в вегетативном мицелии гриба. Преимуществом получения биомассы мицелия с помощью биотехнологических методов являются неограниченная возможность и безотходность производства препаратов, недефицитность сырьевых ресурсов.

Задачей настоящего исследования было повышение продуктивности штамма Тув- *Fomitopsis officinalis* (ВКПМ F-908) в условиях жидкофазного культивирования. Для достижения поставленной задачи разрабатывали способ культивирования иммобилизованного мицелия *F. officinalis*, заключающийся в культивировании штамма *F. officinalis* совместно со штаммом-продуцентом бактериальной целлюлозы *Gluconacetobacter hansenii* GH 2008/1 (ВКПМ В-10254).

Культивирование мицелия штамма *F. officinalis* проводили в чистой культуре и совместно с продуцентом бактериальной целлюлозы *G. hansenii* на натуральной среде Maltax (5%) и синтетической среде состава, г/л: глюкоза – 7.0, дрожжевой экстракт – 5.0, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>– 0.27, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>– 0.2, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>– 0.3, моногидрат лимонной кислоты – 0.115, pH среды 6,5. Количество мицелия в полученной биомассе определяли по массе и составу белка (Bradford M, 1976; Стручкова И.В., Калысова Е.А., 2012), количество агарциновой кислоты определяли в соответствии с методом, разработанным авторами А.Ю. Айрапетова и др. (патент РФ №2330676, 2006).

Результаты исследований показали, что биомасса мицелия *F. officinalis* в смешанной культуре на среде Maltax (5%) составляет 9,2 г/л, на синтетической среде составляет – 11.4 г/л, что выше, чем при культивировании чистой культуры продуцента в 1.9 и 3.2 раза, соответственно. В биомассе иммобилизованного мицелия, полученной на среде Maltax (5%) и синтетической среде, содержится 5,6±0,4 и 6,8±0,4 % агарциновой кислоты. В чистой культуре мицелия, полученной на среде Maltax (5%) и синтетической среде, количество агарциновой кислоты составляет 7,3±0,5 и 7,1±0,5 %.

Таким образом, исследования показали, что для получения агарциновой кислоты культивирование мицелия *F. officinalis* целесообразно проводить в условиях иммобилизации на пленке бактериальной целлюлозы.



## УТИЛИЗАЦИЯ ПЕСТИЦИДОВ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ

**Гончарова И.С., Кирганова Ю.В., Карасева Э.В., Самков А.А.**

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*irinagoncharoval@yandex.ru*

Актинобактерии являются широко распространенными в природных микробных сообществах микроорганизмами, способными к деградации множества веществ, включая такие ксенобиотики, как пестициды, в том числе, группы неоникотиноидов, имидазолинов, а также производные триазинов. Катаболическая активность актинобактерий представляет интерес в сфере экологической биотехнологии и биотрансформации.

Целью данной работы было изучение утилизации пестицидов актинобактериями в лабораторных условиях.

Для анализа способности к биodeградации пестицидов были отобраны штаммы актинобактерий коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии КубГУ *Rhodococcus* sp. J8 и *Rhodococcus erythropolis* B2. В качестве объекта утилизации были выбраны распространенные пестициды, такие как диазинон, метрибузин, имидаклоприд и имазамокс, введенные в жидкую минеральную среду в качестве единственного субстрата. Для оценки прироста биомассы использовали колориметрический и гравиметрический методы измерения. Динамика содержания имидаклоприда в среде культивирования измеряли при помощи специально разработанной экспресс-методики спектрофотометрического количественного анализа.

Выявлено, что все исследованные штаммы родококков способны использовать в качестве источника углерода и энергии все выбранные для эксперимента пестициды при культивировании в жидкой минеральной среде. Интенсивность роста исследуемых штаммов варьировала в зависимости от используемого пестицида.

Динамика концентрации имидаклоприда в среде культивирования показала, что штаммы *Rhodococcus* sp. J8 и *Rhodococcus erythropolis* B2 способны утилизировать данное соединение при всех использованных в эксперименте концентрациях (0,1 – 0,5 г/л). При этом обнаружено, что утилизация имидаклоприда носит штаммоспецифичный характер.

## ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УСПЕШНОСТИ РАБОТЫ ОПЕРАТОРА С ИНТЕРФЕЙСОМ МОЗГ-КОМПЬЮТЕР МОТОРНО-ВООБРАЖАЕМОГО ТИПА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ВИДА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

**Григорьев Н.А.<sup>1</sup>, Лукоянов М.В.<sup>1,2</sup>, Гордлеева С.Ю.<sup>1</sup>, Савосенков А.О.<sup>1</sup>, Пимашкин А.С.<sup>1</sup>, Казанцев В.Б.<sup>1</sup>, Каплан А.Я.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия;

<sup>2</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия;

<sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*na0grigorev@gmail.com*

Интерфейс мозг-компьютер (ИМК) - это программно-аппаратная система, с помощью которой оператор способен управлять внешними устройствами напрямую от мозга. В работе использовался ИМК моторно-воображаемого типа, основа работы которого заключается в классификации паттернов ЭЭГ, вызываемых воображением движений конечностями. Обратная связь (ОС) в ИМК необходима для обеспечения высокого уровня вовлеченности оператора в процесс и формирования устойчивого навыка представления движения, поэтому выбор наилучшей ОС для интерфейса является важной задачей.

Целью работы было сравнение степени десинхронизации мю-ритма при воображении движений и точности классификации контура ИМК моторно-воображаемого типа с тремя командами при использовании вибротактильной, визуальной обратных связей и без них.

Для записи ЭЭГ устанавливалось 30 электродов по системе 10-10. В первую сессию испытуемого обучали методике воображаемых движений. Вторая и третья сессии отводились для тестирования испытуемого с использованием различных видов ОС. За одну сессию испытуемому предоставлялся только один вариант ОС и в качестве контроля проводились тесты без обратной связи. Визуальная ОС представляла собой заполняющуюся цветом полосу на мониторе при



верном распознавании команды. Тактильная ОС осуществлялась с помощью вибромоторов, установленных на предплечья и тыльную сторону шеи для сигнализации об успешном распознавании паттернов ЭЭГ представления движений.

В исследовании участвовали 6 здоровых испытуемых в возрасте 18-24 лет с ведущей правой рукой. Каждый испытуемый принял участие в трех экспериментальных сессиях с шестью записями по 10 предъявлений каждой из команд.

В среднем у всех испытуемых десинхронизация была статистически достоверно больше при использовании вибротактильной ОС по сравнению с контролем для электрода С3 при воображаемых движениях обеих рук. При сравнении степени десинхронизации с использованием визуальной ОС относительно контроля статистически достоверные различия были выявлены только при представлении движений правой рукой в контралатеральном полушарии (электрод С3). Результаты анализа точности классификации показывают, что введение тактильной ОС в контур ИМК не приводит к уменьшению эффективности работы оператора. При определённых режимах подачи тактильная ОС может приводить к возникновению более выраженной десинхронизации мю-ритма, по сравнению с визуальной ОС, у испытуемых.

Работа поддержана Российским научным фондом проект № 15-19-20053.

## **РИЗОГЕНЕЗ МИКРОПОБЕГОВ ЮВЕНИЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В КУЛЬТУРЕ IN VITRO**

**Гусева О.Ю.**

ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия

*guseva.oks2017@yandex.ru*

За последние полвека проблема усыхания дуба в регионах лесостепи приобрела катастрофические масштабы, что может привести к полному исчезновению данной породы из состава лесных насаждений. В настоящее время активно применяется метод культуры тканей с целью размножения многих древесных растений. Однако для представителей рода *Quercus* некоторые этапы микроклонирования до конца не отработаны. В данной работе отражены результаты исследований по подбору различных концентраций гормонов в питательной среде на стадии укоренения микропобегов в культуре *in vitro*, полученных с ювенильного материала дуба черешчатого. Для выращивания сеянцев использовали желуди популяционного сбора, предоставленные Кострикиным В.А. Крупные неповрежденные семена предварительно замачивались на сутки в талой снеговой воде. Их посев осуществлялся в конце декабря 2016 года. Желуди помещали в контейнеры с увлажненным субстратом из нейтрального торфа и выращивали в контролируемых условиях (температура  $23 \pm 2^\circ \text{C}$ , фотопериод – 12 ч., влажность до 80%). Массовые всходы появились через 1,5 месяца. Сеянцы были успешно простерилизованы, расчленены на узловыи сегменты и введены в культуру *in vitro*. Для активации пазушных меристем использовались питательные среды различного минерального состава, дополненные цитокинином 6-БАП. Через 3-4 недели все побеги, достигшие длины 1,5-2 см, отделялись от первичных эксплантов и пересаживались на базовую среду ВТМ с добавлением ауксинов для стимуляции корнеобразования.

Результаты показали, что на питательной среде с низкой концентрацией гормонов (ИМК 0,01 мг/л и НУК 0,02 мг/л) укореняемость побегов была слабой (не более 6%). В то время как увеличение содержания ИМК и НУК до 0,1 и 0,07 мг/л соответственно способствовало ризогенезу на 40,3%. При использовании более высоких концентраций ауксинов (ИМК 0,2 мг/л + НУК 0,1 мг/л) рост побегов тормозился. Полученные укорененные микрорастения могут быть заново расчленены для увеличения численности клона, либо высажены в открытый грунт с целью их адаптации к нестерильным условиям *ex vitro*.

Таким образом, укоренение микропобегов дуба черешчатого в культуре *in vitro* проходило в довольно узком диапазоне концентраций ауксинов. Лучший ризогенный ответ наблюдался на среде с ИМК 0,1 мг/л и НУК 0,07 мг/л. Однако следует отметить, что на успешное укоренение растений в условиях *in vitro* влияет не только гормональный состав питательной среды, но и возраст исходных эксплантов, их физиологическое состояние. Исследования по определению оптимальных условий ризогенной активности микропобегов дуба будут продолжены.



## ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В ТРАНЗИЕНТНОЙ ТРАНСФЕКЦИИ. ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И ОПТИМИЗАЦИИ

Дацкевич П.Н.<sup>1</sup>, Абдулина Ю.А.<sup>2</sup>, Розов Ф.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия

*datsbio@gmail.com*

Рекомбинантные белки являются критически важными объектами в биотехнологическом производстве. Потребность в их получении растет с каждым годом. Транзиентная трансфекция – это удобный и относительно быстрый метод наработки как аналитических, так и препаративных количеств целевого белка. В настоящее время многие системы для транзиентной трансфекции представлены готовыми наборами, включающими все необходимые компоненты. Замена некоторых элементов из такого набора на альтернативные позволяют расширить границы использования системы, снижая зависимость ученого от определенных производителем условий.

В работе рассматриваются способы получения рекомбинантных белков в системе транзиентной трансфекции на базе суспензионных клеток Expi293F. В базовой комплектации производителя набор содержит клетки, жидкую среду, реагент для трансфекции и энхансеры. Подобранные условия обеспечивают рост клеток до плотностей более 6 млн/мл, что позволяет получать рекомбинантные белки в количествах более 100 мг/л культуры за 5-6 дней. Препаративные количества целевых белков получали по стандартному протоколу, основанному на рекомендациях производителя, а также в нескольких его модификациях с использованием альтернативных компонентов. Было исследовано три модификации протокола. 1 – сохранение исходных компонентов системы, котрансфекция белком-регулятором метаболизма (SV40T large T antigen). В данном варианте продукция рекомбинантных белков увеличивалась на 25-50% по сравнению со стандартным протоколом. 2 – частичная замена компонентов системы на альтернативные (реагент для трансфекции PEI25 в комбинации с вальпроатом натрия), котрансфекция белками-регуляторами клеточного цикла (p18, p21, p27, aFGF). При этом уровень продукции целевого белка существенно не изменялся, но снижалась себестоимость процесса. 3 – полная замена компонентов среды на альтернативные (лиофилизированная среда, реагент PEI25, энхансер вальпроат натрия, подпитка). В данном варианте уровень продукции целевого белка оставался прежним или увеличивался на 20-30% по сравнению со стандартным протоколом.

Таким образом, в работе показана возможность модификации имеющейся системы для транзиентной трансфекции Expi293F с полным или частичным отказом от исходных компонентов. Благодаря этому удастся снизить зависимость от поставщика, а также продлить срок хранения расходных материалов, тем самым повышая надежность процессов получения рекомбинантных белков.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОТ-АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНТИГЕНОВ ВО ФРАКЦИЯХ И ТАБЛЕТКАХ ХОЛЕРНОЙ ВАКЦИНЫ

Дуракова О.С., Громова О.В., Воробьева С.А., Киреев М.Н., Ливанова Л.Ф., Клокова О.Д., шарапова Н.А., Волох О.А.

ФКУЗ РосНИПЧИ "Микроб", Саратов, Россия

*durakova92@list.ru*

Холерная химическая вакцина, разработанная в РосНИПЧИ «Микроб» и зарегистрированная на территории России, состоит из холерогена-анатоксина и О-антигенов холерного вибриона сероваров Инаба и Огава (О-Аг). Для контроля активности О-Аг на этапах производства вакцины применяют реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), при этом проводят сложную пробоподготовку, учет реакции производят на следующий день, коммерческие наборы отсутствуют. Поэтому разработка и внедрение новых информативных экспрессных методов контроля О-Аг в процессе производства вакцины весьма актуально.

Этим требованиям отвечает вариант дот-иммуноанализа (ДИА) с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А и коллоидного золота (КЗ), технически простого и воспроизводимого экспрессного метода. Для оценки активности О-Аг Инаба и Огава были





протестированы по 7 серий специфических фракций холерной химической вакцины. Активность О-Аг Инаба составила в среднем  $1:256 \pm 24$ , а активность О-Аг Огава –  $1:512 \pm 48$ , при этом выявлена корреляция с титрами РНГА (коэффициент корреляции 0,79). Далее мы применили вариант ДИА для тестирования таблеток вакцины. Вспомогательные вещества, входящие в состав вакцины, мешают определению антигенов в пробах, поэтому для проведения РНГА разработана сложная пробоподготовка, включающая в себя щелочной гидролиз растворенной таблетки. Проведение ДИА с КЗ с 5 серией вакцины было установлено, что О-Аг в таблетке выявлен без предварительной пробоподготовки (титр с нативным раствором в ДИА в среднем  $1:2048 \pm 198$ ). Предлагаемый вариант ДИА позволяет значительно упростить анализ готового препарата.

Таким образом, впервые, для определения О-антигенов, входящих в состав холерной вакцины предлагается применять ДИА с КЗ. Метод экономичен, позволяет получать результаты в течение короткого времени, не требует специального оборудования.

## **СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАК ВОЗМОЖНЫЙ КОМПОНЕНТ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА**

**Журенков К. Э.<sup>1,2</sup>, Гаврилюк И.О.<sup>3</sup>, Хорольская Ю.И.<sup>1</sup>, Александрова О.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО ВМА им. С.М.Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

*kirill.zhurenkov.97@mail.ru*

В структуре заболеваний органа зрения патологические состояния роговицы составляют около 25%. Чаще всего они обусловлены дисфункцией или недостаточностью лимбальных эпителиальных стволовых клеток (ЛСК). Такие заболевания объединяются термином «лимбальная недостаточность» (ЛН). Существуют различные подходы для лечения ЛН и восстановления целостности роговицы: кератопластика, ауто- и аллолимбальная трансплантация, трансплантация скаффолдов с культивируемыми *in vitro* ЛСК. В связи с дефицитом донорского материала, необходимого для восстановления функциональности лимба и роговицы, рассматриваются различные источники клеточного компонента для создания таких клеточно-инженерных конструкций. Альтернативным вариантом могут выступать мезенхимальные стволовые клетки буккального (защечного) эпителия. Использование данного клеточного типа открывает возможности применения аутологичного клеточного материала, исключая риск заражения и отторжения клеточно-инженерного продукта. Кроме того, забор биоптатов для получения этих клеток не сопряжён с рисками для здоровья пациента.

Целью настоящего исследования явилась отработка методов введения в культуру *in vitro* стволовых клеток буккального эпителия и исследование возможности создания клеточно-инженерных конструкций с использованием полученных клеток и амниотической мембраны (АМ) для дальнейшего применения в регенеративной медицине.

Стволовые клетки буккального эпителия выделяли миграционным и ферментативным способом из фрагментов ткани буккального эпителия кролика породы шиншилла и человека. Характеристику популяции проводили с использованием методов цитофлуориметрии. Для приготовления матриц на основе АМ применяли различные методы консервации амниона: гипотермическое хранение АМ в растворах антибиотиков при  $+4^{\circ}\text{C}$  (нативный) и криоконсервация при  $-20^{\circ}\text{C}$  и  $-80^{\circ}\text{C}$ .

В настоящей работе мы ввели в культуру *in vitro* и охарактеризовали по основным стволовым маркерам и маркерам дифференцировки популяцию клеток буккального эпителия человека и сравнили её с популяцией лимбальных стволовых клеток. А также изучили взаимодействие клеток буккального эпителия и матриц на основе АМ. Данное исследование направленно на поиск альтернативного источника клеток, необходимых для восстановления эпителия роговицы при синдроме лимбальной недостаточности.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 14-50-00068.



## ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ПОЧВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АВТОХТОННОЙ МИКРОФЛОРЫ

**Заборская О.Ю., Крамм Э.А., Заборская А.Ю.**

ФГБОУ ВО Московский политехнический университет, Москва, Россия

*O\_ZA92@mail.ru*

Традиционно предполагалось, что микроорганизмы, применяющие углеводороды нефти и нефтепродуктов в качестве источников питания, встречаются только там, где нефть присутствует постоянно или систематически попадает в окружающую среду. Это могут быть территории близ нефтедобывающих и нефтеперерабатывающих предприятий, трубопроводов, теплотрасс, по которым совершается транспортировка. Однако позже было доказано, что нефтеокисляющие организмы распространены практически повсеместно.

Процесс биологической очистки почв от нефтяных загрязнений, или биоремедиация, основывается на природной способности микроорганизмов, бактерий, растений или почвенных животных преобразовывать вещества-загрязнители в безопасные соединения.

Естественная нефтеокисляющая микрофлора исследованной нами почвы представлена микроорганизмами: бактерии родов: *Pseudomonas*, *Rhodococcus*; дрожжи рода *Candida*; актиномицеты рода *Streptomyces*.

Для обеспечения наиболее благоприятных условий для жизнедеятельности микроорганизмов рационально использовать специализированные биореакторы. Данные аппараты позволяют значительно ускорить естественный процесс очистки. С целью совершенствования конструкции аппарата и мешалки-аэратора нами был разработан лабораторный биореактор. Он представляет собой вертикальный цилиндрический аппарат со съемной крышкой, установленная сателлитная мешалка-аэратор выполняет функцию как перемешивающего устройства, так и аэратора.

Проведенные нами эксперименты по биоремедиации почв в биореакторе показали, что режим аэрации играет важную роль в процессе биоокисления углеводородов. Так, при незначительной разнице общего микробного числа (относительно контроля) в начале эксперимента, в конце эксперимента оно более чем в 1,5 раза выше в биореакторе с аэрирующим устройством.

С целью совершенствования конструкции аппарата был разработан конический аппарат с сателлитной мешалкой-аэратором. Коническая форма реактора способствует эффективной выгрузке обработанного грунта, минимизирует риск образования застойных зон. Максимальный объем обрабатываемой почвы ограничен только конструктивными параметрами аппарата.

## ВЛИЯНИЕ АЦЕТОНИТРИЛА НА КЛЕТКИ НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В БИОПЛЕНКЕ И СУСПЕНЗИИ В СОСТАВЕ МОНО- И СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЫ

**Зорина А.С., Максимова Ю.Г.**

Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*cjcyf\_92@mail.ru*

Нитрилы имеют важное значение в органическом синтезе, используются в качестве растворителей, экстрагентов, сырья для получения лекарственных средств и т.д. Большие объемы производства ацетонитрила приводят к попаданию этого токсичного соединения в окружающую среду. В настоящее время известно множество микроорганизмов, способных трансформировать нитрилы до соответствующих карбоновых кислот в одну или две стадии, что позволяет применять биокатализаторы на основе нитрилгидролизующих бактерий для локальной очистки стоков, жидких и твердых отходов промышленности. В связи с этим изучение трансформации ацетонитрила и его влияния на микроорганизмы представляется актуальным.

Было изучено влияние ацетонитрила в высокой концентрации на энергетический статус и ферментативную активность клеток биопленок и свободных клеток *Alcaligenes faecalis* 2 в монокультуре и клеток *Al. faecalis* 2 и *Rhodococcus ruber* gt1 в составе смешанной культуры. Биопленки выращивали в лунках 24-луночного планшета. Энергетический статус оценивали по



методу биолюминесценции с люциферин/люциферазным реагентом. Ферментативную активность определяли методом газовой хроматографии по образованию амида.

При последовательном внесении ацетонитрила каждые 10 минут было показано, что и клетки в суспензии, и клетки биоплёнок погибают после десяти циклов внесения ацетонитрила (до концентрации 524 г/л), что выражалось в падении содержания внутриклеточной АТФ с  $3,8 \cdot 10^{-9}$  до  $1,3 \cdot 10^{-10}$  М/лунку в суспендированных клетках. Клетки бактерий не успевают за такой короткий срок адаптироваться к высокой концентрации токсичного субстрата или трансформировать его, что приводит к их гибели.

При проведении аналогичного эксперимента с частотой внесения ацетонитрила каждые сутки было показано, что большинство суспендированных клеток и клеток в составе биопленок выживают. В смешанной культуре наблюдалось увеличение количества АТФ с  $2,4 \cdot 10^{-10}$  до  $3,1 \cdot 10^{-10}$  М/лунку, что связано со снижением концентрации ацетонитрила при трансформации *R. ruber* gt1 до нетоксичного ацетамида. При этом возрастание концентрации АТФ в клетках может свидетельствовать об увеличении количества клеток за счет их роста.

Таким образом, смешанная культура нитрилгидролизующих бактерий более устойчива к воздействию ацетонитрила за счет высокой нитрилгидратазной активности родококка, что может быть использовано для очистки среды от ацетонитрила.

Работа поддержана Комплексной программой УрО РАН, проект №18-3-38-2119.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬФА-СПИРАЛЬНЫХ И ЛИПОПЕПТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКАХ ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ**

**Зыкова А.А., Куприянов В.В.**

ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

*Nuta2109@gmail.com*

Создание противогриппозных вакцин, основанных на высококонсервативных эпитопах белков вируса гриппа, является актуальной задачей профилактики гриппа. Внеклеточный домен высоко консервативного М2 белка (М2е) вируса гриппа, является перспективным для создания «универсальной» гриппозной вакцины. Сам пептид слабо иммуногенный. Одним из путей для улучшения иммуногенности рекомбинантного белка является использование липопептидных последовательностей в его составе в качестве адъюванта. Известно, что сочетание альфа-спиральных линкеров и последовательности липопептида *Neisseria meningitidis* на N- и на С-концах молекулы способствует агрегации рекомбинантных белков с образованием наночастиц, что способствует повышению иммуногенности вакцинного препарата.

Целью нашей работы было изучение влияния пептидных спиральных линкеров и последовательности липопептида *N. meningitidis* в рекомбинантных белках на основе повторов М2е пептида вируса гриппа человека на способность образовывать наноразмерные частицы и иммуногенность рекомбинантных белков.

Были сконструированы гены, кодирующие рекомбинантные белки, которые включали четыре и восемь повторов последовательностей М2е пептида вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) в сочетании со спираль-образующими линкерами, фланкирующими эти последовательности и отделяющими последовательности липопептида *N. meningitidis* на N- и С-концах. Эти гибридные белки были экспрессированы в клетках *E.coli* и выявлялись в нерастворимой фракции после лизиса клеток. Находящиеся в осадке белки растворяли в 7М гуанидин хлориде и очищали, используя металл-аффинную хроматографию. Это позволило получить растворимый белковый препарат. Иммуногенность рекомбинантных белков проверяли на мышах Balb/c. Сыворотки оценивали, используя метод иммуоблоттинга и иммуоферментный анализ.

В результате были подобраны условия для эффективной экспрессии рекомбинантных белков, содержащих 4 и 8 копий последовательностей М2е пептида и липопептид *N. meningitidis* на N- и С-концах. Очищенные рекомбинантные белки, содержащие липопептид, после диализа образовывали наночастицы, выявляемые с помощью анализатора размера частиц (Zetasizer NanoS90, Malvern). Иммунизация мышей очищенными препаратами рекомбинантных белков, содержащих липопептид, обеспечила индукцию более высоких титров специфических антител по сравнению с белками, не содержащими липопептид.



Таким образом, включение липопептида *N. meningitidis* на N- и C- концах в рекомбинантных белках, содержащих 4 и 8 копий M2e пептида, позволяет получить высокоиммуногенный препарат с самоадьювантными свойствами для профилактики гриппа.

## **МОДИФИКАЦИЯ ЭКСПРЕССИОННОЙ РЕТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БЕСКЛЕТОЧНОМ СИНТЕЗЕ БЕЛКА**

**Казловский И.С., Рымко А.Н., Береснев А.И., Зинченко А.И.**

Институт микробиологии НАН Беларуси, Республика Беларусь

*grafleo139@gmail.com*

Реакционная смесь для бесклеточного синтеза белка (БСБ) – открытая система без физических барьеров, такие как клеточные мембраны. Система БСБ предусматривает транскрипцию гена и трансляцию мРНК *in vitro* – в лизате клеток, в который вносят рекомбинантную ДНК, аминокислоты, нуклеотиды, кофакторы и АТФ-регенерирующую систему. Эндогенная генетическая информация (ДНК и мРНК) при этом удаляется.

Для осуществления синтеза белка необходимо добавление в реакцию ДНК, это может быть плазмидная ДНК, ПЦР-продукт или геномная ДНК. Чаще всего для бактериальных систем БСБ используют плазмиды, несущие нуклеотидную последовательность промотора для инициации синтеза мРНК. Одним из популярных векторов, который используется в генной инженерии — это рЕТ42a(+). Он включает в себя нуклеотидную последовательность T7-промотора и T7-терминатора. С данного промотора осуществляется синтез мРНК специфичным для него ферментом – РНК-полимераза бактериофага T7. Вышеупомянутый вектор является низкокопийным, и это создает сложности с получением нужной для реакции БСБ концентрации плазмиды (не менее 400 нг/мкл).

В литературе встречается несколько методов повышения копийности плазмиды. Один из них, это введение делеционной мутации по гену *rop* и дополнительных мутаций в сайт репликации *ori*. Ген *rop* кодирует небольшой димерный белок, который участвует в механизме регуляции количества копий плазмиды семейства ColEI, за счет увеличения аффинности между двумя комплементарными РНК.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явилась модификация экспрессионной рЕТ-системы для использования в БСБ.

В результате выполнения работы был удален ген *rop* из коммерческого вектора рЕТ42a(+), а так же введена точечная мутация в сайт репликации *ori*, что позволило создать высококопийную плазмиду рEt42mut. Согласно анализу методом количественной ПЦР в режиме реального времени, количество копий плазмиды рEt42mut, по сравнению с первоначальным вектором, возросло в 10 раз. По нашему мнению, применение такой модифицированной плазмиды может позволить избавиться от необходимости проведения препаративной наработки плазмиды перед постановки реакции БСБ.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ РЕКОМБИНАНТНОГО ТАУМАТИНА II ИЗ ТРАНСГЕННЫХ ПЛОДОВ ТОМАТА**

**Козлов О.Н., Фирсов А.П., Шалойко Л.А., Тарасенко И.В., Долгов С.В.**

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

*oeg632@yandex.ru*

Тауматин, суперсладкий белок из растения *Thaumatococcus daniellii*, является перспективным подсластителем с нулевой калорийностью для использования в пищевой и фармацевтической отраслях промышленности (пищевая добавка E957). Тауматин представлен в плодах *T. daniellii* в пяти вариантах: двух основных- тауматин I и II и трёх минорных - а, b и с. Тауматин относится к обширному семейству связанных с патогенезом белков (группа PR5). Он обладает противогрибной активностью и, как предполагается, несет защитные функции в растениях. Аминокислотные последовательности всех вариантов тауматина незначительно отличаются друг от друга и им всем свойственно вызывать сладкий вкус с характерным



последствием при концентрациях выше 50 нМ. Из-за ограниченности природных источников тауматина его производство с использованием трансгенных растений является перспективной альтернативой.

Ранее в лаборатории были получены трансгенные растения томата сорта Ялф, экспрессирующие ген тауматина II. Нами разработан простой протокол выделения и очистки рекомбинантного тауматина II из плодов трансгенного томата. Тауматин экстрагировали из спелых плодов в солевом буфере и очищали методом ионнообменной хроматографии. Средний выход рекомбинантного тауматина составил более 50 мг/кг свежих плодов. MALDI-MS анализ показал соответствие молекулярной массы рекомбинантного тауматина молекулярной массе натурального, что указывает на его корректный процессинг в растениях томата. Органолептическим анализом было показано полное соответствие вкусовых характеристик рекомбинантного тауматина соответствующим характеристикам природного тауматина, выделенному из растений *T. daniellii*. Тауматин, полученный из трансгенных томатов, как и природный, вызывал ощущение сладкого вкуса при концентрации около 50 нМ.

С целью изучения возможности технологической переработки, нами были законсервированы плоды томата- продуцента тауматина II в соответствии с ГОСТ 7181-73. Консервированные томаты хранили 6 месяцев при +4°C. Вестерн блот анализ выявил присутствие тауматина в консервированных плодах, его содержание было практически такое же, как и перед переработкой. Органолептический анализ консервированных томатов выявил наличие сладкого вкуса и характерного послевкуся. Вкусовые качества трансгенных плодов оценивались более высоко, чем плодов, полученных с контрольных нетрансформированных растений, консервированных аналогичным способом.

Полученные нами результаты подтверждают возможность использования растений томата как для получения рекомбинантного тауматина, так и для улучшения потребительских свойств этой культуры.

## СОЗДАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНЫХ РЕЦИПИЕНТНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ТАРГЕТНОГО ВНЕДРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ

**Козлова Е.С.<sup>1,2</sup>, Козлов А.Е.<sup>2</sup>, Доронин А.Н.<sup>2</sup>, Басовский Ю.И.<sup>1,2</sup>, Соловьев В.В.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ЗАО BIOCAD, Любучаны, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия

*kozlovaes@biocad.ru*

Процесс создания стабильных генно-инженерных клеточных линий может длиться несколько месяцев и включает в себя такие этапы как трансфекция клеток, выращивание на селективных средах, клонирование и анализ клонов. При этом вследствие встраивания генетической конструкции в случайное место в геноме, наблюдается высокая гетерогенность по уровню экспрессии между отдельными клетками, что приводит к необходимости скрининга большого числа клонов.

Поэтому, для сокращения временных затрат и уменьшения гетерогенности уровня экспрессии, было предложено использовать распространенную Flp/FRT систему сайт-специфической рекомбинации. Она позволяет внедрять целевую конструкцию в строго определенное место в геноме. Это делает необязательными этапы клонирования и анализа клонов, т.к. клетки в получаемой популяции имеют близкий уровень экспрессии внедренных генов. Однако реципиентная линия предварительно должна быть модифицирована и иметь FRT сайт в своем геноме. При этом местоположение FRT сайта в геноме должно обеспечивать качественную и корректную экспрессию встраиваемых по этому сайту генов.

Целью данной работы является создание универсальных реципиентных клеточных линий Jurkat и HEK293 для таргетного внедрения репортерных генетических конструкций.

В ходе данного исследования был собран вектор, в состав которого входят гены, кодирующие рецепторный белок 4-1BB, зеленый флуоресцентный белок GFP под NF-κB-зависимым промотором, селективный маркер и FRT сайты рекомбинации. При пробной трансфекции клеток данным вектором была показана экспрессия гена, кодирующего 4-1BB, по наличию рецептора на поверхности клеток, и подтверждена корректная работа репортерной части



генетической конструкции. Таким образом, создана модельная генетическая конструкция, которая может использоваться для определения оптимального места встраивания FRT сайта.

В дальнейшем планируется получить клеточные линии Jurkat и HEK293 с внедренной модельной генетической конструкцией. После этого будет проведен отбор клонов с корректной экспрессией генов 4-1BB и GFP. Затем будет удалена последовательность между двумя FRT сайтами, вместе с генами 4-1BB и GFP. В результате будут созданы универсальные реципиентные клеточные линии для таргетного внедрения генетических конструкций с помощью Flp/FRT системы сайт-специфической рекомбинации.

## **СЕРИНОВАЯ ПРОТЕИНАЗА *BACILLUS PUMILUS* В КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНОЙ БИОДОБАВКИ В КОРМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ**

**Корягина А.О., Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р.**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан

*Tihonovaao93@gmail.com*

Одной из важнейших проблем современного сельского хозяйства является удорожание источников протеина для производства кормов. Ключевым условием для достижения рентабельности производства является повышение усвояемости белка в рационе сельскохозяйственных животных, в частности птиц. Одним из способов снижения затрат при сохранении продуктивности птицы является добавление в корма фермента протеазы. Протеазы гидролизуют сложные белки на мелкие абсорбируемые фракции. Это сопровождается повышением уровня энергии корма, улучшением переваримости протеина и увеличением доступности питательных веществ, таких как крахмал, аминокислоты и жиры.

В настоящей работе тестировали субтилизиноподобную протеиназу (ArgPr) *Bacillus pumilus* в качестве перспективного биопрепарата для повышения биомассы бройлерных кур. Для получения фермента в препаративных количествах подбирали оптимальный штамм-продуцент. Выбор штамма продуцента определялся способностью обеспечить высокий уровень активности протеиназы и скоростью биосинтеза. В качестве штамма-продуцента был выбран штамм *B. subtilis* pCS9, полученный путем трансформации мультикопийной плазмиды pCS9 в протеазодефицитный штамм AJ73. Определен пик активности фермента, который приходился на 24 час культивирования. Для дальнейшего процесса масштабирования были подобраны оптимальные условия культивирования и определены физико-химические свойства протеиназы. Показано, что протеиназа сохраняла стабильность в интервале pH 7–10. В интервале pH 3–11 падение активности не превышает 40%. Температурный оптимум субтилизиноподобной протеиназы +37°C. Кроме этого, протеиназа не подавляется природными ингибиторами, что позволит ей функционировать в желудочно-кишечном тракте кур. Очистку субтилизиноподобной протеиназы из рекомбинантного штамма *B. subtilis* pCS9 проводили на колонке с карбоксиметил-целлюлозой. Гомогенность препарата устанавливали электрофоретически, фракция белка после хроматографии на КМ-целлюлозе показала наличие белка с молекулярной массой 28 кДа, что соответствует молекулярной массе сериновой протеиназы.

Таким образом, субтилизиноподобная протеиназа *B. pumilus* обладает высоким биотехнологическим потенциалом в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственной птицы.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и поддержана грантом РНФ № 16-16-04062

## **ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДНК-АПТАМЕРАМИ**

**Кропанева М.Д.<sup>1</sup>, Храмцов П.В.<sup>1,2</sup>, Раев М.Б.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ПГНИУ, Пермь, Россия; <sup>2</sup>ПНЦ УрО РАН, Пермь, Россия

*kropanevamasha@gmail.com*

Аптамеры - это короткие одноцепочечные молекулы РНК или ДНК, способные с высокой аффинностью и специфичностью связываться с молекулой-мишенью или проявлять каталитическую активность благодаря своей определенной пространственной структуре. Одной из



наиболее перспективных сфер в этой области является разработка конъюгатов аптамеров, иммобилизованных на поверхности наноматериалов, широко применяемых в *in vitro* диагностике, адресной доставке лекарственных средств, биоспецифической очистке биологических молекул. Большую роль играет изучение стабильности таких биоконъюгатов, так как этот параметр во многом определяет успех их применения.

Целью данного исследования является разработка метода получения стабильных конъюгатов на основе ДНК-аптамеров, иммобилизованных на поверхности углеродных наночастиц, и оптимизация условий их хранения.

Конъюгаты углеродных наночастиц (УНЧ) с аптамерами получали при помощи взаимодействия биотин-стрептавидин: биотинилированный аптамер инкубировали с УНЧ, связанными со стрептавидином (С-Str). В ходе работы было показано, что наиболее эффективное соотношение аптамера и С-Str это 250 пМ аптамеров/1 мг С-Str. Данное соотношение позволяет достичь оптимальной специфической сорбции (100-130 пМ/1 мг С-Str), при повышении данного соотношения процент сорбированного аптамера от его исходного количества резко снижается. Полученные результаты воспроизводились для 3-х разных партий конъюгатов УНЧ.

Далее были проведены исследования по изучению стабильности ДНК-аптамеров, иммобилизованных на поверхности УНЧ. Известно, что для предохранения ДНК от действия нуклеаз используется ЭДТА, так как данное соединение является хелатором двухвалентных ионов, необходимых для работы нуклеаз. Еще один способ деактивации нуклеаз это тепловая обработка при +55 - +70°C в течение 10-30 минут. Поэтому было решено протестировать несколько способов хранения конъюгатов: добавление в фосфатный буфер 2мМ ЭДТА и/или предварительное прогревание конъюгатов (+70°C в течение 30 мин). Также были протестированы разные температурные режимы, обычно используемые при работе с биоконъюгатами: +4, +37, -20°C. Было показано, что при хранении в течение 30 дней при +4°C и -20°C в буфере с добавлением ЭДТА не наблюдается десорбция аптамеров с поверхности УНЧ, сохраняются функциональные свойства конъюгатов и размеры УНЧ (60 нм).

Разработанную технологию можно использовать при синтезе конъюгатов на основе различных углеродных наноматериалов и аптамеров.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Пермского края в рамках научного проекта 16-44-590427 р\_а.

## БИОДЕГРАДАЦИЯ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛКАНОТРОФНЫХ РОДОКОККОВ

Черемных К.М.<sup>1,2</sup>, Лучникова Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Россия; <sup>2</sup>Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*luchnikova.n@mail.ru*

Дегидроабиетиновая кислота (ДАК) – токсичный трициклический дитерпеноид, детектируемый в составе сточных вод целлюлозно-бумажной промышленности. ДАК проявляет острую токсичность по отношению к представителям водной фауны, что может приводить к нарушению экологического баланса природных систем. В настоящее время актуален поиск методов очистки промышленных стоков, основанных на использовании ферментативной активности микроорганизмов. Одной из активно изучаемых групп биодеструкторов являются актинобактерии рода *Rhodococcus*. По литературным данным, применение нерастущих и иммобилизованных бактериальных клеток позволяет повысить эффективность процесса биodeградации экотоксикантов. Цель настоящей работы – изучение возможности использования нерастущих и иммобилизованных родококков для оптимизации процесса биodeградации ДАК.

В работе использовали штамм *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 107 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, номер во ВФКК 768, [www.iegmr.ru](http://www.iegmr.ru)), способный деградировать 500 мг/л ДАК в течение 7 сут в присутствии *n*-гексадекана. Для получения нерастущих клеток родококки предварительно выращивали в мясопептонном бульоне (МПБ). В стационарной фазе роста клетки осаждали центрифугированием и отмывали фосфатным буфером. Отмытые клетки ресуспендировали в буферном растворе (рН 6,



7, 8), оптическую плотность суспензий довели до значений  $OP_{600}$  1,5, 2,0 и 2,5. ДАК растворяли в этаноле (1:10) и вносили в концентрации 500 мг/л. Для проведения иммобилизации родококки предварительно выращивали в МПБ. В качестве носителей использовали полипропиленовые диски (Wuhu Ecotech Trade Company, Китай) или техническую ткань (ООО УкрматериалИнвест, Украина). Процесс адсорбции клеток осуществляли в течение 3 сут, незакрепленные бактериальные клетки отмывали фосфатным буфером.

Показано, что нерастущие клетки проявляют наибольшую биodeградебельную активность в отношении ДАК по сравнению с таковой иммобилизованных родококков. На уровень их каталитической активности влияет количество биомассы и показатель кислотности среды. Использование бактериальной суспензии ( $OP_{600}$  2,5) в слабощелочных (рН 8) условиях среды приводит к существенному сокращению (с 7 до 3 сут) продолжительности процесса биodeградации ДАК. Наиболее эффективным оказалось использование технической ткани в качестве носителя. При этом иммобилизованные родококки деградировали ДАК в течение 5 сут. Неспецифическая сорбция ДАК составляла менее 2%.

Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО и государственным заданием 6.3330.2017/ПЧ Минобрнауки России.

## **ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ПРИ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ КУЛЬТУРНЫХ ФОРМ *CORYLUS AVELLANA* (L.) H. KARST**

**Малахова К.В., Марамохин Э.В.**

ФГБОУ ВО "Костромской государственной университет", Кострома, Россия

*malakhova.kv1@gmail.com*

Одной из самых перспективных культур, имеющих промышленный потенциал для плантационного выращивания в нашей стране, является лещина обыкновенная (*Corylus avellana* (L.) H. Karst.), плоды которой высоко ценятся в пищевой промышленности. На сегодняшний день селекционерами выведено множество гибридных сортов лещины обыкновенной *C. avellana*. Метод клонального микроразмножения является практически единственным методом вегетативного размножения ценных сортовых форм данного вида.

В текущей работе была определена цель: оптимизировать питательную среду на этапе клонального микроразмножения культурных форм *Corylus avellana* (L.) H. Karst в условиях *in vitro*.

В качестве донорных эксплантов был использован меристематический материал вегетативных почек и метамеров молодых побегов. Стерилизация растительного материала производилась 70° этиловым спиртом (экспозиция 1 минута) и 3% гипохлоритом натрия (экспозиция 18 минут). Для пассажа эксплантов были использованы модифицированные питательные среды по прописи Murashige & Skoog (MS) и Driver-Kuniyuki Walnut (DKW) с добавлением 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 0,5 мг/л тиамина, 0,5 мг/л пиридоксина, 5,0 г/л агара, 20 г/л компонентов углеводного питания. В качестве источников углеводного питания были использованы глюкоза и сахароза в соотношении 60% и 40%. Количество нитрата кальция 4-водного составляло 1000 мг/л. Также были использованы регуляторы роста 6-бензиламинопурина (6-БАП), гибберелловая кислота (ГК) и β-индолилуксусная кислота (ИУК) в общепринятых для этапа размножения концентрациях.

Результаты данного исследования показали: на 45 сутки культивирования на модифицированной питательной среде DKW наблюдалось в среднем 6,7 метамеров на 1 микропобеги, что является более оптимальным результатом по сравнению со средой MS (в среднем 5,4 метамера).





## СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ ДЕТЕКЦИЯ НИЗКОКОПИЙНЫХ БЕЛКОВ С ПОМОЩЬЮ НАНОПРОВОДНОГО БИОСЕНСОРА

**Мальсагова К. А., Иванова И.С., Шумов И.Д., Иванов Ю.Д.**

ФГБНУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,  
Москва, Россия

*kristina.malsagova86@gmail.com*

Возможность обнаружения в сыворотке крови маркеров широкого спектра заболеваний на ранней бессимптомной стадии позволит в разы снизить случаи летальных исходов, повысить эффективность лекарственной терапии и качество жизни пациентов. На сегодняшний день применение стандартных диагностикомов для ранней детекции биомаркеров ограничено по следующим причинам: длительность выполнения анализа, дорогостоящие реагенты и оборудование, сложная пробоподготовка. В связи с этим актуальным представляется разработка недорогих аналитических систем, которые лишены вышеописанных недостатков. Примером такой системы является молекулярный нанопроводной биосенсор (НП-биосенсор), основой которого является чип с интегрированной системой кремниевых нанопроволок в качестве сенсорного элемента. НП-биосенсора позволяет выполнять регистрацию белковых молекул в режиме реального времени с небольшим количеством анализируемого биологического материала без использования специальных химических или ферментных меток. Был разработан метод функционализации поверхности нанопроволок для детекции поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и кор-антигена вируса гепатита С (HCVcoreAg). Аналитическая чувствительность методов составила  $10^{-14}$ М и  $10^{-15}$ М, соответственно. Разработан метод детекции белков, ассоциированных с развитием онкологических заболеваний – альфа-фетопротеина (АФП) и D-NFATc1 с аналитической чувствительностью  $10^{-15}$ М. Сопоставимые концентрационные чувствительности для детекции целевых белков были показаны и для образцов сыворотки крови.

## АГРОТЕХНИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ ДОНОРНЫХ РАСТЕНИЙ *SCHISANDRA CHINENSIS* (TURCZ.) BAILL. И ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *ARALIACEAE* ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO

**Марамохин Э.В., Малахова К.В.**

ФГБОУ ВО Костромской государственной университет, Кострома, Россия

*maramokhin91@mail.ru*

Проведение агротехнических мероприятий является важнейшей составляющей при проведении клонального микроразмножения растений и повышении устойчивости растений, находящихся на этапе интродукции. *S. chinensis*, *E. senticosus* и *A. mandshurica* были высажены как донорные растения на опытном участке с разными условиями. На первой территории имелось естественное затенение и торфяной субстрат, второй участок был без затенения с супесчаной хорошо дренированной почвой. После 3-х летнего наблюдения нами была проведена оценка результатов. Растения *S. chinensis* и *E. senticosus* на торфяной смеси в затенении имели медленный рост. Однако эти растения с морфологической точки зрения были более правильно развиты без признаков ожога на листьях и поражения вредителями. На участке, находящимся на открытой местности с супесчаной почвой, эти растения вегетировали интенсивней, наращивая фитомассу, кроме того у них уже на третий год появлялись генеративные почки и соцветия. На многих листьях имелись признаки ожогов, поражения микопатогенами и некоторыми вредителями. У *A. mandshurica* значительных различий в росте не наблюдалось. И на первом, и на втором участках отмечался бурный прирост фитомассы, листья были крупными и развитыми, растения хорошо переносили заморозки.

Полив и подкормки растений проводили по специальной схеме для того, чтобы подготовить их для введения в культуру in vitro. В среднем полив осуществлялся 15 – 20 раз за сезон. Для обеспечения растений минеральным питанием использовалось комплексное удобрение Фертика. В первый год посадки на одно растение использовали 10 г удобрения на 10 л воды, раз в две недели на протяжении всего вегетационного периода. На второй год норму внесения уменьшили в два раза, т.е. стали вносить 5 г на 10 л воды. На третий год норму внесения сократили еще в 2 раза, т.е.



2,5 г на 10 л воды. В состоянии минерального голода растения лучше отзываются на питательную среду, а также лучше укореняются. Осуществлялась так же борьба с фитопатогенами. Для *A. mandshurica* основным вредителем стала тля (род *Aphidoidea*), а для *E. senticosus* и *S. chinensis* микопатоген рода *Septoria*, вызвав одноименное заболевание септориоз. Для борьбы с данными фитопатогенами использовались два основных метода - физический и химический. Для обработки *A. mandshurica* против тли использовали инсектицид имидаклоприд. Для борьбы с пятнистостью листьев у *S. chinensis* и *E. senticosus* использовали фунгицидный препарат процимидон. Таким образом, были изучены и усовершенствованы агротехнические приемы возделывания маточных растений для получения донорных эксплантов в культуре *in vitro*.

## ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ ЛИМБАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

**Машель Т.В.<sup>1,2</sup>, Александрова О.И.<sup>2</sup>, Переpletчикова Д.А.<sup>1,2</sup>, Журенков К.Э.<sup>3,2</sup>, Писугина Г.А.<sup>3,2</sup>, Хорольская Ю.И.<sup>2</sup>, Гаврилюк И.О.<sup>4</sup>, Карпович В.В.<sup>4</sup>, Нащёкина Ю.А.<sup>2</sup>, Блинова М.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова МО, Санкт-Петербург, Россия

*t.mashel@ya.ru*

Во всем мире наблюдается неуклонный рост глазных патологий, для целого ряда которых на данный момент не существует патогенетически обусловленных методов лечения, что приводит к низкой эффективности терапии и росту инвалидизации пациентов. Решением этой проблемы может стать применение биомедицинских клеточных технологий в офтальмологии.

В литературе широко освещены исследования по возможности лечения целого ряда заболеваний глаз с использованием культивируемых стволовых клеток различного происхождения в составе клеточно-инженерных конструкций. Достаточно часто для этих целей используют лимбальные стволовые клетки (ЛСК), расположенные в складках палисадов Фогта и составляющие особый пул стволовых клеток в области базального эпителия лимба, благодаря которым происходит физиологическое и репаративное восстановление эпителия роговицы. Известно, что успех в создании биологических эквивалентов тканей во многом зависит от особенностей поведения клеток *in vitro* и их взаимодействия со скаффолдами. По этой причине особое внимание уделяется изучению именно этих вопросов.

Целью настоящего исследования явилось изучение поведения ЛСК *in vitro* в различных условиях культивирования. В работе были использованы стволовые клетки, выделенные из фрагментов ткани лимба кролика и человека.

В ходе исследования изучено взаимодействие ЛСК и матриц на основе коллагена I типа, амниотической мембраны, контактных линз и др. Изучены особенности длительного 2D и 3D культивирования ЛСК.

Полученные данные имеют большое значение при выборе оптимальных условий культивирования стволовых клеток лимба для создания на их основе клеточно-инженерных конструкций, впоследствии используемых в офтальмотравматологии.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 14-50-00068.



## ТЕЛЕМЕДИЦИНСКАЯ ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ДИСТАНЦИОННОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ ВНУТРИУТРОБНОГО ПЛОДА ДЛЯ МАССОВОГО МОНИТОРИНГА БЕРЕМЕННЫХ

**Минаев Н.С.<sup>1,2</sup>, Субботина Л.М.<sup>1,2</sup>, Миловидов Г.Д.<sup>1,2</sup>, Минаев И.С.<sup>1,2</sup>, Сенин А.А.<sup>1,2</sup>,  
Казанцев А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пушкино, Россия

*hels2005@rambler.ru*

С целью предупреждения отклонений в развитии плода и предотвращения преждевременной рождаемости создана информационная измерительная система для массового телемедицинского обслуживания беременных, автоматизирующая проведение исследований на основе оценок состояния плода по вариабельности сердечного ритма и внутрисердечной гемодинамики.

Наиболее распространенное проявление осложнений беременности принимает форму гипоксии, недостатка кислорода, что отражается на сердцебиении плода и может быть диагностировано неинвазивным путём, с помощью ультразвука доплерографического датчика.

В процессе систематического и непрерывного сбора информации выявляются отклонения от нормы, позволяющие врачу установить диагноз, назначить лечение и отслеживать его эффект.

Созданное программное обеспечение реализует анализ доплерограмм, позволяя получить распространенные в клинической практике параметры, аналогично кардиотокографии (КТГ).

Собранные в такой системе большие массивы накопленных данных (BigData), после их обезличивания, дают возможность поиска большего числа диагностических признаков, повышения качества мониторинга и, применяя алгоритмы вычислительного интеллекта (Deep Learning), позволяют создавать новые передовые методы исследования.

Для повышения качества измерений показателей кровотока, отображающих состояние плода, был изготовлен макет стерео-зонда. Для испытания макета разработана и собрана экспериментальная установка, позволяющая измерять скорости потока, симулирующего объемные импульсы кровотока, объемом от 0.5 до 60 см<sup>3</sup> и частотой до 180 импульсов в минуту.

Профили внутрисердечного кровотока плода различаются в зависимости от ракурса доплера относительно сердца плода. Была поставлена и решена задача детектирования профилей в доплерограмме с помощью пространственной решетки из 100 свёрточных нейронных сетей, каждая из которых имеет свёрточные и полносвязные слои классификатора. Предложенная архитектура нейронной сети позволила определять ракурс с точностью до 6°.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГРИБОВ *MORTIERELLA ALPINA*, ВЫРАЩЕННЫХ НА ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СРЕДЕ С ДОБАВКОЙ РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА В УСЛОВИЯХ НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

**Миронов А. А., Кошелев А. В.**

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушкино, Россия

*asolfr@rambler.ru*

Арахидоновая кислота (АК, 5, 8, 11, 14-цис-эйкозатетраеновая кислота) относится к омега-6 группе полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и находит широкое применение в сельском хозяйстве, производстве лекарственных препаратов и детского питания. АК присутствует в небольших количествах в мясе, яйцах, рыбе, водорослях и других водных растениях. Однако процесс извлечения АК из этих источников дорогостоящ, и не может удовлетворить рыночные потребности. Наиболее эффективными продуцентами АК считаются грибы рода *Mortierella*. Целью настоящей работы было изучение влияния добавки растительного масла к глицерин-содержащей среде в условиях непрерывного культивирования штамма *M. alpina* NRRL-A-10995 в ферментёре и инкубации отфильтрованного мицелия на синтез АК. Ферментацию проводили в условиях непрерывного культивирования на в 3-л ферментере АНКУМ – 2М (Россия) с рабочим объемом 2000 мл. Минеральная питательная среда содержала (г/л): глицерин - 60; рапсовое масло



- 12.5; KNO<sub>3</sub> - 1.5. Среду подавали непрерывно со скоростью 12,5 мл/час; культуральную жидкость (300 мл) сливали, когда объем среды в ферментере достигал 2000 мл. Культуру выращивали в периодическом режиме при температуре 22 °С в течение 4 сут., затем включали проток среды вышеописанным способом и устанавливали значение температуры 22 °С. Значения рН (6.0 ± 0.1) и рО<sub>2</sub> (10-50% от насыщения) поддерживали автоматически. Условия инкубации биомассы: культуральную жидкость фильтровали через бумажный фильтр; биомассу промывали дистиллированной водой, помещали в чашки Петри слоем 1-2 см и выдерживали в эксикаторе при комнатной температуре в течение 1 недели. Выявлено, что в результате инкубации грибов *Mortierella alpina* NRRL-A-10995, выращенных на глицерин-содержащей среде с добавкой рапсового масла в условиях непрерывного культивирования доля липидов не претерпевала значительного изменения. При этом содержание АК в составе липидов возросло в 2,8 – 8,4 раз. Обнаружено весовое снижение доли пальмитиновой и стеариновой кислот. Выяснено, что доля АК в пересчете на литр среды была гораздо выше контрольного (230 – 930 %). Предположительно, увеличение содержания АК связано с уменьшением в составе липидов как насыщенных, так и ненасыщенных жирных кислот и ассимиляцией мицелием остаточного масла. Таким образом, использование растительных масел в качестве добавочного субстрата для *M. alpina* NRRL-A-10995 и дальнейшая инкубация отфильтрованного мицелия позволяет существенно увеличить содержание АК. Можно рекомендовать использовать данный метод для промышленного получения липидов *M. alpina* с высокой концентрацией АК.

## ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДНЫХ ГЛАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Переpletчикова Д.А.<sup>1,2</sup>, Машель Т.В.<sup>1,2</sup>, Хорольская Ю.И.<sup>2</sup>, Александрова О.И.<sup>2</sup>,  
Писугина Г.А.<sup>2,3</sup>, Журенков К.Э.<sup>2,3</sup>, Околов И.Н.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; <sup>4</sup>Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «МНТК Микрочirurgия глаза» им. акад. С.Н. Федорова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

*dasha\_perepletch@mail.ru*

Воспалительные заболевания глаз являются актуальной проблемой в офтальмологии в связи с тем, что воспаление зачастую приводит к необратимым изменениям тканей глаза и, как следствие, ухудшению зрения. Фармацевтическая промышленность предоставляет широкий спектр противовоспалительных препаратов. Весьма популярны в терапии воспалительных заболеваний глаз глюкокортикостероидные глазные капли. Терапевтическая ценность этих лекарственных средств высока, так как после инстилляций они способны глубоко проникать в структуры органа зрения, воздействуя на очаг воспаления на клеточном уровне. Однако даже локальное применение небольших доз этих препаратов может вызвать нежелательные побочные эффекты, поэтому одним из важных критериев при выборе глазных капель является их безопасность. В исследованиях токсичности разрабатываемых лекарственных препаратов и уже выпущенных на рынок в последнее время все чаще находят применение тест-системы *in vitro*. Наиболее простыми и доступными среди них являются модели с использованием монослойных клеточных культур.

Цель настоящего исследования состояла в сравнительной оценке цитотоксического действия глюкокортикостероидных глазных препаратов (Дексаметазон (Д), Офтан<sup>®</sup> Дексаметазон (ОД), Максидекс<sup>®</sup> (М)) в отношении постоянных трансформированных клеточных линий роговицы (НСЕС) и конъюнктивы (Clone 1-5C-4) человека и лимбальных стволовых клеток (ЛСК). Цитотоксичность исследуемых препаратов в отношении клеточных тест-систем оценивали по морфологии и метаболической активности клеток с помощью методов световой микроскопии и МТТ-теста.

В ходе исследования было выявлено, что все препараты оказывали цитотоксическое действие различной степени на все клеточные культуры. Установлена прямая зависимость между концентрацией исследуемых препаратов в питательной среде и их цитотоксичностью. При культивировании клеток в присутствии препаратов в концентрации 3% от питательной среды



клетки адгезировали, но монослой не сформировали. При культивировании клеток в присутствии препаратов в концентрации 10% от питательной среды жизнеспособных клеток не выявлено.

Проведенное исследование показало принципиальную возможность использования культивируемых клеток тканей глаза для сравнительной оценки цитотоксического действия различных офтальмологических препаратов в условиях *in vitro*.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 14-50-00068.

## **ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ЛИМБАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С ЦЕЛЬЮ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ОФТАЛЬМОХИРУРГИИ**

**Писугина Г.А.<sup>1,2</sup>, Александрова О.И.<sup>2</sup>, Хорольская Ю.И.<sup>2</sup>, Журенков К.Э.<sup>1,2</sup>,  
Переpletчикова Д.А.<sup>2,3</sup>, Машель Т.В.<sup>2,3</sup>, Карпович В.В.<sup>4</sup>, Гаврилюк И.О.<sup>4</sup>, Блинова М.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

*forssk@yandex.ru*

Уникальные свойства стволовых клеток, включая их способность к самообновлению и возможность дифференцировки в тканеспецифичные виды клеток, находят применение в разработках биомедицинских клеточных технологий. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (ММСК) используются во многих областях регенеративной медицины, в том числе и в офтальмологии. В литературе широко освещены эксперименты по трансплантации различных ММСК при лечении целого ряда заболеваний глаз. Интересным для этих целей видится использование лимбальных стволовых клеток (ЛСК), расположенных в складках палисадов Фогта и составляющих особый пул стволовых клеток в области базального эпителия лимба, благодаря которым происходит физиологическое и репаративное восстановление роговицы. Выделение и дальнейшее культивирование ЛСК позволяет из небольшого фрагмента лимба получить достаточное количество клеточного материала, необходимого для создания клеточно-инженерных конструкций. Разработанные на сегодняшний день способы выделения, культивирования и трансплантации ЛСК имеют свои достоинства и недостатки.

Целью данного исследования явилась отработка оптимальных условий выделения и культивирования ЛСК для возможности дальнейшего использования их в регенеративной офтальмохирургии.

В качестве первичного источника стволовых клеток использовали лимбальные фрагменты человеческих глазных яблок доноров-трупов и цельных энуклированных глаз здоровых кроликов породы шиншилла. Клетки выделяли миграционным и ферментативным способами. Исследовали возможность длительного культивирования полученной популяции клеток. Фенотипирование популяции на ранних и поздних пассажах проводили с использованием методов иммуноцитохимии и цитофлуориметрии.

В настоящей работе была введена в культуру *in vitro* и охарактеризована по основным стволовым маркерам и маркерам дифференцировки популяция ММСК лимба; проведено её сравнение с популяцией ММСК костного мозга и с постоянной клеточной линией роговицы человека НСЕС. Данное исследование направлено на поиск оптимального источника стволовых клеток, с целью использования их в клеточных технологиях при лечении глазных патологий.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 14-50-00068.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИМК С ВИБРОТАКТИЛЬНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗЬЮ НА ПАЦИЕНТАХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ

**Савосенков А.О.<sup>1</sup>, Григорьев Н.А.<sup>1</sup>, Лукоянов М.В.<sup>1,2</sup>, Гордлеева С.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

*andrey.savosenkov@gmail.com*

Более трети постинсультных больных страдают двигательной дисфункцией. Одним из перспективных подходов в обеспечении реабилитационных процедур является идеомоторный тренинг, приводящий к активации моторных корковых областей. Однако эффективность этого тренинга может быть далеко не полной из-за отсутствия объективного контроля со стороны пациента за интенсивностью своих мысленных представлений движения. Поэтому наиболее перспективны подходы, поддерживающие идеомоторную тренировку технологией интерфейсов мозг-компьютер (ИМК). Эта технология позволяет детектировать проявление мысленных представлений движения в специфических паттернах ЭЭГ и трансформировать их в сигналы обратной связи для пациента. Из числа обследованных 30 больных, 5 человек (2 мужчин и 3 женщины, средний возраст  $66,4 \pm 6,48$ ) соответствовали критериям включения в исследование. Лакунарный инсульт локализовался у 1 человека в глубинных отделах правой височной доли, у 3 человек — в области варолиева моста, у 1 — в области базальных ганглиев справа. В ходе данной работы осуществлялось неврологическое и нейропсихологическое обследование больного для оценки тяжести его состояния и степени дисфункции противоположной очагу инсульта руки. На следующем этапе объяснялась методика представления движений при подготовке к регистрации ЭЭГ для выбора испытуемым наиболее комфортного для себя, делая акцент на представлении тактильных ощущений. Проверялась глубина депрессии  $\mu$ -ритма для воображаемого движения правой/левой рукой. У каждого из пациентов была осуществлена оценка степени удержания мысленного образа движения при использовании вибротактильной обратной связи. Предыдущими исследованиями доказано, что десинхронизация  $\mu$ -ритма в левом полушарии, превышающая значение 50%, возникает как при реальном движении, так и при успешном воображаемом. В правом полушарии десинхронизация  $\mu$ -ритма на ЭЭГ превышающая 50%, обнаруживается только при воспроизведении из памяти образа движений в левой руке. Таким образом, десинхронизация  $\mu$ -ритма в левом полушарии, превышающая значение 50 %, может быть использована в качестве индикатора успешности попытки представления движения как левой, так и правой руки. Результаты анализа свидетельствуют о том, что успешность мысленного воспроизведения движений (определявшаяся по степени десинхронизации  $\mu$ -ритма на ЭЭГ во время выполнения соответствующего задания) как в правой, так и левой руке ниже при локализации очага ишемии в стволе головного мозга, чем в его полушарии.

## СИНТЕЗ ЛИПИДОВ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДРОЖЖАМИ *DEBARYOMYCES GLOBOSUS* ВКПМ У-953

**Степанова Н.Н., Моргунов И.Г.**

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушино, Россия

*nadinka\_1994@mail.ru*

Пальмитолеиновая кислота (ПОК) относится к омега-7 группе мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК). ПОК находит применение в различных областях: медицина, фармакология, косметология, пищевая и техническая промышленность, сельское хозяйство. В настоящее время ПОК получают из природных источников – растительных масел и животных жиров. Высокий спрос на ПОК диктует необходимость поиска новых альтернативных источников получения ПОК. Скрининг дрожжевых штаммов, имеющихся в коллекции лаборатории аэробного метаболизма микроорганизмов ИБФМ РАН, показал, что штамм *Debaryomyces globosus* ВКПМ У-953 обладает способностью синтезировать липиды с высоким содержанием ПОК (30% от суммы ЖК).



Целью данной работы было исследование динамики роста, синтеза липидов и ПОК у селекционированного штамма *D. globosus* ВКПМ Y-953 при культивировании в среде с глюкозой и этанолом в качестве единственных источников углерода и энергии.

При культивировании дрожжей в ферментёре в условиях лимитирования роста клеток азотом и избытке глюкозы, в фазе активного роста происходило значительное увеличение содержания липидов в биомассе с 9,2 до 16%; в фазе замедленного роста и стационарной фазе клетки продолжали синтезировать липиды в пределах 15-18% от биомассы. Доля ПОК в липидах была максимальной (26–27% от суммы ЖК) в экспоненциальной фазе и снижалась до 21% в стационарной фазе. Объёмная продуктивность биосинтеза ПОК увеличивалась в ходе культивирования и была максимальной (925 мг/л) на 84 ч.

Также был проведён синтез ПОК штаммом *D. globosus* ВКПМ Y-953 в среде с этиловым спиртом. Динамика роста, синтеза липидов и ПОК была аналогичной росту на глюкозе – продуцент синтезировал липиды параллельно с ростом в течение первых 24 часов. Доля ПОК в липидах была максимальной (38% от суммы ЖК) на 24 ч. Расчетная объёмная продуктивность биосинтеза ПОК на этаноле составляла 1043 мг/л.

Известно, что, как правило, интенсивный синтез липидов у микроорганизмов является двухфазным процессом и происходит после завершения роста продуцента, в стационарную фазу. Полученные результаты показывают, что штамм *D. globosus* ВКПМ Y-953 обладает уникальной способностью сопряженного с ростом синтеза липидов и его можно считать перспективным продуцентом липидов в условиях непрерывного культивирования. В связи с этим мы планируем дальнейшую оптимизацию процесса биосинтеза ПОК в непрерывном режиме.

## ПОЛУЧЕНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА В ОДНОСТАДИЙНОМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ФИТОСТЕРИНА

**Текучева Д.Н.<sup>1</sup>, Суходольская Г.В.<sup>1</sup>, Карпов М.В.<sup>1,2</sup>, Шутов А.А.<sup>1</sup>, Донова М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пушкинский естественно-научный институт, Пушкино

*tekuchevadn@gmail.com*

Андрост-4-ен-3-он-17-ол (тестостерон, ТС) - андрогенный стероидный гормон, участвующий в росте скелета, регуляции плотности костей и мышечной массы, задержке микро- и макроэлементов, необходимых для синтеза белка. ТС является предшественником в синтезе других стероидных соединений. ТС востребован и используется в медицине. Необходима разработка экологичного, экономичного, высокоэффективного одностадийного способа получения ТС из дешевых и доступных природных стероидов - фитостероидов (ФС).

Использовался штамм актинобактерий *Mycobacterium neoaurum* ВКМ Ас-1815Д, способный к эффективной деградации боковой цепи ФС с образованием андростендиона (АД), как основного продукта. Ранее было показано наличие у штамма 17-гидроксистероиддегидрогеназной активности.

Целью работы являлась оптимизация одностадийного процесса получения ТС с помощью *M. neoaurum* ВКМ Ас-1815Д из фитостерина (ФС) для последующего масштабирования в автоматизированном ферментере.

Создана среда, включающая кукурузный экстракт, полножирную соевую муку, глюкозу, минеральные соли, неионогенный ПАВ - сахарозы пальмитат-стеарат (СПС), а также солюбилизирующий агент - метил-β-циклодекстрин (мЦД). Разработанная среда способствовала активному росту штамма, дисперсному распределению слаборастворимого ФС в объеме, высокую скорость и синхронизированность процесса.

Разработана стратегия, основанная на последовательной смене режимов аэрации в одном объеме при дробном внесении глюкозы. Во время режима интенсивной аэрации (окислительный режим) происходил активный рост бактерий и деструкция боковой цепи ФС с образованием АД. Режим слабой аэрации (восстановительный режим) был необходим для создания благоприятных условий НАДН-зависимого процесса восстановления 17-карбонильной группы АД с участием бифункциональной 17β-гидроксистероиддегидрогеназы/редуктазы (17β-ГСД).

Концентрация мЦД в среде являлась основным фактором, определяющим скорость и степень превращения субстрата, выход целевого продукта, состав и количество побочных



продуктов. Длительность окислительного режима конверсии 10 г/л ФС в АД снижалась с 168 до 72 часов при увеличении в среде мольного соотношения ФС/мЦД от 1.0/0.15 до 1.0/1.4. Выход АД, предшественника ТС, в ходе конверсии ФС (20 г/л) в окислительном режиме составлял 72-74 моль%. Выход ТС составил 66.2 моль% (4,6 г/л) за 72 часа восстановительного режима при соотношении ФС/мЦД 1.0/0.8 моль/моль. Содержание остаточного АД не превышало 5-10%.

Результаты превосходят известные литературные данные и свидетельствуют о перспективах разработанного подхода для получения тестостерона из фитостерина.

## ЭКСПРЕССИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФИТАЗЫ В ДРОЖЖАХ *PICHIA PASTORIS*

Трошагина Д.С., Сулейманова А.Д., Шарипова М.Р.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*dashunka\_@mail.ru*

Фитаты – труднодоступные для питания высших эукариот соединения. Неспособность растений и животных с однокамерным желудком усваивать фосфор из фитата делает его одним из главных факторов в развитии живых организмов. Многие микроорганизмы способны гидролизовать фитат благодаря ферментам – фитазам. Поэтому, одним из перспективных направлений в решении проблемы дефицита фосфора в питании организмов является использование таких ферментов, в частности, в качестве кормовых добавок. В свою очередь, использование ферментов в промышленности подразумевает масштабирование процессов их синтеза. С этой целью необходимо создание эффективных систем экспрессии. Для продукции рекомбинантных белков широко используются дрожжевые экспрессионные системы, в частности, метилотрофные дрожжи *Pichia pastoris*, которые вместе с дрожжевыми векторами обеспечивают высокий уровень продукции за счет сильных и регулируемых промоторов и его секрецию при отсутствии протеолиза.

Цель работы – экспрессия гена бактериальной фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1 в дрожжах *Pichia pastoris*. В работе использовали последовательность гена гистидинової кислой фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1–*agpP* (AN KJ783401.1). Для экспрессии в дрожжах проводили кодон-оптимизацию гена. Для клонирования гена использовали высококопийный (pPINK-HC) и низкокопийный (pPINK-LC) интегративные дрожжевые вектора и последовательность сигнального пептида гена инулиназы *Kluyveromyces marxianus*. Получили генетические конструкции, содержащие ген фитазы *Pantoea* sp.3.5.1 под контролем индуцибельного промотора АOX1 и сигнального пептида инулиназы. Проводили трансформацию дрожжей *Pichia pastoris* полученными конструкциями. Для этого выбрали беспротеазный штамм, у которого делетированы гены секретируемых протеиназ и который является *ade2* ауксотрофом и не способен расти при отсутствии аденина в среде. Интеграция в геном дрожжей экспрессионных векторов позволяет ему расти на среде без аденина. Получены рекомбинантные штаммы *P. pastoris*, в геном которых интегрирован ген бактериальной фитазы. Анализ фитазной активности и вестерн-блоттинг показали, что фитаза *AgpP* экспрессируется и секретируется в культуральную жидкость дрожжами *P. pastoris*. При изучении влияния температуры на стабильность фермента установлено повышение термостабильности рекомбинантной фитазы по сравнению с нативной. Увеличение термостабильности, видимо, связано с гликозилированием белка в клетках дрожжей, что является важным фактором в производстве пищевых добавок для питания животных и птиц, которые изготавливают при высоких температурах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №16-14-00114.





## ВЛИЯНИЕ ЛЕВОМИЦЕТИНА НА МЕДИАТОРНЫЙ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ *E. COLI* В МИКРОБНОМ ТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ МЕМБРАННОГО ТИПА

**Филиппова К.А., Дмитриева Е.А., Лазукин А.А., Гайдабура Е.А., Залозная Н.Д., Самков А.А., Волченко Н.Н.**

Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*f\_ksenia@mail.ru*

Микробные топливные элементы (МТЭ) являются одним из новых и перспективных направлений в биотехнологии и биофизике. Существуют различные способы и возможности их применения, в том числе для получения маломощной электроэнергии, биodeградации органических отходов, в качестве биосенсоров. Последнее направление является наименее разработанным, в том числе в случае оценки действия антибиотиков на микроорганизмы.

Нами была поставлена задача оценить электрогенез микробного топливного элемента с *E.coli* в присутствии левомицетина с целью оценки влияния антибиотика на биологическую активность бактерий. Он ингибирует пептидилтрансферазу, за счет чего нарушает синтез белка в бактериальной клетке.

В эксперименте использовали оригинальные двухкамерные МТЭ мембранного типа с мембраной МФ-4СК, кишечной палочкой (в концентрации около 2 мг/мл) в качестве электрогенного микроорганизма. Поскольку данный микроорганизм не является экзоэлектрогенным в экспериментальных МТЭ в качестве анодного медиатора вносили метиленовый синий. Оценка электрогенеза проводилась при помощи вольтметра, без нагрузочного сопротивления.

В эксперименте одновременно были задействованы два МТЭ, один из которых выполнял роль опытного, другой – контрольного, без внесения левомицетина. Замеры напряжения проводились с периодичностью в три минуты – в обоих устройствах оно пропорционально изменялось в малых пределах (37-39 мВ). После выхода напряжения на плато в опытный образец был внесен раствор антибиотика до концентрации заведомо большей по сравнению с минимальной ингибирующей для данного штамма *E.coli*. Электрогенная активность бактерий в опытном образце начала линейно снижаться в течении первых минут после внесения. Замеры были прекращены после двукратного падения – что соответствовало 19 мВ, при сохранении в контрольном исходных 37 мВ. По окончании эксперимента, посев суспензии бактерий из анолита на плотную питательную среду МПА показал, что жизнеспособных форм в образце нет.

На основании полученных результатов можем сделать вывод, что исследуемый микробный топливный элемент с *E.coli* может быть использован как модельная система для демонстрации влияния антибиотиков на микроорганизмы, что открывает перспективы его дальнейшего применения в качестве биосенсора.

## ВЛИЯНИЕ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИКРОБНОГО ТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА БЕНТОСНОГО ТИПА

**Хижняк Е.И., Волченко Н.Н., Кошкарёва В.А., Самков А.А.**

Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*volchenko.n@mail.ru*

Одним из перспективных направлений биотехнологий в области возобновляемой энергетики является технология микробных топливных элементов (МТЭ). Она основана на способности природных микроорганизмов использовать в анаэробных условиях в качестве конечного акцептора электронов своей дыхательной цепи электрод топливного элемента. Это позволяет с одной стороны получать маломощное электричество, с другой – достигать экологического эффекта за счёт ассимиляции микроорганизмами загрязняющих веществ. В Кубанском государственном университете ведутся разработки МТЭ разных типов, в том числе бентосного (БМТЭ) – включающего анод в донных осадках и катод в аэробном слое воды. Подобные системы интересны тем, что могут быть интегрированы в природные или техногенные водоёмы в качестве автономных источников электрической энергии для маломощных устройств. Однако в таком



случае возникает вопрос эффективности работы бМТЭ в загрязненных водоёмах, куда регулярно или аварийно могут попасть промышленные стоки, включающие токсические вещества.

Целью данной работы являлось изучение работы микробного топливного элемента бентосного типа в условиях загрязнения углеводородом на примере дизельного топлива. Нами были изготовлены в лабораторных условиях микрокосмы, представляющие собой сосуды, заполненные переувлаженным торфогрунтом со слоем воды над ним. Анод и катод располагались соответственно в нижней микроаэрофильной части торфогрунта и в верхней аэробной. Цепь, включающая резистор, замкнута через измерительный прибор. Показания электрогенеза на всём протяжении опыта варьировали в пределах 133–372 мВ, а продукция CO<sub>2</sub>, измеряемая как основной показатель дыхательной активности, – в пределах 804–1180 ppm. Через 14 суток эксперимента микрокосмы были искусственно загрязнены дизельным топливом в количестве 1 % от массы торфогрунта. Это привело к падению напряжения на 40% с последующим восстановлением до 148 мВ. Дыхательная активность при этом возросла на 31 %. При этом произошла частичная биodeградация нефтепродуктов в пределах 16-42%.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что бМТЭ способны функционировать в загрязнённых углеводородами средах, хотя и со снижением электрогенной активности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края (проект № 16-44-230908 p\_a).

## **КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* ПРОДУЦЕНТА ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ-ОСНОВНОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ ТОКСИН-КОРЕГУЛИРУЕМЫХ ПИЛЕЙ АДГЕЗИИ**

**Хопрова Е.В., Тучков И.В., Михеева Е.А.**

ФКУЗ РосНИПЧИ "Микроб" Роспотребнадзора, Саратов, Россия

*albasalix@yandex.ru*

Холера – особо опасная инфекционная болезнь, вызываемая в настоящее время токсигенными штаммами *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор. Возникновение эпидемических осложнений по холере в России связано с реальной возможностью ее завоза из эндемичных по этой инфекции стран. Основными факторами, определяющими патогенный потенциал возбудителя холеры, являются холерный токсин, или СТ, вызывающий основной клинический симптом - диарею, а также токсин-корегулируемые пилы адгезии или (ТСР), ответственные за колонизацию холерными вибрионами тонкого кишечника человека. В этой связи эпидемическую опасность выделяемых штаммов *V. cholerae* определяют по наличию в их геноме структурных генов СТ (ctxAB) и ТСР (tcpA), а также экспрессии этих генов. Однако в Российской Федерации до сих пор отсутствует штамм-продуцент ТСР, что препятствует конструированию иммунодиагностической тест-системы для определения экспрессии генов tcp в выделяемых штаммах. Целью нашей работы является конструирование рекомбинантного штамма *E.coli* - продуцента основной субъединицы ТСР холерного вибриона. Создание такого штамма осуществляли в два этапа. На первом этапе был получен безопасный штамм *E. coli*, содержащий полноразмерный хромосомный ген tcpA (701 п.н.) возбудителя холеры в составе коммерческого вектора для клонирования. На втором этапе для экспрессии гена tcpA его укороченный фрагмент размером 534 п.н. был переклонирован в плазмидный экспрессирующий вектор pET302. В результате был получен рекомбинантный штамм с эффективной продукцией основной субъединицы ТСР возбудителя холеры. При индукции биосинтеза белка TcpA с помощью ИПТГ происходило накопление рекомбинантного белка в клетках штамма как в растворимой форме, так и в виде телец включения. Очистку рекомбинантного белка проводили методом металло-аффинной хроматографии. Выход полученного рекомбинантного TcpA составлял примерно 60 мкг/мл. Далее провели иммунизацию белых мышей очищенным рекомбинантным белком и оценили его иммуногенные свойства с помощью ИФА. Титр мышинных антител составил 1:160. Затем методом dot-ELISE определили продукцию белка TcpA у различных штаммов *V. cholerae*. Таким образом, сконструирован штамм-продуцент основной субъединицы токсин-корегулируемых пилей адгезии (TcpA) холерного вибриона. Отработаны условия оптимальной продукции рекомбинантного белка TcpA и схема его очистки с помощью аффинной хроматографии. Показано, что полученный очищенный препарат рекомбинантного белка TcpA



может быть использован для оценки уровня продукции белка ТсрА природными токсигенными штаммами холерного вибриона.

## **СЕНСОРНЫЕ В-КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ С ПОВЕРХНОСТНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ВИЧ-СПЕЦИФИЧНОГО ШИРОКО НЕЙТРАЛИЗУЮЩЕГО АНТИТЕЛА 10E8 НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ СОЗРЕВАНИЯ**

**Черникова Д.С.<sup>1,2</sup>, Горчаков А.А.<sup>1,2</sup>, Кулемзин С.В.<sup>1</sup>, Баранов К.О.<sup>1</sup>, Волкова О.Ю.<sup>1</sup>,  
Таранин А.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*chern\_ds@mcb.nsc.ru*

Создание иммуногена, способного индуцировать аффинное созревание широко нейтрализующих антител (bnAb) является одним из самых перспективных направлений в разработке вакцины против ВИЧ-1. Для поиска иммуногенов и оценки эффективности активации ими В-клеток, несущих на своей поверхности bnAb, необходимо создание тест-системы. Такой моделью может служить клеточная линия-сенсор с поверхностной экспрессией bnAb в виде В-клеточных рецепторов. В связи с тем, что широко нейтрализующее антитела характеризуются высоким уровнем соматического гипермутагенеза в ходе аффинного созревания, мы работаем над созданием целой серии сенсорных линий, имитирующих начальные стадии созревания bnAb, что позволит проводить тестирование иммуногенов, направляющих развитие В-клеточного ответа в сторону зрелой формы bnAb.

Целью данной работы являлось создание трех функциональных стабильных сенсорных линий с поверхностной экспрессией g110E8 -зародышевой версии антитела 10E8 и двух промежуточных вариантов - i<sub>1</sub>10E8 и i<sub>2</sub>10E8. Выбор данного антитела обусловлен тем, что оно характеризуется высоким нейтрализующим потенциалом, достигающим 97-99%, что является одним из лучших показателей среди всех bnAb.

В ходе данной работы путем молекулярного клонирования были созданы лентивирусные конструкции, кодирующие сенсоры на основе g110E8, i<sub>1</sub>10E8 и i<sub>2</sub>10E8. Для трансдукции в качестве целевой клеточной линии мы использовали линию В-клеточной лимфомы человека DG-75. Функциональность полученной серии клеточных линий-сенсоров была проверена методом Ca<sup>2+</sup>-flux. Данная сенсорная платформа используется для тестирования невирусных иммуногенов, направленных против зародышевой формы и ранних форм созревания антитела 10E8.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-04-00915).

## **ПОДАВЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА С ЦЕЛЬЮ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОДУКЦИИ БЕЛКОВ В ЛИНИИ СНО**

**Шигина В.Е.<sup>1,2</sup>, Кононов А.В.<sup>1,2</sup>, Круглов А.А.<sup>1,2</sup>, Басовский Ю.И.<sup>1,2</sup>, Евдокимовская Ю.В.<sup>2</sup>, Соловьев В.В.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ЗАО «БИОСАД», Любучаны, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия

*valeriyashigina95@gmail.com*

Система транзientной экспрессии белка на основе клеточной линии СНО-K1-S является эффективным биотехнологическим подходом для быстрого получения рекомбинантных белков. В данной системе клетки нагружаются большим числом копий плазмидной ДНК, что позволяет наработать целевые белки без встраивания этой ДНК в геном (Jain et al., 2017). Однако большое количество экзогенной ДНК вызывает нежелательную активацию внутриклеточного иммунитета, что проявляется, в частности, в ускоренной деградации плазмидной ДНК и в подавлении синтеза белков клеткой.

Целью данной работы является исследование влияния выключения (нокаута) генов отдельных звеньев внутриклеточного иммунитета на уровень продукции терапевтических белков в линии СНО. В качестве мишеней для нокаута были выбраны гены белков cGAS (cyclic GMP-AMP



synthase) и STING (stimulator of interferon genes), важных компонентов внутриклеточного иммунитета (Sun et al., 2013). Фермент cGAS активируется в присутствии цитозольной ДНК, что приводит к повышению продукции сигнальной молекулы cyclic GMP-AMP. Последняя активирует белок STING, который через цепочку посредников стимулирует выработку интерферонов I типа (Radoshevich, Dussurget, 2016).

Для осуществления нокаута выбрали для каждого гена по две последовательности gRNA (guide RNA), которые способны комплементарно связываться с участками нокаутируемых генов, а также с белком Cas9, который вносит разрыв в цепь ДНК в нужном участке. Подбор последовательностей gRNA осуществлялся с использованием программного обеспечения СНО Cas9 Target Finder. Олигонуклеотиды для сборки gRNA синтезировали в Евроген (Россия). Последовательности gRNA получали путем отжига олигонуклеотидов с образованием двуцепочечного фрагмента с липкими концами, который использовали для дальнейшего клонирования. Нокаутирующий вектор собирали на основе линейризованной плазмиды CRISPR-Nick (BIOCAD, Россия). Трансформацию компетентных клеток NebStable лигазной смесью проводили методом теплового шока. Наличие клонированной последовательности подтверждали ПЦР-скринингом лизатов трансформированных клеток. Из 8 клонов каждой плазмиды были выбраны по 2 положительных, содержащих целевые последовательности gRNA.

Таким образом, на данном этапе исследований, были созданы 4 плазмидных вектора для проведения нокаута клеток по генам cGAS и STING. В дальнейшем планируется провести эксперименты по нокауту выбранных мишеней и по оценке их влияния на продуктивность линии СНО при транзientной экспрессии белков.



## СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

### DEVELOPMENT OF SELECTABLE MARKER FREE RNAI COTTON CULTIVARS

**Abdiraimova H.M.<sup>1</sup>, Imamkhodjaeva A.S.<sup>1</sup>, Shermatov S.E.<sup>1</sup>, Nikitina E.V.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Center of Genomics and bioinformatics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

*iazadaxan@gmail.com*

Antibiotic- or herbicide-resistance genes are widely used in plant gene engineering to identify the transformed plant cells and tissues. Despite of safety of genetically modified crops the consumer concerns has emerged because of presence of antibiotic-resistance genes. Moreover, these marker genes are no longer necessary after initial selection of the transformed tissues. Therefore, the aim of this study was to develop marker-free RNAi cotton varieties that will meet with public concern. There were developed several techniques for the removal of marker genes from transgenic plants. The simplest way is molecular screening of transgenic plant populations to detect marker-free plants. It is well known that naturally occurring genetic recombination during meiosis leads to offspring having different combinations of genes. In some cases during the genetic recombination the marker genes and genes of interest may be separated from each other and located in different chromosomes and it leads to segregation of plants that not bear marker genes. These plants may be easily detected by screening plant population using the PCR analysis.

The efforts of our scientists has allowed to successfully obtain the novel generation of RNAi-cotton cultivar “Porloq” with improved agronomic traits such as high fiber quality, early maturity, higher seed cotton yield and resistance to abiotic stresses. This cotton cultivar was developed using the Agrobacterium-mediated transformation and RNAi pHellsgate-8::*PHYA1* vector that bear neomycin phosphotransferase II (*nptII*) gene. The neomycin phosphotransferase II gene is widely used in plant transformation as a selective marker and most of modern commercialized genetically modified crops have this gene. Several hundred plants of each “Porloq-1”, “Porloq-2” “Porloq-3” and “Porloq-4” cotton RNAi cultivars will be grown in the greenhouse. Genomic DNAs will be isolated from the seedling tissues using the method of Dellaporta et al. Further molecular screening of each plant bearing RNAi-vector will be performed using primers specific for the vector and *nptII* gene. PCR-negative cotton plants for *nptII* gene will be selected for breeding process to develop marker-free cotton cultivar.

### IMPROVEMENT OF FIBER QUALITY TRAITS OF UPLAND COTTON (*G. HIRSUTUM*) ON THE BASIS OF MAS TECHNOLOGY

**Darmanov M.M., Makamov A.Kh., Turaev O.S., Kushanov F.N., Buriev Z.T., Abdurakhmonov I.Y.**

Center of Genomics and bioinformatics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

*muhtor.darmanov@mail.ru*

One of the main objectives of cotton breeding programs worldwide is to improve middle fibered Upland cotton (*G. hirsutum*) fiber quality close to long-staple Pima cotton (*G. barbadense*) fiber quality, bringing more income for farmers. Therefore, in this research, we have introduced the marker-assisted selection (MAS) technology in the cotton using DNA markers, which are genetic association to the important fiber quality traits in our previous research.

We used BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> backcross hybrids to investigate fiber quality traits, as well, its parental genotypes “L-141” (as a donor line) and “Sultan” (as a recipient genotype). This is the L-141 line, having marker loci associated with fiber length and strength. Recipient genotype was commercialized in Uzbekistan and is being widely grown by Uzbek farmers. The recipient parent, “Sultan” was crossed with “L-141” donor line and was obtained their F<sub>1</sub> (Sultan x L-141) hybrids.

Then the F<sub>1</sub> hybrids have been backcrossed with the recipient genotype for the next two generations. Backcross hybrids were PCR screened in each backcross generations using DNA marker BNL1604 that associated with the fiber length and fiber strength. A total of 95 samples were screened in



BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (Sultan x L-141) backcross combination. According to the molecular-genotypic analyzes 49 samples were heterozygous out of 95 samples, that confirms the presence of both donor and recipient alleles by QTL and 45 are similar with recipient allele. Only trait associated marker-band-bearing hybrids were selected from seedlings for future growing.

The fiber quality characteristics of BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> backcross hybrids and their parent samples were tested using HVI system.

The results of fiber quality analysis of the BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> generation showed the mean micronaire 4.7, fiber length – 1.18 inches, strength – 34.9 g/tex, fiber elongation – 7.0% and fiber uniformity 84.2%. These parameters are significantly lower in the recipient genotype Sulton, in which micronaire 5.3, fiber length is 1.07 inches, strength – 31 g/tex, fiber elongation – 9.0 % and fiber uniformity 82.3%. The fiber quality traits in BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> hybrids were significantly improved using MAS technology based on “Sulton” background that has a low fiber quality.

The fiber quality parameters of BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> hybrids, which are derived through MAS technology, were improved into type-III compared to type-V fiber quality of the recipient cotton cultivar “Sulton”. Further studies on the BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> hybrids are carrying out.

## **DEVELOPMENT OF FW-RESISTANT COTTON CULTIVARS ALONG WITH SUPERIOR FIBER QUALITY USING MARKER ASSISTED GENE-PYRAMIDING METHOD**

**Husenov N.N., Kushanov F.N., Turaev O.S., Norbekov Zh.K., Makamov A.Kh., Ayubov M.S.**

Center of Genomics and bioinformatics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan

*naimhusenov@mail.ru*

Cotton (*Gossypium* spp.) is one of the most important fiber producing plants for the textile industry. However, many pests and diseases due to decrease its quality and yield. *Fusarium oxysporum f.sp.vasinfestum* (FOV) caused fusarium wilt (FW) disease affected to loose 20-30 southand tons of cotton product in China.

Up to date, several FW-resistant cultivars have obtained by many scientists using conventional breeding programs but plant resistance to FW decreased or completely disappeared year by year. One of the main goal of the world cotton breeding programs is to combine of disease resistance along with high yield and high fiber quality features into one accession.

In this study, we selected “Porloq” (derived through gene-knock out technique) and “Ravnaq” (derived through marker-assisted selection) cotton cultivars for their superior fiber quality and 10 FW-resistant wild cotton accessions from Uzbek cotton germplasm collection.

In addition, 120 SSR markers associated with fusarium wilt resistance that identified by the world scientists based on QTL and Association mapping approach were also selected. Genomic DNA were then extracted from fresh leaves using CTAB method for the molecular analysis. The PCR screening were conducted in order to determine polymorphisms between genotypes and allelic positions of 120 SSR markers in their genome. Nineteen DNA markers showed high polymorphism between ten FW-resistant genotypes and cotton cultivars with superior fiber quality, according to the PCR analysis.

FW-resistant genotypes have been selected for sexual hybridization as donor plants by molecular confirmation. Those plants then crossed with “Porloq” and “Ravnaq” in order to increase their resistance to FW. As results, several hybrid combinations have been developed. QTL mapping of fusarium wilt resistance would be conducted on F<sub>2-3</sub> generations. Moreover, we aimed to create new FW-resistant cotton varieties with superior fiber quality.



## GENE PYRAMIDING WITH THE HELP OF GENE KNOCK-OUT TECHNOLOGY

**Norov T.M., Shapulatov U.M., Ayubov M.S., Usmanov D.E., Shermatov S.E., Buriev Z.T., Abdurakhmonov I.Y.**

The Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan

*tokhirnorov87@gmail.com*

The gene knock-out technology is one of most remarkable invention of our century. Today, this technology is widely applied by scientists around the world to identify the functions of several genes of plant and animal species.

Thus, in our research Center the *PHYA1* gene in cotton plant was silenced using gene-knock-out technology, and in the result cotton varieties with high fiber quality, early ripening and high yielding traits were obtained.

Our goal was to develop this technology and to obtain cotton plants those are resistant against environmental conditions, several stresses and pathogens. Therefore a plant's several genes those regulate various functions have been studied and placed in one genetic vector.

Gene pyramiding technique has been employed by scientists in various plant species worldwide. For instance, various genes have been inserted into a single genetic vector those have associated in expression of several proteins in model plant *Arabidopsis thaliana*. Afterwards in their mutant generations were studied their gene expressions. However, that was a fundamental research, which was not applied in agriculture.

In our study several cotton genes such as *Phytochrome A (PHY A)* that light sensitive photoreceptor, *Eskimo* that provides resistance to drought, salinity and cold, and *FosTUA* that synthesizing secondary metabolites of phytopathogens were amplified by PCR (polymerase chain reaction) and transformed into TOPO-TA vector. Inserted gene fragments were restricted by ferments EcoRI. During reactions those genes were ligated all together with ferments T<sub>4</sub> DNA ligase, which consisted of step by step procedures. By ligation associated genes (*PhyA<sub>1</sub>+Esk+ FosTUA*) were re-transformed into TOPO-TA vector there after it was inserted with the help of vector *pDONR* into genetic vector *pHellsGate-8*.

Several quality control reactions were carried out to validate this multigene cassette. This genetic construction was analyzed by software BioEdit, and it was revealed that that with the help of this construction target genes can be silenced with high propability.

Nowadays, these genetic vector constructions have been transformed by us into agrobacterial strains LBA 4404 and GV 3101. Genetic vector transformation experiments are continuing by transformation strains LBA 4404 into cotton and potato explants.

Agrobacterial strain GV 3101 was transformed into *Arabidopsis thaliana*, and resulted T<sub>0</sub> mutants those are bearing genetic vectors *pHG8\_ FosTUA+Esk+PHYA* were selected for further studies. Selected seeds of T<sub>1</sub> generation were sowed to harvest T<sub>2</sub> generation. Their total DNA were isolated and amplified by PCR in order to select the right plants those are bearing vectors *pHG8\_ FosTUA+Esk+PHYA* in their genome.

Today, laboratory experiments are carried out to determine resistance properties of these mutants against several abiotic and biotic stresses.

In conclusion, *RNAi* technology provides opportunities to develop new biotechnological plant varieties and valuable initial materials for plant breeding by silencing or overexpression of three or more useful genes in a plant for their agricultural important traits.



## DEVELOPMENT OF NAM POPULATION IN COTTON FOR FINE GENETIC MAPPING

**Turaev O.S., Normamatov I.S., Kholmuradova M.M., Kushanov F.N., Makamov M.M., Darmanov M.M., Khusenov N.N., Buriev Z.T., Abdurakhmonov I.Y.**

Center of Genomics and Bioinformatics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan

*ozodturaev@gmail.com*

In many cases, the large part of molecular markers that being recommended to the practice are non-functional because of their unknown extent of linkage disequilibrium (LD), mostly mapped on genetically limited biparental populations. The best way to solve this kind of problems is to perform molecular mapping of QTLs on nested association mapping population (NAM).

The NAM method not only combines the advantages of both QTL-mapping and Association Mapping (ASM), but also, to eliminate the shortcomings and problematic processes encountered in these methods.

The main objectives of this study were the development of NAM population for genetic mapping of complex quantitative trait loci (QTL) with high accuracy in cotton. In order to develop the NAM population in cotton 19 diverse donor lines, previously characterized for economically important traits, rare QTL alleles, and LD parameters, and the Uzbekistan standard Upland genotype “Namangan-77” cultivar (as a common parent) were selected from the Uzbekistan cotton germplasm. Each of 19 donor lines were individually crossed with “Namangan-77” and 3079 recombinant inbred lines of 19 NAM families were developed. NAM RILs were generated by self-pollinating in every generation using single seed descent method. Detailed characterization of NAM population in both phenotypic and genotypic levels will be discussed.

## ESCHERICHIA COLI ITAT IS A TYPE II TOXIN THAT INHIBITS TRANSLATION BY ACETYLATED ISOLEUCYL-TRNA<sup>ILE</sup>

**Wilcox B.<sup>1</sup>, Osterman I.<sup>1</sup>, Serebryakova M.<sup>1</sup>, Gollan B.<sup>1</sup>, Wolf Yu.<sup>1</sup>, Makarova K.<sup>1</sup>, Morozova N.<sup>1</sup>, Helaine S.<sup>1</sup>, Sergiev P.<sup>1</sup>, Dubiley S.<sup>1</sup>, Borukhov S.<sup>1</sup>, Severinov K.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Skoltech Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

*bvw507213@gmail.com*

Toxin-antitoxin (TA) systems are wide-spread, small, and diverse genetic elements found throughout the genomes of Bacteria and Archaea. TA modules encode a labile antitoxin, expressed in conjunction with a more stable, toxic protein. The antitoxin normally mitigates the activity of its cognate toxin. When unfettered however, the toxin is free to impact cell viability. Here, we present a newly characterised type II GNAT (Gcn5-related N-acetyltransferase) toxin from *Escherichia coli* HS, ItaT. ItaT inhibits protein synthesis through the specific acetylation of the amine group of isoleucine on charged tRNA<sup>Ile</sup>, resulting in the arrest of cell growth. Our characterisation of ItaT contributes to the growing specific “hit-list” of tRNA-targeting type II toxins.

## THE MECHANISM OF MICROCIN C IMMUNITY CONFERRED BY *HYALANGIUM MINUTUM* HIT (HISTIDINE TRIAD SUPERFAMILY) TYPE PROTEIN

**Yagmurov E.<sup>1</sup>, Tsibulskaya D.<sup>2</sup>, Serebryakova M.<sup>2,3</sup>, Severinov K.<sup>1,2</sup>, Dubiley S.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Institute of Gene Biology, Russian Academy of Science, Moscow, Russia; <sup>3</sup>A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*eldar.yagmurov@skoltech.ru*

Among a wide range of recently discovered antimicrobial compounds that are capable to curb the spread of drug resistant microorganisms is microcin C (McC), which is a ribosomally synthesized peptide that undergoes further post-translational modifications through attachment of adenosine monophosphate to its C-terminal aspartate with formation of non-hydrolyzable phosphoramidate bond. The antimicrobial properties of McC are attributed to its ability to hamper bacterial protein biosynthesis through inhibition





of aspartyl tRNA synthetase that eventually leads to the blockage of charged aspartyl-tRNA production. As of today, a variety of McC producing Gram-negative and Gram-positive bacteria has been discovered. Among such bacteria is *Hyalangiium minutum*, which possesses a complex mcc-like gene cluster with the *mccX10* gene, which encodes for a putative HIT (Histidine Triad Superfamily) type protein that is responsible for self-immunity through enzymatic inactivation of McC-like compounds. HIT proteins are members of a ubiquitous superfamily; three primary HIT families have been identified and investigated which are: nucleotide phosphoramidases (Hint), dinucleotide hydrolyases (Fhit), and nucleotidylyl transferases (GalT).

In this study we report a newly characterized HIT type protein from *H. minutum* which confers resistance to McC-like compounds. The *H. minutum* HIT enzyme inhibits the action of McC through hydrolysis of phosphoramidate bond rendering the toxic compound inactive. Phenotypic testing of *E. coli* cells producing *H. minutum* HIT protein revealed that these cells are immune to non-aminopropylated forms of *E. coli* peptide-adenylate (McC<sup>1120</sup>) and peptide-cytidylate (McC<sup>1096</sup>), while remaining susceptible to aminopropylated form of *E. coli* McC (McC<sup>1177</sup>). The *in vitro* reactions and MALDI TOF MS unveiled that HIT enzyme cleaves processed McC<sup>1120</sup>, while staying inactive against a processed McC<sup>1177</sup>, and both unprocessed forms of *E. coli* McC. Our characterization of *H. minutum* HIT protein contributes to understanding of mechanisms of McC inactivation and development of microcin C resistance in different McC sensitive cells.

### МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ (10 СГР) ТАК ЖЕ, КАК И ФРАГМЕНТЫ ОКИСЛЕННОЙ ВКДНК, КРАТКОВРЕМЕННО БЛОКИРУЮТ КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И СНИЖАЮТ ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ В МСК

**Абрамова М. С.<sup>1</sup>, Кальянов А. А.<sup>1</sup>, Малиновская Е.М.<sup>1</sup>, Конькова М.С.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>,  
Мартынов А.В.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Савинова Е.А.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

*rimargarii@gmail.com*

Окислительный стресс и повреждение ДНК должны приводить к остановке клеточного цикла на всех стадиях и блокировать пролиферацию. Мы проанализировали влияние радиации в малых дозах и фрагментов окисленной вкДНК (вкДНКокс) в концентрации 20 – 100 нг/мл на уровень пролиферации мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Радиация в дозе 10 сГр, так же, как фрагменты вкДНКокс снижают уровень белка – маркера пролиферации - Ki-67 в МСК. Через 15 мин после воздействия уровень экспрессии Ki-67 на 40-50% ниже, чем в контроле, через 2 часа начинает увеличиваться и достигает контрольного уровня. PCNA является фактором транскрипции для полимеразы дельта, которая участвует в репарации ДНК. Мы наблюдали увеличение уровня экспрессии PCNA на 40-60 % через 30 мин после облучения и после добавления в среду культивирования МСК окисленной вкДНК. При иницировании клеточного цикла активируется синтез белка циклина D1 кодируемый геном CCND1. Циклин D1 запускает фазу G1 клеточного цикла, играет ключевую роль в регуляции перехода клеток из фазы клеточного цикла G1 в фазу S. Уровень экспрессии белка циклина D1 регулируется на стадии транскрипции. Ген CDKN2 кодирует белок p16, регулятор клеточного цикла, который, связываясь с CDK4 и CDK6, нарушает связывание циклина D1 с CDK. Ингибитор киназ p21 кодируется геном CDKN1A и оказывает негативное воздействие на активность комплексов циклин-зависимых киназ (CDK2) в фазе G1 клеточного цикла и комплексов циклин-зависимых киназ (CDK1) во время G2 фазы клеточного цикла. Экспрессия генов CDKN1A и CDKN2 может приводить к G1-аресту. При действии радиации в дозе 10 сГр и добавлении к среде культивирования окисленных фрагментов вкДНК через 30 минут происходит снижение уровня экспрессии гена CCND1 в МСК в 1,5 -2 раза и повышение уровня экспрессии генов CDKN2 и CDKN1A в 1,5-2 раза, что также свидетельствует об остановке клеточного цикла. Однако, через 3 часа после действия на МСК радиации в дозе 10 сГр и добавления к среде культивирования окисленных фрагментов вкДНК уровень экспрессии гена CCND1 повышается на 20-25 % по сравнению с контролем, а уровень экспрессии генов CDKN2 и CDKN1A снижается до контрольных значений. Таким образом, в значительной части ранее пролиферирующих клеток воздействие малых доз радиации (10 сГр) и добавление к среде культивирования окисленных фрагментов вкДНК временно блокирует клеточный цикл в



G1– фазе, что обеспечивает время для репарации повреждений, затем прогрессия клеточного цикла возобновляется. Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04- 01099\_А.

## **ВЛИЯНИЕ ДИСФЕРЛИНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И РЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК HEK293A**

**Аглиуллина Д.Р., Шаймарданова А.А., Старостина И.Г., Соловьева В.В., Ризванов А.А.**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*diana972@rambler.ru*

Репарация мембраны представляет собой значительный процесс, который опосредует эффективную функцию клетки. В этом процессе внутриклеточные везикулы транслоцируются на участке разрыва плазматической мембраны и активно восстанавливают ее. Существует ряд белков, связанных с повреждением мембраны. Белок дисферлин играет решающую роль в процессе восстановления мышц и является важным посредником, который несет экстренный ответ на восстановление повреждения сарколеммы.

В настоящей работе проанализировано влияние эктопической экспрессии дисферлина на пролиферативную активность эмбриональных клеток почки человека HEK293A после повреждения клеточной мембраны методом электропорации.

Для достижения эктопической экспрессии дисферлина клетки HEK293A трансфицировали ранее полученным плазмидным вектором pCMV-DYSF, кодирующим кДНК гена дисферлина человека. Трансфекцию проводили с использованием реагента TurboFect (Thermo Fisher Scientific, США) по методике, рекомендуемой производителем. Для оценки эффективности трансфекции и сравнительного анализа клетки HEK293A трансфицировали плазмидным вектором pEGFP-N2 (Clontech, США), экспрессирующим улучшенный зеленый флуоресцентный белок EGFP. Электропорацию клеток проводили через 48 часов после трансфекции на приборе Gene Pulser Xcell™ Electroporation Systems (Bio-Rad, США) при напряжении 200 В и времени импульса 25 мс в 0,4 см кювете.

Активность митохондриальных дегидрогеназ, характеризующую пролиферативную активность клеток, оценивали с использованием набора CellTiter96 AQueous Non-Radiative Cell Proliferation Assay (Promega, США) через 48 часов после электропорации.

Показано, что после электропорации пролиферативная активность клеток HEK293A, трансфицированных плазмидой pCMV-DYSF (HEK293A-DYSF), снизилась на 20% по сравнению с клетками HEK293A-DYSF без электропорации. Интересно, что электропорация снижала пролиферативную активность клеток HEK293A, трансфицированных плазмидой pEGFP-N2 (HEK293A-EGFP), на 40% в сравнении с клетками HEK293A-EGFP без электропорации. Таким образом, после электропорации пролиферативная активность клеток HEK293A-DYSF была на 20% выше клеток HEK293A-EGFP. Данные результаты могут указывать о положительном влиянии экспрессии дисферлина дикого типа на процессы репарации мембран в клетках человека. Однако для подтверждения данной теории необходимы дальнейшие исследования с использованием других типов клеток и повреждающих мембраны воздействий.

## **ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НК-КЛЕТОК В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА ЛИНИИ JEG-3**

**Баженов Д.О.**

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

*dmitry-bazhenov@mail.ru*

Среди широкого репертуара межклеточных взаимодействий одним из ключевых является цитотоксическая активность. Элиминация одной клеточной популяции другой не всегда связана с защитой организма или развитием патологии. Один из примеров – взаимодействие клеток иммунной системы матери и плода при беременности. Ключевыми участниками этого процесса являются натуральные киллеры (НК-клетки) и клетки трофобласта.



Изучить особенности цитотоксического действия NK-клеток в отношении клеток трофобласта линии JEG-3.

NK-клетки выделяли из периферической крови на градиенте плотности Histopaque1077 (Biolot, Россия), с последующей сортировкой на клеточном сортере FACSAria III (BD, США). После этого NK-клетки культивировали в планшете вместе с клетками линии JEG-3. Часть клеток активировали с помощью IL-2. После совместной инкубации клетки окрашивали с помощью Propidium iodide (Sigma-Aldrich, США). Для подсчета количества погибших клеток использовали проточный цитофлуориметр FACSCanto II (BD, США).

Нами были проанализированы NK-клетки, полученные из крови 34 женщин, которые мы разделили на три группы: первая группа – небеременные (n=13), вторая группа – фертильные (n=11), имевшие ранее физиологическую беременность, с последующими успешными родами, третья группа – беременные (n=10). Нами установлено, что относительная гибель клеток линии JEG-3 возрастала в присутствии NK-клеток, полученных от женщин из всех трех групп по сравнению с базовой гибелью. В присутствии IL-2 цитотоксическая активность NK-клеток возрастала. Кроме того, в присутствии IL-2 цитотоксическая активность NK-клеток из фертильной группы была ниже, чем из группы небеременных.

Наша модель позволяет оценить цитотоксическую активность NK-клеток в отношении клеток трофобласта линии JEG-3. Наличие у женщин предыдущей беременности может определять степень цитотоксической активности NK-клеток в отношении клеток трофобласта.

## **ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ADAMTS ПОДСЕМЕЙСТВА А КАК ПОИСК ИХ ГОМОЛОГОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ ХРЯЦА**

**Бацманова А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*originalstudent@mail.ru*

Одним из современных подходов в молекулярной биологии является построение филогенетических деревьев. Использование филогенетических деревьев позволяет иллюстрировать эволюционные взаимосвязи между различными молекулами, имеющими общую молекулу-предшественника. Создание филогенетического дерева предоставляет возможность проследить эволюционное развитие конкретных молекул, участвующих в резорбции суставного хряща.

Цель работы: произвести поиск гомологов белков семейства ADAMTS подсемейства А.

В качестве объекта исследования были выбраны 7 представителей семейства ADAMTS (1, 4, 5, 8, 9, 15, 20).

При создании филогенетического дерева был использован метод PHYLIP Neighbor Joining, входящий в программный пакет UGENE. На основании множественного выравнивания близкородственных белков был выделен консенсус, части которого отражают наиболее часто встречающиеся аминокислоты в конкретных последовательностях представителей семейства ADAMTS.

Поиск гомологов молекул семейства ADAMTS осуществлялся с помощью скрининга глобальной базы молекул семейства ADAMTS у других видов животных. Скрининг последовательностей осуществлялся по следующим критериям: сырьевой доступности, наибольшей степени структурного подобия с ADAMTS человека.

В результате проведенного исследования были определены консервативные мотивы представителей семейства ADAMTS, свидетельствующие о функциональном эффекте этих молекул и их участии в процессе резорбции хряща. Были установлены наиболее гомологичные молекулы семейства ADAMTS человека: для большинства исследуемых белков, гомологи были найдены в организмах *Bos taurus* (коровы) и *Rattus norvegicus* (крысы). ADAMTS4 и ADAMTS5 в большей степени вовлечены в процесс резорбции хряща. Более эволюционно близкими для ADAMTS4 и ADAMTS5 человека являются ADAMTS4 и ADAMTS5 *Rattus norvegicus* (крысы).

На основе полученные данных можно сделать вывод, что в ходе изучения семейства ADAMTS подсемейства А и процесса резорбции хряща опытным путём наиболее эффективно использовать агреканызы *Rattus norvegicus* (крысы).



## ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ АНТИПСИХОТИКАМИ НА ЭКСПРЕССИЮ ИЗОФОРМ ТРАНСКРИПТОВ II ЭКЗОНА ГЕНА *HTR2A* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ПАЦИЕНТА

**Белинская М.А.<sup>1</sup>, Заботина А.М.<sup>1,2</sup>, Грунина М.Н.<sup>1</sup>, Журавлев А.С.<sup>1</sup>, Насырова Р.Ф.<sup>1</sup>,  
Крупницкий Е.М.<sup>1</sup>, Тараскина А.Е.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ  
Курчатовский институт, Гатчина, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский  
медицинский университет имени академика И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБУ  
Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М.  
Бехтерева, Санкт-Петербург, Россия

*belinskaya88@gmail.com*

Альтернативный сплайсинг играет важную роль в разнообразии транскриптов белок-кодирующих генов и ассоциирован с развитием различных патологий человека. Шизофрения - тяжелое заболевание, гетерогенного до конца не раскрытого генеза, нуждающееся в обязательной антипсихотической терапии. Несмотря на эволюцию антипсихотических препаратов, повышение эффективности лечения и предотвращение развития побочных эффектов остается актуальной проблемой. Фармакотерапия может влиять на механизм альтернативного сплайсинга, однако это явление мало изучено. Рецептор серотонина 2A (*HTR2A*) вовлечен в патогенез шизофрении и является «мишенью» действия антипсихотиков второго поколения. Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) rs6311 гена *HTR2A*, расположенный в промоторной области гена, влияет на эффективность посттранскрипционных процессов. Известно, что мРНК *HTR2A* претерпевает альтернативный сплайсинг на участке между первым и вторым экзонами с образованием нескольких изоформ (Etr, E2-, E2+).

Цель исследования – оценить влияние аллельных вариантов rs6311 на альтернативный сплайсинг II экзона *HTR2A* в ходе терапии антипсихотиками, и определить его роль в эффективности проводимого лечения.

Материалы и методы. В исследование включено 60 пациентов мужского пола (от 18 до 55 лет) с первым психотическим эпизодом расстройств шизофренического спектра, рандомно разделенные на две группы фармакотерапии (галоперидол/оланзапин). Эффективность терапии определялась по редукции суммарной шкалы PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale). Материалом исследования служили мононуклеарные клетки периферической крови. Количественный анализ транскриптов II экзона *HTR2A* проводили методом ПЦР в реальном времени в присутствии EVA GREEN. Идентификация ОНП rs6311 - методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Результаты. В ходе работы было установлено достоверное снижение уровня мРНК усеченного второго экзона E2- с 1.7 (1.04÷4.82) до 0.4 (0.24÷1.96) ( $p=0,025$ ) у носителей генотипа AA ОНП rs6311 при терапии оланзапином (препаратом с высоким аффинитетом к *HTR2A*). Следует отметить, что белок, кодируемый с E2-, имеет отличия в N-терминальном конце и первом трансмембранном домене и, вероятно, обладает сниженной функциональной активностью. Влияние на эффективность антипсихотической терапии экспрессия альтернативных изоформ транскриптов II экзона гена *HTR2A* не оказывала.

Вывод. Экспрессия альтернативных форм транскриптов *HTR2A* при терапии атипичными антипсихотиками модулируется генотип зависимым образом.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00321.



## КОНТРОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГЛОБАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРА *LEUO*: РОЛЬ БЕЛКА НУКЛЕОИДА *DPS* И АНТИСМЫСЛОВОЙ ТРАНСКРИПЦИИ

**Бессонова Т. А.<sup>1,2</sup>, Маркелова Н. Ю.<sup>2,3</sup>, Швырева У. С.<sup>2</sup>, Тутукина М. Н.<sup>2,4,5</sup>, Озолин О. Н.<sup>2,5</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>4</sup>Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия; <sup>5</sup>Пущинский научный центр РАН, Пущино, Россия

*tatianabessonova66@gmail.com*

Транскрипционный фактор *LeuO* является регулятором многих генов протеобактерий, в том числе отвечающих за патогенность, вирулентность, метаболизм, кворум-сенсинг и подвижность. Учитывая широкий спектр процессов, регулируемых *LeuO*, регуляция кодирующего его гена устроена очень сложно. В настоящее время известно, что в нормальных условиях синтез *LeuO* репрессируется белком нуклеоида *H-NS*. Эта репрессия может быть снята при недостатке в клетке аминокислот или на стационарной фазе роста путем изменения суперскрученности ДНК в районе регуляторной области гена. Важным активатором для *leuO* является гетеродимер *RcsB-BglJ*, а собственный белковый продукт может выполнять роль, как активатора, так и репрессора в зависимости от условий. Недавно показано влияние на экспрессию *leuO* ещё двух транскрипционных факторов - *StrA* (паралог *H-NS*) и *LrhA*. Таким образом, ген *leuO* имеет сложные механизмы регуляции, в том числе, основанные на изменении конформации ДНК. Поскольку *LeuO* активно синтезируется на стационарной фазе, то мы решили проверить, оказывает ли влияние на его транскрипцию мажорный белок стационарной фазы *Dps*.

Для этого мы сравнили экспрессию *leuO* в прямом и антисмысловом направлении в клетках дикого типа K-12 MG1655 и K-12 MG1655delta *dps*. По данным RNA-seq, в отсутствие *Dps* количество ассоциированных с *leuO* РНК-транскриптов возрастает как на экспоненциальной, так и на стационарной фазах роста - в 14 и 5 раз, соответственно. Кроме того, в регуляторной области *leuO* обнаружена *Dps*-зависимая антисмысловая транскрипция, старты для которой были предсказаны алгоритмом PlatProm и подтверждены результатами Primer extension. Интересно, что у гена *leuO* есть несколько промоторов, позиции которых перекрываются с обнаруженными стартами антисмысловой транскрипции. Возможно, что работа этих промоторов может приводить к независимому синтезу дополнительной мРНК гена *leuO*, а, следовательно, и самого белка. Методом Western-blot мы зарегистрировали два белковых продукта гена *leuO* с массами 32 кДа и 35,6 кДа, наличие которых подтверждает возможность синтез двух альтернативных форм белка *LeuO*. Данный феномен необычен как для *E. coli*, так и для протеобактерий в целом.

Исследования поддержаны грантом РФФИ мол\_а 16-34-01044 и грантом РФФИ мол\_а 18-34-01006.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В УСЛОВИЯХ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

**Бокань Б. Ю.<sup>1</sup>, Архипова С.С.<sup>1</sup>, Масгутова Г. А.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>, Гилязиева З.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

*seakotenok@gmail.com*

Боковой амиотрифический склероз (БАС) и болезнь Альцгеймера (Ал) – заболевания, от которых на данный момент нет эффективного лечения. Наилучшую возможность преодоления последствий нейродегенеративных заболеваний связывают с применением МСК, т.к. эти клетки имеют тропизм к очагам воспаления.

Использовали линии трансгенных APP/PS1 и B6SJL-Tg. МСК из трех источников: костный мозг, жировая ткань (ЖМСК) и пульпа зуба (ПМСК) трансплантировали ретроорбитально при появлении клинических признаков. Прижизненную миграцию клеток оценивали используя IVIS Spectrum. Цитокиновые профили в сыворотке и гомогенатах мозга оценивали с помощью Bio-Plex Pro Mouse Cytokine 23-plex Assay (BioRad) на 7 и 14 сутки.

В первый час клетки концентрируются в области лёгких и печени, через 24 часа в проекции печени, в сером веществе головного, спинного мозга и почек. При Ал в крови снижаются показатели - IL-1a и TNF-a, RANTES, повышаются IL-5, GM-CSF. В головном мозге снижаются



показатели провоспалительных цитокинов IL-1b и IL-3, G-CSF и KC, тогда как значение GM-CSF существенно возрастает. Результаты оценки цитокинового профиля свидетельствуют о увеличении показателей цитокинов после введения ЖМСК на 7 сутки после введения.

При Альцгеймере снижаются - IL-1a и TNF-a, RANTES, повышаются IL-5, GM-CSF. В головном мозге снижаются IL-1b и IL-3, G-CSF и KC, тогда как значение GM-CSF существенно возрастает. Развитие БАС на 7 сутки понижает показатели IL-1a, IL-10, и повышает показатели IL-12 и KC в сыворотке крови. Показатели IL-4, IL-5 существенно повышаются при введении ЖМСК на 7 сутки, Через 14 суток показатели IL-1a, IL-3, IL-9, IFN-g в головном мозге повышаются, в сыворотке крови понижаются показатели IL-1a, IL-1b, IL-3, IL-9, IL-12. При введении ПЗМСК на 7 и 14 сутки показатели IL-4, IL-5 существенно повышаются. Через 7 суток после введения ЖМСК в спинном мозге мышей с БАС падают значения G-CSF, KC, MIP-1a, MIP-1b, RANTER. Нужно отметить, что развитие БАС не оказывает существенного влияния на показатели цитокинов в головном мозге, мы обнаружили изменения в сторону увеличения показателей только по IL-9 и G-CSF, тогда как в спинном мозге исключительно в сторону уменьшения значений реагируют IL-9, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-10, G-CSF, KC, MIP-1a, MIP-1b и RANTER.

Интеграция трансплантируемых клеток в нервную ткань и в серое вещество, снижение уровня показателей провоспалительных и повышения противовоспалительных цитокинов свидетельствует о возможном терапевтическом потенциале МСК при нейродегенеративных процессах.

## **ПОИСК БЕЛКОВ, СПОСОБНЫХ КОАГРЕГИРОВАТЬ С ИЗВЕСТНЫМИ АМИЛОИДАМИ**

**Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Данилов Л.Г.<sup>1</sup>, Лихолетова Д.В.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*stanislavspbgu@gmail.com*

Амилоиды – это особая группа белковых агрегатов с рядом необычных свойств, среди которых - высокая устойчивость к действию детергентов и протеаз, а также способность индуцировать переход некоторых белков из растворимой формы в агрегированную форму. Многочисленные исследования амилоидов сегодня особенно актуальны в связи с увеличивающейся частотой заболеваний, которые они вызывают, например, болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона, диабет второго типа и т.д.

Открытие амилоидогенных белков, способных коагрегировать друг с другом, продемонстрировало наличие нового и пока неизученного вида межмолекулярных взаимодействий. В последнее время становится всё более очевидным, что такие взаимосвязи могут играть важную роль в патогенезе амилоидных заболеваний у человека и животных. Сейчас известны многочисленные примеры коагрегации белков, связанных с различными амилоидозами, в частности: амилоид- $\beta$  и  $\alpha$ -синуклеин, амилоид- $\beta$  и амилин, белок Csg и синуклеин, амилоид- $\beta$  и PrP.

С целью поиска новых примеров коагрегации белков с амилоидами мы провели биоинформатический скрининг для идентификации амилоидогенных белков, взаимодействующих с известными амилоидами человека. Для этого мы осуществили направленный поиск новых амилоидов среди белков, физически взаимодействующих с уже известными, с помощью программы ArchCandy. Информация о взаимодействиях между белками была взята из базы данных BioGrid. В результате анализа мы выявили наборы белков, которые потенциально формируют амилоиды, а также взаимодействуют с одним из следующих белков: хантингтин,  $\alpha$ -синуклеин, амилоид- $\beta$ , PrP. Для некоторых из белков нам удалось продемонстрировать их способность к агрегации. Иными словами, мы выявили потенциальные амилоидные сети, которые могут быть вовлечены в патогенез соответствующих заболеваний.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-74-10159, а также вычислительного центра ресурсного парка СПбГУ.



## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ 72 И 249 КОДОНОВ ГЕНА TP53 В РИСКЕ РАЗВИТИЯ РАДОН-ИНДУЦИРОВАННОГО РАКА ЛЕГКОГО В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

**Булгакова О.В.<sup>1</sup>, Кусайнова А.А.<sup>1</sup>, Берсимбай Р.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИИ Клеточной биологии и биотехнологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева

*bulgakova\_ov@enu.kz*

Рак легкого занимает лидирующие позиции в структуре онкопатологий по всему миру, включая Казахстан. Второй причиной развития рака легкого по данным Всемирной Организации Здравоохранения является радон и его дочерние продукты распада. Было показано, что «горячие точки» мутации в гене *TP53* ассоциированы с воздействием радиации на организм человека. Исследования вклада полиморфизмов гена *TP53* в риск развития радон-индуцированного рака легкого никогда не проводились на казахской популяции, в то время как большая часть территории Республики является радоноопасной (Bulgakova, 2015). Материалом являлась ДНК, выделенная из крови пациентов с диагнозом рак легкого и здоровых людей. В исследование были включены 136 человек, которые были разделены на 3 группы в зависимости от уровня экспозиции радона: «рак легкого+радон» (49 пациентов); «рак легкого без радона» (37 пациентов); «контроль» представили лица без патологии легких (50 человек), проживающие на территориях с уровнем радона, соответствующим нормам предельно допустимой концентрации (ПДК). Анализ полиморфизма 72 кодона гена *TP53* проводился методом ПЦР-ПДРФ по Chowdhury et al, 2015. Согласно полученным данным, в группах с диагнозом рак легкого значительно преобладал гетерозиготный генотип Arg/Pro, составляющий более 50% от числа всех вариантов генотипа 4 экзона гена *TP53*. Частота генотипа Arg/Pro составила 0,541 в группе «рак легкого без радона», что значительно выше, чем в группе контроля – 0,140 ( $p=0.002$ ). Полученные данные указывают на ассоциацию гетерозиготного генотипа Arg/Pro с риском развития рака легкого (OR 7.23, CI 95 % 2.59-20.20). Частота генотипа Arg/Pro в группе «рак легкого+радон» составила 0,878 (OR 44.02, CI 95% 13.7 – 141.8,  $p<0.05$ ). Таким образом, вариант генотипа Arg/Pro ассоциирован с риском развития радон-индуцированного рака легкого в казахской популяции. ПЦР-ПДР анализ полиморфизма 249 кодона гена *TP53* проводился согласно El-Dinet al, 2015. Распределение генотипов Arg/Arg и Ser/Ser в группе «рак легкого без радона» были 37 и 0, соответственно. Частоты аллелей в данной группе составили 1,00 для аллеля Arg/Arg и 0,00 для Ser/Ser. В группе «рак легкого+радон», частоты Arg/Arg и Ser/Ser составляли 1,00 и 0,00 соответственно. В контрольной группе (50 человек) также не было идентифицировано полиморфизма в 249 кодоне гена *TP53*. Таким образом, полиморфизм 249 кодона 7 экзона гена *TP53* не вносит вклад в риск развития рака легкого у казахской популяции.

## ЭКСТРУЗИЯ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНА В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ АМОЕБА PROTEUS И «PROTEUS-ПОДОБНЫХ» АМЕБ (АМОЕВОЗОА, ТУБУЛИНЕА, ЕУАМОЕБИДА)

**Васильева В. А.<sup>1</sup>, Бердиева М. А.<sup>2</sup>, Гудков А. В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*Silis019gmail.com*

*Amoebaproteus* является классическим модельным объектом на протяжении многих лет, но до сих пор большое количество аспектов клеточной биологии и физиологии этих организмов остается малоизученным. В агамном жизненном цикле *Amoeba proteus* и т.н. «*proteus*-подобных» амёб обнаружено явление гиперрепликации – уже через час после деления в ядрах *A. proteus* происходит синтез «избыточной» ДНК, а через несколько часов после митоза содержание ДНК может превышать исходную более чем в 3 раза (Махлин, 1993, Демин и др., 2015). Поскольку сразу после деления клеток «избыточная» ДНК отсутствует, должна происходить ее элиминация.

Целью данной работы является изучение феномена элиминации ядерного хроматина в клеточном цикле представителей рода *Amoeba*.

Была изучена организация ядерного аппарата в клеточном цикле пяти представителей рода *Amoeba*: *A. proteus*, штамм В, *Amoeba* sp., штаммы CONT и Neapol, *A. borokensis* и *A. amazonas*.



Все изученные штаммы культивируют в Коллекции Института цитологии РАН (Goodkov et al., 2015).

Клетки в культуре были синхронизированы по клеточному циклу по разработанному ранее специально для *Ameobaproteus* методу (Podlipaeva et al., 2013). Готовили давленные препараты клеток (Hulsebos et al., 1984), которые затем фиксировали 2% раствором параформальдегида на 96% этаноле. При этом часть клеток фиксировали в суспензии в качестве контрольного образца. Ядра окрашивали флуоресцентным ДНК-специфичным красителем DAPI. Препараты исследовали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Leica TCS SP5 (Leica-Microsystems, Германия).

На всех препаратах клеток исследованных штаммов амёб зафиксирована экструзия хроматина – некоторое количество ДНК «выдавливается» из ядра в цитоплазму. Объемы единичного хроматинового выброса и количество сайтов экструзии варьируют у разных клеток одного штамма. Наиболее часто мы наблюдали это явление в клетках *A. proteus*, штамм В и у *A. borokensis*. Воспроизводимость полученных нами результатов в экспериментах на разных штаммах и видах свидетельствует, что процессы гиперрепликации и экструзии хроматина являются важной частью клеточного цикла представителей рода *Ameoba*.

## НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА МTOR-ЗАВИСИМУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ

**Васильева М.И.<sup>1</sup>, Кулаковский И.В.<sup>2</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>, Елисеева И.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>Институт математических проблем биологии РАН - филиал ФГУ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, Пушкино, Россия

*yeliseeva@vega.protres.ru*

mTOR сигнальный каскад играет важную роль в пролиферации клеток и ответе на стресс. Трансляция мРНК, содержащих 5'-концевую олигопиримидиновую последовательность (TOP), специфически снижается при ингибировании mTOR. Эта регуляторная система изучается давно, но о влиянии промоторных областей на регуляцию почти ничего не известно. Потенциально, транскрипционные факторы (ТФ) могут привлекать на мРНК регуляторные РНК-связывающие белки, а также определять точное позиционирование старта транскрипции. Целью данной работы было изучение влияния промоторных областей на mTOR-зависимую регуляцию трансляции.

На первом этапе мы изучали необходимость промоторной области для связывания белков с мРНК, определяющих mTOR-зависимую регуляцию трансляции. Репортерные конструкции на основе коротко-живущей люциферазы с промоторными областями и 5'НТО генов SLU7 (контроль), RPL32 и PABPC1 (мишени) были трансфецированы в клетки, из которых потом была выделена полиА(+) РНК и вновь трансфецирована в клетки. Далее сравнивали изменение ферментативной активности люциферазы в ответ на ингибирование mTOR (обработка Torin 1). Мы ожидали, что если промоторная область необходима, то ответ будет наблюдаться только при трансфекции ДНК-конструкций, содержащих промотор, но не полиА(+) РНК. Однако сила ингибирования трансляции RPL32 и PABPC1 не отличалась в опытах по ДНК и РНК трансфекции. Таким образом, для mTOR-опосредованного ответа достаточно последовательности 5'НТО и промоторная область не дает ключевого вклада.

На втором этапе мы проверяли, влияют ли сайты связывания ТФ на mTOR-зависимую регуляцию трансляции. Ранее нами было обнаружено, что промоторные области мРНК-мишеней обогащены сайтами связывания ТФ семейств YY1 и E2F. Для проверки была выбрана мРНК-мишень RPL32, промотор которой содержит единичные сайты для YY1 и E2F в окрестностях старта транскрипции. Для нее были получены конструкции, с мутациями в сайтах связывания YY1 и E2F, а также двойной мутант. Оказалось, что в случае единичных мутаций трансляция мРНК RPL32 ингибировалась в присутствии Torin 1, также, как и мРНК RPL32, синтезированная с промотора дикого типа. В то же время трансляция мРНК RPL32, синтезированная с промотора с двойной мутацией, ингибировалась значительно слабее. Мы предполагаем, что факторы транскрипции YY1 и E2F действуют в комплексе и определяют позиционирование старта транскрипции. В двойном мутанте, вероятнее всего, произошел сдвиг старта транскрипции, и полученная мРНК не содержит TOP-последовательности, необходимой для mTOR-опосредованного ответа.





Работа поддержана грантом РФФ №17-74-10179.

## **СИНЕРГИЯ ГИСТОНА H2AX И АТМ КИНАЗЫ ОБЕСПЕЧИВАЕТ ТРАНСКРИПЦИОННУЮ РЕПРЕССИЮ В САЙТАХ ДВУЦЕПОЧЕЧНЫХ РАЗРЫВОВ ДНК**

**Величко А.К.<sup>1</sup>, Петрова Н.В.<sup>1</sup>, Лужин А.В.<sup>1</sup>, Разин С.В.<sup>1,2</sup>, Кантидзе О.Л.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*velichkoak@gmail.com*

Двухцепочечные разрывы ДНК являются наиболее опасным типом повреждения ДНК, так как они имеют критические последствия для жизнеспособности клеток, а также могут провоцировать хромосомные абберации и как следствие нестабильность генома. Клетки реагируют на двунитевые разрывы ДНК запуском так называемого «ответа на повреждение» («DNA damage response»), который представляет собой многоступенчатый сигнальный каскад, необходимый для детекции и последующей немедленной репарации повреждений. Формирование двухцепочечного разрыва ДНК вызывает масштабное фосфорилирование многих факторов, включая сигнальные киназы и репарационные белки. Минорный вариант гистона H2AX также фосфорилируется в сайте двухцепочечного разрыва. Его фосфорилированная по 139 серину форма, называемая также  $\gamma$ H2AX, по современным представлениям требуется для сборки некоторых репарационных белков, таких как 53BP1 или BRCA1, а также для активации белков контрольно-пропускных точек. На примере модели осмотического и генотоксического стрессов, а также с помощью системы сайт специфического внесения двухцепочечных разрывов в ДНК, мы продемонстрировали, что фосфорилирование гистона H2AX критически необходимо для активации сигнальной киназы АТМ, которая в свою очередь обеспечивает транскрипционную репрессию в сайте повреждения. Результаты нашей работы раскрывают не только роль  $\gamma$ H2AX в активации сигналинга и репарации при повреждении ДНК, но и проливают свет на функциональную значимость каскадного распространения фосфорилирования H2AX на многие десятки и сотни килобаз от сайта повреждения ДНК.

Работа поддержана грантом РФФ №14-24-00022.

## **ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ И УЗНАВАНИЯ МИШЕНЕЙ CRISPR- CAS СИСТЕМАМИ ПОДТИПА III-A И III-B В THERMOTHERMOPHILUS**

**Верхова В.<sup>1,2</sup>, Артамонова Д.<sup>1,2</sup>, Лопатина А.<sup>3</sup>, Колесник М.<sup>1,2</sup>, Северинов К.<sup>1,2,3</sup>,  
Самольго А.<sup>2,4</sup>**

<sup>1</sup>Skolkovo Institute of Science and Technology, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>Waksman Institute of Microbiology, Rutgers, New Jersey, USA; <sup>4</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия

*varvara.verkhova@skolkovotech.ru*

CRISPR (от англ. **C**lustered **R**egularly **I**nterspaced **S**hort **P**alindromic **R**epeats-Cas (CRISPR-associated) системы обеспечивают специфический адаптивный иммунитет микроорганизмов от вирусов, плазмид, транспозонов и других мобильных генетических элементов. CRISPR-Cas системы представляют собой особые геномные локусы, состоящие из прямых повторяющихся последовательностей, которые разделены уникальными последовательностями – спейсерами, а также ассоциированные с ними гены Cas-белков. Спейсеры – это участки чужеродных ДНК, с которыми клетка или ее предки сталкивались ранее. РНК, транскрибируемая с CRISPR-локуса, процессируется с образованием малых CRISPR-РНК (крРНК); вместе с Cas-белками такая крРНК образует эффекторный комплекс, который способен распознавать протоспейсеры – последовательности в чужеродной ДНК, комплементарные крРНК в составе эффекторного комплекса.

Согласно принятой классификации на основании строения эффекторного комплекса, а также механизмов процессинга крРНК, CRISPR-Cas системы подразделяются на два больших класса, шесть типов и множество подтипов (Makarova *et al.*, 2015). CRISPR-системы III типа (III-A и III-B),



в отличие от других систем, способны узнавать и элиминировать как насцентную РНК, содержащую последовательность, комплементарную спейсерному участку крРНК, так и ДНК, с которой такая РНК транскрибируется. Такой непростой механизм работы может быть полезен, например, в борьбе против профагов или мобильных генетических элементов, постоянно находящихся в клетках, предотвращая экспрессию их генов. Тем не менее, точный механизм работы эффекторных комплексов для этих систем остается не ясным. Изучение CRISPR-систем поможет расширить наши знания в понимании работы иммунитета у бактерий и архей с возможной перспективой применить полученные данные для, например, редактирования геномов. В частности, транскрипционно-зависимая интерференция системами III типа могла бы быть использована для редактирования или сайленсинга генов, находящихся в эу- или гетерохроматине.

Мы исследовали механизмы узнавания ДНК (РНК)-мишеней и интерференции CRISPR-Cas системами подтипа III-A и III-B экстремального термофила *Thermusthermophilus* HB27. Проведено систематическое исследование влияния несоответствий между последовательностью спейсерного участка крРНК эффекторного комплекса и протоспейсерным участком ДНК на эффективность узнавания протоспейсера и интерференции. Показана зависимость наличия или отсутствия интерференции от направления транскрипции протоспейсера для штаммов *T. thermophilus* с активными III-A и III-B системами, или только с одной из этих систем. Также будут представлены результаты текущих опытов по изучению приобретения устойчивости к бактериофагам культурами *T. thermophilus* за счет действия CRISPR-систем третьего типа.

## **ЖГУТИКИ ГАЛОФИЛЬНЫХ АРХЕЙ: ИЗУЧЕНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИКЛАДНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

**Безносков С.Н.<sup>1</sup>, Волошаненко В.В.<sup>1</sup>, Пятибратов М.Г.<sup>1</sup>, Галева А.В.<sup>1</sup>, Федоров О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*veston.campbell@yandex.ru*

Жгутики архей рассматриваются как наиболее перспективный материал для создания искусственных нановолокон, обладающих заданными свойствами, поскольку многие из представителей архей заселяют наиболее экстремальные экологические ниши от гипервысоких температур до насыщенных солевых растворов, и их внешние органеллы должны обладать повышенной устойчивостью к диссоциирующим эффектам.

Проводимые нами исследования направлены, в первую очередь, на изучение механизмов формирования архейных жгутиков, однако, особое внимание уделяется и разработкам, направленным на использование этих жгутиков для решения прикладных задач. Нами исследуется структурная организация филаментов жгутиков нескольких галофильных архей *Halobacterium salinarum*, *Haloferax volcanii*, *Haloarcula hispanica*, *Halorubum lacusprofundi*, *Halobacterium saccharovorum*, которые сильно отличаются друг от друга по количеству флагелиновых генов и их геномной организации. Спиральная структура филаментов жгутика данных архей может формироваться из одного, двух, трёх и даже пяти составляющих белков, каждый из которых, по видимому, выполняет специфическую роль в обеспечении функционирования филамента.

Для ответа на вопрос о роли отдельных флагелиновых генов модельных штаммов *Halobacterium salinarum*, *Haloferax volcanii* и *Haloarcula hispanica* были получены делеционные мутанты по генам флагелинов и исследованы их свойства. Для определения локализации флагелинов на жгутике использовался разработанный нами метод, позволяющий выводить на поверхность архейных жгутиков пептидные петли, которые могут связывать нужные лиганды и детектироваться с помощью специфических антител.

Данный метод может использоваться и для придания жгутикам архей новых свойств и получения полифункциональных нановолокон, которые могут быть востребованы в самых различных сферах, таких как, создание новых материалов, медицина, оптика и электроника. Например, ранее в нашей лаборатории, с помощью данного метода на основе жгутиков *Halobacterium salinarum* был получен наноматериал, который использовался как более энергоёмкий анод в литий-ионном аккумуляторе.



## ТАТ-НИТИ - НОВЫЙ ТИП ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР АРХЕЙ

Галева А.В.<sup>1</sup>, Меринова Е.С.<sup>1</sup>, Пятибратов М.Г.<sup>1</sup>, Сюткин А.С.<sup>1</sup>, Безносков С.Н.<sup>1</sup>,  
Федоров О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*galevanya@gmail.com*

Представители третьего домена жизни – Архей, как правило, являются экстремофилами, то есть обитают в суровых условиях окружающей среды. Для выживания в таких условиях в ходе эволюции Археи развили разнообразные механизмы адаптации, одним из которых являются поверхностные структуры: археллы (жгутики архей), пили, биндосомы, канноли, хами и др. В настоящее время объектом нашего исследования является галофильный организм *Haloarcula hispanica*. Для него была разработана высокоэффективная система нокаута генов на основе ауксотрофного штамма DF60 (у которого делетирован ген *pyrF* (оротидин 5'-фосфат декарбоскилаза), отвечающий за синтез пиримидинов) и плазмиды rHAR, которая несет в себе ген *pyrF*. Показано, что штамм *H. hispanica* DF60, при определенных условиях, наряду с жгутиками продуцирует тонкие филаменты ~ в 3 раза тоньше жгутиков. При ДСН-электрофорезе препаратов, содержащих тонкие филаменты, было обнаружено, что наряду с флагеллинами присутствует дополнительный белок, относительная доля которого возрастала при увеличении содержания тонких нитей в препаратах. По данным масс-спектрометрии этот белок соответствует продукту гена *hah\_0240*. Он состоит из 208 аминокислотных остатков и аннотируется как «гипотетический белок». Предварительный анализ данного белка показал, что он не имеет никакой гомологии с белками архелл, пилей и других известных надмолекулярных структур архей. Аминокислотная последовательность белка HAH\_0240 содержит т.н. твин-аргининовый паттерн MKLNRR (сигнальный пептид, используемый при т.н. твин-аргининовом способе секреции белков (Тат-путь)). Поэтому, мы обозначили обнаруженные нами структуры, как Тат-нити. Известно, что Тат-путь используется для экспорта белков у растений, бактерий и архей. Но, до настоящего момента, не было описано ни одного случая использования данного секреторного пути для поверхностных структур. Функция обнаруженных нами тонких нитей остается неизвестной. В ходе исследований было обнаружено явление адгезии клеток археи *H. hispanica* к поверхности стеклянной колбы. Особенно эффективно это явление проявляется у клеток DF60 штамма. Могла ли делеция *pyrF* гена (продукт которого участвует в синтезе пиримидинов) в ауксотрофном штамме DF60 привести к резкой активации синтеза белка Тат-нитей HAH\_0240? Мы полагаем, что инактивация функционально важных генов, подобных *pyrF*, может запускать процесс формирования биопленок, которые могут способствовать межклеточному обмену генетической информацией, облегчать доступ питательных веществ и метаболическую кооперацию между клетками. Все эти вопросы требуют дальнейшего подробного изучения.

## ОЦЕНКА МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ РЯДА ГЕНОВ У КУРИЛЬЩИКОВ С ПОМОЩЬЮ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК

Галимова А.А.<sup>1</sup>, Ахмадишина Л.З.<sup>1</sup>, Корытина Г.Ф.<sup>1</sup>, Кочетова О.В.<sup>1</sup>, Сахабутдинова А.Р.<sup>1</sup>, Викторова Т.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

*aiz.galimova@yandex.ru*

Метилирование ДНК представляет в настоящее время большой интерес, поскольку является одним из ключевых механизмов регуляции работы генов. Известно, что метилированию подвергается преимущественно цитозин в CpG-динуклеотидах. В зависимости от состояния организма (возраст, нормальное или патологическое состояние и др.) уровень метилирования генов может существенно меняться. Исследование CpG-метилирования позволяет оценивать тяжесть патологических состояний, прогнозировать их развитие и выбирать оптимальную стратегию лечения. Предложено большое количество методов анализа метилирования ДНК, которые можно разделить на три группы: 1) методы, основанные на бисульфитной обработке ДНК, 2) методы на основе ферментативного расщепления ДНК, и 3) методы, основанные на



аффинности [1]. Нами был разработан новый подход для сравнительной оценки CpG-метилирования, который заключается в предварительной фрагментации ДНК ультразвуком и ее последующей ПЦР-амплификации [2].

На небольшой выборке курильщиков (N=30, контроль - некурящие индивиды) была показана применимость предложенного нами подхода для оценки метилирования промоторных областей генов *KEAP1*, *NFE2L2*, *VEGFA* и *GAPDH*. Для генов *KEAP1*, *NFE2L2* и *GAPDH* не было обнаружено достоверного различия в степени метилирования между группами курильщиков и некурящих индивидов. Для гена *VEGFA*, кодирующего фактор роста сосудистого эндотелия и индуцирующего образование новых сосудов, обнаружено снижение степени метилирования промоторной области. Бисульфитное секвенирование указанного локуса для ряда образцов ДНК показало, что частичному метилированию в нем подвержены не только CpG динуклеотиды, но и остальные динуклеотиды из группы CpN. Обнаруженный феномен требует дальнейшего более детального анализа.

1. Olkhov-Mitsel E., Bapat B. Strategies for discovery and validation of methylated and hydroxymethylated DNA biomarkers // *Cancer Med.* 2012. V. 1. P. 237-260.

2. Гарафутдинов Р.Р., Галимова А.А., Сахабутдинова А.Р., Чемерис А.В. ПЦР-анализ специфичной к последовательности ультразвуковой фрагментации ДНК // *Мол.биол.* 2016. т. 50. № 2. с. 272-278.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ШАПЕРОНЫ: ФАКТОРЫ БЕЛКОВОГО ГОМЕОСТАЗА И ЦИТОКИН-ПОДОБНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ

Гарбуз Д.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*dgarbuz@yandex.ru*

Одним из важнейших процессов в поддержании белкового гомеостаза клетки является формирование пространственной структуры (фолдинг) белковых молекул. Известен ряд заболеваний человека и животных, вызываемых некорректным фолдингом некоторых белков (болезнь Кройцфельда-Якоба, губчатая энцефалопатия рогатого скота и др.). Кроме того, повреждающее действие многих стрессовых факторов (тепловой шок, гипоксия, окислительный стресс, некоторые токсины) связано именно с частичной денатурацией клеточных белков. Формирование пространственной структуры белков, синтезируемых *de novo*, сортировка белков по клеточным компартментам, а также восстановление нативной конформации белков, частично денатурированных в результате стрессовых воздействий, требует участия ряда вспомогательных белков, называемых «молекулярными шаперонами» (от фр. *chaperone* – компаньонка, дуэнья). Белки-шапероны взаимодействуют с другими клеточными белками, находящимися на первоначальной стадии формирования третичной структуры (интермедиатами фолдинга) или белками, частично денатурированными стрессом, и способствуют формированию нативной конформации (или деградации в случае необратимо поврежденных белков). Кроме того, некоторые шапероны способны растворять белковые агрегаты, формируемые при значительном повышении концентрации денатурированных белков. К молекулярным шаперонам относят белки теплового шока (БТШ, синтез которых индуцируется действием стрессовых факторов и которые служат основной системой защиты от стресса на уровне клетки); пептидилпролилизомеразы, катализирующие цис-транс-изомеризацию пептидных связей по остаткам пролина; дисульфидизомеразы, обеспечивающие образование дисульфидных связей между определенными остатками цистеина и др. Наиболее универсальными молекулярными шаперонами являются белки семейства БТШ70 (с молекулярной массой ~ 70 кДа) в силу способности к взаимодействию с наиболее широким спектром белков-субстратов. За счет способности препятствовать агрегации белков при действии стрессовых факторов, БТШ70 в значительной степени определяет способность организмов адаптироваться к неблагоприятным условиям окружающей среды, таким, как частые перепады температуры, обезвоживание, действие агрессивных химических веществ и др. Виды, адаптированные к обитанию в экстремальных биотопах, характеризуются значительно более высоким уровнем внутриклеточного БТШ70 по сравнению с близкородственными видами, обитающими в более мягких условиях. Помимо выполнения функции молекулярных шаперонов в качестве внутриклеточных белков, БТШ70 способны секретироваться в межклеточную среду и



участвовать в процессах межклеточной сигнализации, наподобие цитокинов. Секретируемые БТШ70 узнаются рядом рецепторов (в частности, Толл-подобными рецепторами 2 и 4) и, по-видимому, принимают участие в регуляции активности врожденного звена иммунной системы.

Работа поддержана грантом РФФ N 14-50-00060, и Программой фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы (тема №01201363817).

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЗЕЛЕНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА

Глухова К.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

*gkseniya@gmail.com*

С точки зрения структурной биологии и белковой инженерии зеленый флуоресцентный белок GFP представляет собой весьма интересный объект. Третичная структура GFP представляет собой «бочонок», состоящий из бета-слоев, внутри которого располагается альфа-спираль. «Бочонок» является своеобразным контейнером для альфа-спирали и изолирует ее от окружающей среды. Такая особенность GFP наводит на мысль о возможном использовании его, как контейнера для других пептидов. Исследование потенциала GFP в данной области может быть полезным для создания систем наработки и доставки токсичных соединений, в частности, таких как антимикробные пептиды.

В настоящее время антимикробные пептиды являются конкурентоспособной альтернативой классическим антибиотикам и активны против широкого спектра патогенных микроорганизмов. Однако исследование и внедрение их в терапевтическую практику ограничиваются рядом проблем, связанных с трудностями наработки и, как следствие, высокими затратами на их производство. Исходя из этого, создание новых способов наработки антимикробных пептидов или усовершенствование уже предложенных подходов является не только интересной, но и целесообразной с практической точки зрения задачей.

Целью данной работы было исследование структурных особенностей зеленого флуоресцентного белка для использования его в качестве контейнера для токсичных пептидов. Для этого была сконструирована мутантная форма GFP с антимикробным пептидом бактеницином, интегрированным в центральную альфа-спираль. Было показано, что в составе GFP бактеницин может быть синтезирован в бактериальной системе экспрессии и не оказывает токсического действия на культуру-продуцент. Структура гибридного белка была исследована с помощью метода кругового дихроизма.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00313 мол\_а.

## ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМОВ ЛОКУСА UCP1 С КАРДИОМЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Грачева Н.П.<sup>1,2</sup>, Праведникова А.Э.<sup>1,3</sup>, Керчев В.В.<sup>3</sup>, Ларина С.Н.<sup>3</sup>, Шидловский Ю.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

*feja97@inbox.ru*

Немаловажным метаболическим органом является бурая жировая ткань. Функциональная активность бурой жировой ткани напрямую зависит от экспрессии гена белка термогенина, или UCP1 (uncoupling protein 1). UCP1 локализован на внутренней мембране митохондрий и участвует в разобщении окислительного фосфорилирования, что приводит к высвобождению тепловой энергии без образования АТФ. В результате исследований были выявлены нарушения функционирования бурой жировой ткани у носителей однонуклеотидных мутаций (SNPs) в гене UCP1, а также обнаружена связь данных SNPs с ожирением, ССЗ, СДII и другими кардиометаболическими заболеваниями, широко распространенными по всему миру.



Цель исследования. Изучение роли генетических полиморфизмов G+1068A (rs45539933), A-112C(rs10011540), A-3826G(rs1800592) и A-1766G (rs3811791) гена UCP1 в формировании предрасположенности к кардиометаболическим заболеваниям в российской популяции.

Для анализа использовали образцы геномной ДНК 250 пациентов, страдающих кардиометаболическими заболеваниями, а также 233 здоровых людей контрольной группы. Препараты геномной ДНК получали из цельной венозной крови с помощью набора GeneJET™ Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific). Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием флуоресцентно меченых зондов TaqMan.

Частота встречаемости аллеля А полиморфизма G+1068A в группе пациентов, страдающих кардиометаболическими заболеваниями, составила  $8,4 \pm 1,2\%$ , тогда как в контрольной группе частота данного аллеля была меньше –  $7,3 \pm 1,2\%$ . Распространенность генотипа GA составила  $15,2 \pm 2,3\%$  среди больных, и  $12,9 \pm 2,1\%$  среди здоровых участников. Аллель G полиморфного варианта A-1766G встречался очень редко как в контрольной группе, так и в группе с кардиометаболическими заболеваниями.

Выводы. Принимая во внимание предварительность полученных результатов, не исключается ассоциация между аллелем А полиморфного варианта G+1068A и развитием кардиометаболических заболеваний. Анализ генотипов показал, что частота встречаемости аллеля G полиморфизма A-1766G довольно низкая у русского населения. Окончательные выводы о распространенности генотипов в исследуемой нами популяции можно будет сделать после завершения генотипирования всей выборки. Также планируется продолжить генотипирование по полиморфным вариантам A-3826G и A-112C гена UCP1 для выявления возможной корреляции с ССЗ и нарушениями метаболизма.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИЙ В САЙТАХ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ БЕЛКА YB-1 НА ЕГО ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ

**Григорьева Е.М.<sup>1</sup>, Мордовкина Д.А.<sup>1</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*grigorievaka@gmail.com*

Многофункциональный Y-бокс связывающий белок-1 (YB-1) входит в семейство белков, содержащих эволюционно консервативный домен холодого шока. В клетке YB-1 проявляет, преимущественно, цитоплазматическую локализацию, в некоторых случаях белок перемещается в ядро. Функции YB-1 сложно недооценить, так как он участвует во всевозможных процессах в клетке: регуляции репликации, транскрипции и репарации ДНК, вовлечен в сплайсинг, трансляцию и стабилизацию мРНК.

Об изменении локализации белка YB-1 в литературе встречаются противоречивые данные. Одним из наиболее изученных сайтов фосфорилирования в белке YB-1 является S102. По данным некоторых исследователей, фосфорилирование белка YB-1 киназами Akt и RSK по S102 приводит к переходу белка в ядро, а замена на аланин в 102 положении вызывает его задержку в цитоплазме.

Для изучения влияния фосфорилирования на локализацию белка мы использовали фосфомиметические замены аминокислот: аланин имитирует дефосфорилированное, а аспарагиновая кислота – фосфорилированное состояние. Нами были получены следующие генетические конструкции и выделены белки с HA-тагом: YB-1 (T80A, T80D), YB-1 (S102A, S102D), YB-1 (S209A, S209D), YB-1 (S102/209A, S102/209D).

Изучение влияния мутаций на транспорт белка проводили с помощью системы пермеабелизованных клеток линии HeLa. Преимущество данной системы том, что она воспроизводит характеристики ядерно-цитоплазматического транспорта *in vivo* с минимальными повреждениями клеточных структур.

Локализация, полученных 8 мутантных белков, сравнивалась с локализацией белка дикого типа в разных условиях. Белок HA-YB-1 (wt) в условиях культивирования клеток с 10% содержанием сыворотки не переходит в ядро, а в условиях голодания по сыворотке – детектируется в ядре. Мы предполагали три варианта влияния фосфорилирования на локализацию



белка: 1) фосфорилирование ингибирует транспорт белка, 2) фосфорилирование активирует транспорт белка и 3) фосфорилирование не влияет на транспорт белка в ядро.

Было показано, что фосфомиметическая замена по S102 стимулирует переход белка в ядро, такая же замена по S209, наоборот, препятствует переходу белка в ядро. О влиянии замен в положении T80 на транспорт белка трудно сделать выводы, так как оба мутантных белка детектировались в ядре. Белки с двойной заменой показали себя неоднозначно, так как фосфомиметические замены в 102 и 209 положениях оказывают противоположный эффект на транспорт.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00359.

## **ОСОБЕННОСТИ ФИЛОГЕОГРАФИИ МАЛОЙ ЛЕСНОЙ МЫШИ, SYLVAEMUS URALENSIS PALL. (RODENTIA, MURIDAE) НА СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ КАВКАЗЕ**

**Григорьева О.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

*grig\_forever@mail.ru*

Проанализирована изменчивость нуклеотидной последовательности фрагмента (838 п.н.) митохондриального гена *cytb* *S. uralensis* на северном макросклоне Западного Кавказа. Две фиксированные несинонимичные замены в последовательностях гена *cytb* образцов исследованной выборки позволяют охарактеризовать их как особую гаплогруппу Лаго-Наки, которая кластеризуется в европейской кладе гена *cytb*. Если в оценке возраста диверсификации исследованной выборки исходить из известной скорости фиксации замен в третьей позиции у *S. sylvaticus*, то продолжительность изоляции должна составить часть или весь период последнего оледенения (10-100 тыс. лет назад). Обнаруженная дифференциация гаплотипов гена *cytb* указывает на рефугиальное распространение *S. uralensis* на северном макросклоне Западного Кавказа и вторичность контакта популяций этого вида Кавказа и Русской равнины в голоцене.

## **ФИБРИЛЛОГЕНЕЗ АНАЛОГОВ ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА**

**Гришин С.Ю.<sup>1,2</sup>, Селиванова О.М.<sup>2</sup>, Суворина М.Ю.<sup>2</sup>, Сурин А.К.<sup>2</sup>, Галзитская О.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

*ogalzit@vega.protres.ru*

Аналогами инсулина называют искусственно модифицированные молекулы гормона, которые за счет изменения активности по сравнению с регулярным инсулином позволяют усовершенствовать метаболический контроль уровня глюкозы в крови у больных сахарным диабетом. Известно, что мономерный инсулин, в 20%-ной уксусной кислоте, обладает свойством формировать амилоидные фибриллы, что используется для изучения фибриллогенеза. В то же время особенности формирования фибрилл аналогами инсулина изучены недостаточно.

Целью настоящей работы было исследование особенностей фибриллогенеза аналогов инсулина человека короткого (лизпро) и длительного действия (гларгина), в условиях 20 % уксусной кислоты (pH 2.0), 140 mM NaCl, 37 °C, методом флуоресцентной спектроскопии за счет связывания с тиофлавином Т (ThT).

Бесцинковые препараты лизпро и гларгина были предоставлены сотрудниками АО «Научно-Производственная Корпорация Биоран» и ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова соответственно.

Ранее нами было показано, что лаг-период для рекомбинантного инсулина составляет 6-7 часов и активная полимеризация фибрилл инсулина происходит после 8-9 часов инкубации (для концентрации белка 4 мг/мл, в условиях 20 % уксусной кислоты (pH 2.0), 140 mM NaCl, 37 °C). В тех же условиях для лизпро отмечается удлинение лаг-периода на 5 часов. На основе кинетических кривых интенсивности флуоресценции ThT была предложена модель механизма формирования амилоидных фибрилл для инсулина и лизпро.



В данной работе были получены кинетические кривые зависимости изменения флуоресценции ThT в процессе фибриллообразования препаратов гларгина различной концентрации. Так для концентрации белка 4 мг/мл было продемонстрировано удлинение лаг-периода до 22-24 часов, что позволяет сделать вывод о том, что формирование фибрилл гларгина происходит медленнее, чем формирование инсулиновых фибрилл. Кроме того было изучено влияние аминокислот - фенилаланина, глицина, лейцина - на фибриллогенез лизпро. Используемые в исследовании аминокислоты с разной эффективностью замедляли рост тиофлавиновой флуоресценции.

## ПРОВЕРКА АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА HNRNPD В ДРОЖЖЕВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ

Данилов Л.Г.<sup>1</sup>, Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Москаленко С.Е.<sup>1,2</sup>, Романова Н.В.<sup>1</sup>, Зелинский А.А.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Каява А.В.<sup>3</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Санкт-Петербургской Филали Института общей генетики им. Н.С. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Centre de Recherches de Biochimie Macromoléculaire, CNRS, Université Montpellier, Montpellier, France; <sup>4</sup>Institut de Biologie Computationnelle, Montpellier, France; <sup>4</sup>School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA

*lavrentydaniylov@gmail.com*

Некоторые растворимые белки могут менять свою конформацию, образуя нерастворимые амилоидные агрегаты. Это может приводить к различным неизлечимым нейродегенеративным заболеваниям человека, таким как болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и др. На сегодняшний день обнаруживают всё новые белки с амилоидными свойствами, в том числе и у млекопитающих. Однако, не все из них оказываются патогенами – некоторые из них способны, по-видимому, выполнять различные функции в организме, например обеспечивать формирование долговременной памяти.

В нашей работе для поиска новых амилоидогенных белков мы используем модельный объект - дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, у которых есть прионы с легко детектируемым фенотипом. Одним из таких прионов является  $[PSI^+]$ , который образуется в результате агрегации фактора терминации трансляции белка Sup35, а его присутствие можно детектировать по росту на селективных средах.

Ранее было показано, что сверхпродукция химерного белка, состоящего из амилоидогенного белка человека и прионного домена дрожжевого Sup35p, приводит к агрегации мономерного Sup35p и появлению фактора  $[PSI^+]$  в клетках дрожжей. Этот процесс происходит даже в штаммах без других факторов, например  $[PIN^+]$ , которые необходимы для агрегации Sup35p при сверхпродукции (Chandramowlishwaran *et al.*, 2018, JBC).

Программа ArchCandy позволяет предсказывать образование бета-арок в белке, на основании этого можно сделать предположения о его амилоидогенности. С ее помощью был проанализирован протеом человека и выявлены потенциальные амилоидогенные белки, в том числе HNRNPD, кодируемый геном AUF1. В организме человека существует четыре изоформы этого белка, две из которых p40<sup>AUF1</sup> и p45<sup>AUF1</sup> (далее HNRNPD3 и HNRNPD1) мы анализировали в ходе работы. Изоформа HNRNPD1, в отличие от HNRNPD3, содержит прионоподобный домен на участке с 285 по 335 а.к. С использованием системы, описанной выше, мы показали, что сверхпродукция химерной конструкции только с изоформой p45<sup>AUF1</sup> (Sup35NM-HNRNPD1) приводит к появлению приона  $[PSI^+]$ . Так же сверхпродукция EGFP-HNRNPD1 приводит к появлению фокусов свечения в клетках дрожжей, в то время как при сверхпродукции белка EGFP-HNRNPD3 можно детектировать только диффузное свечение. Таким образом, мы можем предположить, что амилоидогенные свойства изоформы HNRNPD1 обусловлены участком с 285 по 335 а.к.

Работа поддержана грантами РФФИ 14-50-00069, РФФИ 17-54-150002 и 16-04-00202, СПбГУ 15.61.2218.2013, а так же ресурсным центром «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.





## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ КОНЦЕВЫХ УЧАСТКОВ IF3MT В ТРАНСЛЯЦИОННЫХ СИСТЕМАХ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

**Дербикова К.С.<sup>1</sup>, Кузьменко А.В.<sup>2</sup>, Левицкий С.А.<sup>1</sup>, Климонтова М.В.<sup>1</sup>, Каменский П.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

*k.derbikova@gmail.com*

Третий фактор инициации трансляции бактерий (IF3) состоит из двух доменов, соединенных линкером. Белки, выполняющие сходную функцию в митохондриальных системах трансляции различных организмов (IF3mt) устроены по тому же типу, однако, имеют дополнительные, N- и C-, концевые участки.

Белок Aim23p является третьим фактором инициации трансляции пекарских дрожжей *S. cerevisiae*. Ранее было показано, что для нормальной работы митохондрий необходимо наличие хотя бы одного концевого участка фактора. Сходные черты известны и для человеческого фактора: Л. Шпремулли с соавторами провела исследования, продемонстрировавшие, что IF3mt человека, лишенный концевых участков, не может функционировать в родной системе.

В данной работе мы проанализировали активность разных производных человеческого IF3mt в клетках *S. cerevisiae*. Оказалось, что любая вариация фактора, а именно с двумя, с одним, а также и без концевых участков, может полностью компенсировать отсутствие Aim23p в дрожжах, то есть в системе менее высокоорганизованного организма.

Нами также было продемонстрировано, что Aim23p блокирует работу трансляционной системы бактерий, тогда как лишенный концевых участков фактор никак не влияет на рост *E. coli*. С помощью метода вестерн-блот гибридизации было показано, что усеченный Aim23p не взаимодействует с бактериальной рибосомой. Полноразмерный же фактор связывается как с 30S субъединицей, так и с целой бактериальной рибосомой, вероятно, препятствуя нормальному ходу трансляции.

Результаты данной работы подтверждают гипотезу об эволюционном происхождении концевых участков IF3mt. Данные белки могут выполнять свою функцию в митохондриальных системах других организмов. Однако бактериальная система имеет достаточно сильные отличия, что препятствует функционированию в ней фактора эукариотического организма.

Работа поддержана грантом РФФ № 17-14-01005.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ НОВЫХ 8-ЦИСТЕИНОВЫХ ГЕВЕИНОПОДОБНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ

**Дмитриева М.А.<sup>1,2</sup>, Коростылева Т.В.<sup>1</sup>, Истомина Е.А.<sup>1</sup>, Одинцова Т.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

*mariaalekseevna@bk.ru*

Ответ растения на воздействие стрессовых факторов внешней среды включает экспрессию защитных антимикробных пептидов. АМП растений – это короткие (<100 ак), положительно заряженные, цистеин-богатые полипептиды, подавляющие рост и развитие широкого круга патогенов. АМП растений, как правило, кодируются индивидуальными генами. Гевеиноподобные АМП представляют собой особую группу АМП растений, благодаря наличию выраженной антимикробной активности по отношению к фитопатогенам, эти пептиды применяют для создания трансгенных растений с повышенной устойчивостью к патогенам.

Проводимое исследование опиралось на данные, полученные в лаборатории с использованием NGS-секвенирования при идентификации транскриптов, кодирующих АМП в транскриптоме пшеницы *Triticum kiharae Dorof. et Migush.*. Среди сотен транскриптов АМП-подобных пептидов были выявлены 2 транскрипта, кодирующих гевеиноподобные пептиды с новым 8-ми цистеиновым мотивом и хитинсвязывающим участком. Ранее гевеиноподобные АМП с таким мотивом у растений пшеницы описаны не были. Обнаруженные транскрипты гевеиноподобных АМП содержат ORF, кодирующую полипептидный предшественник, который



состоит из N-концевого сигнального пептида, зрелого гевеиноподобного пептида и C-концевого продомена.

Цель данной работы – верифицировать полученные *insiliko* данные выявленным транскриптам 8-цистеиновых АМП нового типа: установить наличие соответствующих генов в геноме *T. kiharae*, а также провести анализ экспрессии данных генов в растениях пшеницы с помощью метода ПЦР *real-time*. Нами были подобраны праймеры к концам транскриптов, проведено выделение ДНК из листьев *T. kiharae*. Методом ПЦР-анализа и последующего секвенирования кандидатных ампликонов, нами в геноме пшеницы были выявлены 2 нуклеотидные последовательности, названные Tk-Hev1 и Tk-Hev2, которые содержали все признаки ORF, по длине и сиквенсу полностью совпадали с транскриптами, выявленными биоинформатически. Далее мы провели выделение тотальной РНК из проростков *T. kiharae* разного возраста - 1, 3, 4, 7 и 11 дня, с последующей обработкой образцов ДНКазой для исключения присутствия в образцах остатков геномной ДНК. Качественный ПЦР-анализ образцов синтезированной с РНК кДНК показал наличие экспрессии гена Tk-Hev1 в проростках 1, 3, 4, 7 и 11 дней, причем он был обнаружен и в листьях, и в корнях 11-дневных проростков. Присутствие транскрипта Tk-Hev2, обнаружено в проростках 7 и 11 дня, на 11 день преимущественно в листьях. Соответствие ампликонов исследуемым генам было подтверждено их секвенированием.

Таким образом, нами было подтверждено присутствие и экспрессия в геноме *T. kiharae* двух генов гевеиноподобных пептидов с новым 8-ми цистеиновым мотивом.

## ПЛАЗМИДЫ РОДА *PECTOBACTERIUM* КАК ДЕТЕРМИНАНТЫ ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ

Дюбо Ю.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*yuliyadiubo@gmail.com*

Известно, что плазмиды могут влиять на вирулентность бактерий. Примеры такого влияния в большей степени исследованы у патогенов человека и животных в силу очевидной ценности для медицины и ветеринарии. Для фитопатогенных бактерий данный вопрос раскрыт значительно меньше. Как пример тщательно исследованной плазмиды фитопатогенов можно привести T1-плазмиду.

При скрининге имеющихся в коллекции кафедры изолятов *Pectobacterium atrosepticum* были обнаружены два штамма, несущие плазмиды. Они были отобраны для дальнейшей работы.

Первый из исследуемых белорусских изолятов пектобактерий, 14А, несет две некрупные плазмиды размером 7076 и 5223 н.п., функции которых пока не ясны. Однако можно предположить, что они могут участвовать в защите популяции клеток от фагов путем развития abortивной инфекции. Данное предположение основывается на сходстве этих плазмид с рЕСА1039, для которой такая способность показана.

Более интересной оказалась обнаруженная в геноме штамма 21А плазида рРА21А размером 32505 н.п. Штамм 21А на 98% сходен со штаммом SCRI1043, и не считая транспозонов и профагов, существенных различий в организации хромосом не наблюдается. Штамм 21А обладает способностью вызывать реакцию гиперчувствительности у растений табака. Эта способность у штамма SCRI1043 и прочих бесплазмидных штаммов *P. atrosepticum* отсутствует, что позволило предположить взаимосвязь фенотипической особенности штамма с плазмидой рРА21А. Это предположение подкрепляется также анализом нуклеотидной последовательности плазмиды. Она несет гены фосфолипазы D и сиртуин-подобного белка, способные быть факторами вирулентности.

Для дальнейшей работы данная плазида была маркирована геном устойчивости к гентамицину. Для этого производного плазмиды показана способность передаваться при конъюгативном переносе с частотой до  $10^{-3}$  на клетку. Показано и влияние плазмиды на вирулентность: производный штамм SCRI1043, несущий плазмиду рРА21А, вызывает реакцию гиперчувствительности у растений табака, хоть и менее выраженную, чем штамм 21А.

На данный момент конструируются делеционные версии плазмиды с делетированными *vir*-кластером, геном фосфолипазы D и сиртуинподобного белка. В дальнейшем планируется проверка



разницы во влиянии полной плазмиды и её делеционных вариантов на вирулентность несущих её клеток.

## СОЗДАНИЕ ДНК-БАНКА РЕДКИХ, ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ, СОБРАННЫХ В НАЦИОНАЛЬНОМ ПРИРОДНОМ ПАРКЕ «БУРАБАЙ» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ

**Жалмаканова Ж.Ж.<sup>1,2</sup>, Жаныбекова Ж.Т.<sup>2</sup>, Есимсеитова А.К.<sup>2</sup>, Какимжанова А.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан; <sup>2</sup>РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, Астана, Казахстан

*janar.03.83@mail.ru*

Сохранение биологического разнообразия является одной из важнейших задач в деле охраны природы, которой уделяют большое внимание во всем мире. Создание, поддержание и пополнение коллекций растений является наиболее эффективным путем сохранения и рационального использования их биологического разнообразия.

В банк ДНК попадают образцы хозяйственно-ценных, а также редких и охраняемых растений. Банк призван решить задачи в области сохранения и изучения биоразнообразия флоры с использованием современных молекулярных методов, организации эффективного взаимодействия с другими банками ДНК и коллекциями генетического материала с возможностью вхождения в международную сеть для обмена образцами и информацией, инвентаризации редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений.

На первом этапе по Бурабайскому парку проведен сбор 82 популяций, 69 видов редких, хозяйственно-ценных растений: смородина черная (*Ribes nigrum*), черёмуха обыкновенная или кистевая (*Padus avium*), змееголовник руйша (*Dracocephalum ruischiana*), кизляк кистецветный (*Naumburgia thyrsoiflora*). В Красную книгу Казахстана занесены исчезающие виды растений – башмачок крупноцветный (*Cypripedium macranthum*), олений мох (*Cladonia rangiferina*). Выявлены растения, которые принадлежат бореальному реликту, сохранившиеся как остаток предковой группы – земляника зеленая (*Fragaria viridis*), грушанки средняя и круглолистная (*Pyrola media, rotundifolia*), купена обыкновенная (*Polygonatum officinale*), борщевик сибирский (*Heracleum sibiricum*), шиповник майский (*Rosa mayalis*), хвощ лесной (*Equisetum sylvaticum*), хвощ зимующий (*Equisetum hyemale*), герань лесная (*Geranium silvaticum*), многоножка обыкновенная (папоротник) (*Polypodium vulgare*).

Для создания ДНК-банка провели выделение ДНК редких видов, по 5 растений каждой популяции. Для получения полной коллекции ДНК образцов растений был использован СТАВ метод. Концентрация выделенной ДНК варьировала от 150 до 500 нг/мкл. ДНК образцов пронумерованы в соответствии с порядковым номером популяции и вида растений. Создана электронная база ДНК в программе *MicrosoftOfficeExcel* по выделенным 410 образцам.

Таким образом, по национальному парку «Бурабай», создан ДНК-банк 410 образцов редких, хозяйственно-ценных видов растений, что обеспечивает возможность использования его в дальнейших анализах, а также для обмена информацией с различными научными центрами в области сохранения и изучения биоразнообразия.

## ВЛИЯНИЕ БЕЛКА LBROTН НА ДНК-СВЯЗЫВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛКА LBGLNR В КЛЕТКАХ LACTOBACILLUS BREVIS SUBSP GRAVESENSIS

**Журавлева Д.Э.<sup>1</sup>, Исакова З.И.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*darya.ed@gmail.com*

Семейство MerR белков – семейство факторов транскрипции, которые участвуют в регуляции экспрессии генов, вовлеченных в ассимиляцию, удаление или детоксикацию тех или иных химических соединений в клетке. Активность белков этого семейства контролируется эффекторными молекулами: органическими веществами и ионами металлов. Ранее при исследовании свойств Р-II подобного белка LbPotN из *Lactobacillus brevis subsp gravesensis* было обнаружено, что вместе с ним коэлюируется белок LbGlnR семейства факторов транскрипции



MerR. В клетках родственных бактерий *B. subtilis* есть два подобных белка относящиеся к семейству MerR, это белки GlnR и TnrA. Гомология этих белков с белком LbGlnR *L. brevis* составляет 76% и 67% соответственно. Однако С-концевой домен, участвующий в регуляции активности этих факторов транскрипции, значительно различается, что позволяет предположить различия механизмов регуляции их ДНК-связывающей активности. Анализ промотора гена *glnR* выявил наличие потенциального сайта взаимодействия для белков GlnR.

Целью работы явилось исследовать возможность взаимодействия белка LbGlnR с данным участком ДНК.

Для этого путем гибридизации двух взаимно комплементарных праймеров была получена двухцепочечная ДНК, соответствующая фрагменту промотора гена и несущая потенциальный сайт связывания. С 5' конца один из праймеров нес флуорофор Cy5 для детекции. Первым действием мы исследовали возможность взаимодействия белка LbGlnR с ДНК в присутствии и отсутствии LbPotN. Для этого смешивали чистые белки LbPotN с LbGlnR и фрагментами ДНК в буфере, и инкубировали 1 час при 4 °С. Эксперимент проводился также в присутствии АТФ и АДФ, являющихся эффекторами белка LbPotN. Результаты анализа показали, что LbPotN значительно повышает ДНК-связывающую активность белка LbGlnR, при этом присутствие АТФ усиливает это взаимодействие, а АДФ – подавляет, что соответствует данным, полученным в результате Pull Down анализа. Присутствие в буфере ионов магния приводило к нивелированию эффекта АТФ.

Таким образом, белок LbPotN, по всей видимости, является модулятором ДНК связывающей активности фактора транскрипции LbGlnR в клетках *L. brevis*. Стабилизация комплекса LbPotN-LbGlnR и повышение ДНК-связывающей активности LbGlnR в присутствии АТФ, и дестабилизация в присутствии АДФ позволяет предположить, что специфическим сигналом данной системы является энергетический статус клетки, который выражается в соотношении АТФ/АДФ в клетке и в зависимости от него происходит активация/репрессия генов GlnR-регулона.

## АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ВО ВРЕМЯ СТРОБИЛЯЦИИ СЦИФОМЕДУЗЫ AURELIA AURITA (CNIDARIA:SCYPHOZOA)

**Зайнуллина Б. Р.<sup>1</sup>, Зорина Н. А.<sup>1</sup>, Согомоян К. С.<sup>1</sup>, Хабибулина В. Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*zainullinazhana@gmail.com*

Кишечнополостные представляют собой один из базальных таксонов Metazoa и являются сестринской группой по отношению к Bilateria. Несмотря на широкое разнообразие жизненных форм, обе группы задействуют схожие генетические механизмы для регуляции процессов развития. Сравнительное исследование молекулярных каскадов Cnidaria и Bilateria важно для понимания этапов эволюции многоклеточных.

Среди Cnidaria молекулярные механизмы развития наиболее изучены у представителей групп Hydrozoa (*Hydra vulgaris*, *Clytia hemisphaerica*) и Anthozoa (*Nematostella vectensis*), в то время как данные по Scyphozoa практически отсутствуют. *Aurelia aurita*, как большинство представителей Scyphozoa, обладает сложным метагенетическим циклом с чередованием поколений, размножающихся половым и бесполом путями. Одиночный полип образует свободноплавающих эфир с помощью особого типа бесполого размножения, называемого стробилиацией. Эфиры плавают в толще воды, постепенно превращаясь в медуз, которые размножаются половым путем, продуцируя личинок – планул. Планулы оседают на дно и дают начало новым полипам. Полипы *Aurelia aurita* хорошо культивируются, а в лабораторных условиях можно искусственно индуцировать процесс стробилиации. Поэтому данный вид является удобным объектом для исследования основных молекулярных каскадов развития.

Для данной работы нами были выбраны следующие группы регуляторных генов: Нох-гены, гены Wnt-каскада, инсулинового каскада, а также гены, участвующие в развитии фоторецепторов. Поиск целевых генов осуществлялся с помощью баз данных NCBI и Comragen (Aurelia project <http://www.comragen.org/aurelia/>). Был произведен сравнительный анализ транскриптомных и геномных последовательностей этих генов с последовательностями других представителей



таксона Cnidaria. В ходе анализа нами было обнаружено 15 гомологов генов, связанных с Wnt-каскадом, 12 Нох-подобных генов, 4 генов инсулинового каскада и 6 генов, регулирующих развитие органов фоторецепции. К найденным последовательностям были подобраны праймеры, и с помощью ПЦР амплификации было показано наличие экспрессии генов на стадиях полипа, стробилы и эфире. Кроме того, было установлено, что уровень экспрессии каждого из генов отличается на разных стадиях жизненного цикла.

Полученные данные согласуются с исследованиями, выполненными на других представителях кишечнополостных и дают основу для дальнейшего изучения регуляторных генов путём визуализации паттернов экспрессии с помощью РНК гибридизации *in situ*.

## СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ВРЕМЕНИ ДО ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ХИМИОТЕРАПИИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПЛАТИНЫ

Заварыкина Т.М.<sup>1</sup>, Заркуа В.Т.<sup>2</sup>, Аткарская М.В.<sup>1</sup>, Стенина М.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия

*tpalievskaya@yandex.ru*

Индивидуализация лечения онкологических пациентов является одной из важных проблем клинической онкологии и представляет собой поиск признаков заболевания (маркеров), ассоциирующихся с эффектом (или, наоборот, отсутствием эффекта) при применении тех или иных лекарственных средств. Ключевым препаратом комбинаций, используемых при раке яичников (РЯ), являются производные платины, сочетающие высокую эффективность и столь же высокую токсичность. Это обстоятельство обосновывает поиск маркеров чувствительности к данной группе препаратов. Одними из наиболее изучаемых маркеров резистентности к производным платины являются маркеры генов репарации.

Целью данной работы было изучение статуса полиморфных маркеров генов репарации ДНК *XRCC1* и *ERCC2* и их связи с длительностью времени до прогрессирования (ВДП), которое является суррогатным клиническим маркером чувствительности к производным платины при РЯ. В исследование были включены 23 больных распространенным РЯ (III-IV стадии), у которых до начала химиотерапии, в момент первичной циторедуктивной операции, был произведен забор образцов опухолевой ткани. После операции все больные получили стандартную химиотерапию карбоплатином АUC6 и паклитакселом 175 мг/м<sup>2</sup>, после окончания которой наблюдались до прогрессирования заболевания. Из образцов опухолевой ткани выделяли ДНК с помощью набора Diatom DNA Prep 400 (Изоген, Россия). Определение статуса полиморфных маркеров *Arg399Gln* гена *XRCC1* и *Lys751Gln* гена *ERCC2* проводилось методом ПЦР-ПДРФ. Результаты определения маркеров были сопоставлены с длительностью ВДП.

Из 23 больных, включенных в анализ, у 17 больных было выявлено наличие минорного аллеля *Gln* полиморфного маркера *Arg399Gln XRCC1*, что имело тенденцию к связи с большим значением медианы ВДП (16,9 мес. – у больных с наличием минорного аллеля в сравнении с 10,8 мес в подгруппе больных с отсутствием аллеля *Gln*;  $p=0,1$ ; long-rank test). Носительство аллеля *Gln* маркера *Lys751Gln ERCC2* было выявлено у 14 из 23 больных, при этом наблюдалось сокращение медианы ВДП по сравнению с больными, в опухолевой ткани которых этот аллель отсутствовал (12,8 и 18,5 мес. соответственно,  $p=0,44$ , long-rank test), однако статистической значимости достигнуто не было.

Таким образом, в нашем исследовании при наличии минорного аллеля *Gln* гена *XRCC1* был выявлен тренд к большей продолжительности ВДП после платиносодержащей химиотерапии по поводу РЯ, что обосновывает целесообразность дальнейшего изучения данного показателя в репрезентативной группе больных.



## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ NUTLIN-3А НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ И УРОВЕНЬ СЕКРЕЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

**Змиевская Е. А.<sup>1</sup>, Валиуллина А. Х.<sup>1</sup>, Ризванов А. А.<sup>1</sup>, Булатов Э. Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*eka-zmievskaia@yandex.ru*

p53 известен как транскрипционный фактор и онкосупрессорный белок, выполняющий ключевую роль при онкологических заболеваниях. Наиболее изученными функциями p53 являются регуляция клеточного цикла и индукция апоптоза. Убиквитин-лигаза MDM2, негативный регулятор белка p53, посредством убиквитинирования способствует протеасомальной деградации p53. Известен низкомолекулярный ингибитор MDM2 – Nutlin-3а, способный блокировать действие MDM2 и, таким образом, активировать p53.

Целью нашего исследования являлось определение влияния стимуляторов иммунного ответа форбол-12-миристан-13-ацетата (РМА, 50 нг/мл), фитогемагглютинаина (РНА, 10 мкг/мл), конканавалина А (ConA, 5 мкг/мл), липополисахарида (LPS, 1 мкг/мл) в комбинации с Nutlin-3а на p53-зависимые процессы неспецифической активации мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) человека. В частности, на примере IFN $\gamma$ , IL-6, IL-10 определялся уровень секреции данных цитокинов и экспрессия их генов.

Результаты иммуноферментного анализа (ИФА) показали, что при ко-инкубации МКПК с Nutlin-3а и РМА наблюдается снижение уровня секретлируемого IFN $\gamma$ , в то время как ко-инкубация с Nutlin-3а и ConA приводит к его увеличению. Также показано, что ко-инкубация клеток с Nutlin-3а и ConA приводит к увеличению секреции IL-6. Помимо этого обнаружено, что концентрация IL-10 увеличивалась при ко-инкубации клеток с Nutlin-3а и РНА, ConA, LPS.

Влияние Nutlin-3а в комбинации со стимуляторами иммунного ответа на экспрессию генов цитокинов определялась методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Показано увеличение экспрессии гена *IFN $\gamma$*  при ко-инкубации МКПК с Nutlin-3 и РМА, РНА, ConA, LPS. Также наблюдалось увеличение экспрессии гена *IL-6* при ко-инкубации клеток с Nutlin-3 и РНА, ConA. Для гена *IL-10* наблюдалось увеличение экспрессии при ко-инкубации клеток с Nutlin-3 и ConA, LPS.

Полученные результаты могут свидетельствовать о наличии регуляторной роли p53 в процессах активации иммунного ответа.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 16-34-60213 мол\_а\_дк.

## АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ В АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКАХ ГОРОХА ПОСЕВНОГО

**Зорин Е. А.<sup>1,2</sup>, Афонин А. М.<sup>1</sup>, Кулаева О. А.<sup>1</sup>, Тихонович И. А.<sup>1,2</sup>, Жуков В. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*kjokkjok8@gmail.com*

Альтернативный сплайсинг позволяет повысить кодирующий потенциал гена посредством выработки нескольких структурно различающихся изоформ. Хотя функциональная важность альтернативного сплайсинга была продемонстрирована для процессов развития и дифференциации разнообразных многоклеточных организмов, о его функции у высших растений известно по-прежнему мало. Ещё меньше информации накоплено об альтернативном сплайсинге у немодельных организмов. Однако различными исследовательскими группами показана важность событий альтернативного сплайсинга для растений, в частности, для функционирования симбиотических клубеньков бобовых.

Цель нашей работы – идентифицировать и охарактеризовать клубенёк-специфичные сплайс-варианты генов гороха. Поскольку для гороха отсутствуют геномные данные, в качестве материала для анализа использовались транскриптомные сборки: клубеньковая сборка линии SGE(SGE “Nodules”), сборка кончиков корней линии SGE(SGE “Root tips”)[Zhukov et al, 2015],



сборка всех тканей, кроме клубеньков, линии Cameor(PsUniHighCopy, PsUniLowCopy)[Alves-Carvalho et al, 2015].

На первом этапе работы была выполнена пересборка транскриптома клубеньков гороха посевного из сырых SRA данных, представленных в работах Alves Carvalho et al(PRJNA267198) и Zhukov et al(PRJNA284856). Далее, посредством утилиты “Exonerate” было выявлено 2285 потенциально специфичных для клубеньков изоформ. Среди них 535 имели как минимум один сохранённый интрон (“intron retention”) в своей структуре, в остальных 1850 последовательностях отсутствовали интроны, присутствующие в транскриптах из не клубеньковых тканей растения. 535 изоформ с «intron retention» приходится на 390 генов, из которых 97 были аннотированы посредством базы данных «EggNog». В частности, среди них были обнаружены гены, имеющие отношение к процессам симбиоза: кодирующие рецепторные серин-треониновые киназы, кальмодулин-связывающие белки, кальциевые мембранные АТФ-азы, кальций-кальмодулин-зависимые протеин-киназы, а также защитные белки.

В рамках работы, кроме *in silico* анализа альтернативного сплайсинга, также проводится валидация экспрессии обнаруженных изоформ в клубеньках гороха методом ПЦР.

## **СЕРОТОНИН ВЫЗЫВАЕТ ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКУЮ СЕНСИТИЗАЦИЮ АЛЬФА1А-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ**

**Иванова А. М.<sup>1</sup>, Чечехин В.И.<sup>1</sup>, Тюрин-Кузьмин П.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*ivanovanastasia14@gmail.com*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) выявляются в большинстве тканей организма и играют ключевую роль в процессах репарации, регенерации и поддержании их гомеостаза. Функциональная активность МСК регулируется гормонами и нейромедиаторами, а одним из ключевых регуляторов функций МСК является норадреналин. Ранее мы показали, что в МСК экспрессируются все основные изоформы адренорецепторов, но большинство из них не сопряжены с кальций-зависимой системой внутриклеточной сигнализации. Это сопряжение регулируется при участии бета-адренорецепторов. При стимуляции сигнального пути бета-адренорецепторы/Gs-белок/аденилатциклаза/цАМФ через 6 часов происходит транзитное повышение уровня экспрессии альфа1А-адренорецепторов и, как следствие, повышение чувствительности МСК к этому гормону.

В данной работе мы изучали, способны ли другие стимулирующие аденилатциклазу нейромедиаторы, кроме норадреналина, изменять чувствительность МСК к катехоламинам. Путем анализа сигнальных путей, активируемых основными нейромедиаторами, мы выбрали следующие нейромедиаторы, рецепторы которых могут активировать аденилатциклазу: дофамин (DRD1, DRD5), гистамин (HRH2), серотонин (HTR4, HTR6, HTR7), аденозин (A2b, A2a). Методом ПЦР мы установили, что в МСК экспрессируются мРНК рецепторов A2a, A2b, DRD1, DRD5, HRH2, HTR6, HTR7. Для проверки влияния выбранных нейромедиаторов на функциональную активность МСК мы стимулировали ими клетки и через 6 часов анализировали их чувствительность к норадреналину. Мы установили, что серотонин повышает число клеток, отвечающих на норадреналин кальций-зависимым путем. Гистамин, дофамин и аденозин - не изменяют. Для выяснения механизма обнаруженного феномена путем вестерн-блоттинга мы установили, что через 6 часов после преинкубации с серотонином в МСК повышается уровень экспрессии альфа1А-адренорецепторов. Кроме того, мы выяснили механизмы гетерологической сенситизации альфа1А-адренорецепторов под действием серотонина и норадреналина. Мы показали с помощью ингибиторного анализа и иммуноферментного анализа, что серотонин и норадреналин активируют аденилатциклазу, синтез цАМФ и протеинкиназу А. Нейромедиаторы, не вызывающие гетерологической сенситизации, ингибируют аденилатциклазу, несмотря на то, что имеют изоформы рецепторов, сопряженные с Gs-белком.

Таким образом, сопряжение адренергических рецепторов с кальциевой сигнализацией в мезенхимных стромальных клетках специфически регулируется нейромедиаторами норадреналином и серотонином. Работа проводилась при поддержке Грантов Президента России МК-3167.2017.7 и РНФ 14-15-00439.



## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Р-II-ПОДОБНОГО БЕЛКА GLNK В BACILLUS SUBTILIS

**Илларионова А.Ф.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*af236@mail.ru*

Учитывая большую распространенность бацилл и лактобацилл в почвах и поверхностях диких и культурных растений, а также повсеместное увеличение содержания азотсодержащих веществ в них, понимание механизмов регуляции азотного метаболизма бактерий представляется основой для создания систем биологической очистки и ремедиации загрязненных почв и водоемов. В клетках бацилл белок BsGlnK ассоциирован с трансмембранным белком AmtB и составляют ABC-транспортёр аммония в клетку. Во многих других бактериях белки GlnK контролируют активность AmtB в ответ на внутриклеточную концентрацию АТФ. Функция BsGlnK в клетках бацилл остается неисследованной. Чтобы проверить участие белка BsGlnK в регуляции активности белка AmtB, исходный штамм, в также клетки с нокаутированным и мутантным геном BsGlnK93, неспособным связывать АТФ, выращивали на средах с 2 мМ аммонием в качестве источника азота и различным значением рН. Об активности генов азотного обмена судили по активности β-галактозидазы, экспрессируемой с промотора *amtB*, активного в условиях азотного голодания.

При высоких значениях рН, когда аммоний представлен частично в виде аммиака, который свободно диффундирует через мембрану, активность в данных штаммах не различалась. При рН 5.0, когда транспорт аммония может осуществляться только белком AmtB, активность β-галактозидазы в штамме с геном *glnK93* была выше чем в контрольном штамме. Возможно, BsGlnK93 закрывает канал транспорта аммония, что приводит к условиям голодания. Исследование накопления ионов аммония в среде при использовании 20 мМ нитрата натрия в качестве источника азота показало повышение ионов аммония в среде штамма с мутантным белком BsGlnK93. Вероятно, это можно объяснить отсутствием обратного транспорта в клетку аммония, диффундирующего из клетки. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что одной из функций белка BsGlnK в клетках бацилл может быть контроль активности белка AmtB в ответ на внутриклеточное содержание АТФ в клетке. Также белок BsGlnK взаимодействует с другими белками партнерами на мембране клетки и некоторым образом участвует в ассимиляции глутамин. Конкретные регуляторные механизмы данной функции белка остаются неизвестными и требуют дальнейшего рассмотрения.

## РАДОН И ПОКАЗАТЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК У ЖИТЕЛЕЙ ИНДУСТРИАЛЬНОГО ГОРОДА

**Иродова К.А.<sup>1</sup>, Шамигова С.Ф.<sup>1</sup>, Сердюкова Е.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

*irodova.ksenia@mail.ru*

Известно, что хроническое радиационное воздействие служит источником увеличения риска возникновения стохастических эффектов радиации (в первую очередь онкозаболеваний). Радон представляет собой бесцветный газ, который является одним из чрезвычайно опасных канцерогенов, влияющих на человека. По установленным гигиеническим нормам границей допустимой объемной активности (ОА) радона в воздухе жилых помещений считается 200 Бк/м<sup>3</sup>. Уровень ОА радона в 73 Бк/м<sup>3</sup> и выше в зависимости от географического месторасположения и вида застройки отмечается в 30-55% жилых помещений. Очаги выделения радона в жилых и технических помещениях часто располагаются случайным образом. Радон рассматривается в качестве возможной причины развития состояния генетической нестабильности в экспонированных группах. Одним из действенных методов биомониторинга является анализ степени повреждения ДНК в клетках крови методом «ДНК-комет».

Для исследования была отобрана группа из 40 человек, проживающих в городе Кемерово, не подвергающиеся потенциально генотоксическим факторам. В местах их постоянного проживания были определены радиационные параметры. В ходе работы были учтены ОА радона, мощность





амбиентной эквивалентной дозы (МАЭД)  $\gamma$ -излучения и плотность потока  $\beta$ -излучения. Для генотоксикологического анализа была отобрана венозная кровь. С помощью микрофотографирования препаратов (окрашенные SYBR GREEN) проведена оценка параметров фрагментации, таких как длина хвоста кометы, момент хвоста и доля ДНК в хвосте кометы. Количественные показатели определяли, рассчитывая средние значения и пределы 95% доверительного интервала (CI 95).

Среднее значение ОА радона в воздухе жилых помещений составило 90,1 Бк/м<sup>3</sup>, значение МАЭД  $\gamma$ -фона составило 0,13 мкЗв/ч, плотность потока  $\beta$ -излучения 0,7 с<sup>-1</sup>, а средний уровень фрагментации ДНК составил 3,50%. Была обнаружена положительная корреляция показателей ДНК-комет с увеличением мощности  $\gamma$ -излучения (Значение – «Длина хвоста кометы» показала корреляцию с уровнем значимости  $p=0,023$  ( $r=0,363$ )), зависимость от ОА радона не достигла статистической значимости.

Полученные данные подтверждают значимость хронического бытового воздействия  $\gamma$ -излучения для общего увеличения уровня разрывов ДНК. В то же время связь уровня ОА радона в местах постоянного проживания с уровнем повреждений не наблюдалась. Подобный результат не отвергает значения хронической экспозиции радоном для целостности генома, в связи с достаточно малыми размерами выборки и требует продолжения изысканий.

## ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКА POTN ПЕРВОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ НОВОГО ПОДКЛАССА PII БЕЛКОВ

Исхакова З.И.<sup>1</sup>, Журавлева Д.Э.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАУОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*zalinunya@mail.ru*

PII белки представляют собой обширное семейство белков сигнальной трансдукции, широко распространенных в клетках бактерий, архей и растений. PII белки регулируют транскрипцию генов путем модулирования активности регуляторных белков и контроля каталитической активности ферментов, участвующих в метаболизме азота. PII-подобные сигнальные белки можно разделить на три подсемейства – GlnB, GlnK и Nifl. Несмотря на широкую распространенность PII белков среди бактерий, большинство представителей *Lactobacillus* не имеют их. Только 4 вида лактобацилл имеют ген P-II подобного белка в своем геноме. Целью работы было охарактеризовать P-II подобный белок PotN из *Lactobacillus brevis subspravesensis*.

В отличие от генов других PII белков, которые находятся либо в виде моноцистронного гена, либо в опероне с геном белка AmtB, который осуществляет АТФ-зависимый транспорт ионов аммония в клетку, ген *potN*, кодирующий PII-подобный белок *Lactobacillus brevis*, находится в составе оперона *potABCD*, кодирующего белки ABC-транспортера полиаминов. Ген *potN* был клонирован в экспрессионный вектор и белок был очищен до электрофоретической гомогенности. Показано конкурентное взаимодействие белка с АТФ и АДФ. Методом Pull Down анализа и иммунопреципитации с последующей масс-спектрометрией были идентифицированы потенциальные белки-партнеры для взаимодействия с белком PotN в клетках *L. brevis*. Среди них с высокой достоверностью идентифицируются белки GlnR и транскетолаза, однако Pot-белки не были обнаружены. Также в очищенном состоянии были получены белки GlnR и PotA с удаленным N-концевым доменом. С помощью Pull Down анализа показано, что взаимодействие белка PotN с белками GlnR и PotA стабилизируется в присутствии АТФ и подавляется АДФ, что может быть отражением механизма контроля активности данных белков в зависимости от внутриклеточного содержания АТФ и АДФ.



## ПИРИДИЛ-4-ОКСИ-ЗАМЕЩЕННЫЕ N-ГИДРОКСИАМИДЫ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ – НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ АКТИВНОСТИ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ И БЛОКАТОРЫ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Козлов М.В.<sup>1</sup>, Маликова А.З.<sup>1</sup>, Камарова К.А.<sup>1</sup>, Кондукторов К.А.<sup>1</sup>, Кочетков С.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*kkonduktorov@yandex.ru*

Обратимая посттрансляционная модификация белков играет важнейшую роль в регуляции их биологической активности. Ацетилирование является одним из наиболее распространенных видов такой модификации. Гистонацетилтрансферазы (НАТ) осуществляют перенос ацетильной группы ацетилкофермента А на остатки лизинов белков-субстратов, в то время как гистондеацетилазы (HDAC) катализируют обратный процесс.

Производные N-гидроксиамида коричной кислоты (СНА) эффективно ингибируют активность HDAC. Циннамоильный фрагмент СНА обеспечивает проникновение гидроксамоного остатка в гидрофобный «тоннель» активного центра HDAC, достигая дна которого, он образует комплексную связь с каталитическим ионом цинка.

Нами было показано, что в клеточной тест-системе коричные гидроксамоные кислоты (СНА) подавляют размножение полноразмерного репликона вируса гепатита С (HCV). Тестирование монометилированных по N-гидроксиамидному остатку производных СНА подтвердило, что именно хелатирующая способность СНА определяет эффективность подавления репликации HCV. Вслед за этим нами были получены три структурных изомера пиридил-4-окси-замещенного N-гидроксиамида коричной кислоты (РуО-СНА) и изучены свойства каждого из них в качестве блокатора репликации вируса гепатита С.

Оказалось, что введение пиридил-4-окси-заместителя в различные положения фенильного кольца N-гидроксиамида коричной кислоты позволяет влиять на селективность ингибирования ферментов HDAC разных классов. Нами была обнаружена корреляция между подавлением репликации HCV и ингибированием внутриклеточной активности HDAC6 и HDAC8 в присутствии *мета*- и *орто*-производных РуО-СНА, соответственно, что представляет несомненный интерес для дальнейшего изучения механизма противовирусного действия гетероарил-замещенных СНА.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013 – 2020 годы (тема №01201363818) и Российским Научным Фондом (грант 14-50-00060) президиума РАН (программа «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» 2014 – 2017 годы).

## МАЛЫЕ ДОЗЫ РАДИАЦИИ (10 СГР) ТАК ЖЕ, КАК И ОКИСЛЕННЫЕ ГЦ БОГАТЫЕ ФРАГМЕНТЫ, ВЫЗЫВАЮТ ОБРАЗОВАНИЕ БЫСТРОРЕПАРИРУЕМЫХ РАЗРЫВОВ ДНК СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Кальянов А.А.<sup>1</sup>, Абрамова М.С.<sup>1</sup>, Конькова М.С.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Малиновская Е.М.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

*googlbubu@gmail.com*

Накопление в составе вкДНК последовательностей с окислительными модификациями, так же, как и облучение в дозе 10 сГр, стимулирует ранний ответ в мезенхимных стволовых клетках (МСК), сопровождающийся синтезом активных форм кислорода клетками. Окислительный стресс может приводить к появлению в цепи ДНК одно- и двунитевых разрывов. Чтобы проверить это предположение, оценили уровень повреждения ДНК в ядрах клеток двумя методами – методом комет и методом анализа фосфорилированной формы гистона H2AX. Наличие суммарного количества одно- и двунитевых разрывов хроматина в МСК оценивали через 5 минут и через 3 часа после воздействия ионизирующего излучения (ИИ) в дозе 10 сГр и после добавления в среду культивирования МСК фрагментов окисленной вкДНК (вкДНКокс). ВкДНКокс, так же, как и облучение МСК дозой 10 сГр стимулировало образование множественных разрывов ДНК. Через 3



часа после добавления вкДНКокс, так же, как и через 3 часа после 10 сГр облучения, количество клеток, содержащих разрывы ДНК, значительно снижалось.

Повреждения ядерной ДНК активируют сигнальные каскады, регулирующие процессы репарации ДНК. BRCA1, BRCA2 – ядерные белки, которые участвуют в регуляции клеточного цикла и репарации разрывов ДНК. Низкие дозы ИИ, также, как и окисленные фрагменты ДНК, вызывают 3,5-4,5-кратное увеличение уровня транскрипции генов BRCA1 и BRCA2 через 30 минут. Через 2 часа уровень экспрессии генов BRCA1 и BRCA2 остается в 2-2,5 раза выше контрольного. Полученные результаты были подтверждены на уровне белка методом проточной цитофлуориметрии. Через тридцать минут после облучения или добавления фрагментов вкДНКокс в среду культивирования МСК общий уровень флуоресценции антител к BRCA2 увеличивается в 2,5-3,5 раза; при этом процент флуоресцирующих клеток в культуре увеличивается в 4-5 раз. Через 2 часа после радиационного воздействия или после добавления окисленных фрагментов вкДНК уровень экспрессии BRCA2 остается увеличенным в 2-2,5 раза. Мы показали, что существует корреляция между образованием двунитевых разрывов в клетке (уровнем  $\gamma$ H2AX) и уровнем белка BRCA2, отражающая эффективность репарации ДНК при действии радиации в дозе 10 сГр. Таким образом, при действии малых доз радиации и окисленных фрагментов вкДНК в МСК повышается число двунитевых разрывов, но одновременно происходит активация репарации ДНК, что приводит к снижению числа разрывов в клетках в более поздние сроки наблюдения.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01099 А.

## **ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК АКТИВИРУЕТ АПОПТОЗ В ЛИМФОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С РАС**

**Канонирова С.А.<sup>1</sup>, Чудакова Ю.М.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Никитина С.Г.<sup>2</sup>, Шмарина Т.В.<sup>1</sup>, Вейко Р.В.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научный центр психического здоровья, Москва, Россия

*s.kanonirova@gmail.com*

**Введение:** Расстройства аутистического спектра (РАС) – гетерогенная группа заболеваний нервной системы, представляющая собой актуальную проблему для исследований. На данный момент не существует единой теории возникновения РАС. В циркуляции пациентов с РАС накапливаются фрагменты GC-богатой внеклеточной ДНК (вкДНК). Предположили, что GC-богатая внеклеточная ДНК по-разному активирует про- и антиапоптотические гены в лимфоцитах детей-аутистов и здоровых доноров.

**Цель исследования:** установление уровня экспрессии про- и антиапоптотических генов в интактных лимфоцитах детей с РАС по сравнению со здоровым контролем и при действии ГЦ-обогащённой вкДНК.

**Материалы и методы:** Выделение лимфоцитов из крови детей с РАС (N=32) и здоровых доноров соответствующего возраста (N=21) осуществляли фикольным методом. Определение уровня экспрессии генов проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием соответствующих праймеров.

**Результаты:** Показали снижение уровня экспрессии гена антиапоптотического белка *BCL2* в группе детей, больных аутизмом, в 2-3 раза по сравнению со здоровым контролем и повышение экспрессии проапоптотического гена *BAX* в 1,7 раз; отношение *BAX/BCL2* более, чем в 4 раза выше у детей, больных аутизмом, по сравнению со здоровым контролем ( $p < 0,01$ ). При действии GC-богатой вкДНК уровень экспрессии гена *BCL2* в лимфоцитах пациентов с РАС снижается в 1,5 – 2,5 раза по сравнению с интактными клетками того же донора; а в лимфоцитах здоровых доноров - повышается в 2 - 3 раза. Уровень экспрессии гена *BAX* при действии GC-богатой вкДНК в лимфоцитах пациентов с РАС возрастает в 1,5 - 2 раза по сравнению с интактными клетками того же донора; а в лимфоцитах здоровых доноров - и снижается в 1,5 раза.

**Вывод:** Таким образом, можно предположить, что накопление в плазме крови детей-аутистов ГЦ-обогащённой вкДНК приводит к активации сигнальных путей, отвечающих за апоптоз.

Работа поддержана грантом РФФИ №17-04-01587\_А.



## КОНСТРУИРОВАНИЕ КДНК КЛОНОТЕКИ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

**Каратаева Т.А.<sup>1</sup>, Быстрова М.Ф.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*karat1989@yandex.ru*

Обонятельная система позвоночных способна детектировать и распознавать тысячи запахов, в том числе синтетических. Эта способность обонятельной системы в значительной степени определяется наличием большого количества рецепторов запахов, которые являются представителями гептаспиральных рецепторов, сопряженных с G-белками. Гены, кодирующие обонятельные рецепторы, составляют самое большое семейство в геномах млекопитающих. Это семейство у разных животных насчитывает от 900 до 1500 представителей. Целью данной работы было создать кДНК клонотеку обонятельных рецепторов мыши *Mus musculus* и оценить в ней представленность кДНК отдельных генов этого семейства. В качестве матрицы для реакции обратной транскрипции использовалась тотальная РНК, выделенная из ткани обонятельного эпителия мыши. Для амплификации кДНК генов обонятельных рецепторов использовалась пара вырожденных праймеров с инозином, сконструированных на основе консервативных участков молекул обонятельных рецепторов, расположенных на трансмембранных доменах TM3 и TM7: прямой (GCITA(CT)GA(CT)CGITA(CT)GTIGCIATITG) и обратный (ACIACIGAIAG(GA)TGIGAI(GC)C(GA)CAIGT). Фрагмент ожидаемого размера приблизительно 390 п.н., полученный в реакции ОТ-ПЦР с вырожденными праймерами, был вырезан из геля, очищен и клонирован в вектор pGEM-T. Из индивидуальных колоний *E.coli* выделили плазмидные клоны, а вставки в составе плазмид секвенировали. Поскольку в обонятельном эпителии индивидуальный нейрон экспрессирует один ген из семейства обонятельных рецепторов, насчитывающих 1500 представителей, при конструировании клонотеки мы предполагали, что каждый кДНК клон должен соответствовать специфическому гену. Однако результаты показали совсем неравномерное распределение: 30 клонов клонотеки соответствовали не тридцати, а всего десяти генам, из них 15 клонов соответствовали гену olfr1352, 4-olfr1347, 3-olfr994, 2-olf279 и по одному-olfr476, 458, 1507, 24, 259 и 74.

Поддержано грантом РФФИ-Правительство Московской области 17-44-500625p\_a.

## АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ КРЫС *RATTUS NORVEGICUS*, В УСЛОВИЯХ ПАРАКВАТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

**Каширских Д. А.<sup>1</sup>, Гланц В. Ю.<sup>1</sup>, Попов В. Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*dim.kashirsckih@gmail.com*

Болезнь Паркинсона является распространенным нейродегенеративным расстройством, характеризующимся двигательными, когнитивными и психическими патологическими симптомами, главным образом, из-за потери nigrostriальных дофаминергических нейронов в *substantia nigra pars compacta* (SNc). На сегодняшний день исследователи все еще имеют ограниченное понимание ключевых молекулярных событий, которые провоцируют нейродегенерацию при этом заболевании.

Целью настоящего исследования был анализ транскриптома клеток *substantia nigra* паракват-индуцированной модели болезни Паркинсона относительно контроля. Крысам *Rattus norvegicus* линии Wistar для индукции модели болезни Паркинсона проводили инъекции параквата (10-15 мг/кг). Контрольная когорта подвергалась инъекциям физиологического раствора, для нивелирования вклада стресса в изменение транскриптома. Для изъятия *substantia nigra* (SN) проводили диссекцию мозга крыс. Фракцию тотальной РНК из тканей крыс получали с помощью реагента «ExtractRNA» (Евроген, Россия). Синтез кДНК и кРНК, очистка магнитными частицами, гибридизация микрочипов GeneChip™ Rat Gene 1.1 ST Array Strip проводились в соответствии с стандартными протоколами Affymetrix™. Для анализа экспрессии была использована микрочиповая система Affymetrix GeneAtlas™ System.



Была проанализирована экспрессия ряда генов при помощи Partek® Genomics Suite®. Показано значительное различие в экспрессии 18 генов опытной когорты ( $P < 0,05$ ) по сравнению со здоровой контрольной когортой. Обнаружено достоверное снижение экспрессии генов *Fads3*, *Ighg*, *Rnf25*, *Fau*, *Jmjd1c*, *Anapc1*, *Sprr1b* и достоверное увеличение экспрессии *Gstol*, *Sspo*, *Pdrg1*, *Dnah7*, *Gfpt1*, *Slc51b*, *Brk1*, *Unc45a*, *Adam6*, *Rps19bp1* относительно контроля. Групповой анализ дифференциальной экспрессии проводился с использованием баз Gene Ontology (GO) Consortium и Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). Было продемонстрировано, что наиболее активным биологическим процессом являлась регуляция клеточного белкового метаболизма, в него было включено 99 генов. Помимо этого, анализ активности метаболических путей на основании дифференциальной экспрессии генов показал, что наиболее активными являлись пути метаболизма таких соединений, как аланин, аспартат и глутамат, аминоксахара и нуклеозиды, глутатион, ксенобиотики и лекарственные препараты.

Таким образом, мы выявили несколько путей, потенциально вовлеченных в иницирование заболевания и механизмы нейрозащиты. Эти результаты дают новое представление о молекулярных изменениях в *substantia nigra*, связанных с болезнью Паркинсона, и представляют собой полезную базу данных для дальнейших исследований.

### **БИОСИНТЕЗ МЕТИОНИНА В ПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ CLOSTRIDIODES DIFFICILE: АНАЛИЗ ГЕНОМА НА НАЛИЧИЕ ПИРИДОКСАЛЬ-5'-ФОСФАТ-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В СИНТЕЗЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРЕДПОЛАГАЕМОЙ О-АЦЕТИЛГОМОСЕРИНСУЛЬФИДРИЛАЗЫ**

**Коваль В.С.<sup>1</sup>, Котлов М.И.<sup>1</sup>, Белый Ю.Ф.<sup>2</sup>, Морозова Е.А.<sup>1</sup>, Ануфриева Н.В.<sup>1</sup>, Ревтович С.В.<sup>1</sup>, Куликова В.В.<sup>1</sup>, Демидкина Т.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

*tokojami@yandex.ru*

Проанализированы возможные пути синтеза метионина в патогенной бактерии *Clostridioides difficile*. На основе гомологии с аминокислотными последовательностями для ферментов с доказанной функцией установлено, что в геноме бактерии отсутствуют последовательности, близкие к последовательностям цистатионин- $\gamma$ -синтазы и цистатионин- $\beta$ -лиазы – ферментов, необходимых для синтеза метионина по пути транссульфирирования, и присутствует последовательность, гомологичная последовательностям О-ацетилгомосеринсульфидриказы (UniProt Q187D4), фермента, необходимого для синтеза гомоцистеина по пути прямого сульфидрирования. Ген, кодирующий эту последовательность в штамме *C. difficile* D1/11, клонирован и экспрессирован. Показано, что спектральные характеристики рекомбинантного фермента соответствуют спектральным характеристикам пиридоксаль-5'-фосфат-зависимых ферментов с основным пиком при 420 нм и полосой более низкой интенсивности в области 320 нм, соответствующим кетимину и его таутомеру.

Изучено взаимодействие фермента с рядом субстратов реакций  $\beta$ - и  $\gamma$ -элиминирования и  $\beta$ - и  $\gamma$ -замещения. Показано, что фермент, соответствующий последовательности UniProt Q187D4, является О-ацетилгомосеринсульфидриказой. Исследована температурная и рН-зависимость реакции  $\gamma$ -замещения О-ацетил-L-гомосерина. Фермент имеет максимальную активность при рН 7,5 и температуре 47 °С.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013 - 2020 годы (тема № 01201363820).



## ЭФФЕКТОР DSPЕ PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM МЕНЯЕТ КАРТИНУ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ И СИСТЕМНОМ ОТВЕТЕ В РАСТЕНИЯХ NICOTIANA BENTHAMIANA

**Колубако А.В.<sup>1</sup>, Николайчик Е.А.<sup>1</sup>, Бадалян О.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*kolubakoav@yandex.by*

Повышение устойчивости растений к заболеваниям – одно из основных направлений селекции и биотехнологии. Картофель является ценной сельскохозяйственной культурой, возделываемой в умеренном климате по всему миру. В неблагоприятные годы потери урожая картофеля в результате бактериозов как в период вегетации, так и в процессе хранения, могут превышать 50%. В нашей лаборатории акцент в исследованиях делается на патогенах рода *Pectobacterium*, вызывающих заболевание «черная ножка» и загнивания клубней при хранении. Выяснение механизмов взаимодействия патогенов с компонентами растительного иммунитета является актуальной задачей, поскольку данные по этой теме по большей части фрагментарны, а восстановление более-менее целостной картины – ключ к созданию устойчивых растений (мечте любого фитопатолога).

Удобным во многих отношениях модельным растением семейства *Solanaceae* является вид табака *Nicotianabenthamiana*, методики работы с которым хорошо отработаны.

Ранее был открыт эффектор DspE системы секреции III типа и показано его влияние на развитие иммунных реакций растений семейства пасленовых, а также предложена схема манипуляции иммунитетом растений. Для полноты картины было решено измерить уровни экспрессии генов в зоне инфильтрации (локально) и в остальной части листа (условно – системно) в ответ на проникновение пектобактерий дикого типа и мутантов по гену *dspE*. Инфильтрация растений производилась суспензиями пектобактерий такой концентрации, которая не вызывала бы полного некроза тканей локально.

Измерения экспрессии генов производились относительно трех наиболее стабильных референсных генов.

Результаты измерений показали значительное усиление экспрессии PR-генов *PR-1*, *PR-2*, *PR-3* и *PR-4* локально в ответ на инокуляцию обоими штаммами пектобактерий, однако штамм дикого типа, как правило, вызывал более сильный эффект (исключение – *PR-1* и *PR-4*), а в системной части листа разница была очевиднее, однако уровни экспрессии в обоих случаях чуть ниже. Похожая картина наблюдается и для генов *HSR203J*, *EAS*, *GST1*, *HIN1*, *SABP* и *LOX*, правда более очевидная разница во влиянии штаммов наблюдается в двух последних случаях в локальном ответе, для остальных разница менее очевидна. Противоположные результаты показывают гены рецепторподобных киназ *RLK2/5* и *FLS2*, а также *COI* и *QPT*. Их экспрессия в ответ на заражение пектобактериями снижается, причем бактерии дикого типа этот эффект усиливают.

Полученные данные свидетельствуют о том, что эффектор DspE вносит значительный вклад в развитие иммунных реакций растений, а наиболее ярко его эффект проявляется в системной части листа.

## ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ ДВУХДОМЕННОЙ ЛАККАЗЫ ИЗ STREPTOMYCES GRISEOFLOAVUS AC-993 С ЗАМЕНОЙ ILE170PHE

**Коляденко И.А.<sup>1</sup>, Костарева О.С.<sup>1</sup>, Михайлина А.О.<sup>1</sup>, Тищенко С.В.<sup>1</sup>, Габдулхаков А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*ilya@vega.protres.ru*

Лакказы (КФ 1.10.3.2, бензолдиол: кислород оксидоредуктаза) – медьсодержащая оксидоредуктаза, катализирующая окисление широкого спектра фенольных субстратов и некоторых неорганических ионов, с сопутствующим восстановлением молекулярного кислорода до воды. Наиболее изученными на сегодняшний день являются трёхдоменные (3D) лакказы из грибных продуцентов, двухдоменные лакказы (2D) изучены мало. 2D лакказы обладают уникальными свойствами: высокой термостабильностью, способностью катализировать окисление фенольных субстратов при щелочных значениях pH, высокой устойчивостью к ингибиторам. Мы провели сравнительный структурный анализ имеющихся в базе данных пространственных



структур 3D и 2D лакказы. На основе полученных данных мы предположили, что у 2D лакказы существует несколько каналов, по которым к T2/T3 центру поступает молекулярный кислород. Данные каналы отличаются по размеру и поверхностному заряду. Предположительно, ключевую роль в функционировании одного из каналов играет Ile170, который может выполнять роль «ворот» при доступе молекулярного кислорода к T2/T3 центру 2D лакказы.

Для проверки нашей гипотезы мы создали генетическую конструкцию на основе плазмиды pET-32\_Xa, несущей ген лакказы из *S.griseoflavus* Ac-993, с заменой Ile170 на фенилаланин. Получен штамм *Escherichia coli*, продуцирующий мутантную форму лакказы, которая содержит олигогистидиновую последовательность и слита с тиоредоксином. В результате очистки тиоредоксин отщепляется от лакказы с помощью протеазы фактора Xa. Белок очищен до гомогенного состояния методом афинной хроматографии на смоле Ni-NTA агарозе.

Методом диффузии паров в его модификации «висячая капля» получены кристаллы мутантной формы лакказы, с которых снят набор дифракционных данных с разрешением 1.95 Å. Проводится уточнение полученной структуры. Сравнительный анализ каталитической активности лакказы *S.griseoflavus* дикого типа и с заменой Ile170Phe показал снижение удельной активности мутантного фермента при использовании в качестве субстрата АБТС.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы «Молекулярная и клеточная биология и постгеномные технологии» и Российского Фонда Фундаментальных Исследований (№ 18-04-00270-а).

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР *phoP* КАК РЕГУЛЯТОР ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ *Pectobacterium* sp.

**Кравченко У. А.<sup>1</sup>, Крук А. Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*ulyaulyami@gmail.com*

Энтеробактерии имеют около 300 транскрипционных факторов, обеспечивающих их адаптацию к меняющимся условиям. Большинство транскрипционных факторов экспериментально не исследовалось, особенно у фитопатогенных энтеробактерий, в частности у патогена картофеля *Pectobacterium carotovorum*. Известно, что проявление вирулентных свойств пектобактерий зависит от RsmA и сигнальных молекул чувства кворума. Целью настоящей работы является исследование роли PhoP в вирулентности *P. carotovorum*, а также исследование взаимосвязи PhoP с системой кворум сенсинга.

На первом этапе с помощью версии 2.0 программы SigmaID была проведена идентификация потенциальных сайтов связывания PhoP в геноме *P. carotovorum* штамма 3-2. Было выявлено более 20 потенциальных сайтов связывания, в том числе перед генами пектатлиаз – гидролитических ферментов, ответственных за разрушение клеточной стенки растений и считающихся основными факторами вирулентности пектобактерий. Также был обнаружен сайт связывания перед геном *expI*, кодирующим белок-синтазу N-ацил-гомосеринлактона (АГСЛ), - одним из ключевых генов системы чувства кворума бактерий. Для проверки этих предположений сконструирован инсерционный мутант по гену исследуемого транскрипционного фактора. Исследование пектолитической активности показало ее снижение у *phoP*-мутанта. Эксперименты по изучению влияния *phoP* на чувство кворума с использованием бактерии *Chromobacterium violaceum* показали снижение выработки N-ацил-гомосеринлактона у мутантного штамма. Далее путем скрещивания был получен мутант по генам *phoP*, *rsmA*. Планируется проведение дальнейших исследований для подтверждения связи PhoP с системой кворум сенсинга.

Известно, что важную роль в проявлении вирулентных свойств пектобактериями играют транскрипционные факторы ExpR и VirR, являющиеся гомологами. Так, в отсутствие сигнальных молекул АГСЛ они взаимодействуют с промоторной областью *rsmA*, регулируя таким образом синтез пектатлиаз. Выявление паттернов связывания данных транскрипционных факторов является важным этапом в исследовании вирулентности пектобактерий. Для этого, используя репортерную плазмиду, содержащую межгенный участок связывания VirR, слитый с геном термостабильной бациллярной амилазы, а также вектор pBAD, несущий ген *expR* под контролем промотора P<sub>aga</sub>; были проведены эксперименты по сравнительному изучению амилолитической



активности в условиях индукции арабинозой и без. В ходе эксперимента было выявлено взаимодействие транскрипционного фактора ExpR с VirR-боксом.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ FLAP-ЭНДОНУКЛЕАЗ НА МОДЕЛИ РНКАЗЫ Н БАКТЕРИОФАГА T4

**Кузницын Р. А.<sup>1</sup>, Холод Н. С.<sup>1</sup>, Латыпов О. Р.<sup>1</sup>, Шляпников М. Г.<sup>1</sup>, Грановский И. Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино, Россия

*rafailkuzn@gmail.com*

РНКазы Н бактериофага T4 является представителем структурно специфических нуклеаз семейства FEN1. Flap-эндонуклеазы проявляют 5'-экзо- и flap-эндонуклеазную активности в отношении широкого диапазона РНК и ДНК субстратов. На сегодняшний день FEN1 рассматривается как один из ключевых ферментов, участвующих в таких процессах метаболизма ДНК, как репликация, рекомбинация и репарация. Ферментные системы, вовлечённые в эти процессы, наиболее полно охарактеризованы для бактериофага T4, классического объекта молекулярно-биологических исследований.

Исследования условно летальных мутантов бактериофага T4 показали, что выключение генов 46 и 47 (также известных как комплекс Mre11/Rad50) приводит к "DNA arrest" (DA) фенотипу, то есть прекращению синтеза ДНК в позднее время инфекции и снижению выхода фагов. Отобранные в результате спонтанного мутагенеза фаги, способные частично супрессировать DA-фенотип и давать жизнеспособное потомство, получили название Das-мутанты (от англ. DNA arrest suppressor). Анализ das-мутантов показал, что они содержат две замены (V43I и L242I) гене РНКазы Н. Биохимический анализ мутантных форм РНКазы Н *in vitro* показал, что одиночная замена V43I приводит к значительному повышению экзонуклеазной активности фермента, однако для проявления das-эффекта *in vivo* необходимы обе мутации.

Данная работа посвящена характеристике новой мутантной формы РНКазы Н фага T4, также приводящей к das-эффекту. В аминокислотной последовательности данного мутанта метионин в 42 положении замещён на изолейцин (M42I). Сравнение кинетических параметров мутантов M42I и V43I с РНКазой Н дикого типа показало, что их экзонуклеазная активность соответственно в 5.4 и 5.2 раза выше по сравнению с диким типом, а уровень эндонуклеазной активности повысился по сравнению с диким типом в 1.4 и 1.8 раз. Характеристика das-мутантов с одиночной заменой (V43I и M42I) в условиях *in vivo* подтвердила, что данные фаги способны к супрессии DA-фенотипа. Однако в обоих случаях уровень супрессии оказался более низким по сравнению с двойным мутантом Das13, охарактеризованным нами ранее. Это свидетельствует о том, что повышение нуклеазной активности РНКазы Н является необходимым, но не достаточным условием для проявления высокого уровня супрессии «DNA arrest»-фенотипа. Молекулярное моделирование структуры нуклеазы позволяет предположить, что замены V43I и M42I опосредованно влияют на взаимодействие с первыми парами оснований 5'-конца разветвлённого ДНК-субстрата и, возможно, участвуют в стабилизации комплекса ДНК-фермент.

## ОТБОР ГЕНОТИПОВ И ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЁЛТОЙ РЖАВЧИНЕ РОДИТЕЛЬСКИХ ГЕНОТИПОВ ГАК-ПОПУЛЯЦИИ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

**Куйсинова Ю.М.<sup>1</sup>, Зупарова Д.М.<sup>1</sup>, Норбеков Ж.К.<sup>1</sup>, Адылова А.Т.<sup>1</sup>, Кушанов Ф.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*yulduz.quysinova@mail.ru*

Интенсивная селекция пшеницы на высокую урожайность, белковость, качество зерна привели к снижению активности генов, ответственных за устойчивость к патогенам. Поэтому перед селекционерами мира стоит очень важная проблема: создание сортов зерновых культур с длительным сохранением высокой или хотя бы умеренной устойчивости к наиболее распространённым грибным заболеваниям.

Внедрение в селекционные программы современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров, может способствовать решению этих





проблем. Одним из таких подходов, получивших развитие в последнее десятилетие, является маркер ассоциированная селекция (МАС). Основными задачами технологии МАС являются идентификация и картирование локусов QTL, влияющих на варьирование фенотипических признаков. Отбор генотипов проводили на основании следующих морфологических и биометрических признаков, которые собирались на протяжении всего вегетационного периода: устойчивость к полеганию, высота растения, число и масса зерен в колосе, натура зерна, содержание белка и клейковины в зерне. Особое внимание уделяли оценке устойчивости генотипов к желтой ржавчине. Эти эксперименты проводились на специально отведенном поле, искусственно зараженном уридиноспорами желтой ржавчины, полученными из коллекции фитопатогенных микроорганизмов Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз.

Одновременно с этим для определения QTL-локусов устойчивости к желтой ржавчине нами заложены эксперименты по скрещиванию между восприимчивым сортом Магосо и 18 линиями, обладающими донорными генами устойчивости. В настоящее время получены семена F<sub>1</sub> поколения по всем 18 комбинациям скрещивания. Ведутся работы по генотипированию родительских форм с использованием микросателлитных SSR-маркеров.

## **ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА IbpA ИЗ *A. LAIDLAWII* НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК *E. COLI* В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА**

**Куприянова Т. А.<sup>1</sup>, Каюмов А. Р.<sup>2,1</sup>, Чернова Л. С.<sup>2,1</sup>, Вишняков И. Е.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*nepelm@gmail.com*

Белок IbpA из *Acholeplasma laidlawii*, принадлежит к классу малых белков теплового шока (мБТШ, м.м. 10-43 кДа). Синтез БТШ в клетках эу- и прокариот индуцируется в условиях стресса, в том числе температурного. Белки этого класса являются шаперонами и участвуют в преодолении негативных последствий стресса: БТШ связываются с частично денатурированными полипептидами, предотвращая их необратимую денатурацию и агрегацию. Наличие белка IbpA у представителя микоплазм, характеризующихся редуцированным геномом, свидетельствует о его высокой консервативности и фундаментальности функций. Целью данной работы является установить влияние рекомбинантного белка мБТШ IbpA на выживаемость клеток *E. coli* при температурном стрессе.

Исследовали выживаемость в условиях различных температур штаммов *E. coli* BL21 pETIbpA, способного к гиперпродукции белка; *E. coli* BL21 pET15b, несущего исходный вектор, в качестве контроля; *E. coli* BL21 pETGlnR, продуцирующего белок GlnR, в качестве контроля токсичности гиперпродукции белка для клетки. Клетки выращивали до середины экспоненциальной фазы роста и вносили IPTG для индукции продукции белков. Через час после начала индукции клетки подвергали тепловому шоку 4 °С, 30 °С, 37 °С, 42°С, 46 °С и 52 °С и определяли жизнеспособность клеток через 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч путем подсчета КОЕ.

Исследования показали, что при температурах до 42 градусов не наблюдалось значимых различий в количестве жизнеспособных клеток всех трех штаммов. При температуре 46 и 56 градусов количество живых клеток *E. coli* BL21 pETIbpA превышало количество клеток контрольного штамма. Следовательно, белок IbpA из *A. laidlawii* способен повышать устойчивость клеток *E. coli* к тепловому стрессу.



## EVR - ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ РЕГУЛЯТОР ВИРУЛЕНТНОСТИ PECTOBACTERIUM SP.

Кучинская М. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*vretun@gmail.com*

Регуляция транскрипции разнообразных клеточных функций у многих видов протеобактерий связана с плотностью бактериальной популяции и осуществляется с помощью системы кворум-сенсинга, состоящей обычно из двух белков-гомологов ацилгомосеринлактонсинтазы LuxI и транскрипционного регулятора LuxR. У некротрофных фитопатогенов рода *Pectobacterium* через систему кворум-сенсинга осуществляется контроль ключевых факторов патогенности — ферментов, разрушающих клеточную стенку растений. Однако, кроме классической пары LuxI/LuxR-подобных белков, называемых у пектобактерий ExpI и ExpR, у пектобактерий имеется еще 10-12 транскрипционных факторов этого семейства, причем функция большинства из них не установлена.

Объектом настоящего исследования является ген *evr* (*Erwinia virulence regulator*), для которого, несмотря на название, показана только необходимость при колонизации кишечника *Drosophila*. Тем не менее, ген присутствует и в геномах штаммов, неспособных к такой колонизации, что оставляет открытым вопрос о его роли. Поэтому целью настоящей работы является изучение влияния гена *evr* на вирулентность и прочие свойства *Pectobacterium spp.* К настоящему времени осуществлено клонирование ОРС гена *evr* в мультикопийном экспрессионном векторе, рекомбинантная плазмида введена в клетки пектобактерий и осуществляется проверка эффекта ее присутствия на свойства клеток-хозяев. В дальнейшем планируется также оценить эффект инактивации *evr* на вирулентные свойства пектобактерий.

## РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ДЕТЕКЦИИ АМИЛОИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ДРОЖЖАХ SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Лашкул В.В.<sup>1</sup>, Качкин Д.В.<sup>1</sup>, Нужина Ю.В.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA

*lashkulvv@mail.ru*

Амилоиды – белковые агрегаты фибриллярной природы, формирующие межмолекулярные кросс-β-структуры. Повышенный интерес к изучению амилоидов связан с тем, что неправильная укладка и агрегация белков являются ключевыми событиями в патогенезе ряда неизлечимых нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, хорея Гентингтона, диабет второго типа. Все эти болезни называются амилоидозами. В особую группу амилоидозов выделяют инфекционные амилоидозы или прионные заболевания, все они связаны с агрегацией и передачей между организмами белка PrP. Удобным модельным объектом для изучения амилоидов млекопитающих и анализа их взаимодействия друг с другом *in vivo* являются дрожжи *S. cerevisiae*, поскольку амилоидогенные белки формируют в дрожжах агрегаты, сходные по своим характеристикам с агрегатами, выявляемыми у млекопитающих, и в большинстве случаев не оказывающие токсического действия на дрожжевые клетки. Так как амилоидогенные белки не имеют в дрожжах собственного фенотипического проявления, для визуализации агрегации используют различные репортерные последовательности, например, YFP и CFP, позволяющие визуализировать агрегацию белков методами флуоресцентной микроскопии. Однако использование флуоресцентных белков не позволяет проводить масштабный скрининг факторов, влияющих на агрегацию белков. В нашей лаборатории разрабатывается дрожжевая модель, позволяющая по фенотипу «рост/отсутствие роста на селективных средах» оценивать амилоидогенный статус белков и проводить масштабный поиск факторов, влияющих на процессы амилоидогенеза. В качестве репортера мы используем С-терминальную последовательность дрожжевого фактора терминации трансляции - Sup35. В штаммах, маркированных нонсенс-мутацией *ade1-14* и несущих делецию хромосомной копии *SUP35*, гибридный белок, включающий последовательность изучаемого амилоидогенного белка и репортерную последовательность,



должен эффективно выполнять функции терминатора трансляции, что можно детектировать по отсутствию роста дрожжей на селективной среде без аденина. Агрегация амилоидогенного белка будет приводить к росту штаммов на селективной среде. В настоящее время нами разрабатываются дрожжевые модели для фенотипического анализа агрегации мышинового белка PrP и пептида A $\beta$ 42 человека.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-50-00069 и РФФИ № 18-04-00799. Для выполнения исследований использовалась приборная база РЦ «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ И КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ ДОМЕНОВ РНК-ШАПЕРОНА PROQ ИЗ *ESCHERICHIA COLI***

**Леконцева Н.В.<sup>1</sup>, Фандо М.С.<sup>1</sup>, Михайлина А.О.<sup>1</sup>, Коробейникова А.В.<sup>1</sup>, Никулин А.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*natalja-lekontseva@rambler.ru*

Во всех доменах жизни малые регуляторные РНК (мРНК) являются важными участниками регуляции экспрессии генов. Для поддержания стабильности и правильного функционирования мРНК часто необходимы специализированные РНК-связывающие белки, так называемые «РНК-шапероны». Недавние исследования показали, что белки, содержащие домен ProQ/FinO, можно выделить в отдельный класс РНК-шаперонов, который может играть ключевую роль в посттранскрипционной регуляции генов во всех бактериальных видах.

ProQ из *E. coli* – это цитоплазматический белок, состоящий из двух доменов, соединенных длинным гибким линкером. Идентичность аминокислотной последовательности между N-концевым доменом ProQ и белком FinO составляет 35%, а С-концевой домен гомологичен домену Тюдора. На сегодняшний день получена структура целого белка с помощью метода ЯМР, однако комплекс белка с РНК до сих пор получить не удалось. Кроме того, до сих пор не ясна роль каждого из доменов белка в узнавании РНК. Наше исследование направлено на определение участков связывания РНК и целого белка, а также изолированных доменов, что позволит впервые оценить вклад каждого домена в РНК-белковое взаимодействие.

Нами были получены генетические конструкции изолированных доменов белка, они выделены с чистотой, пригодной для кристаллизации. Проведен поиск условий кристаллизации изолированных доменов и их комплексов с рибонуклеотидмонофосфатами для определения сайтов связывания РНК на поверхности доменов, получены первые кристаллы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00073.

## **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ КАРТИРОВАНИЯ УЧАСТКА БЕЛКА SUP35 В СОСТАВЕ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ**

**Лихолетова Д.В.<sup>1</sup>, Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*likholetovadaria@gmail.com*

Прионы – это инфекционные агенты белковой природы, вызывающие ряд нейродегенеративных заболеваний у млекопитающих и выполняющие адаптивную роль у некоторых низших эукариот. Белки, формирующие прионы, характеризуются способностью формировать амилоидные фибриллы. Они обладают высокой стабильностью и способностью индуцировать прионный переход. Образование амилоидных агрегатов начинается с формирования «ядра агрегации».

Фундаментальным вопросом является насколько конформация этой структуры соответствует укладке белка в сформированных амилоидных агрегатах. В N-домине белка Sup35, способного принимать прионную конформацию [PSI<sup>+</sup>], был получен набор замен полярных аминокислот на заряженные: M1(Y46K/Q47K) и M3(Q70K/Q71K). С теоретической точки зрения и по неопубликованным данным, эти мутации определяют фрагмент белка, который способен формировать суперскладчатую  $\beta$ -структуру, а также снижают способность белка



формировать агрегаты. По нашим результатам аллели дикого типа, M1 и M3 не отличаются по эффективности индукции приона [PSI<sup>+</sup>] при сверхпродукции. Это позволяет заключить, что исследованные замены не влияют на процесс формирования приона.

Работа поддержана грантами РФФИ 17-54-150002 и 16-04-00202, СПбГУ 15.61.2218.2013, а так же ресурсным центром «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## **ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РИИ-ПОДОБНОГО БЕЛКА POTN ИЗ LACTOBACILLUS BREVIS SUBSP GRAVESSENSIS С БЕЛКАМИ GLNR, POTА, POTD С ПОМОЩЬЮ ДВУГИБРИДНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

**Лобанова А.В.<sup>1</sup>, Исхакова З.И.<sup>1</sup>, Журавлева Д.Э.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Lina\_\_\_1997@mail.ru*

В геноме *Lactobacillus brevis* нами был идентифицирован ген *potN*, кодирующий РИИ-подобный белок, гомологи которого в клетках других бактерий осуществляют контроль метаболизма клетки в ответ на доступность азота. Ген *potN*, который встречается только у молочнокислых бактерий, находится в опероне *potABCD*, который кодирует белки ABC-транспортера полиаминов, что позволяет предположить потенциальную возможность взаимодействия PotN с АТФазой PotA или трансмембранным белком PotD. Ранее в нашей лаборатории также был идентифицирован потенциальный белок-партнер для взаимодействия с белком PotN – фактор транскрипции GlnR и белки Pot-семейства – PotA, PotD.

Целью нашей работы было установить возможность взаимодействия белка PotN из *Lactobacillus brevis* с белками GlnR, PotA, PotD с помощью двугибридной бактериальной системы.

Для проведения анализа полные и укороченные гены белков GlnR и PotA и PotD были клонированы в вектор pKT25 с получением N- и C-концевых белковых фьюжн конструкций. Ген белка PotN был клонирован в вектор pUT18. Затем штамм *E. coli* ВТН<sub>101</sub> с делецией собственного гена аденилат-циклазы был ко-трансформирован полученными плазмидами. Также были получены контрольные штаммы с плазмидами pKT25-pUT18, в качестве отрицательного контроля, и pKT25zip-pUT18zip – положительного. Для оценки взаимодействия измеряли уровень активности β-галактозидазы в клетках, полученных двуплазмидных штаммов. Анализ показал, что белок PotN взаимодействует с белком GlnR *in vivo*, и сайт взаимодействия у белка GlnR расположен на C-конце. Также было установлено что PotN взаимодействует с белком PotA, при этом делеция N-концевого домена последнего не нарушает связывание с белком PotN. Взаимодействия с белком PotD выявлено не было.

## **РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОЛНЫХ ЧАСТИЦ ВИРУСА ЯЩУРА ТИПА А МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ И ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ**

**Лозовой Д.А.<sup>1</sup>, Доронин М.И.<sup>1</sup>, Стариков В.А.<sup>1</sup>, Михалишин Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Федеральный центр охраны здоровья животных, Владимир, Россия

*doronin@arriah.ru*

Вирус ящура является опасной инфекцией парнокопытных животных, принадлежит порядку Picornavirales, семейству Picornaviridae, роду Aphthovirus, представлен 7 типами: А, О, С, Азия-1, САТ-1, САТ-2, САТ-3 и множеством подтипов. При репродукции вируса ящура формируются компоненты: 146S компонент (полные частицы), состоящие из одной молекулы вирусной РНК и 60 копий полипептида VP1-VP2-VP3-VP4; 75S компонент, лишенный РНК и включающий в себя 60 копий полипептида VP0-VP1-VP3; 12S компонент - полипептид VP1, VP2, VP3; 3,8S субъединицы - неструктурный белок VPg. При производстве вакцин определяют концентрацию полных частиц вируса, непосредственно влияющих на иммуногенность. Применяемая для этих целей реакция связывания комплемента (РСК) имеет недостатки: трудоемкость и продолжительность анализа, невозможность одновременного исследования более 6 проб, высокая себестоимость процедуры. По сравнению с РСК обратная транскрипция и полимеразная цепная



реакция в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) отличается высокой чувствительностью и специфичностью, является экономичным и экспрессным методом, позволяющим одновременно исследовать несколько десятков проб сырья для производства вакцины. Целью исследования являлась разработка способа определения концентрации полных частиц вируса ящура типа А в ОТ-ПЦР-РВ. В исследовании использовали штаммы А/Турция/06, А/Кути/13, А/Кабардино-Балкарский/13 вируса ящура. Постановку реакции осуществляли с применением праймеров и TagMan ДНК-зонда, рассчитанных на высококонсервативный участок 3D-гена вируса ящура типа А. Определяли величину порогового цикла амплификации (Ct), обратно пропорциональную количеству копий РНК вируса ящура и, соответственно, концентрации полных частиц (С146S). Выявлена отрицательная линейная корреляционная зависимость между С146S и Ct в виде регрессионной модели:  $C146S = -0,247Ct + 7,703$ . Разработанный метод апробировали при исследовании 50 суспензий культурального вируса ящура штаммов типа А с помощью РСК и ОТ-ПЦР-РВ с применением разработанной регрессионной модели. По результатам проведенного исследования корреляция данного способа определения концентрации 146S компонента вируса ящура типа А методом ОТ-ПЦР-РВ и в РСК составила 96,4-99,7%, что подтверждает высокую достоверность проводимого анализа.

### **РОЛЬ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ 3-КИНАЗА ПОДОБНЫХ КИНАЗ (PIKK) В ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПЕРТЕРМИЕЙ РЕПЛИКАТИВНОМ СТРЕССЕ**

**Лужин А. В.<sup>1</sup>, Величко А. К.<sup>1</sup>, Петрова Н. В.<sup>1</sup>, Кантидзе О. Л.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*artyom.luzhin@gmail.com*

Известно, что гипертермия может ингибировать некоторые белковые факторы-участники различных систем репарации, включая системы репарации двуцепочечных разрывов ДНК, системы эксцизионной репарации и систему репарации ошибочно спаренных оснований. Кроме того, гипертермия сама является повреждающим ДНК фактором. Ранее нами было показано, что гипертермия может приводить к образованию как одноцепочечных, так и двуцепочечных разрывов ДНК в клетках человека. Интересно, что образование двуцепочечных разрывов ДНК вследствие гипертермии происходит только в клетках, находящихся в G1- и G2-фазах клеточного цикла, в то время как в S-фазе гипертермия приводит к замедлению/аресту репликации ДНК и образованию только одноцепочечных разрывов ДНК. Тем не менее, в S-фазе гипертермия индуцирует PIKK-зависимый ответ на повреждения ДНК, в частности, фосфорилирование гистона H2AX по серину-139 ( $\gamma$ H2AX). Нами было продемонстрировано, что предотвращение такого фосфорилирования приводит к образованию двуцепочечных разрывов ДНК в клетках, находящихся в S-фазе клеточного цикла, и последующей гибели этих клеток. Более того, был охарактеризован молекулярный механизм восстановления репликации после индуцированного гипертермией ареста. Была детально исследована роль PIKK-киназ в предотвращении образования сложнорепазируемых повреждений ДНК вследствие индуцированного гипертермией ареста репликации.

Работа проводится при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-74-20030).



## **РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ MTHFR, MTR, MTRR И CBS В УВЕЛИЧЕНИИ РИСКА РАЗВИТИЯ СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Лукина С.С.<sup>1,2</sup>, Варачев В.О.<sup>2</sup>, Шушарин А.С.<sup>3</sup>, Бурденный А.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия

*lukina.svetlana349@gmail.com*

Метаболизм фолатов и гомоцистеина – важным звеном в первичном метаболизме клетки. Он является поставщиком одноуглеродных соединений для таких жизненно важных клеточных процессов, как синтез метионина, биосинтез пуриновых нуклеотидов и превращение уридинмонофосфата в тимидилат, метилирование ДНК и РНК и др. Нарушения генов одноуглеродного обмена могут приводить к развитию различных многофакторных заболеваний, в том числе онкологии.

Целью нашей работы являлось изучение роли полиморфных маркеров генов MTHFR, MTR, MTRR в усилении риска развития рака молочной железы (РМЖ) среди пациенток московского региона.

Материалы и методы: В исследование была включена выборка больных со sporadическим РМЖ (185 образцов) и сопоставимая по возрасту и полу выборка здоровых индивидуумов (185 образцов) без онкологической патологии в анамнезе на момент забора биоматериала. Образцы ДНК выделяли с помощью стандартной методики с использованием фенол-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных маркеров С677Т и А1298С гена MTHFR, А2756G гена MTR, А66G гена MTRR и 844ins68 гена CBS проводили с помощью ПДРФ-анализа. При анализе результатов исследования полиморфных маркеров генов одноуглеродного обмена использовали стандартный критерий  $\chi^2$ .

Результаты: Нами показана ассоциация генотипа ТТ полиморфного маркера С677Т гена MTHFR (ОШ 2,13; 95 % ДИ 1,12–4,04;  $p = 0,0004$ ), генотипа GG полиморфного маркера А2756G гена MTR (ОШ 4,21; 95 % ДИ 1,17–15,17;  $p = 0,0007$ ) и генотипа INS/INS полиморфного маркера 844ins68 гена CBS (ОШ 5,33; 95 % ДИ 3,17–16,17;  $p = 0,0008$ ) с риском развития РМЖ. Так же нами было показано, что частота предрасполагающих генотипов исследованных полиморфных маркеров генов MTHFR и CBS достоверно выше в группах больных РМЖ с большим размером опухоли, а также имеющих метастазы в лимфатические узлы. Статистически значимых результатов для полиморфных маркеров А1298С гена MTHFR и А66G гена MTRR найдено не было.

Выводы: Полученные результаты свидетельствуют о важной роли генов MTHFR, MTR и CBS в развитии рака молочной железы у женщин Московского региона.

## **ДИФФЕРЕНЦИРОВКА IN VITRO ПРОМИЕЛОЦИТАРНОЙ ЛИНИИ HL-60 СОПРОВОЖДАЕТСЯ ДИНАМИЧНЫМ ИЗМЕНЕНИЕМ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ИЗОФОРМ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ POU2F1**

**Льянова Б.М.<sup>1</sup>, Порцева Т.Н.<sup>1</sup>, Степченко А.Г.<sup>1</sup>, Панкратова Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*lyanova\_bella@mail.ru*

Oct-1 (POU2F1) – это POU-домен содержащий фактор транскрипции высших эукариот. Oct-1 контролирует множество генов-мишеней, включая как гены домашнего хозяйства, так и тканеспецифичные гены. Одним из объяснений множественных функций Oct-1 является образование различных изоформ мРНК и белка в результате транскрипции с альтернативных промоторов и альтернативного сплайсинга. Мы изучили экспрессию изоформ Oct-1, отличающихся своими N-концевыми частями: Oct-1A (GenBank: NM\_002697), Oct-1L (AY113189), Oct-1X (KT438684.1), Oct-1Z (AK091438. 1) в процессе дифференцировки промиелоцитарной линии клеток человека HL-60. Проведенный нами ОТ-ПЦР анализ показал, что при



индуцированной дифференцировке *in vitro* клеток моноцитарной линии HL-60 в гранулоциты под действием DMSO в клетках наблюдается изменение набора и уровня экспрессии изоформ Oct-1. В недифференцированных HL-60 представлены мРНК всех изоформ Oct-1 и поверхностного антигена CD14. Дифференцировка HL-60 вызывала снижение уровней мРНК для Oct-1A, X, Z, а также поверхностного антигена CD14, в то время как уровень экспрессии изоформы Oct-1L значительно увеличивался. Таким образом, дифференцировка клеток *in vitro* сопровождается динамичным изменением качественного и количественного состава изоформ Oct-1. Мы показали, что изменение структуры N-концевых частей изоформ Oct-1 приводит к различию в паттернах регулируемых ими генов. На основании полученных нами данных можно предположить, что, регуляторное взаимодействие между изоформами Oct-1 способствует дифференцировке гемопоэтических клеток.

Работа была поддержана Российским Фондом фундаментальных исследований (грант №18-04-01306).

## ОЦЕНКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ERCC1 и TS

Любушкин А.В.<sup>1</sup>, Смолякова Р.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова  
Белорусского государственного университета, Минск, Белоруссия

*sasha36601@yandex.by*

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований. Информация о специфичности генетических изменений при КРР важна для проведения адекватной противоопухолевой терапии. Тимидилат-синтаза (TS) – ключевой фермент, участвующий в процессе метилирования флуородеоксиуридина до дезоксиуридинамонофосфата. ERCC1 относится к группе ферментов, участвующих в репарации ДНК путем распознавания и удаления одиночных ошибочно спаренных нуклеотидов.

Цель исследования: определение экспрессии генов ERCC1 и TS для оценки лекарственной чувствительности у пациентов, страдающих КРР.

Материалом исследования послужила как опухолевая, так и морфологически нормальная ткань кишечника пациентов II-III стадиями аденокарциномы толстой кишки. Определение экспрессии генов ERCC1 и TS проводилось с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием амплификатора Bio Rad iQ5 (США).

В анализируемой группе пациентов распределение по полу было следующим: 17 (54,8%) мужчины и 14 (45,2%) женщин.

У пациентов морфологически аденокарцинома верифицирована в 23 (74,1%) случаях, тубуло-папиллярная и муцинозная аденокарцинома – по 2 (6,5%) случая соответственно, аденокарцинома со слизееобразованием – 4 (12,9%).

Результаты. Проведенные молекулярно-генетические исследования экспрессии гена ERCC1 у пациентов, страдающих КРР, выявили изменения экспрессии гена в пределах от 0,01 до 20,25 отн. ед. Средний уровень экспрессии изучаемого гена при II стадии составил 3,39 отн. ед. (0,01-20,25), при III стадии – 2,33 отн. ед. (0,01-14,52).

Изучение уровня экспрессии гена ERCC1 показало, что у пациентов с рецидивом заболевания наблюдалась гипоэкспрессия гена ERCC1 (66,7%), у пациентов с КРР без диагностированного рецидива заболевания – умеренная экспрессия (38,1%).

Уровень экспрессии гена TS у пациентов, страдающих КРР (n=27), колебался в пределах от 0,03 до 8,23 отн. ед. Средний уровень экспрессии при II стадии составил 1,54 отн. ед. (0,03-4,03), при III стадии – 2,01 отн. ед. (0,03-8,29).

В результате исследования детектировано, что в группе пациентов с рецидивом заболевания (n=6) преобладала гиперэкспрессия гена TS (n=5 (83,4%)), без рецидива заболевания (n=21) – умеренная экспрессия (n=10, 47,6%).

Таким образом, результаты предварительных исследований у пациентов, с прогрессированием заболевания, диагностированы низкий уровень экспрессии гена ERCC1 и высокая экспрессия гена-фермента TS, характерна устойчивость опухоли к проведенной терапии.



## ВЛИЯНИЕ ЗАМЕН АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В ПЕТЛЯХ, СОЕДИНЯЮЩИХ ЭЛЕМЕНТЫ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ АПОМИОГЛОБИНА, НА ЕГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ

Мажорина М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*mdudochka@mail.ru*

Апомиоглобин является хорошим модельным объектом для изучения глобулярных белков, сворачивание которых проходит с образованием промежуточного состояния типа расплавленной глобулы. В нашей лаборатории проведены многочисленные исследования мутантных форм этого белка с заменами аминокислотных остатков на его поверхности и в гидрофобном ядре (Baryshnikova EN et al, *Prot.Sci.*, 2005; Samatova EN et al, *Prot.Sci.*, 2009; Samatova EN et al., *Biophys.J.* 2010; MelnikBSetal., *PLoSOne*, 2014; Мажорина М.А., Глухова К.А., Марченков В.В., Мельник Б.С., *Молекулярная биология*, 2018). По результатам этих экспериментов нам удалось сделать выводы о влиянии мутаций (разных по типу и по положению в белке) на энергетический профиль этого белка. Например, выяснилось, что ни одна из исследованных одиночных замен аминокислотных остатков (исследовано более 20 замен) существенно не повлияла на стабильность состояния расплавленной глобулы.

Целью данной работы было изучить влияние замен аминокислотных остатков в петлях, соединяющих элементы вторичной структуры апомиоглобина, на профиль его свободной энергии. Это единственный тип мутаций, который до сих пор не исследован в апомиоглобине. Нами были получены мутантные формы белка, для которых проведены равновесные и кинетические эксперименты. На основании экспериментальных данных рассчитаны константы скоростей сворачивания/разворачивания всех белков, построены шевронные графики, проведена оценка влияния замен аминокислотных остатков на энергетический профиль апомиоглобина.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00307 мол\_а.

## ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ РОДСТВА ВИДОВ ДРОЖЖЕЙ И ТИПА ЗАТРАВКИ АГРЕГАЦИИ НА МЕЖВИДОВУЮ ПЕРЕДАЧУ ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>]

Майгова А.В.<sup>1</sup>, Гризель А.В.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Технологический институт Джорджии, Атланта, США

*maynastia@mail.ru*

Ряд организмов имеет белки, растворимые в нормальном состоянии, но способные при определенных условиях полимеризоваться, образуя амилоиды - фибриллярные белковые агрегаты с межмолекулярными  $\beta$ -структурами. Инфекционные амилоиды называют прионами.

Передача прионов происходит между особями одного вида. Однако в некоторых случаях межвидовой барьер нарушается и происходит передача приона между разными видами. Механизмы межвидовой передачи прионов до конца не ясны.

Дрожжи являются удобным объектом для изучения межвидового барьера. У дрожжей прионы связаны с проявлением цитоплазматически наследуемых признаков. Наиболее изученным прионом дрожжей является [PSI<sup>+</sup>], прионная форма белка Sup35. Для образования агрегатов [PSI<sup>+</sup>] в клетке необходимо наличие другого предсуществующего приона – фактора PIN (от «[PSI<sup>+</sup>] inducibility»), который инициирует процесс агрегации. В роли фактора PIN обычно выступает прионная форма белка Rnq1 – [RNQ<sup>+</sup>], или другие прионные белки, например, белок Lsb2. Целью нашего исследования является выяснение влияния типа затравки (замены [RNQ<sup>+</sup>] на [LSB<sup>+</sup>]) на агрегацию белка Sup35 и на межвидовой барьер для передачи приона [PSI<sup>+</sup>].

В работе мы использовали белки Sup35 из видов дрожжей, с различной степенью родства по отношению к виду *Saccharomyces cerevisiae*, внутри клеток которого сверхпродуцировали белки Sup35. Для изучения агрегации Sup35 использовали методы фенотипической детекции (изменение цвета колоний дрожжей при прионизации Sup35) и флуоресцентной микроскопии (флуоресцентный белок, слитый с фрагментом Sup35NM, содержащим прионовый домен, позволяет детектировать возникновение и форму агрегатов). Известно, что белки Sup35NM разных





видов дрожжей при сверхпродукции в присутствии  $[RNQ^+]$  образуют различные по форме агрегаты в клетках *S. cerevisiae*.

Обнаружено, что морфология агрегатов белков Sup35NM дрожжей *S. paradoxus*, *S. uvarum* в клетках *S. cerevisiae*, в присутствии  $[LSB^+]$  как затравки, сходна с морфологией агрегатов в присутствии  $[RNQ^+]$ . Посредством фенотипической детекции было выяснено, что возможность передачи прионного состояния с белка Sup35NM *Lachancea kluyveri* на Sup35 *S. cerevisiae* ниже, чем в случае передачи с Sup35NM более удаленного вида *Pichia methanolica* на Sup35 *S. cerevisiae*, следовательно, передача приона не пропорциональна степени родства видов.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-50-00069 и Фонда «Династия». Для исследований использовалась приборная база ресурсных центров СПбГУ: «ЦКП ХРОМАС», «МиКТ» и Центра «Биобанк».

## НЕСПЕЦИФИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ АМПЛИФИКАЦИИ, ОБРАЗОВАННЫЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ I ИЗ *GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS*

Максимова М.А.<sup>1</sup>, Сахабутдинова А.Р.<sup>1</sup>, Гарафутдинов Р.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

*maxmara99@mail.ru*

В последнее время широкое распространение получили методы изотермической амплификации нуклеиновых кислот, которые используются, например, для обнаружения ДНК болезнетворных микроорганизмов, для наработки ДНК из низкокопийного генетического материала и др. Проведение амплификации при постоянной температуре позволяет исключить применение стационарного оборудования и разрабатывать мобильные тест-системы для диагностики в полевых условиях. В методах изотермической амплификации используются полимеразы, обладающие цепь-смещающей активностью и обеспечивающие эффективное расхождение цепей нуклеиновых кислот. Наиболее часто применяется ДНК-полимераза I из *Geobacillus stearothermophilus* (*Bst* полимеразы), характеризующаяся высокой цепь-смещающей активностью с максимумом при 65°C [1]. Несмотря на определенные преимущества, для этой полимеразы показано образование неспецифичных продуктов при амплификации, которые мешают корректной интерпретации данных [2, 3]. Причины и механизм этого явления изучены недостаточно.

Нами была сконструирована молекулярная система, состоящая из линейной и соответствующей ей одноцепочечной ДНК матрицы, и двух праймеров к ней. В качестве модельной реакции была выбрана амплификация по типу катящегося кольца. Амплификация по кольцу приводит к образованию конкатемерных продуктов с длинами, кратными длине матрицы. В то же время аналогичные продукты, проявляющиеся в геле в виде лестницы полос, образовывались и для линейной матрицы, т.е. протекала неспецифичная амплификация. Были проведены элюция из геля и секвенирование индивидуальных продуктов неспецифичной амплификации. Анализ данных секвенирования показал наличие повторяющихся мотивов последовательности матрицы, причем повторы всегда располагались в направлении "голова к хвосту". Неспецифичные продукты имели также повторяющиеся делеции на стыках повторов, которые отсутствовали у целевых продуктов. Кроме того, секвенированные последовательности не имели дополнительных нуклеотидов на 3'-конце цепей. Таким образом, были выявлены отличия в нуклеотидной последовательности неспецифичных продуктов амплификации ДНК от специфичных продуктов под действием *Bst* полимеразы. Требуется дальнейшие исследования, направленные на выяснение механизма их образования.



## ПОИСК МУТАЦИЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА АГРЕГАЦИЮ ПЕПТИДА АМИЛОИД-БЕТА, С ПОМОЩЬЮ ДРОЖЖЕВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

**Маликова О.А.<sup>1</sup>, Аксёнова А.Ю.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA

*oks\_malik@mail.ru*

Целый ряд неизлечимых заболеваний человека связан с аномальной укладкой белков и отложением в различных органах и тканях амилоидных агрегатов. Такие болезни называются амилоидозами. Одним из наиболее распространённых амилоидозов является болезнь Альцгеймера - наиболее часто встречающаяся форма деменции, возникающая, как правило, у людей преклонного возраста. Фактором, приводящим к дисфункции нервных синапсов и к гибели нейронов при болезни Альцгеймера, является агрегация и патологическое накопление в тканях головного мозга амилоидного пептида (Аβ42). На сегодняшний день механизмы агрегации амилоида бета изучены мало. Пространственная структура агрегатов амилоида бета также не расшифрована. Поскольку традиционные методы изучения пространственной структуры, такие как рентгеноструктурный анализ и ЯМР-спектроскопия для изучения амилоидов мало применимы, изучение структуры амилоида бета ведётся с использованием биоинформатических подходов, основанных на предсказаниях вклада той или иной аминокислоты в формирование амилоидной структуры. В этой связи очень важны данные о мутациях, которые могут ослаблять или усиливать агрегацию пептида Аβ *in vivo*.

Ранее нами была разработана дрожжевая тест-система, позволяющая оценивать амилоидогенный потенциал отдельных белков, а также проводить массовый фенотипический скрининг амилоидогенных последовательностей. Дрожжевая тест-система была успешно апробирована на белках млекопитающих с известным амилоидогенным потенциалом, таких как полиглутаминовые тракты длиной более 50Q (соответствующие трактам, ассоциированным с болезнью Хантингтона), PrP (связан с прионными болезнями), альфа-синуклеин (ассоциирован с болезнью Паркинсона), амилин (ассоциирован с диабетом II-типа), пептиды Аβ40 и Аβ42. Было показано, что при укорочении полиглутаминового тракта до 20Q (как у здоровых людей) или введение мутационных изменений, блокирующих формирование Аβ, утрачивался их амилоидогенный потенциал, что детектировалось в дрожжевой тест-системе.

В данной работе с помощью случайного мутагенеза была получена библиотека мутантных последовательностей, кодирующих пептид Аβ42. Полученная библиотека была клонирована в дрожжевой вектор, после чего трансформирована в дрожжи. С помощью дрожжевой тест-системы ведётся поиск аминокислот, ослабляющих или усиливающих агрегацию пептида Аβ42.

Работа поддержана грантами РФФ № 14-50-00069 и РФФИ № 18-04-00799. Для выполнения исследований использовалась приборная база РЦ «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК (вкДНК) СПОСОБСТВУЕТ БОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНОМУ ПРОНИКНОВЕНИЮ ДНК В РАКОВЫЕ КЛЕТКИ

**Малиновская Е.М.<sup>1</sup>, Вейко В.П.<sup>2</sup>, Кальянов А.А.<sup>1</sup>, Савинова Е.А.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Конькова М.С.<sup>1</sup>, Мартынов А.В.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Окорокова Н.А.<sup>2</sup>, Мордкович Н.Н.<sup>2</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГУ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

*m.elena.0402@gmail.com*

Показано, что окисленная вкДНК может оказывать воздействие на нормальные и раковые клетки, активируя транскрипцию генов. Предположили, что окислительная модификация внеклеточной ДНК (вкДНК) способствует более эффективному проникновению ДНК в раковые клетки. Исследовали накопление плазмид, содержащих легкоокисляемые вставки, в клетках MCF-7.



Создали рекомбинантные конструкции на основе вектора pEGFP, содержащие вставки ДНК-фрагмента ETS рибосомного повтора человека (pEGFP-rDNA), а также содержащие дублированные участки поли-G и повторы G<sub>n</sub> (pEGFP-G<sub>n</sub>). Для количественного анализа проникновения и накопления плазмид в клетках MCF-7 применили метод количественной ПЦР. Клетки культивировали 24 часа, затем в среду культивирования добавляли 100 нг/мл плазмид и культивировали еще 3, 24 и 72 часа. Клетки промывали PBS 3 раза, выделяли ДНК клеток и анализировали участок ДНК, общий для всех плазмид (729 – 811 нуклеотид), который не имеет гомологии с геномной ДНК человека. В качестве внутреннего стандарта использовали ген ТВР.

Максимальное количество плазмид накапливается в клетках через 3 часа после культивирования. При дальнейшем культивировании количество плазмид в клетках снижалось. Через 72 часа сигнал ПЦР достоверно не отличался от фоновых значений. При этом накопление плазмид через 3 часа культивирования увеличивалось в ряду: pEGFP>pEGFP-rDNA>>pEGFP-G<sub>n</sub>. Введение в конструкцию двух участков G<sub>n</sub> на порядок, по сравнению с исходным вектором, увеличивает накопление плазмиды в клетках. При этом введение в состав вектора фрагмента rDNA вызывает меньший эффект: количество плазмиды увеличивается только в 3 раза.

Таким образом, было установлено, что конструкция, включающая легко окисляемые участки ДНК (pEGFP-G<sub>n</sub>) обладает способностью очень эффективно проникать в клетки.

Работа поддержана грантами РФФИ 16-04-00576 А и РФФИ 16-04-01099 А.

## **ОЦЕНКА РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В СТРУКТУРНЫХ НАРУШЕНИЯХ ЯДРА**

**Мачигов Э. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Чеченский государственный университет, Грозный, Россия

*elbek\_machigov@mail.ru*

Защита генетического материала от повреждающего действия факторов внешней и внутренней среды организма, решению которой направлена система репарации ДНК является, первостепенной задачей организма. Нарушения структуры ферментов системы репарации будут ограничивать возможности репаративной системы и способствовать накоплению ошибок, которые могут реализовываться на организменном уровне в форме заболеваний. Нарушения структуры ферментов часто обусловлены однонуклеотидными заменами в кодируемых их генах. Изучение роли подобных замен в образовании мультифакторных заболеваний (злокачественные новообразования ЗНО, сахарный диабет) выявили ряд маркерных вариантов генов репарации. В последнее время внимание ученых привлекают также возможности цитогенетических методов в изучении этиологии и лечении мультифакторных болезней, в частности, используется расширенный кариологический анализ клеток буккального эпителия для выявления генотоксичности и мутагенности применяемых препаратов, что особенно важно в химиотерапии и при лечении артериальной гипертензии. Нами проведена оценка цитогенетических нарушений на основе количественного анализа частоты встречаемости нарушений ядерного материала (микроядра, протрузии, вакуолизация, апоптоз, многоядерность) в клетках буккального эпителия пациентов, находящихся на лечении в онкодиспансере ЧР. В ходе исследования была отмечена тенденция к увеличению частоты таких показателей как вакуолизация, апоптоз и пикноз. Для определения влияния на характер цитогенетических повреждений полиморфных вариантов генов репарации ДНК, проведено генотипирование с использованием готовых наборов методом ПЦР в режиме реального времени. Результаты генотипирования показали, что частота минорных аллелей гена превышает аналогичную частоту у здоровых лиц, однако, различия достоверно не значимы. Интересными оказались выводы, полученные при сравнительном анализе частоты рецессивных гомозигот и частоты отдельных показателей деструкции ядра. Было отмечено, что гомозиготный по минорным аллелям генотип увеличивает частоту выявляемых цитогенетических нарушений, особенно в отношении вакуолизации ядра. Таким образом, подобный характер взаимодействия будет говорить о важной роли системы репарации ДНК и необходимости учета кариологических показателей для оценки степени нарушения клеточных структур.



## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ОТВЕТ РАСТЕНИЙ ЛЬНА (*Linum usitatissimum* L.) НА ДЕФИЦИТ ЦИНКА

Зяблицин А.В.<sup>1</sup>, Рожмина Т.А.<sup>1,2</sup>, Дмитриев А.А.<sup>1</sup>, Кудрявцева А.В.<sup>1</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт льна, Торжок, Россия

*mnv-4529264@yandex.ru*

Лен – важная сельскохозяйственная культура, выращиваемая для получения семян и волокна. Неблагоприятные условия внешней среды снижают качество продукции льноводства, однако выращивание адаптивных сортов позволяет значительно уменьшить последствия стрессовых воздействий. Изучение механизмов ответа растений льна на стрессы позволит выявить вероятные гены устойчивости и ускорить создание улучшенных сортов.

Нами исследован ответ растений льна сортов Norlin и Могилевский на дефицит цинка. Семена льна выращивали в пробирках объемом 15 мл со средой Мурасиге-Скуга или ее модификацией со сниженным в 1000 раз содержанием цинка в течение трех недель, после чего проводился сбор материала и его замораживание в жидком азоте. Тотальную РНК из кончиков корней выделяли набором RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Выделено 8 образцов РНК из пулов по 10-12 растений: два сорта в двух условия опыта, двукратная повторность. Концентрацию и качество выделенной РНК оценивали с использованием флуориметра Qubit 2.0 (Life Technologies) и биоанализатора Agilent 2100 (Agilent Technologies). Для подготовки библиотек для высокопроизводительного секвенирования использовали набор TruSeq Stranded Total RNA Sample Prep Kit (Illumina). Всего получили 8 библиотек кДНК, качество которых оценили на биоанализаторе Agilent 2100. Библиотеки секвенировали на высокопроизводительном секвенаторе NextSeq500 (Illumina) с длиной прочтения 80 нуклеотидов. Для каждого образца получено от 30 до 40 млн. прочтений.

Сборка транскриптомов проводилась с использованием программного приложения Trinity 2.4.0. Транскрипты и их предсказанные белки аннотировали с использованием Trinotate (<http://trinotate.github.io/>). Полученные последовательности транскриптов анализировали на присутствие ORF приложением TransDecoder. Транскрипты и белки аннотировали с применением Gene Ontology, KEGG и COG. Прочтения картировали на собранные транскрипты с использованием bowtie2 и rsem. Оценивали изменение экспрессии каждого транскрипта для пула устойчивых и восприимчивых сортов.

У исследованных генотипов льна недостаток цинка приводил к изменениям профилей экспрессии многих генов. Наиболее значимые изменения наблюдались для генов, вовлеченных в трансмембранный транспорт, синтез витаминов, окислительно-восстановительные реакции, а также фотосинтез. Эти гены могут играть важную роль в устойчивости растений льна к дефициту цинка.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 16-16-00114.

## ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ *HYDRANGEA PANICULATA* С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Михеева А.М.<sup>1</sup>, Виноградова С.В.<sup>1,2</sup>, Сухих Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А.

Тимирязева, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГУ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Род Гортензия (*Hydrangea* L.) представлен многолетними декоративными растениями: кустарниками, лианами и деревьями. Представители рода в основном распространены в Восточной Азии, Северной и Южной Америке. В северных широтах наиболее распространена гортензия метельчатая *Hydrangea paniculata*. На начальных стадиях вегетации растения различных сортов *H.paniculata* трудно различимы по фенотипу. Поэтому генетическое маркирование является



актуальной задачей для этой культуры. Цель данной работы - изучение полиморфизма микросателлитных последовательностей геномов *H. paniculata*.

Образцы 51 сорта *H. paniculata* были отобраны в одном из селекционных питомников в Московской области. В выборке участвовали листовые образцы наиболее популярных на рынке сортов гортензии метельчатой: Vanila Fraise, Diamand Rouge, Pinky Winky, Little Lime и др. Из всех образцов была выделена ДНК. Качество выделения подтвердили с помощью электрофореза, а также проверили методом ПЦР с праймерами на внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS). ПЦР-продукт синтезировался во всех реакциях, где в качестве матрицы была использована ДНК из изучаемых образцов *H. paniculata*. Для проведения фрагментного анализа были выбраны 25 пар праймеров, описанные Rinehart *et al.*, 2006. На 5' конец каждого прямого праймера довшивали один из флуоресцентных красителей: FAM, ROX, R6G и TAMRA. На следующем этапе будет проведена ПЦР, капиллярный электрофорез и статистическая обработка результатов с помощью программ Gene Marker v 2.6.4, PopGen32, DARwin 6.0.

Работа выполнена на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547).

## ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИГНАЛА ЯДЕРНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ БЕЛКА YB-1

**Мордовкина Д.А.<sup>1</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

*darja-mordovkina@rambler.ru*

YB-1 - это многофункциональный ДНК- и РНК-связывающий белок эукариот. Он выполняет множество функций в цитоплазме и ядре клетки. В белке YB-1 есть две последовательности, которые регулируют его клеточную локализацию: сигнал ядерной локализации (NLS) и сигнал удержания в цитоплазме (CRS). CRS превалирует над NLS, поэтому в норме белок локализуется в цитоплазме, а при действии стимулов переходит в ядро. NLS белка YB-1 был предсказан *in silico* и отнесен к сигналам типа PY-NLS. Сигналы такого типа характеризуются кластером положительно заряженных или гидрофобных аминокислотных остатков в N-концевой части и дипептидом PY в C-концевой части сигнала. Сигналы такого типа узнаются импортином-β2.

Мы решили проверить значимость элементов NLS для его функционирования. Были получены генетические конструкции, кодирующие белок HA-YB-1 с мутациями в NLS: YB-1(wt); YB-1(ΔNLS) с полностью удаленным сигналом ядерной локализации; YB-1(Δ1NLS) с удаленным кластером положительно заряженных аминокислотных остатков; YB-1(Δ2NLS) с удаленным дипептидом PY и окружающих аминокислотных остатков.

Мы ожидали, что, любая из этих мутаций нарушит структуру NLS и вызовет накопление белка в цитоплазме. Как и ожидалось, белок YB-1(ΔNLS) теряет способность переходить в ядро и даже в условиях стимуляции локализован в цитоплазме. Однако оба мутантных белка (YB-1(Δ1NLS) и (YB-1Δ2NLS)) не теряют способности переходить в ядро. Белок YB-1(Δ1NLS) локализован в ядре уже при нормальных условиях роста. Белок YB-1(Δ2NLS) ведет себя как белок YB-1(wt) и в нормальных условиях локализован в цитоплазме, при стимуляции переходит в ядро.

На основании полученных данных мы предполагаем следующую схему работы сигнала ядерной локализации: каждая из половин NLS является относительно независимой и достаточной для связывания с импортином-β2. В нормальных условиях первая половина NLS может быть связана с каким-то другим белком/РНК или модифицирована (маскирована). Это маскирование препятствует связыванию с импортином-β2 не только первой половины NLS, но и второй. При удалении первого регуляторного участка, белок способен сразу переходить в ядро (YB-1(Δ1NLS)). Действие стимула снимает маскирование, и белок (YB-1(wt) и YB-1(Δ2NLS)) получает возможность связаться с импортином-β2.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00359.



## ВЛИЯНИЕ БУТИРАТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ FOXO

**Моршнева А.В.<sup>1</sup>, Гнедина О.О.<sup>1</sup>, Иготти М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*1195alisa@gmail.com*

Ранее нами было показано, что ингибитор гистоновых деацетилаз (HDACi) бутират натрия (NaBut) вызывает остановку пролиферации эмбриональных фибробластов мыши, трансформированных онкогенами E1A и cHa-Ras (линия mERas), а при продолжительном времени воздействия приводит к старению клеток [1]. NaBut-индуцированное старение клеток mERas сопровождается накоплением активных форм кислорода (ROS), что может быть связано со снижением содержания транскрипционных факторов семейства FoxO, так как многие гены, кодирующие ROS-скавенджеры, ответственные за утилизацию ROS в клетках, являются мишенями FoxO. Целью нашего исследования является изучение влияния NaBut, на активность, стабильность и общее содержание белка FoxO в клетках, трансформированных онкогенами E1A и Ras (mERas). Транскрипционные факторы FoxO — относительно стабильные белки, но они всё же могут подвергаться деградации посредством полиубиквитинирования [2]. При этом, E1A способен предохранять FoxO от деградации, обеспечивая его стабильность [3].

Методом иммуноблоттинга было показано высокое содержание FoxO в клетках mERas и НЕК-293, сверхэкспрессирующих E1A и Ras, которое снижалось при увеличении времени действия NaBut. В клетках НСТ-116 и А-549, экспрессирующих только мутантный Ras, низкий уровень экспрессии FoxO увеличивался со временем действия NaBut. Полученные данные дают возможность предположить, что особенности NaBut-зависимого модулирования экспрессии FoxO продиктованы влиянием лекарства на белки Ras и E1A, вовлечённые в поддержание стабильности FoxO.

Методом ОТ-ПЦР было показано снижение экспрессии таких утилизаторов ROS, как Grx и Prdx, при действии NaBut в клетках mERas. Так же при действии NaBut снижалась экспрессия опухолевого супрессора и регулятора клеточного цикла p27Kip1, который также является мишенью FoxO.

Для оценки динамики функциональной активности FoxO при действии NaBut клетки были трансфецированы плазмидой, содержащей ген люциферазы под контролем FoxO-регулируемого промотора. Анализ люциферазной активности показал, что пик трансактивирующей активности FoxO приходится на 24 часа действия NaBut, после чего активность значительно снижается.

1. Abramova M.V., Pospelova T.V., et al., J. Biol. Chem. 281, 30 (2006).
2. A. Brunet, Oncogene. 27, 2276–2288 (2008).
3. 3.Su J.-L., Cheng X., et al., Cancer research. 71, 21 (2011).

## ПРОЕКТИРОВАНИЕ СТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ ДИСУЛЬФИДНОЙ СВЯЗИ В БЕЛКЕ L1

**Нагибина Г.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

*galina-nagibina@rambler.ru*

Объектом нашего исследования стал белок L1 из галофильной археи *Haloarcula marismortui*. Получение пространственной структуры этого белка необходимо для уточнения L1-протуберанца 50S субчастицы архейной рибосомы. Но, к сожалению, кристалл этого белка не удастся получить. Мы предположили, что проблема может заключаться в подвижности, нестабильности его полипептидной цепи. Уменьшение флуктуаций элементов структуры белка L1 могло бы помочь в кристаллизации. Поэтому мы решили стабилизировать данный белок путем введения SS-связи в его самый флуктуирующий участок.

Подход, который мы использовали в данной работе, основан на поиске «слабых», подвижных участков структуры белка. В нашем предыдущем исследовании [NagibinaetalPPL, 2016, 23(2)] мы показали, что для такого поиска возможно использование программ, созданных для предсказания нативно-развернутых участков в белках. В структурированных белках такие



программы (например, PONDER-FIT и IsUnstruct) предсказывают не нативно-развернутые, а слабо стабилизированные участки.

Мы проанализировали аминокислотную последовательность белка L1 с помощью программ PONDER-FIT и IsUnstruct и предсказали слабоструктурированный участок в домене II (район 100-го аминокислотного остатка). В этом участке мы спроектировали SS-связь – для этого нам понадобилось ввести 2 аминокислотные замены: E82C-D114C. Структура белков L1 мутантной формы с введенной SS-связью и дикого типа была исследована методом кругового дихроизма. Показано, что плавление белка с введенной SS-связью происходит в больших температурах, чем белка дикого типа.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00243.

## **ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ГРИБА *FUSARIUM OXYSPORUM* ПРИ ЗАРАЖЕНИИ УСТОЙЧИВЫХ И ВОСПРИИМЧИВЫХ СОРТОВ ЛЬНА**

**Новаковский Р.О.<sup>1</sup>, Краснов Г.С.<sup>1</sup>, Рожмина Т.А.<sup>1,2</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>, Дмитриев А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт льна, Торжок, Россия

*olegovich46@mail.ru*

*Fusarium oxysporum* sp. *lini* – один из наиболее вредоносных патогенов льна, который приводит к фузариозному увяданию и вызывает более чем 20% снижение урожайности. Сорты льна значительно различаются по устойчивости к фузариозному увяданию. Показаны отличия в экспрессии генов льна между устойчивыми и восприимчивыми к этому заболеванию генотипами. Однако неизвестно, меняется ли экспрессия генов самого патогена *F.oxysporum* при заражении сортов льна с различной устойчивостью. Наша работа была посвящена исследованию этого вопроса.

Штамм №39 *F. oxysporum* из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института льна культивировали на среде с картофельно-декстрозным агаром, после чего заражали проростки льна четырех сортов с различной устойчивостью к патогену: устойчивые – Dakota и №3896, восприимчивые – AP5 и ГОСТ. Через 48 часов после заражения проводили сбор корней растений, которые затем замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -70 °С. Тотальную РНК из корней выделяли набором RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия). Получено по 2 образца РНК для каждого сорта (пулы из 10-12 растений). Концентрацию и качество выделенной РНК оценивали с применением флуориметра Qubit 2.0 (Life Technologies, США) и биоанализатора Agilent 2100 (Agilent Technologies, США). Для подготовки библиотек для высокопроизводительного секвенирования использовали набор TruSeq Stranded Total RNA Sample Prep Kit (Illumina, США). Всего получили 8 библиотек кДНК, качество которых оценили с использованием биоанализатора Agilent 2100. Библиотеки смешали в эквимольных количествах и секвенировали на высокопроизводительном секвенаторе Illumina NextSeq500, использовали набор для парноконцевых прочтений длиной 80 нуклеотидов с каждой стороны. Для каждого варианта опыта получили около 50 млн. прочтений, 30-40% которых картировались на геном и транскриптом *F. oxysporum*, а остальные прочтения принадлежали транскриптому льна. Определили число прочтений для каждого транскрипта *F. oxysporum*, а затем провели анализ уровней их экспрессии с использованием пакета программ edgeR. Транскрипты с числом прочтений на миллион (counts per million, CPM) менее 2 отфильтровали. Осуществили поиск генов патогена, экспрессия которых отличалась при заражении устойчивых и восприимчивых генотипов льна, и выявили дифференциальную экспрессию ряда генов гриба *F. oxysporum*. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации МК-5828.2018.4.



## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ УЗБЕКИСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

**Норбеков Ж.К.<sup>1</sup>, Адылова А.Т.<sup>1</sup>, Дармонов М.М.<sup>1</sup>, Тураев О.С.<sup>1</sup>, Хусенов Н.Н.<sup>1</sup>,  
Кушанов Ф.Н.<sup>1</sup>, Буриев З.Т.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*jurabek42@mail.ru*

С введением в практику биологических исследований ДНК-маркеров появились новые возможности изучения генетического разнообразия организмов. В частности, микросателлитный анализ генома многих растений показал, что микросателлитные локусы, представленные множественными аллелями и характеризующиеся сравнительно высокой гетерогенностью, являются удобным инструментом для анализа полиморфизма геномной ДНК.

Целью настоящей работы было исследование генетической структуры мягкой озимой пшеницы Узбекстанской селекции. Изучение этого вопроса актуально, так как эти сорта являются источником адаптированного к местным условиям обитания растительного материала и могут служить важнейшим поставщиком генетических ресурсов для селекционных работ по пшенице не только в Узбекистане, но и в других странах.

ДНК 32 генотипов мягкой пшеницы были зондированы с помощью 144 микросателлитных праймерных пар, которые были выбраны на основании анализа зарубежной литературы, а также собственных ранее проведенных исследований по генотипированию гермеплазмы гексаплоидной пшеницы. Из 144 SSR-праймерных пар 51 пара дали полиморфные ампликоны, из которых локусы с PIC < 0.3 были исключены, как малоинформативные, и, таким образом, набор локусов был сужен до 36.

По результатам исследования местных сортов пшеницы по 36 микросателлитным локусам было выявлено 141 аллелей. Их число на локус варьировало от 2 до 6, что в среднем составило 3 на локус. Эффективное число аллелей – показатель, характеризующий локусы по частоте встречаемости аллелей, - в изученной группе генотипов варьировал от 1,7 (BARC-187) до 4,8 (WMS-349), составляя в среднем 2,8 на локус. Величина ожидаемой гетерозиготности (He) составила в среднем 0.626, варьируясь от 0.4650 (BARC-96) до 0.792 (WMS-349). Размеры амплифицированных продуктов находились в пределах от 93 до 552 п.н., среднее значение PIC составило 0.564.

На основании набора аллелей микросателлитных локусов была построена дендрограмма, отражающая филогенетические различия изученных генотипов, согласно которой сорта пшеницы Узбекистана разделились на два основных кластера.

Для каждого сорта пшеницы Узбекистана разработана генетическая формула, которая может быть использована для идентификации, паспортизации этих сортов, а также при подборе родительских пар в селекционных программах по пшенице.

## СОЗДАНИЕ МОДЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ МЫШИ, НОКАУТИРОВАННОЙ ПО ГЕНУ FCRLA, ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИИ БЕЛКА FCRLA

**Орлова Е.А.<sup>1</sup>, Кулемзин С.В.<sup>2</sup>, Мечетина Л.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

*tetraheadral@gmail.com*

Развитие и терминальная дифференцировка В-лимфоцитов – сложный многоступенчатый процесс, в ходе которого происходит последовательная смена внутри- и внеклеточных рецепторов. Множество структурно и функционально разнообразных молекул вовлечены в регуляцию этого процесса на разных этапах. Новейшие молекулярно-генетические подходы позволяют находить новые регуляторные компоненты, а их исследование приближает нас к пониманию работы иммунной системы.

При изучении семейства Fc-подобных рецепторов (FCRL), имеющих тесное филогенетическое родство с Fc-рецепторами, связывающими Fc-участок молекулы





иммуноглобулина, был обнаружен атипичный белок FCRLA. От других членов семейства он отличается внутриклеточной локализацией (ЭПР) и структурно-функциональной организацией. FCRLA специфично экспрессируется В-лимфоцитами на многих стадиях их развития и, по-видимому, играет определённую роль в биологии этих клеток. Однако функция белка FCRLA остаётся неизвестной до сих пор, а одним из подходов к её изучению является создание и анализ модельных клеточных линий с выключенным геном *Fcrla*.

Цель данной работы заключалась в создании такой модели на основе линии мышинных В-лимфоцитов I.29, нокаутированных по гену *Fcrla* с помощью технологии редактирования генома CRISPR/Cas9. Эта клеточная линия является наиболее хорошо изученной моделью активации и дифференцировки В-клеток, что даёт возможность проведения разнообразных фенотипических и функциональных анализов нокаутированных клеток.

Для получения делеции в гене *Fcrla* использовали шесть плазмидных конструкций на основе вектора eSpCas9(1.1), содержащего последовательность, кодирующую высокоспецифичный вариант эндонуклеазы Cas9, а также участок для клонирования gide РНК. Каждая плазида содержала последовательность для одной из шести gide РНК, комплементарных определённым участкам первого и второго экзона гена *Fcrla*. Транфекцию клеток проводили методом нуклеофекции, в качестве котрансформанта использовали плазмиду, содержащую ДНК для флуоресцентного маркера GFP, по которому проводили первичный отбор трансформированных клеток с помощью проточной цитофлуориметрии. В результате их клонирования получено 85 отдельных клонов, которые проанализированы на наличие делеции в первом экзоне гена *Fcrla* с помощью количественной ПЦР. Наличие делеции у двух клонов подтверждено секвенированием.

Изучение процессов активации и класс-переключения, синтеза и секреции иммуноглобулинов, экспрессии молекул МНС класса II и др. у нокаутированной по *Fcrla* линии клеток I.29 по сравнению с нормой позволит приблизиться к пониманию роли FCRLA в физиологии В-клетки.

## **ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЧИСЛА КОПИЙ И СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ РРНК-КОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ**

**Орлова М.Д.<sup>1,2</sup>, Честков И.В.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

*m.d.orlova@ya.ru*

В новейших исследованиях показано, что окислительный стресс является частью патогенеза шизофрении. Многие работы свидетельствуют об окислительных повреждениях при этом заболевании. Ранее в экспериментах *in vitro* было показано, что в ответ на окислительный стресс при действии на клетки токсичных агентов происходит активация 45S рДНК и выживаемость клеток зависит от числа активных копий 45S рДНК. В нейрональных прогениторных клетках, полученных при репрограммировании/дифференцировке клеток пациентов с шизофренией и клетках мозга после аутопсии показан высокий уровень экспрессии рибосомных генов при шизофрении. В литературе мало сведений о содержании рДНК в геномах людей с этим заболеванием. В работе показано, что для более эффективного ответа на окислительный стресс, который наблюдается в организме пациентов с шизофренией, в геноме увеличено число копий рРНК-кодирующих генов.

Цель исследования. Сравнительное исследование вариабельности числа копий и уровня повреждения рДНК в геномах больных шизофренией и психически здоровых людей.

Материалы и методы. Выделение геномной ДНК методом фенолхлороформной экстракции. Определение копийности рибосомных повторов методом ПЦР в реальном времени и методом нерадиоактивной количественной гибридизации.

Результаты. В геномах больных шизофренией (n=179) содержится достоверно больше копий рДНК, чем в геномах контрольной группы (n=122). В группе больных, не принимавших медикаменты (n=58) уровень повреждения гена 28S рДНК достоверно выше, чем в контроле (n=60) и в группе больных (n=50), принимающих нейролептики.



Выводы. Основной вывод данного исследования: геномы больных шизофренией содержат больше копий рибосомных генов, чем геномы психически здоровых людей. Впервые было показано, что состояние острого психоза при шизофрении в отсутствие лечения сопровождается повышением уровня повреждения рРНК-кодирующих генов, особенно в области гена 28S. В совокупности с данными о повышенном уровне окисления ДНК ядер клеток крови больных этот факт указывает на окислительный стресс и значительное повреждение ДНК клеток организма. Терапия, по-видимому, приводит к снижению уровня окислительного стресса в организме больного и уменьшению уровня повреждения рДНК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-29-06017 офи\_м.

## **ПОИСК БЕЛКОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С G-КВАДРУПЛЕКСАМИ В РНК**

**Поляков Д.Н.<sup>1</sup>, Елисеева И.А.<sup>1</sup>, Кулаковский И.В.<sup>2</sup>, Овчинников Л.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>Институт математических проблем биологии РАН - филиал ФГУ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, Пущино, Россия

*dmitry-polyakov@rambler.ru*

G-квадруплексы - четырехцепочечные структуры в нуклеиновых кислотах, состоящие из находящихся в стекинге гуаниновых квартетов. В последнее время появляется все больше доказательств того, что подобные структуры в мРНК играют важную роль в регуляции трансляции. В частности, доказано, что трансляция некоторых онкогенов регулируется через квадруплексы вих мРНК. Однако до недавнего времени было известно лишь около 100 мРНК, содержащих квадруплекс, и немногим более 15 белков, с ними взаимодействующих. Это связано с тем, что наличие квадруплекса в каждой РНК, содержащей консенсус для квадруплекса, нужно было подтверждать *in vitro*, с помощью спектроскопии кругового дихроизма или специфичных флуоресцентных меток.

Однако разработанный недавно метод секвенирования гGQ-seq позволил обнаружить более 4000 стабильных квадруплексов в мРНК. Это открывает широкие возможности для изучения их роли в трансляции и поиска белков, специфично с ними взаимодействующих.

В рамках данного проекта нами проанализированы данные гGQ-seq и данные по расположению сайтов связывания РНК-связывающих белков (eCLIP), и отобраны белки, сайты связывания которых обогащены квадруплексами.

Для отобранных белков изучены GC состав и сила связывания сайтов, содержащих квадруплексы, в сравнении со всеми остальными сайтами связывания, и на основании этих данных отобраны белки, предположительно специфично узнающие структуру квадруплексов: DDX6, DDX42, FAM120a, GRSF1, GTF2F1 и UPF1.

Для отобранных белков будут изучены особенности их взаимодействия с квадруплекс-содержащими РНК, влияние на структуру и стабильность квадруплексов, а также эффекты на трансляцию квадруплекс-содержащих мРНК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-34-00843).

## **ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕГО ШТАММА БАКТЕРИИ TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS PS2 ПУТЕМ ПОЛНОГЕНОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ**

**Романова В.А.<sup>1</sup>, Булыгина Е.А.<sup>1</sup>, Григорьева Т.В.<sup>1</sup>, Лайков А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

*avonamora-94@mail.ru*

Процесс селекции новых штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов остается актуальным вследствие нефтяного загрязнения окружающей среды. Среди них часто встречаются условно-патогенные штаммы, способные выживать в организме хозяина благодаря наличию универсальных факторов устойчивости и вопрос о безопасности применения данных штаммов бактерий в биоремедиации загрязненных участков окружающей среды по сей день остается открытым.



Из твердых отходов предприятия химического синтеза нами был выделен бактериальный изолят, способный к росту на питательных средах с алканами в качестве единственного источника углерода и энергии. По гену 16S рПНК изолят идентифицирован как *Tsukamurella tyrosinosolvans* PS2. Нами была расшифрована нуклеотидная последовательность полного генома *T. tyrosinosolvans* PS2 размером 4.84 Мб (Illumina, MiSeq). В геноме исследуемого штамма обнаружены гены системы атаки алкановой цепи и бета-окисления жирных кислот, позволяющих штамму осуществлять полное окисление алканов до ацетил-КоА.

Известны геномы трех штаммов вида *T. tyrosinosolvans*, представленные в базе данных NCBI: *T. tyrosinosolvans* PS2 (исследуемый штамм), *T. tyrosinosolvans* CCUG 38499 (клинический штамм) и *T. tyrosinosolvans* JCM 15482 (почвенный штамм). Поиск генетических детерминант патогенности был проведен в программе MP3: Prediction of Pathogenic/Virulent Proteins, по следующим факторам: адгезия, инвазия, секреция и резистентность микроорганизмов. Использован гибридный подход с применением SVM и НММ моделей для достижения большей точности результатов. Всего обнаружено 533 гена, из которых 516 являлись общими для всех трех штаммов, 7 генов уникальных для исследуемого штамма и 10 генов характерных для клинического и почвенного изолятов.

В исследуемом штамме отсутствовали факторы инвазии, участвующие в первичной атаке клеток и тканей организма-хозяина, а именно гены ферментов трипсина и эндопептидазы. Отсутствовали гены синтеза псевдоаминовой кислоты, необходимой для движения бактериальной клетки и инвазии в ткани организма-хозяина. Не обнаружены ключевые гены системы секреции IV типа, которая зачастую осуществляет секрецию белков вирулентности в эукариотическую клетку.

Выявленные в ходе полногеномного профилирования отличия представляют интерес для изучения особенностей метаболизма представителей данного вида. Нехватка генов первичной атаки клеток и тканей организма-хозяина у штамма PS2, вероятно, снижает степень его вирулентности. Окончательное заключение о безопасности исследуемого микроорганизма будет получено после проведения испытаний на экспериментальных организмах.

## **ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА В СОСТАВЕ ХИМЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ SUP35NM-MCHERRY НА СВОЙСТВА ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>] У ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

**Рыжкова В.Е.<sup>1</sup>, Матвеев А.Г.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

[ya\\_barbara@mail.ru](mailto:ya_barbara@mail.ru)

Sup35 – фактор терминации трансляции в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. Его агрегация приводит к появлению приона [PSI<sup>+</sup>], фенотипическим проявлением которого является супрессия нонсенс-мутаций. Например, в присутствии нонсенс-мутации *ade1-14* клетки, не содержащие прион ([psi<sup>-</sup>]), ауксотрофны по аденину. Но при наличии приона [PSI<sup>+</sup>] белок Sup35 в агрегированном состоянии не может выполнять свои функции, следовательно, происходит прочтение стоп-кодона, и клетки восстанавливают прототрофность по аденину. Поддержание приона в клетках обеспечивается прионным (N) доменом, который находится в N-концевой части Sup35. Сверхпродукция N-домена, либо NM-доменов (Sup35NM), повышает частоту появления приона. При отсутствии C-конца белок не может выполнять свои функции фактора терминации трансляции, но по-прежнему способен формировать [PSI<sup>+</sup>].

Для визуализации агрегатов в клетках дрожжей используется конструкция Sup35NM-GFP, которая позволяет наблюдать агрегаты Sup35 в клетках [PSI<sup>+</sup>]. При этом в клетках [psi<sup>-</sup>] Sup35NM-GFP демонстрирует равномерное свечение в цитоплазме. Для исследования колокализации различных вариантов белка Sup35 нами была сконструирована плазмида для экспрессии SUP35NM-mCherry. Но в отличие от Sup35NM-GFP, которые формировал заметные агрегаты, Sup35NM-mCherry показывал только диффузное свечение в штаммах [PSI<sup>+</sup>]. При этом обе конструкции в равной степени приводили к прионной токсичности (гибель клеток при увеличенной продукции Sup35 в клетках [PSI<sup>+</sup>]). Кроме того, в клетках [psi<sup>-</sup>], продуцирующих Sup35NM-mCherry, наблюдалось формирование приона [PSI<sup>+</sup>] *denovo*, причём с большей эффективностью, чем в клетках, продуцирующих Sup35NM-GFP. Следовательно, конструкция



Sup35NM-mCherry функциональна, тем не менее неясно, почему она не позволяет визуализировать агрегаты [PSI<sup>r</sup>]. Мы предположили, что Sup35NM-mCherry в клетках дрожжей подвергается протеолизу, в результате чего mCherry перестаёт быть связанным с Sup35NM, что приводит к диффузному свечению в клетках. Для проверки этой гипотезы мы сравнили продукцию Sup35NM-GFP и Sup35NM-mCherry с помощью вестерн-блот гибридизации. Действительно, мы наблюдали усиленную деградацию Sup35NM-mCherry. Таким образом, Sup35NM-mCherry недостаточно стабилен для его использования в анализе локализации агрегатов [PSI<sup>r</sup>]. Однако причины этой нестабильности остаются неясными и требуют дальнейшего изучения.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00202 и НИР СПбГУ 1.10.1169.2016.

## РАЗЛИЧИЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗОМЕРОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА В ОТНОШЕНИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ ЛЕГКОГО ЧЕЛОВЕКА

**Савинова Е.А.<sup>1,2</sup>, Сергеева В.А.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Трошин П.А.<sup>3</sup>, Мартынов А.В.<sup>1</sup>, Каменева Л.В.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

*savinova.ekaterina96@yandex.ru*

В настоящее время возрастает число синтезированных производных фуллерена. На основе производных фуллерена изготавливают новые технологические материалы (полимеры, катализаторы, полупроводниковые пленки). Водорастворимые производные фуллеренов проявляют биологическую активность. Поскольку человек в будущем будет все чаще контактировать с новыми соединениями фуллерена, целесообразно исследовать их влияние на клетки человека.

Исследовали влияние производного фуллерена [C60], ОКР-111 (формула исследованного соединения C60[CH(COOK)2]6, молекулярная масса 1618 г/моль) и его структурного изомера ОКР-112 на эмбриональные фибробласты легкого человека (ФЛЭЧ).

Для оценки цитотоксичности исследуемого соединения был проведен стандартный МТТ-тест. ОКР-112 в большей степени подавляет метаболическую активность эмбриональных фибробластов – отсутствие ингибирующего эффекта соединения ОКР-112 выявлено в концентрациях менее 2,2 нг/мл, для соединения ОКР-112 – менее 130 нг/мл.

Повреждающее действие соединений ОКР-111 и ОКР-112 на клетку может реализовываться в виде повреждения ДНК клеток. Исследование количества одно- и двунитевых разрывов ДНК в ФЛЭЧ проводили с использованием метода комет. Определяли показатель - момент хвоста ДНК-кометы, являющийся произведением процента ДНК в хвосте кометы и длины хвоста кометы. Через час после добавления соединения ОКР-112 в концентрации 4 мкг/мл к среде культивирования ФЛЭЧ количество разрывов в клетках возрастает в 2 раза по сравнению с контролем. Добавление фуллерена ОКР-111 в концентрации 4 мкг/мл к клеткам статистически значимо не влияет на количество разрывов в эмбриональных фибробластах. Через 24 часа количество разрывов ДНК при действии фуллерена соединений ОКР-111 и ОКР-112 в концентрации 4 мкг/мл не отличается от контрольных значений. Полученные данные подтвердили методом гамма-фокусов с использованием антител к фосфорилированной форме гистона H2AX.

Аналогичные результаты получены нами при исследовании уровня окислительных повреждений ДНК ядер фибробластов при действии на них соединений ОКР-111 и ОКР-112 в концентрации 4 мкг/мл. Через 1 час уровень 8-oxodG (маркера окисления) возрастает в 2 – 2,5 раза при действии соединения ОКР-112 на ФЛЭЧ, через 24 часа падает ниже контроля. Соединение ОКР-111 не влияло на уровень 8-oxodG в клетках.

Таким образом, несмотря на то, что формулы соединений идентичны, показали, что структурные изомеры водорастворимых производных фуллерена могут оказывать разное воздействие на клетки.



## РАЗНООБРАЗИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ HCN-ПОДОБНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ ЭУКАРИОТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

**Сафонов П.Ю.<sup>1,2</sup>, Поздняков И.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*spy.ixz@gmail.com*

Гиперполяризационно-активируемые каналы, управляемые циклическими нуклеотидами (HCN), вместе с семействами каналов Kv, CNG и EAG формируют суперсемейство калиевых каналов. Белки, принадлежащие к этим группам, имеют общие особенности строения, такие как субъединичный состав и структура порового домена, имеющего характерную GYG-последовательность.

К настоящему времени лучше всего структурные особенности и функции изучены у HCN каналов животных и растений, то есть многоклеточных эукариот. В связи с этим, существует необходимость проведения исследования на более широком круге объектов, который включал бы в себя и каналы эукариотных микроорганизмов, так как отсутствие данных о гомологах HCN каналов протистов затрудняет понимание эволюции этого семейства белков.

Поиск гомологов HCN каналов проводился в базах данных аминокислотных последовательностей NCBI и транслированных транскриптомах Marine Microbial Eukaryotic Transcriptome Sequencing Project представителей групп *Dinoflagellata*, *Bacillariophyta*, *Cryptophyta*, *Haptophyta*, *Perkinsozoa*, *Cercozoa*, *Rhodophyta*, *Ciliata*, *Apicomplexa*, *Oomycota*, *Chlorophyta*, *Embryophyta*, *Euglenozoa*, *Apusozoa*, *Amoebozoa*, *Choanoflagellata*, *Fungi* и *Metazoa*. Реконструкция филогении с помощью методов максимального правдоподобия и байесовского анализа выявила высокую степень филогенетического разнообразия внутри исследуемой группы каналов. Кроме того, нами был проведен биоинформационный анализ первичной структуры важнейших функциональных элементов каналов: селективного фильтра с GYG-мотивом, а также домена связывания с циклическими нуклеотидами (CNBD).

Отдельный интерес вызывает тот факт, что ранее при анализе транскриптомов оомицетов и динофлагеллят были обнаружены последовательности HCN каналов, которые обладают нехарактерным для представителей этого семейства удвоенным субъединичным составом. Наличие подобных удвоенных последовательностей может быть либо артефактом сборки транскриптома, либо результатом экспрессии реально существующих дублицированных генов. Первая гипотеза представляется менее вероятной, так как удвоенные последовательности выявлялись в независимо собранных транскриптомах. Для проверки второй гипотезы мы начали работу по реконструкции последовательности участка (линкера), расположенного между двумя частями удвоенных каналов динофлагеллят.

## КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА RHODOBACTER SPHAEROIDES С МУТАЦИЕЙ I(L177)Y

**Селиханов Г.К.<sup>1</sup>, Фуфина Т.Ю.<sup>2</sup>, Васильева Л.Г.<sup>2</sup>, Шувалов В.А.<sup>2</sup>, Габдулхаков А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*selikhanov@vega.protres.ru*

Фотосинтетические реакционные центры (РЦ) принимают участие в процессе фотосинтеза у пурпурных бактерий. Эти мембранные белки, состоящие у *Rhodobactersphaeroides* из трех белковых субъединиц и нескольких молекул пигментов, преобразуют солнечную энергию в энергию химических связей через серию реакций переноса электрона и протона. Квантовая эффективность преобразования энергии света в РЦ близка к 100 %. Аминокислотное окружение пигментов, участвующих в переносе электронов, играет важную роль в функционировании этих комплексов.

Получен мутантный РЦ с заменой изолейцина на тирозин в 177 положении L-субъединицы. Этот аминокислотный остаток находится вблизи спецпары бактериохлорофиллов и мономера



бактериохлорофилла неактивной ветви переноса электронов. Мутация оказала влияние на спектральные и функциональные характеристики РЦ. Для определения причин изменений необходима пространственная структура белка высокого разрешения. Нами выделен, очищен и закристаллизован РЦ I(L177)Y с использованием различных методов кристаллизации: методики диффузии паров с добавлением детергента и с применением липидной губчатой фазы. С полученных кристаллов собраны дифракционные наборы данных на синхротроне ESRF (Гренобль, Франция).

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы «Молекулярная и клеточная биология и постгеномные технологии» и Российского Фонда Фундаментальных Исследований (№17-44-500828 и №17-00-00207).

## ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ ВИДАМИ СПОРТА НА ВЫНОСЛИВОСТЬ

**Семенова Е.А.<sup>1</sup>, Кострюкова Е.С.<sup>2</sup>, Кулемин Н.А.<sup>2</sup>, Ларин А.К.<sup>2</sup>, Оспанова Е.А.<sup>2</sup>, Павленко А.В.<sup>2</sup>, Попов Д.В.<sup>3</sup>, Виноградова О.Л.<sup>3</sup>, Генерозов Э.В.<sup>2</sup>, Говорун В.М.<sup>2</sup>, Фуку Н.<sup>4</sup>, Ахметов И.И.<sup>4,5</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

<sup>2</sup>Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Juntendo University, Tokyo, Japan; <sup>5</sup>Центральная научно-исследовательская лаборатория Казанского государственного медицинского университета, Казань, Россия

*alecsekaterina@gmail.com*

Многие качества человека (телосложение, сила, быстрота, выносливость) генетически детерминированы и передаются по наследству. Современные методы изучения генома человека позволяют выявить генетические маркеры, связанные с развитием и проявлением физических качеств в отдельных видах спорта. Полученные результаты можно использовать на раннем этапе спортивного отбора. Цель работы заключалась в проведении полногеномного анализа предрасположенности к занятиям видами спорта на выносливость. Первая группа сравнения состояла из российских спортсменов (стайеров и средневики; n=211) и контрольной группы (жители РФ; n=252). Генотипирование проб на 1140419 ДНК-полиморфизмов (снийпов) осуществляли с помощью микрочипов HumanOmni1-Quad BeadChips (Illumina Inc, USA). Значимость полученных результатов проверяли на японской популяции (60 стайеров и 406 лиц контрольной группы), а также с использованием функционального (анализ аэробных возможностей методом оценки максимального потребления кислорода) и морфологического (иммуногистохимическое определение состава мышечных волокон) исследований. На первом этапе 15 снийпов показали значимость при сравнении группы российских стайеров с контрольной группой, (P<0.05). Эти данные воспроизвелись при сравнении группы японских стайеров с контрольной группой. Функциональный анализ показал, что из 15 маркеров выносливости 6 маркеров также положительно ассоциируются с высокими аэробными возможностями в одной из выборок: rs4409473 гена *NACC2*, rs17685537 гена *LOC105374539*, rs938817 гена *ARHGAP15*, rs12199205 гена *RPL15P3*, rs3857490 гена *near CNRI*, rs1799945 гена *HFE*. Морфологический анализ выявил ген *near MOBP* rs816504, который положительно ассоциируется с увеличением количества волокон I типа. Многоэтапное исследование выявило 7 маркеров выносливости, которые можно использовать в спортивном отборе.



## ВЛИЯНИЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ НА ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ШАХТЕРОВ КУЗБАССА

**Сердюкова Е.С.<sup>1</sup>, Романова Е.Л.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

*katya.serdyukova.1997@mail.ru*

Работа в угольных шахтах сопряжена с риском профессиональной легочной патологии, носящей сборное название пневмокониоз (антракоз, антракосиликоз, силикоз). Данные заболевания, имеющие воспалительную и фиброзную природу, потенциально способны стимулировать повышение уровня индивидуальной генетической нестабильности. Целью данного исследования являлось изучение способности легочных профессиональных заболеваний шахтеров наряду с генотоксическими факторами рабочей среды угледобывающих шахт, вызывать значительный уровень генетической нестабильности, а также определить ведущий фактор, влияющий на данный процесс.

Для проведения эксперимента были отобраны когорты по 100 человек: группа здоровых шахтеров, группа шахтеров с антракосиликозом, группа шахтеров с пылевым бронхитом, группа популяционного контроля. Для оценки индивидуальной генетической нестабильности была проведена методика учета хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах крови после их краткосрочной культивации. С целью определения ведущего фактора, ответственного за наблюдаемое в ходе проекта увеличение уровня хромосомных обменов у лиц с легочной патологией, проводилось изучение экспрессии генов ассоциированных с радио-чувствительностью – THBS1, ADAMTS, RBFOX1, WHSC1 методом qPCR.

У здоровых шахтеров в результате цитогенетического анализа было обнаружено увеличение всех типов ХА в сопоставление с группой популяционного контроля. При сравнении шахтеров с патологией со здоровыми, было зафиксировано значимое увеличение основных типов ХА и в особенности хромосомных обменов (ХО). Так же было отмечено значимое повышение ХО у больных антракосиликозом по сравнению с больными пылевым бронхитом.

Выдвинуто предположение, что наблюдаемое по мере увеличения генотоксической и патогенетической нагрузки, увеличение ХО у рабочих шахт связано с ведущей ролью воспалительного процесса и, следовательно, оксидативного стресса. В то же время нельзя было исключить того, что данное явление объяснялось снижением у больных шахтеров вентилирующей способности легких, что соответственно приводило к накоплению в ткани радионуклеидов. Для разрешения вопроса проведено измерение уровня экспрессии генов ассоциированных с радиорезистентностью. Показана прямая корреляция между частотой ХО и уровнем экспрессии гена WHSC1 (продукт гена которого имеет одновременно провоспалительные и репарационные свойства) и отсутствие какой либо корреляции с другими генами. Данный результат прямо свидетельствует о воспалительной природе наблюдаемого нами явления.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ООГЕНЕЗЕ

**Синюкова В.А.<sup>1</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Рыжова Т.А.<sup>1</sup>, Галкина С.А.<sup>2</sup>, Кошель Е.В.<sup>2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*veleenna@yandex.ru*

Амилоиды представляют собой фибриллярные белковые агрегаты, которые формируются за счет образования упорядоченных межмолекулярных бета-складчатых слоёв. Традиционно в литературе рассматриваются преимущественно патологические амилоиды, ассоциированные с десятками неизлечимых заболеваний человека. Вместе с тем, были выявлены амилоиды, в норме присутствующие в клетках широкого спектра живых организмов и выполняющие жизненно важные функции, от образования биопленки бактерий и до участия в синтезе меланина у млекопитающих и человека. В последние годы появляется все больше данных, что в ряд структур окрашивается амилоид-специфичными красителями в яичниках различных организмов, однако



конкретные белки, формирующие эти структуры практически не охарактеризованы. В нашей лаборатории был разработан универсальный метод протеомного скрининга амилоидов (PSIA LC-MALDI), основанный на устойчивости амилоидных фибрилл к ионным детергентам и позволяющий выявить белки, формирующие SDS-устойчивые агрегаты в исследуемом образце. С помощью данного метода мы выявили списки белков, формирующих SDS-устойчивые амилоидоподобные агрегаты в яичниках *Drosophila melanogaster* и *Gallus gallus domesticus*. Сопоставив эти результаты с данными, полученными в результате окрашивания яичников амилоид-специфичным красителем тиофлавином S, мы определили список наиболее перспективных кандидатов на роль функциональных амилоидов в яичниках дрозофилы и курицы. Так, в оболочке ооцита дрозофилы амилоидный краситель связывает столбчатые структуры, получившие название “pillar”. Оболочка ооцита дрозофилы состоит из хитина и шести мажорных белков. С учётом того, что данные белки воспроизводимо выявляются с помощью протеомного скрининга, именно они являются наиболее перспективными кандидатами на роль функциональных амилоидов. Кроме того, в ооцитах дрозофилы и курицы методом PSIA LC-MALDI идентифицируются несколько белков ассоциированных с хроматином. На криосрезках яичников также детектируются ассоциированные с хроматином белки, связывающие тиофлавин S. Полученные результаты открывают новые перспективы для идентификации функциональных амилоидов в оогенезе различных организмов.

## ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВЫХ МАРКЕРОВ PCNA И p53 ПРИ РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Скоповец Е.Я.<sup>1</sup>, Смолякова Р.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова  
Белорусского государственного университета, Минск, Белоруссия

*Skopovets@yandex.ru*

В последнее десятилетие в Республике Беларусь наблюдается динамика роста возникновения новых случаев рака яичников и составляет 18,1 на 100 тыс. женского населения.

Изучение молекулярно-генетических маркеров PCNA и p53, характеризующих апоптоз и пролиферацию при различных злокачественных новообразованиях является одним из перспективных направлений в онкологии.

Цель работы: определить уровень экспрессии тканевых антигенов p53 и PCNA при распространенном раке яичников.

Материалы и методы: Материалом для исследования послужила опухолевая ткань 65 пациенток с распространенным раком яичников III–IV стадии, получавших лечение в онкогинекологическом отделении ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова». Возраст пациенток варьировал от 45 до 74 лет и в среднем составил 54,2 9,1 года. Экспрессия p53 была оценена у 65 пациенток, а экспрессия PCNA – у 38 пациенток. Иммуногистохимическое исследование p53 проводилось на фиксированных в формалине и заключенных в парафин опухолевых блоках с использованием системы визуализации En Vision. В иммуногистохимической оценке PCNA использовались кроличьи моноклональные антитела к PCNA (клон PC10). Опухоль считать отрицательной по p53, если отсутствует ядерная реактивность с антителами или число окрашенных клеток менее 1%; положительной по p53 - окрашено более 10%. По интенсивности окраски (для p53 и PCNA): 0 — нет окраски, 1 — слабая, 2 — умеренная, 3 — сильная; по количеству положительных клеток: 0-0%, 1- менее 10%, 2 – 11-50%, 3 – 51-80%, 4 – более 81%. Сумма баллов Score: 2-3 – низкий, 4-6 – высокий уровень экспрессии, 7 – max.

Результаты: Как низкий, так и высокий уровни экспрессии PCNA выше у пациенток химиорезистентной группы ( у 33,3% и 38,1% пациенток химиорезистентной группы и у 15,4 и 23,1% пациенток химиочувствительной группы соответственно), а максимальный – у пациенток химиочувствительной группы ( у 53,8% и у 28,6% соответственно. Высокая интенсивность окраски опухолевой ткани на p53 выявлена у преобладающего количества пациенток с распространенным раком яичников – 53,3 %.





Таким образом, показано, что с увеличением степени злокачественности опухоли увеличиваются уровни экспрессии PCNA и p53, при чем наглядно это прослеживается в группе опухолей с максимальной и высокой степенью злокачественности.

## **БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP72 КАК ФАКТОР ЦИТОЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ПРОТИВ ЭНДОТОКСЕМИИ**

**Слуцкая Е.А.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия

*slutskay@yandex.ru*

Hsp72 (белки теплового шока72) относятся к индуцируемой стрессом группе семейства молекулярных шаперонов Hsp70 и являются одним из наиболее известных эндогенных факторов, предотвращающих повреждение клеток и тканей при различных патологических состояниях. HSP72 индуцируется в печени гипертермией, более того, известно, что тепловые стрессы защищают нецирротических крыс от эндотоксемии, вызванной, например, повреждением селезенки. Механизмы, с помощью которых HSP72 защищает от травм, вызванных сепсисом, в настоящее время изучаются. Считается, что один потенциальный механизм, с помощью которого HSP72 защищает от поражения печени, вызванным сепсисом, является ингибирование повреждения гепатоцитов.

Целью работы явилось оценить цитозащитный эффект HSP72 против эндотоксемии в организме белых крыс, вызванной липополисахарид (ЛПС)-индуцированным циррозом печени. Объектом исследования служили 10 белых крыс, у которых стимулировали развитие цирроза печени внутрибрюшинным введением углеродтетрахлорида (CCl<sub>4</sub> разбавленного оливковым маслом 1: 1) в возрастающих дозах. Инъекции делали два раза в неделю в течение первых 6 недель, а затем раз в неделю в течение 2 недель. Все животные, получавшие CCl<sub>4</sub>, имели клиническую картину цирроза печени. Макроскопические данные о циррозе были подтверждены гистологически.

Через неделю после прекращения использования инъекций CCl<sub>4</sub>, у крыс взяли кровь на биохимию, после чего крысы были распределены на две группы. Значения биохимических показателей указывали на печеночную патологию, но различались между группами только в пределах ошибки измерения. На 2-ом этапе эксперимента крыс 1-ой опытной группы (группы теплового шока, HS) обрабатывали в течение 15 мин на водяной бане; животных 2-ой группы (контрольная) подобной обработке не подвергали. После 8-часового восстановления крысам обеих групп повторно был проведен биохимический анализ крови. Установлено, что значения биохимических показателей опытной группы крыс несколько понизилась или осталась на прежнем уровне, а у крыс контрольной группы отмечалось их значительное повышение: активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) увеличилась в 5 раз, аланинаминотрансферазы (АлАТ) - в 4 раза, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) - в 2,9 раза, уровень общего белка - в 8 раз, уровень креатинина - в 1,6 раза.

Т.о., было показано, что производство HSP72 в печени, вызванное гипертермией всего тела, повышает устойчивость к повреждению печени, вызванному гепатотоксическими соединениями. Это указывает на то, что HSP72 может иметь важную цитопротекторную функцию как в нецирротической, так и в цирротической печени.



## ХАРАКТЕРИСТИКА ДУАЛИСТИЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПОДСЕМЕЙСТВА СУР74С

**Смирнова Е.О.<sup>1</sup>, Горина С.С.<sup>1</sup>, Топоркова Я.Ю.<sup>1</sup>, Мухтарова Л.Ш.<sup>1</sup>, Гречкин А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики — обособленное структурное подразделение  
ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

*yelena.smirnova2aiesec.net*

Ферменты клана СУР74 принадлежат к суперсемейству цитохромов P450. В состав клана СУР74 входят алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС).

Объектами данного исследования являются шесть предполагаемых ГПЛ подсемейства СУР74С: СУР74С4\_ST (*Solanumtuberosum*), СУР74С2 (*Cucumismelo*), СУР74С31 (*Cucumissativus*), and СУР74С13\_MT (*Medicagotruncatula*). Все рекомбинантные ферменты в зависимости от используемого субстрата наряду с продуктами ГПЛ продуцируют продукты ЭАС. Ферменты СУР74С4\_ST, СУР74С2, СУР74С31 и СУР74С13\_MT, в основном, участвуют в биосинтезе продуктов ГПЛ из 13-гидроперекиси линолевой кислоты, тогда как СУР74С13\_GM производит сопоставимые количества продуктов 13-ГПЛ и 13-ЭАС, а СУР74С1\_CS обладает преимущественно активностью 13-ЭАС. Большинство ферментов преобразуют гидроперекись альфа-линоленовой кислоты в продукты 13-ГПЛ. Все ферменты по отношению к 9-гидроперекисям обладают преимущественно 9-ЭАС активностью. Продукты идентифицировали по данным ГХ-МС и ЯМР. Кроме того, были получены мутантные формы с заменами в каталитически важных доменах (I-спираль, «F/L toggle»), которые проявляли частичную или практически полную активность АОС.

Таким образом, результаты настоящей работы демонстрируют, что описанные ранее 9/13-ГПЛ подсемейства СУР74С помимо ГПЛ активности обладают активностью ЭАС. В зависимости от субстрата эти ферменты участвуют в образовании продуктов, которые в основном относятся к продуктам ГПЛ и ЭАС. Кроме того, в настоящем исследовании впервые проведено превращение бифункциональных ферментов ГПЛ/ЭАС в АОС путем сайт-направленного мутагенеза.

Исследования ферментов СУР74С13\_MT и СУР74С13\_GM проводились при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 16-14-10286). Эксперименты по сайт-направленному мутагенезу были поддержаны грантом МК-2873.2017.4 и МК—5989.2018.4.

## МУТАЦИИ В ГЕНЕ IDN1 ПРИ КАРОТИДНЫХ ПАРААНГЛИОМАХ

**Снежкина А.В.<sup>1</sup>, Лукьянова Е.Н.<sup>1</sup>, Калинин Д.В.<sup>2</sup>, Федорова М.С.<sup>1</sup>, Пудова Е.А.<sup>1</sup>,  
Садритдинова А.Ф.<sup>1</sup>, Краснов Г.С.<sup>1</sup>, Степанов О.А.<sup>1</sup>, Харитонов С.Л.<sup>1,3</sup>, Киселева М.В.<sup>3</sup>,  
Каприн А.Д.<sup>3</sup>, Кудрявцева А.В.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Институт хирургии имени А.В. Вишневского Минздрава России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУ  
Национальный медицинский исследовательский радиологический центр Минздрава России,  
Москва, Россия

*leftger@rambler.ru*

Каротидные параанглиомы – редкие нейроэндокринные опухоли головы и шеи. Эти опухоли располагаются в области бифуркации сонной артерии и хорошо васкуляризированы. Около 40% параанглиом имеют наследственную предрасположенность. Симптоматика данного заболевания неоднородная, лечение связано с высоким риском возникновения осложнений после операции. Изучение молекулярно-генетических особенностей каротидных параанглиом поможет лучше понять механизмы канцерогенеза этих опухолей и в дальнейшем может способствовать развитию новых методов диагностики и лечения.

Нами проведено высокопроизводительное секвенирование экзона каротидных параанглиом. С помощью набора Nextera Rapid Capture Exome Kit (Illumina, США) из 52 образцов каротидных параанглиом подготовлены экзомные библиотеки. Секвенирование проводили в режиме парных прочтений (76 + 76) на приборе NextSeq 500 System (Illumina) на базе ЦКП «Геном» ИМБ РАН ([http://www.eimb.ru/rus/ckp/ccu\\_genome\\_c.php](http://www.eimb.ru/rus/ckp/ccu_genome_c.php)). Для идентификации мутаций использовали программу vcfilter пакета vcflib, для аннотации вариантов - SnpSift пакета snpEff. В



качестве информационных ресурсов использовали базы данных dbSNP, ClinVar, PolyPhen-2, 1000 Genomes Project, ExAC, COSMIC, GO, OMIM и др.

Известно, что ген IDH1, кодирующий изоцитратдегидрогеназу 1, часто мутирован во многих типах опухолей. Мутации в этом гене ассоциированы с нарушением метилирования гистонов и ДНК. Нами выявлены мутация NM\_005896: с.548A> G, p.(Tyr183Cys) (chr2:209,108,301, rs34599179) в гене IDH1 в двух образцах каротидных параганглиом и мутация NM\_005896: с.94 T > G, p.(Phe32Val) (chr2:209, 116,182, rs142923780) – в одном образце. В базах данных обе мутации описаны как наследственные мутации с неизвестной клинической значимостью и неизвестным фенотипом. В одном образце каротидных параганглиом идентифицирована мутация NM\_005896: с.394C > T, p.(Arg132Cys) (chr2:209, 113,113, rs121913499) – соматическая патогенная или потенциально патогенная мутация согласно базе данных ClinVar, которая приводит к изменению в структуре белка и часто наблюдается при многих видах рака.

Таким образом, высокопроизводительное секвенирование экзона позволило обнаружить ряд мутаций в гене IDH1 при каротидных параганглиомах, одна из которых является патогенной (потенциально патогенной) и может быть ассоциирована с развитием данного заболевания.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20105).

## **ДЕЛЕЦИИ И ТОЧКОВЫЕ МУТАЦИИ ГЕНА ABL1 КАК ПРИЧИНА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ИНГИБИТОРАМ ТИРОЗИНКИНАЗ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ**

**Судариков А.Б.<sup>1</sup>, Абдуллаев А.О.<sup>1</sup>, Нестерова О.Ю.<sup>2</sup>, Михайлов И.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва, Россия.; <sup>2</sup>ФГОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*nesterova-olga-lech-103-14-15@yandex.ru*

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – миелопролиферативное заболевание, обусловленное злокачественной трансформацией клеток миелоидного ростка гемопоэза, что связывают с появлением филадельфийской хромосомы (результат реципрокной транслокации (9;22)). В результате формируется химерный ген BCR-ABL и белок – нерцепторная тирозинкиназа с повышенной активностью, запускающая пролиферацию и клеток.

Появление ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) произвело революцию в терапии ХМЛ. Но у части пациентов развивается резистентность к ИТК. Точковые мутации – одна из её главных причин, но роль делеций и инсерций в её формировании до сих пор малоизучена. В работе мы исследовали делецию экзона 7 гена ABL1 и её влияние на развитие резистентности к ИТК у пациентов с ХМЛ.

Были использованы образцы крови 50 пациентов с ХМЛ с резистентностью к ИТК 1-ого поколения иматинибу. Выделение ядросодержащих клеток проводилось лизирующим буфером для эритроцитов с центрифугированием при 3000 об./мин. Из супернатанта выделялась тотальная РНК с использованием набора реагентов РИБО-золь-Д. Обратная транскрипция – с использованием набора реагентов РЕВЕРТА-Л в ПЦР-амплификаторе.

Для амплификации необходимого участка гена – ПЦР в два этапа: на первом амплифицировали фрагмент длиной 2514 пар нуклеотидов (exon 13 BCR – exon 11 ABL1), на втором – более короткий фрагмент гена ABL1 (731 п.н.). Очистка – электрофорез ПЦР-продукта в 1,5% агарозном геле. После элюции из геля – постановка сиквенсовой реакции и прямое секвенирование по Сенгеру. Для измерения количества кДНК мутантных клонов – фрагментный анализ. Постановка лигирования и амплификации – с использованием набора реагентов компании «Синтол».

После секвенирования и анализа всех последовательностей ДНК были отобраны кДНК пациентов с подозрением на делецию экзона 7. После постановки фрагментного анализа с праймерами на район делеции у всех этих пациентов была выявлена кДНК двух клонов опухолевых клеток: с нормальной длиной гена ABL1 и с делецией экзона 7.

Для определения направления эволюции опухолевых клонов у пациентов с делецией провели исследование образцов кДНК от 2 до 5-летней давности (секвенирование и фрагментный



анализ). У одного из пациентов была обнаружена ранее неописанная точковая мутация с.844G>C (p.E282Q).

Выводы: делеция экзона 7 гена ABL1 и точковая мутация с.844G>C (p.E282Q) способствуют формированию резистентности к ИТК у пациентов с ХМЛ. Опухолевые клоны, несущие делецию, склонны к быстрой прогрессии и приобретению сочетанных точковых мутаций, усиливающих резистентность.

## РАСШИФРОВКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧНОСТИ СИМБИОЗА У ПРИМИТИВНЫХ ЛИНИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) ИЗ ПЕРЕДНЕЙ АЗИИ

Сулима А. С.<sup>1</sup>, Жуков В. А.<sup>1</sup>, Тихонович И. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*ASulima@arriam.ru*

В пределах вида горох посевной (*Pisum sativum* L.) может проявляться уникальная симбиотическая избирательность, не имеющая известных аналогов у других бобовых. В Передней Азии (регион Афганистана) были обнаружены т.н. "афганские" формы гороха, которые не образуют азотфиксирующих клубеньков со штаммами типичных симбионтов гороха *Rhizobium leguminosarum* bv.viciae, выделенными их почв Европы. Известно, что специфичность ризобий к "афганским" формам связана с особой модификацией структуры их сигнальной молекулы (Nod-фактора). Не имеющие подобной модификации сигнальные молекулы не могут быть распознаны рецепторами растений с "афганским" фенотипом.

В настоящее время наиболее вероятным кандидатом на роль детерминанты "афганского" фенотипа является обнаруженный авторами ген *LukX*, кодирующий рецепторную киназу из семейства LysM-RLK. Данный ген демонстрирует разное аллельное состояние у высокоизбирательных "афганских" линий и линий, не обладающих повышенной избирательностью (т.н. "европейских"). При дальнейшем анализе формообразцов гороха из Передней Азии были обнаружены линии с "афганским" фенотипом, характеризующиеся уникальной нуклеотидной последовательностью первого экзона *LukX*, которая приводит к замене аминокислоты на пролин. Эти линии получили название "таджикских" (по месту происхождения первой обнаруженной линии с данным свойством). При помощи теста на аллелизм была доказана тождественность генов, определяющих фенотип у истинно "афганских" и "таджикских" линий.

Анализ первого экзона гена *LukX* на выборке из 99 формообразцов коллекции ВИР (Санкт-Петербург, Россия), которые представляют всё мировое генетическое разнообразие гороха, показал высокую полиморфность данного участка, ведущую к вариабельности аминокислотного состава соответствующего белка. По характеру аминокислотных замен в продукте гена *LukX* вся выборка была разделена на 13 гаплогрупп, 7 из которых оказались представлены единственной уникальной последовательностью. Важно отметить, что "афганский" вариант *LukX* попал в отдельную группу.

Мутанты по гену *LukX*, полученные методом TILLING, характеризуются нарушением симбиоза на стадии проникновения бактерий в корневой волосок. Тест на аллелизм между мутантами и линиями дикого типа с контрастной специфичностью симбиоза доказал тождественность детерминант симбиотического фенотипа у данных линий. Таким образом, ген *LukX* действительно контролирует повышенную специфичность симбиоза у линий гороха из Передней Азии.

Работа поддержана грантами РФФ 16-16-00118 и 17-76-30016.



## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ МАСТЕР РЕГУЛЯТОРОВ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Тарасенко А.И.<sup>1,2</sup>, Кондратьева Л.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия

*rassi09@rambler.ru*

Эмбриональное развитие - строго регулируемый процесс образования тканей и органов. В противоположность эмбриогенезу во время опухолевой прогрессии происходит нарушение программ пролиферации и дифференцировки клеток, что ведет к разрушению этих структур. Процессы эмбриогенеза и канцерогенеза имеют значительное число сходных черт. По одной из гипотез мастер регуляторные гены, ответственные за включение морфогенеза органов в процессе эмбрионального развития человека, могут участвовать в процессе канцерогенеза. Одним из самых агрессивных онкологических заболеваний является рак поджелудочной железы (ПЖ).

Целью работы было определение изменений уровней экспрессии генов некоторых мастер регуляторов эмбрионального развития ПЖ, а также генов, маркирующих эпителиальные и мезенхимальные характеристики, в модельных системах, отражающих разную степень дифференцированности клеток рака ПЖ. Такие исследования могут дать возможность рассматривать мастер регуляторы в качестве мишеней для диагностики и терапии онкологических заболеваний.

В работе анализировали пять клеточных линий рака поджелудочной железы: MiaPaCa-2 и Panc1, относящиеся к низкодифференцированным «мезенхимальным» клеткам, Саран-2 и VхРС-3, относящиеся к высокодифференцированным и «эпителиальным» клеткам, и AsPC-1, имеющие промежуточный фенотип. Уровень экспрессии генов в них определяли с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени.

В низкодифференцированных клеточных линиях MiaPaCa-2 и Panc-1 была обнаружена повышенная экспрессия генов *VIM*, *ZEB1*, *SNAIL*, ответственных за мезенхимальный клеточный фенотип, и пониженная экспрессия эпителиальных генов *CDH1*, *KRT8*. Для высокодифференцированных линий VхРС-3 и Саран-2 была показана повышенная экспрессия эпителиальных генов *KLF5*, *CDH1*, и пониженная мезенхимальных *VIM*, *ZEB*, *SNAIL*.

В изученных клеточных линиях отсутствует или находится на очень низком уровне экспрессия генов *PDX1*, *PTF1A*, определяющих дифференцированный фенотип зрелых эндокринных и ацинарных клеток ПЖ. Для генов *HNF1b*, *HES1*, *NKX6* показан повышенный уровень экспрессии в линии Саран-2 относительно других исследованных линий. Во всех пяти линиях рака ПЖ был детектирован высокий уровень экспрессии гена *GATA6*. Уровень экспрессии гена *GATA4* повышен в мезенхимальных линиях MiaPaCa-2 и Panc-1 и линии AsPC-1 и понижен в эпителиальных VхРС-3 и Саран-2. Уровень экспрессии гена *SOX9* в линиях от наименее дифференцированной MiaPaCa-2 к дифференцированной VхРС-3 снижается, за исключением линии Саран-2, в которой обнаружен высокий уровень. Для гена *ONECUT1* наблюдается сходная тенденция к снижению уровня экспрессии гена в линиях от низкодифференцированных мезенхимальных к высокодифференцированным эпителиальным.

Выявленные различия в уровнях экспрессии генов мастер регуляторов развития ПЖ в раковых линиях, отличающихся по степени дифференцированности, могут быть связаны с вовлеченностью этих генов в процесс эпителиально-мезенхимального перехода, играющего важную роль как в процессе эмбриогенеза, так и при опухолевой прогрессии.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).



## ИЗУЧЕНИЕ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ХЕЛИКАЗЫ-НУКЛЕАЗЫ CAS3B *ESCHERICHIA COLI*

**Титова Д.Г.<sup>1</sup>, Мушарова О.С.<sup>1</sup>, Савицкая Е.Е.<sup>1</sup>, Северинов К.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

*daria.titova@skolkovotech.ru*

CRISPR-Cas-системы адаптивного иммунитета прокариот состоят из CRISPR-кассет (участков генома с идентичными повторами и разделяющими их уникальными спейсерами) и генов *cas*. CRISPR-кассеты и гены *cas* вместе способны обеспечивать устойчивость клеток к бактериофагам и плазмидам, которые содержат протоспейсеры - последовательности, комплементарные спейсерам CRISPR-кассеты. Механизм действия CRISPR-Cas систем условно можно разбить на два модуля: CRISPR-адаптации (изменение генома клетки за счет встраивания новых спейсеров в кассету) и CRISPR-интерференции (высокоспецифичное узнавание протоспейсеров мишени и внесения в них разрывов).

Для CRISPR-Cas систем типа I описан особый вид адаптации, в котором эффективность приобретения новых спейсеров стимулируется предшествующим спейсером в составе CRISPR-кассеты и присутствием Cas белков, обеспечивающих интерференцию. Такое явление получило название праймированной адаптации, однако, детальный механизм этого процесса до конца неизвестен.

В данной работе изучали структуру фрагментов ДНК, возникающих в ходе CRISPR-интерференции. Нами были получены высокоспецифичные антитела к белку Cas3. Наличие антител позволило провести хроматиниммунопреципитацию с последующим секвенированием полученных фрагментов ДНК.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00048 мол\_а.

## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ СПОСОБСТВУЕТ ПРОНИКНОВЕНИЮ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В НЕЙРОНЫ IN VITRO

**Филев А.Д.<sup>1</sup>, Табаков В.Ю.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

*anton\_flv@mail.ru*

Современные исследования направлены на активный поиск регуляторов активности генов в нейронах, однако, не исследовано, проникает ли вкДНК в нейроны. При окислительном стрессе вкДНК может контактировать с нейронами в результате гибели клеток микроокружения нейронов, в частности, глиальных клеток, или проникая через гематоэнцефалический барьер при его повышенной проницаемости. До сих пор не показано, способна ли вкДНК проникать в нейроны, зависит ли это от окислительной модификации вкДНК.

В качестве биологического материала в работе использовали зернистые нейроны, полученные из мозжечков 8-9 дневных крысят линии «Wistar» с сохранением глиальных клеток. Для исследования роли окислительной модификации ДНК в проникновении фрагментов вкДНК в нейроны была создана генетическая конструкция, содержащая искусственно синтезированный фрагмент ДНК, имеющий в своем составе поли-G участок, служащий мишенью для эффективного окисления клонированного фрагмента ДНК (p12G). При скринировании клонов и определении нуклеотидной последовательности вставки, кроме p12G плазмиды нашли вариант плазмиды, содержащий продублированные поли-G последовательности (p24G). В качестве вектора выбрана плазида pEGFP-C1, содержащая ген флуоресцирующего белка EGFP (GFP). Для анализа проникновения плазмид в клетки использовали метод флуоресцентной микроскопии. Если плазида проникает в клетки и происходит экспрессия белка, то интенсивность флуоресценции клеток должна возрастать пропорционально уровню экспрессии белка.

Показали, что в смешанной культуре клеток нейронов и глиии окисленные генетические конструкции, добавленные к среде культивирования, выполняющие in vitro роль фрагментов вкДНК, могут проникать в клетки. Чем выше уровень окисления вкДНК, добавленной к культуре, тем в большем количестве вкДНК способна проникать в культуру клеток.



## ЛОКАЛИЗАЦИЯ ОКИСЛЕННЫХ ГУАНИНОВ В G-КВАДРУПЛЕКСЕ ПРОМОТОРА ОНКОГЕНА С-МУС

**Чащина Г.В.<sup>1</sup>, Бениаминов А.Д.<sup>1,2</sup>, Калужный Д.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*uzhny@mail.ru*

G-квадруплексные структуры широко распространены в геноме человека. Методами биоинформатики в геноме человека было найдено около 300 тыс. потенциальных квадруплекс-образующих последовательностей. Одной из предполагаемых функций данных структур является регуляция экспрессии генов, в частности, онкогенов. Данные структуры могут служить потенциальными молекулярными мишенями в противоопухолевой терапии.

Последовательность промотора онкогена с-Мус широко изучена и выбрана нами в качестве объекта исследования. В данной работе мы рассмотрели вопрос направленного окисления G-квадруплексных структур с помощью производных порфирина. ДНК в клетке представлена двойной спиралью, однако в определенных условиях она может принимать альтернативные структуры. Было показано, что отжиг в присутствии 40% полиэтиленгликоля способен индуцировать образование квадруплексных структур в составе двойной спирали ДНК. Взаимодействие G-квадруплексной структуры с порфириновым производным ZnP1 и последующее освещение голубым светом приводит к специфичному окислению гуанинов, а окисленная форма гуанина не может участвовать в образовании квадруплекса.

При помощи ПЦР на геномной ДНК человека был получен участок 191bp из chr8 (128748130-128748321), соответствующий промоторной области онкогена с-Мус. Квадруплексную структуру образовывали в условиях медленного отжига и присутствии калия и 40% полиэтиленгликоля. Используя порфириновое производное ZnP1 на нашей модельной системе, мы обнаружили, что после освещения наблюдается разрушение квадруплексной структуры. Напротив, двойная спираль была подвержена окислению в меньшей степени.

Локализацию окисленных гуанинов обнаруживали методом флуоресцентно меченого праймера. Оказалось, что расположение окисленных гуанинов соответствует известной пространственной структуре квадруплекса, образованной онкогеном с-МУС. Данное исследование раскрывает перспективы направленного фотоиндуцируемого повреждения ДНК промоторных областей онкогенов с помощью производных порфирина.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ, проект № 16-14-10396.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА IВРА ИЗ ACHOLEPLASMA LAIDLAWII С БЕЛКОВЫМИ СУБСТРАТАМИ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ

**Чернова Л.С.<sup>1,2</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1,2</sup>, Вишняков И.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Казанский Федеральный (Приволжский) университет, Казань, Россия

*LSCh-888@live.com*

У бактерий выявлены разнообразные механизмы защиты от стрессовых воздействий. Малые белки теплового шока (мБТШ) альфа-кристаллинового типа, ассоциированные с различными структурами клетки, в том числе с цитоскелетом и мембранами, в качестве молекулярных шаперонов связываются с частично денатурированными белками, тем самым предотвращая необратимую агрегацию этих белков во время стрессового воздействия. мБТШ считаются самыми эффективными среди шаперонов. Однако на сегодняшний день механизмы распознавания белков-субстратов белками из этого семейства остаются слабо изученными. Целью данной работы было выяснить, есть ли различия в наборе субстратных белков, взаимодействующих с мБТШ IврА из *Acholeplasma laidlawii* в ответ на разные условия температурного стресса.

Химическая сшивка глутаровым альдегидом в клетках микоплазмы *Acholeplasma laidlawii*, выращенных в условиях, близких к оптимальным (30 °С, 37 °С), а также после кратковременного



температурного стресса (4 °С, 30 °С, 37 °С, 42 °С), показала, что белок IbrA *in vitro* образует высокомолекулярные комплексы. Методами Pull Down анализа и ко-иммунопреципитации обнаружены белки, с которыми ко-элюируется IbrA из экстракта клеток *A. laidlawii*, выращенных при различных температурах. Белки идентифицированы с помощью масс-спектрометрического анализа. Выявлены различия среди белков-мишеней IbrA при температурах 4 °С и 42 °С. Сравнительный анализ наборов субстратных белков позволит пролить свет на механизмы взаимодействия мБТШ из микоплазмы с белками-партнёрами в зависимости от температуры окружающей среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №17-74-20065)

## БЕЛОК MUNC18-1 КРЫСЫ RATTUS NORVEGICUS – НОВЫЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АМИЛОИД?

**Чиринская А.В.<sup>1</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Рыжова Т.А.<sup>1,2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>, Велижанина М.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*ChirinskaiteA@yandex.ru*

Амилоиды представляют собой упорядоченные белковые фибриллы, в которых бета-складчатые листы формируются за счет образования межмолекулярных водородных связей. Среди их свойств выделяют устойчивость к воздействию ионных детергентов при комнатной температуре и окрашивание Конго Красным. Среди большого разнообразия амилоидов выделяют как патологические, вызывающие тяжелые заболевания человека и животных, так и функциональные, играющие важную биологическую роль.

Мы проводили поиск функциональных амилоидов в мозге крысы *Rattus norvegicus*, используя метод PSIA-HPLC-MALDI. В результате скрининга мы выявили белок Munc18-1. Это цитоплазматический белок, участвующий в секреции нейромедиаторов.

Цель данной работы - анализ амилоидных свойств белка Munc18-1.

Для достижения данной цели нами были поставлены задачи:

- Биоинформатический анализ аминокислотной последовательности белка Munc18-1;
- Проверка способности белка Munc18-1 формировать детергент-устойчивые агрегаты в мозге крысы;
- Анализ способности фрагмента белка Munc18-1(252-594) формировать амилоидные фибриллы в бактериальной системе C-DAG.

Используя метод PAGE с последующей вестерн-блот гибрилизацией, мы показали, что в мозге крысы присутствуют высокомолекулярные агрегаты белка Munc18-1. Эти агрегаты являются детергент-устойчивыми, что было показано методом SDD-AGE.

В дальнейшем в работе мы использовали фрагмент белка Munc18-1 (252-594), включающий выявленные алгоритмом ArchCandy амилоидогенные участки.

Используя бактериальную систему C-DAG, мы показали образование амилоидных фибрилл белком Munc18-1(252-594). Колонии штамма VS39 бактерий *E.coli*, выращенные на среде, содержащей Конго Красный, демонстрировали яблочно-зеленую окраску при микроскопии в поляризованном свете. Трансмиссионная электронная микроскопия позволила увидеть внеклеточные фибриллы фрагмента белка Munc18-1(252-594).

В результате проделанной работы:

- Доказана способность белка Munc18-1 формировать детергент-устойчивые агрегаты в мозге крысы *Rattus norvegicus*;
- Показана способность амилоидогенного фрагмента белка Munc18-1 образовывать амилоидные фибриллы в бактериальной системе C-DAG.

Эти результаты дают основания полагать, что Munc18-1 – кандидат на роль функционального амилоида в мозге крысы *Rattus norvegicus*.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-50-00069 и ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.





## ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВАЦИЯ ГЕНА ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА В МУТАНТНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОЖИ ПАЦИЕНТА С ДИСФЕРЛИНОПАТИЕЙ

**Шаймарданова А.А.<sup>1</sup>, Аглиуллина Д.Р.<sup>1</sup>, Старостина И.Г.<sup>1</sup>, Соловьева В.В.<sup>1</sup>, Яковлев И.А.<sup>2</sup>, Деев Р.В.<sup>2</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Рязань, Россия

*aliceshaimardanova@mail.ru*

Дисферлинопатии — группа нейромышечных заболеваний, возникающих вследствие отсутствия/нарушения функциональности белка дисферлина вследствие мутаций в гене *dysf*. Дисферлин играет важную роль в репарации мембран мышечных клеток. Синтез дефектного белка приводит к нарушению процессов репарации в мышечной ткани и ее атрофии. Несмотря на высокую интенсивность исследований дисферлинопатии остаются группой неизлечимых наследственных заболеваний. Одной из основных причин низкой эффективности методов лечения является отсутствие модели, наиболее точно воспроизводящей патологические процессы данного заболевания. Перспективным способом лечения дисферлинопатий в настоящее время является генная терапия и модельные системы на основе клеточных линий человека, дефектных по дисферлину.

Известно, что дисферлин в большом количестве экспрессируется в мышечных клетках, однако в связи с определенными трудностями выделения и культивирования данного типа клеток возникает необходимость поиска альтернативных источников клеточного материала. В качестве клеточной модели для исследования дисферлинопатий в настоящей работе предложены фибробласты кожи человека, в которых с использованием системы CRISPR-Cas9 SAM активирована экспрессия дисферлина. Из кожи пациента с дисферлинопатией с мутацией в 26 экзоне гена *dysf* были выделены фибробласты и иммортализованы путем инактивации белка-онкосупрессора p53. Для этого нативные фибробласты были генетически модифицированы рекомбинантным лентивирусом, кодирующим кДНК к нуклеотидной последовательности гена p53. Рекомбинантные лентивирусные частицы получали путем ко-трансфекции клеток НЕК293Т кальций-фосфатным методом с использованием векторной, упаковочной и оболочечной плазмид. Отсутствие экспрессии p53 в генетически модифицированных фибробластах подтверждали с помощью вестерн-блот анализа и ПЦР в режиме реального времени.

Для транскрипционной активации иммортализованных фибробластов использовали рекомбинантные лентивирусы, кодирующие транскрипционные факторы Р65 и VP64, а также гидовую РНК. После лентивирусной трансдукции проводили селекцию генетически модифицированных иммортализованных фибробластов с использованием антибиотиков зеоцина, гигромицина и бластицидина. Полученная таким образом культура фибробластов с экспрессией мутантной формы дисферлина может быть использована для дальнейших исследований молекулярных механизмов патогенеза дисферлинопатий и разработки новых технологий терапии нейромышечных заболеваний.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК С ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ КОСТНЫМ ФЛЮОРОЗОМ

**Шамигова С.Ф.<sup>1</sup>, Калужная Е.Э.<sup>1</sup>, Романова Е.Л.<sup>1</sup>, Сердюкова Е.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

*shamigova97@gmail.com*

Хроническая фтористая интоксикация при высоких дозировках, вызывает заболевание костной системы – скелетный флюороз. Данное заболевание характеризуется деминерализацией костной ткани, с развитием остеопороза и остеосклероза. Считается, что основной механизм патогенетического действия фтора заключается в его способности замещать кальций в составе кальциевых апатитов костного межклеточного матрикса. В то же время существуют данные о значительной генотоксичности фторидов, что позволяет предположить о существовании



альтернативного механизма патогенеза костного флюороза. Учитывая генотоксичность фторидов, а так же их способность концентрироваться в костной ткани, вероятно, что они способны индуцировать увеличение уровня повреждений ДНК в остеобластах. В связи с чем, развивается генотоксический стресс, приводящий к гибели данного типа клеток, с последующим нарушением процессов ремоделирования межклеточного матрикса, что инициирует патологию. Задачей данного исследования было оценка жизнеспособности выдвинутой гипотезы, для чего была генотипирована выборка людей страдающих скелетным флюорозом и группа контроля, по функционально значимым SNP генов репарации ДНК (NBS1 - rs1805794; RAD51 - rs1801320; ADPRT - rs1136410; XRCC1 - rs25487; XRCC3 - rs861539).

Материалом для исследования послужили образцы крови рабочих НкАЗа, с установленным диагнозом профессиональный флюороз (средний стаж работы во вредных условиях составил  $18,16 \pm 1,73$  года) – группа «Случай». В группу «Контроль» вошли рабочие НкАЗа (стаж  $16,63 \pm 1,29$  года) без данного заболевания. Экстракцию ДНК проводили фенол-хлороформным методом. Генотипирование осуществляли с помощью TaqMan PCR. Частоту генотипов в группах сравнивали при помощи критерия Стьюдента для выборочной доли, частоту аллелей – на основе показателя отношения шансов (OR) при заданном доверительном интервале (CI).

Проведенный анализ показал значимую роль аллеля G полиморфизма гена RAD51 - rs1801320, для развития костного флюороза. Частота аллеля в группе с патологией составила 0,29 в то время как в группе без нее 0,13. Величина показателя OR в отношении аллеля G составила 2,72 (95% CI,  $p= 0.0032$ ). Аллель G в отличии от аллеля С определяет сниженный уровень экспрессии RAD51. Продукт гена RAD51 играет одну из ключевых ролей в механизме репарации двуниевых разрывов, в связи с чем наблюдаемая ассоциация указывает на правомочность выдвинутой гипотезы.

## ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКА РОТТЕЕ, ФОРМИРУЮЩЕГО АГРЕГАТЫ В СТАРЕЮЩЕМ МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА

**Шенфельд А.А.<sup>1,2</sup>, Рыжова Т.А.<sup>1,2</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*shenaleksandr@mail.ru*

Амилоидами называют высокоупорядоченные белковые фибриллы, формирование которых является характеристикой патологического процесса, именуемого амилоидозом. К настоящему времени наиболее изученными являются нейродегенеративные амилоидозы, которые, как правило, возникают у людей в пожилом возрасте. Исходя из того, что в клетках мозга практически всех людей, достигших преклонного возраста, наблюдаются нейродегенеративные изменения, возможно в стареющем мозге человека могут формироваться другие ранее не охарактеризованные патологические амилоидные агрегаты.

В нашей лаборатории был разработан и апробирован метод протеомного скрининга PSIA-LC-MALDI, позволяющий идентифицировать амилоиды в различных тканях. С помощью данного метода можно выявить пока не охарактеризованные амилоиды у различных организмов, что может расширить наши знания об этих белках и выполняемых ими функциях.

Мы применили данную методику для выявления патологических амилоидов в гиппокампе мозга людей преклонного возраста. Были проанализированы образцы гиппокампа людей, умерших в возрасте старше 75 лет, а в качестве контроля были взяты образцы гиппокампа людей моложе 40 лет. В результате протеомного скрининга было выявлено несколько белков, формирующих детергент-устойчивые амилоидоподобные агрегаты лишь в мозге пожилых людей. Среди них особое внимание нас привлек белок РОТТЕЕ, который присутствовал в образцах опытной группы и отсутствовал в контроле.

Целью данной работы было выявление региона белка РОТТЕЕ, ответственного за его агрегацию. Для этого мы использовали дрожжевую гетерологичную систему для продукции фрагментов белка РОТТЕЕ 1-350, 351-700 и 701-1075 ак, слитых с GFP. Оценка продукции и агрегации указанных химерных белков в клетках дрожжей *S. cerevisiae* проводилась с помощью флуоресцентной микроскопии. В результате их сверхпродукции было установлено, что агрегаты



формируют только ROTEE(351-700)-GFP и ROTEE(701-1075)-GFP с частотой  $47\pm 3\%$  и  $35\pm 9\%$ , соответственно. При этом ROTEE(1-350)-GFP не образовывал агрегаты и локализовался строго вдоль клеточной стенки, что объясняется наличием в его последовательности мембран-связывающего домена.

На основании полученных результатов мы полагаем, что ROTEE способен формировать амилоилоподобные агрегаты *in vivo*. Известно, что данный белок является маркером апоптоза. Поэтому мы полагаем, что возрастные нарушения кровоснабжения в стареющем мозге человека вызывают продукцию и агрегацию белка ROTEE, что провоцирует закономерную возрастную нейродегенерацию.

## РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО РЕГУЛЯТОРА SlyA В ВИРУЛЕНТНОСТИ PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM

Яроцкая М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Белоруссия

*miaroskaia@mail.ru*

*Pectobacterium carotovorum* – представитель бактерий рода *Pectobacterium*, пектолитических факультативных патогенов из семейства *Enterobacteriaceae*. *P. carotovorum* является возбудителем заболеваний, называемых «мягкими», или «мокрыми» гнилями растений. Заболевания поражают целый ряд растений, в числе которых – широко распространённые сельскохозяйственные культуры (например, картофель.)

Геном *Pectobacterium carotovorum* содержит общий для всех представителей семейства *Enterobacteriaceae* транскрипционный регулятор SlyA. SlyA – представитель большого семейства бактериальных транскрипционных регуляторов, которые контролируют разнообразные физиологические процессы у патогенных бактерий.

Известно, что SlyA оказывает влияние на вирулентность *Salmonella enterica* и *Esherichiacoli*. У *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium* этот транскрипционный регулятор модулирует внутриклеточную экспрессию генов, требующихся как для роста в макрофагах, так и для способности сопротивляться катионным противомикробным пептидам и окислительному стрессу.

У энтероинвазивной *Esherichiacoli* SlyA влияет на способность противостоять окислительному и тепловому стрессу. Согласно некоторым данным, регуляция генов SlyA может быть критически важной для внутриклеточного выживания.

Однако влияние SlyA на вирулентность *Pectobacterium carotovorum* все еще не изучено. В настоящей работе планируется исследовать вирулентные свойства пектобактерий с инактивированным геном *slyA* а также в присутствии его дополнительных копий.

Первым этапом для изучения действия SlyA на *Pca* стало клонирование *slyA* и конструирование плазмиды для его свехэкспрессии. Для этого амплифицированный фрагмент с геном *slyA* был клонирован в векторе pFLAG-CTC. Рекомбинантная плаزمиды была перемещена в *Pectobacterium carotovorum*. Идет исследование изменения фенотипических свойств полученных бактерий.



## СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»

### ВЛИЯНИЕ АУКСИНОВ НА РИЗОГЕНЕЗ *HYOSCYAMUS MUTICUS* L. IN VITRO

Абделаиз В.М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Wallamohamed68@gmail.com*

*Hyoscyamus muticus* L. - многолетнее травянистое растение семейства пасленовые (*Solanaceae*). *H. muticus* на территории РФ не произрастает и постепенно вырождается в Египте из-за быстрого развития индустриализации. Этот факт определяет наши попытки разработать биотехнологические методы размножения ценного растения в целях его сохранения в условиях *in vitro*.

Важным этапом клонального микроразмножения является укоренение микропобегов *in vitro*, поскольку каждый вид и сорт растений предъявляет свои требования к условиям культивирования. В связи с этим, целью исследования является изучение влияния регуляторов роста на ризогенез *H. muticus in vitro*.

В качестве индукторов ризогенеза использовали отдельно ауксины: индолил-3-масляную кислоту (ИМК) в концентрациях 0,5, 1,0, 2,0 мг/л и  $\alpha$ -нафтилуксусную кислоту (НУК) в концентрациях 1,0, 2,0, 3,0 мг/л и ИМК в сочетании с НУК: 0,5, 1,0 и 2,0 мг/л ИМК с 0,5 мг/л НУК. В качестве контроля служила безгормональная питательная среда Мурасиге и Скуга (МС). Продолжительность пассажа составляла 35-40 суток. Экспланты культивировали при температуре воздуха  $26 \pm 2$  °С, относительной влажности воздуха 70%, освещенности 3000 Люкс и с фотопериодом – 16/8 часов свет /темнота.

В результате исследований по влиянию различных концентраций ауксинов на процесс ризогенеза *H. muticus in vitro* было показано, что наибольший выход укорененных регенератов наблюдали на среде МС, содержащей 1,0 мг/л ИМК. Наибольший процент укоренившихся побегов (100 %) был получен через 40 дней культивирования, где среднее количество корней составило 3,3 шт., а средняя длина – 16,6 см.

Использование НУК в качестве стимулятора корнеобразования оказалось менее эффективным для *H. muticus* L., так как укоренение не превышало 47% на среде МС, содержащей 0,5 мг/л НУК. При этом, среднее количество корней составило 1,9 шт., а средняя длина – 6,3 см. Дальнейшее увеличение концентрации  $\alpha$ -нафтилуксусной кислоты до 2,0 мг/л ингибировало процесс ризогенеза *H. muticus* L. *in vitro*. Однако если к НУК (0,5 мг/л) добавляли 0,5 мг/л ИМК, среднее количество корней на эксплант увеличилось до 1,6 шт., средняя длина корней составила 6,3 см, а процент укоренившихся побегов – 80 %.

Таким образом, ИМК является более эффективным и более быстродействующим ауксином для укоренения микропобегов *H. muticus in vitro*.

### ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА АКТИВАЦИЮ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ МОЗГА КРЫС

Абдулханов М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*abdulkhanov94@mail.ru*

Кальпаин/кальпастиновая протеолитическая система встречается во многих тканях млекопитающих, основными формами которых являются  $Ca^{2+}$ -зависимые цистеиновые протеиназы –  $\mu$ -и  $m$ -кальпаины и их ингибитор – кальпастин. Нарушение баланса этой системы встречается обычно при повышении уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , что приводит к неконтролируемой деградации внутриклеточных структур и усилению клеточной гибели, в результате чего развивается тканевая патология: чаще – дегенерация, иногда – избыточная пролиферация. Цель данной работы – исследовать активность регуляторных белков мозга крыс (на примере кальпаинов) при умеренной гипотермии (по достижении) и пролонгировании ее в течение часа.



Опыты проделаны на беспородных белых крысах. Общую гипотермию вызывали наружным охлаждением в камере, в рубашке которой циркулировала вода с температурой 4-6°C. Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых протеиназ определяли спектрофотометрически по гидролизу щелочно-денатурированного казеина. Активность ферментов выражали в единицах активности (ЕА) на 100 мг влажной ткани.

Исследование показало, что в условиях искусственной гипотермии в мозге крыс происходит активация кальпаинов. Так, при кратковременной умеренной гипотермии в течение 30 мин и достижении температуры тела 30°C в мозге отмечали повышение активности фермента на 24% относительно контроля. Пролонгирование умеренной гипотермии в течение 60 минут после достижения температуры тела 30°C не восстанавливает активность кальций зависимых нейтральных протеиназ мозга, наблюдается дальнейшее увеличение активности фермента относительно контроля. Однако по сравнению с кратковременной умеренной гипотермией, это увеличение не достоверно. Полученные данные свидетельствуют о том, что умеренная гипотермия повышает активность  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых нейтральных протеиназ в мозге белых беспородных крыс, а активность ферментов в мозге не восстанавливается при пролонгировании умеренной гипотермии в течение часа.

### **ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙТРАЛЬНЫХ ПРОТЕАЗ В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ**

**Абдулханов М.Р.<sup>1</sup>, Алибекова Д.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*abdulkhanov94@mail.ru*

Протеолитическими ферментами, активность которых зависит от наличия в среде ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , являются нейтральные протеиназы – кальпаины. Они локализованы главным образом в цитозоле, но могут встречаться в плазматической мембране и митохондриях. Важна роль  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых тиоловых протеаз в поддержании физиологических и биохимических реакций организма. Например, протеиназы плазматической мембраны участвуют в образовании и инактивации ростовых факторов и регуляторных пептидов. Цель данной работы – исследовать изменение активности нейтральных протеаз в сердце крыс (на примере кальпаинов) при умеренной гипотермии.

Опыты проделаны на беспородных белых крысах. Общую гипотермию вызывали наружным охлаждением в камере, в рубашке которой циркулировала вода с температурой 4-6°C. Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых протеаз определяли спектрофотометрически по гидролизу щелочно-денатурированного казеина. Удельную активность кальпаинов определяли в единицах активности (ЕА) на 1 мг белка.

Исследование показало, что в условиях искусственной гипотермии в сердце крыс происходят изменения активности кальпаинов. Так, при кратковременной умеренной гипотермии в течение 30 мин и температуры тела 30°C в сердце наблюдается повышение активности фермента на 44% относительно контроля. Пролонгирование умеренной гипотермии в течение 60 минут, при достижении температуры тела 30°C, приводит к снижению активности кальций зависимых нейтральных протеиназ на 10,2% относительно контроля. Таким образом умеренная гипотермия повышает активацию кальпаинов в сердце белых беспородных крыс, при этом пролонгирование в течение часа приводит к незначительному снижению активности фермента. Можно предположить, что снижение активности кальпаинов связано с проявлением их функций, заключающихся в расщеплении белков цитоскелета, ядерного матрикса, некоторых факторов транскрипции и др.



## ИНГИБИРОВАНИЕ NADH – ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ИЗ METHYLOCOCCUS CAPSULATUS (M) ИОНАМИ МЕДИ

Авдеева Л.В.<sup>1</sup>, Гвоздев Р.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

*tuman@cat.icp.ac.ru*

У метанотрофов медь играет ключевую роль в метаболизме, регулируя выработку двух видов метанмонооксигеназы: растворимой (рММО) и мембраносвязанной (мММО). В настоящее время рММО хорошо охарактеризована, в то время как данные исследований по мММО неоднозначны. мММО является интегральным мембранным мультибелковым ферментом, в состав которого входят: мембраносвязанная метангидроксилаза (мМГ), NADH-оксидоредуктаза и ряд переносчиков электронов (цитохромы, убихиноны и др.). Метанотрофы синтезируют метанобактин, который является новым низкомолекулярным (<1200 Да) хромопептидом, выполняющим роль внеклеточного компонента системы связывания меди метанотрофов.

Известно, что соли тяжелых металлов (серебро, медь, свинец и др.) в высоких концентрациях инактивируют большинство ферментов и служат для многих белков осадителями. Механизм торможения активности ферментов, как правило, не известен. Предполагается, что ингибирование фермента может быть вызвано связыванием иона металла с тиоловыми группами или с карбоксильными группами первичной последовательности белка. Но в большинстве случаев ингибирование тяжелыми металлами является обратимым при добавлении комплексонов. В связи с этим нами была изучена токсичность ионов меди по отношению к NADH – оксидоредуктазе из *M. capsulatus* (M) и возможность использования метанобактина из *M. capsulatus* (M) в качестве комплексона для восстановления активности фермента.

Выделение NADH-оксидоредуктазы проводили из надосадочной фракции, полученной после разрушения и осаждения клеток и фрагментов мембран *M. capsulatus* (M). Выделение метанобактина осуществляли из культуральной жидкости *M. capsulatus* (M) методом жидкостной хроматографии на колонке с носителем Diaion HP20 (Supelco).

Нами было обнаружено, что ионы меди приводят к полному ингибированию NADH – оксидоредуктазы из *M. capsulatus* (M). Но активность NADH – оксидоредуктазы после инкубирования с ионами меди может быть практически полностью восстановлена введением метанобактина. Однако при введении Cu – метанобактина (выделенный метанобактин предварительно обработан CuSO<sub>4</sub>) инактивация ферментативной активности NADH – оксидоредуктазы сохраняется.

Таким образом, показано, что двухвалентные ионы меди токсичны для NADH – оксидоредуктазы. Вероятно, в бактериальной клетке присутствует механизм, защищающий этот фермент от токсичной меди. Возможно, одним из таких регуляторов является метанобактин.

## ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ СПОРТИВНЫХ ЛОШАДЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ MARSTAL TURNIE

Авдоница Е.Д.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Курилова Н.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*Thegreeneyes97@mail.ru*

Одним из главных условий развития спортивного коневодства на современном этапе, а также улучшения качества и снижения себестоимости содержания лошадей является полноценное кормление. Обеспечить рационы спортивных лошадей всеми необходимыми питательными и биологически активными веществами в соответствии с их потребностями невозможно без использования балансирующих кормовых добавок.

Целью наших исследований было изучение влияния кормовой добавки TURNIER (Marstal, ФРГ) на гематологические и биохимические параметры крови мерин в возрасте 9-10 лет со средней живой массой 460 кг, занятых в тренировках по выездке на базе конноспортивного комплекса "Белая Дача". В течение 60 дней основной сеной рацион животных опытной группы отличался от контрольной полной заменой овса немецкими мюсли TURNIER Marstal (OP+T).



Условия содержания и тренировок были идентичными. Включение в рацион мюсли TURNIER Marstal, в составе которых: хлопья зерновых, яблочный жмых, сахарная свекла с мякотью, ряд макро- и микроэлементов, полностью или частично восполняет имеющийся дефицит ОР (указана обеспеченность ОР от потребности) по фосфору (92%), Cu (71%), Zn (90%), Co (83%), Mn (87%), йоду (55%), витаминам: D (19%) и E (92%); в нем полностью отсутствуют витамины А и В<sub>12</sub>.

Было проведено изучение гематологических и биохимических параметров крови до начала и через 60 дней скармливания ОР+Т. Было установлено, что количество эритроцитов ( $8,7 \pm 0,3$  млн. в 1 мл) и гемоглобина ( $136,3 \pm 1,6$  г/л) в крови лошадей через 60 дней скармливания ОР+Т стали выше по сравнению с исходным уровнем и значениями контрольной группы. Биохимические показатели через 60 дней от начала эксперимента соответствовали физиологическим нормам и по уровню общего белка ( $66,5 \pm 1,2$  г/л),  $\gamma$ -глобулинов ( $21,4 \pm 2,7\%$ ), мочевины ( $4,4 \pm 0,7$  ммоль/л), холестерина ( $2,4 \pm 0,3$  ммоль/л) и неорганического фосфора ( $1,7 \pm 0,3$  ммоль/л) изменялись только в пределах ошибки измерения по сравнению с начальным уровнем и биохимическими показателями контрольной группы, но отличались по содержанию креатинина (увеличение на 5%), кальция (увеличение на 7%), активности щелочной фосфатазы (увеличение на 15%) и лактатдегидрогеназы (снижение на 30%) при одновременном повышении глюкозы - на 10% (до  $4,4 \pm 0,4$  ммоль/л) по сравнению с начальным уровнем.

Т.о., полученные результаты свидетельствуют о более эффективном использовании энергии рациона в опытной группе животных (получавших добавку TURNIER), которое выразилось в наращивании мышечной массы, повышении интенсивности минерального обмена и снижении числа анаэробных окислительных процессов в организме животных.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СЕРДЦА У ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

**Азарова Д.Ю.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия.

*azarovadana@mail.ru*

Как показывает практика, среди всех незаразных заболеваний человека, собак и кошек ведущее место принадлежит сердечно-сосудистой патологии. У людей наиболее часто диагностируется инфаркт миокарда (63% среди всех сердечнососудистых патологий). У собак и кошек чаще регистрируют дилатационную кардиомиопатию (25,5% случаев).

Одним из наиболее кардиоспецифичных маркеров на деструктивные поражения миокарда является ТРОПОНИН – тест (определение уровня сердечных тропонинов: Тп Т и Тп I), повышение уровня которых отмечается через 4-6 ч. после повреждения миокарда. У пожилых уровень тропонина всегда выше, чем у молодых. Повышение уровня тропонина обладает прогностическим значением. Было установлено, что при повышении активности Тп Т до  $0,12-0,47$  мкг/л и  $>0,47$  мкг/л смертность составляет 6,7% и 7,4% соответственно, но она в 3 раза ниже при уровне Тп Т  $0,01-0,12$  мкг/л. Структура Тп I у млекопитающих сходна приблизительно на 95%. У здоровых собак и кошек содержание Тп I в сыворотке крови не превышает 0,5 нг/мл, у человека - 2,0 нг/мл, что является пороговым уровнем.

Хорошей кардиочувствительностью обладают натрийуретические пептиды: предсердный (ANP) и мозговой (BNP). Высвобождение ANP и BNP происходит в ответ на растяжение стенки миокарда и повышение внутриполостного давления в предсердиях и желудочках. Было показано, что уровень мРНК BNP в ткани сердец больных с заболеваниями сердца был увеличен в 3-4 раза по сравнению с тканью сердец пациентов, не страдавших заболеваниями сердца. Данные о значениях концентрации BNP в крови здоровых людей в литературе варьируют, они зависят от метода измерения и выбора контрольной популяции. Известно, что содержание BNP в крови увеличивается с возрастом и может быть немного выше у женщин, чем у мужчин. Концентрацию BNP от 0,5 до 30 пг/мл (от 0,15 до 8,7 пмоль/л) считают нормальной. Концентрация BNP 80 пг/мл в возрасте 55 лет считается критической для диагностики сердечной недостаточности. N-концевой фрагмент молекулы предшественника BNP (NT-proBNP), имея более длительный период полувыведения, также может служить маркером для оценки тяжести и прогноза заболевания. Для NT-proBNP нормальной считается концентрация в пределах от 68 до 112 пг/мл (от 8,2 до 13,3 пмоль/л).



В настоящее время наиболее доступными для исследования являются: креатинфосфокиназа, аспаргатаминотрансфераза и лактатдегидрогеназа, но сравнительная диагностическая ценность их в качестве кардиобиомаркеров по сравнению с рассмотренными нами гораздо ниже в связи с наличием большого количества изоферментов.

## **РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В ИНИЦИИРОВАНИИ АПОПТОЗА**

**Акимова А.Д.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*akimenkova.alexandra@yandex.ru*

Центральным пунктом апоптоза, инициируемом как внеклеточными, так и внутриклеточными факторами, являются митохондрии (Mx). Mx интегрируют сигналы про- (Bax, Bak и Bad) и антиапоптотических (Bcl-2, Bcl-xL и Bcl-w) белков членов семейства Bcl-2, регулирующих выход проапоптотических веществ из митохондрий, ведущих к запуску апоптоза: флавопротеин AIF (Apoptosis inducing factor), эндонуклеаза G, белок Smac/DIABLO (Second mitochondria-derived activator of caspase / Direct IAP-binding protein with low pI) и цитохром C, в результате чего митохондриальная мембрана становится проницаемой. Выделяясь из митохондрий SMAC/Diablo (ингибирует IAP-белки (inhibitors of apoptosis)) и цитохром C, который вместе с цитозольным белком Araf-1 (апоптотический протеинкиназный фактор 1) и прокаспазой 9 при участии АТФ включается в состав апоптосомы, активирующей каспазу 9, запуская т.о. трансактивацию каспаз и разрушение клетки. Было доказано, что для выхода цитохрома C в цитоплазму требуется также окисление кардиолипина под действием липопероксидазы образующегося комплекса, состоящего из молекулы цитохрома C, окруженной монослоем молекул кардиолипина.

Контроль проницаемости митохондриальной мембраны обеспечивают Bcl-2. Экспериментально доказано, что Bcl-2 может блокировать апоптоз даже в клетках с отсутствующей митохондриальной ДНК, которая также контролирует процесс выхода цитохрома C в цитозоль, но после этого клетки не в состоянии осуществлять процесс окислительного фосфорилирования.

Апоптоз может проходить различными путями, даже в случае отсутствия митохондриального противоапоптотического белка Bcl-2. Так, белок AIF, обладающий оксидоредуктазной активностью, локализован в межмембранном пространстве Mx и перемещается в цитозоль через открытые транзитные поры наружной мембраны или при ее разрушении совместно с цитохромом C, является самостоятельным, не зависимым от каспаз эффектором апоптоза. Микроинъекции AIF в интактные фибробласты крыс приводят к конденсации хроматина на периферии ядра, разрыву ДНК на крупные фрагменты (300 и 50 тыс. пар оснований, соответствующие суперспирально-доменным розеткам, структура которых стабилизируется активностью топоизомеразы-II), транслокации фосфатидилсерина из внутреннего липидного слоя клеточной мембраны на внешний, выходу цитохрома C из митохондрий в цитозоль.

Т.о., митохондрии обладают достаточно широким спектром различных факторов (белковой и небелковой природы), которые, после их попадания в цитоплазму клетки активизируют или ингибируют клеточный апоптоз.





## **ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ENERGIE PELLETS НА ПОКАЗАТЕЛИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЛОШАДЕЙ В СПОРТИВНОМ КОНЕВОДСТВЕ**

**Алексеева И.А.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Курилова Н.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*aaju@mail.ru*

Дистанционные конные пробеги – вид конного спорта, в котором победитель определяется по лучшему времени прохождения дистанции спортсменом на лошади при условии сохранения в норме ее физиологических показателей. При этом, важнейшим моментом является подготовка лошади к соревнованиям: расчет нагрузки, развитие скоростной выносливости, а также нюансы кормления с использованием сбалансированных рационов, полноценность которых должна регулироваться балансирующими кормовыми добавками.

Целью наших исследований было изучение влияния энергетической балансирующей кормовой добавки Energie pellets (Германия, фирма Eggersmann) на восстановление пробежных лошадей после соревнований.

Объектом исследования служили клинически здоровые меринки ахалтекинской породы 5-7-летнего возраста с живой массой 500 кг, участвующие в дистанционных пробегах, которые были разделены на 2 группы (n=12) по принципу аналогов: контрольная группа – на протяжении 60 дней потребляла основной сеновый рацион (ОР); опытная группа – ОР, дополненный Energie pellets в дозе 1 кг (ОР+Е).

Обязательным условием прохождения ветеринарного контроля через 30 минут после финиша является восстановление частоты сердечных сокращений и частоты дыхательных движений, которые у лошадей опытной группы составили  $32,8 \pm 1,1$  уд/мин и  $9,6 \pm 0,5$  дых/мин, а у лошадей контрольной группы –  $35,5 \pm 1,4$  уд/мин и  $12,5 \pm 1,2$  дых/мин, соответственно, что соответствует нормативам (Положения о соревнованиях), но отражает лучшую переносимость нагрузок и более быстрое восстановление после них у лошадей, потребляющих рацион ОР+Е.

Возможности организма восстанавливаться после интенсивных нагрузок отражаются в изменениях уровня показателей углеводного обмена в крови. Уровень глюкозы (ммоль/л) и пирувата (мкмоль/л) относительно исследуемых групп изменялся в пределах ошибки измерения и в среднем составлял  $4,2 \pm 0,2$  и  $70,3 \pm 2,8$  (до соревнований) и  $3,7 \pm 0,2$  и  $97,4 \pm 3,2$  (через 30 минут после пробега), соответственно, при тенденции к большим процентным изменениям у лошадей контрольной группы. А вот уровень лактата (ммоль/л) не имел достоверных различий между исследуемыми группами лошадей только перед пробегом и составлял в среднем  $0,96 \pm 0,03$ ; а через 30 минут после финиша его концентрация возросла в контрольной группе до  $2,54 \pm 0,05$ , а в опытной до  $1,80 \pm 0,04$ , у которых устранение накопившихся за время пробега продуктов анаэробного распада происходило наиболее интенсивно.

Наши исследования показали, что спортивные лошади, получавшие рацион с включением добавки Energie pellets оказались более подготовленными и лучше восстанавливались после соревнований.

## **КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ МЕМБРАН СИНАПСОМ ИЗ МОЗГА КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ**

**Алибекова Д. М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*dianaalibekova2014@mail.ru*

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) - это фермент, который регулирует временный профиль концентрации медиатора ацетилхолина в синаптической щели и является одним из основных компонентов холинэргической нейромедиаторной системы мозга. При изменении физиологических условий в крови, например, при гипотермии активность фермента изменяется. Эти изменения могут отражать как проявление процессов адаптации к новым условиям, так и патологические процессы. Цель данной работы – исследовать активность и кинетические характеристики АХЭ мембран синапсом из мозга крыс при кратковременной умеренной гипотермии.



Опыты проделаны на беспородных белых крысах. Общую гипотермию вызывали наружным охлаждением в камере, в рубашке которой циркулировала вода с температурой 4-6°C. Активность АХЭ определяли методом Элмана. Концентрационную зависимость измеряли в диапазоне концентраций ацетилтиохолина (АТХ) от 0,0156 до 64 мМ при температуре инкубации 37°C. Кинетические характеристики: максимальную скорость ( $V_m$ ), константу Михаэлиса ( $K_m$ ) и константу субстратного ингибирования ( $K_i$ ) находили методом наименьших квадратов в соответствии с моделью Холдейна.

Исследование показало, что кратковременная гипотермия приводит к повышению активности АХЭ при всех исследованных концентрациях субстрата. Так, например, при концентрации АТХ 1 мМ повышение активности АХЭ составляет 19,1% относительно контроля. При этом точка оптимума на графике концентрационной зависимости смещается в сторону более низких концентраций субстрата. Умеренная кратковременная гипотермия сопровождается повышением  $V_{max}$  на 20,3% и снижением  $K_m$  на 18,7%, вследствие чего отношение  $V_{max}/K_m$ , характеризующее эффективность катализа при физиологических концентрациях субстрата, увеличивается на 48,01%. Исследование показало, что снижение температуры тела крыс до 30°C не влияет на значения  $K_i$  и степень субстратного ингибирования. Полученные данные свидетельствуют в пользу предположения о химической модификации структуры АХЭ при гипотермии, результатом которой явилось существенное изменение каталитической эффективности фермента за достаточно короткий период (30 мин) снижения температуры тела.

## ПРОЛИФЕРАЦИЯ И АПОПТОЗ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭУТОПИЧЕСКОГО И ЭКТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ РЕГУЛИРУЮТСЯ ЭНДОГЕННЫМ КАННАБИНОИДОМ N-АРАХИДОНОИЛДОФАМИНОМ

Ашба А. М.<sup>1,2</sup>, Бобров М. Ю.<sup>1,2</sup>, Акимов М. Г.<sup>1</sup>, Грецкая Н. М.<sup>1</sup>, Безуглов В. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН ИБХ РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ НЦАГиП им. В.И.Кулакова, Москва, Россия

*alyafonya@mail.ru*

Эндометриоз — неопластическое заболевание, характеризующееся наличием эктопических участков эндометрия за пределами матки. Оно встречается у 6-10% женщин репродуктивного возраста, причем его патофизиология остается невыясненной. Известно, что каннабиноидно-ванилоидная система вовлечена в развитие болевого синдрома при эндометриозе, но влияние этой системы на пролиферацию клеток эндометрия практически не изучено. Цель - работы определение влияния эндоканнабиноида N-арахидоноилдофамина (AA-DA) – лиганда одновременно каннабиноидных и ванилоидных рецепторов – на пролиферацию и гибель культивируемых стромальных клеток эутопического и эктопического эндометрия.

Эксперименты проводили на культивируемых стромальных клетках эутопического и эктопического эндометрия, полученных от 15 пациенток под контролем Этического комитета; плотность – 50-100 тыс. клеток/см<sup>2</sup>. 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.

AA-DA был цитотоксичен для клеток эутопического и эктопического эндометрия с LC50 15±1 мкМ и 2±1 мкМ, соответственно. В концентрациях 0,078-0,625 мкМ AA-DA стимулировал пролиферацию клеток эутопического эндометрия, однако не влиял на пролиферацию клеток эктопического эндометрия. Цитотоксическое действие AA-DA подавлялось блокатором CB1, панкаспазным ингибитором, N-ацетилцистеином и аскорбиновой кислотой, а стимуляция пролиферации - блокатором CB2. Токсичные концентрации AA-DA вызывали активацию каспаз 3 и 9, накопление активных форм кислорода и падение мембранного потенциала митохондрий, что указывает на гибель клеток по внутреннему пути апоптоза.

Таким образом, N-арахидоноилдофамин в низких концентрациях стимулирует пролиферацию стромальных клеток эутопического эндометрия за счет активации рецептора CB2,



в высоких концентрациях индуцирует апоптоз по внутреннему пути активации в стромальных клетках эктопического эндометрия за счет активации рецептора СВ1.

## **ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС**

**Бахулова Х. А.<sup>1</sup>, Цаликова П. А.<sup>1</sup>, Халилов Р. А.<sup>1</sup>, Джафарова А. М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*albina19764@mail.ru*

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это один из ключевых ферментов гликолиза, который, находясь на развилке путей метаболизма углеводов, участвует в регуляции тонко сбалансированного анаэробного и аэробного гликолиза. Все многообразие внутриклеточных процессов, связанных, определенным образом, с каталитической активностью ЛДГ, предполагает необходимость изучения молекулярных механизмов функционирования этого фермента при различных физиологических состояниях животных, в частности, при гипотермии. Ранее нами было показано, что при умеренной гипотермии у крыс происходят существенные изменения активности и кинетических параметров ЛДГ мозга и скелетных мышц. При этом каталитические свойства ЛДГ печени, являющейся интегратором всех биохимических процессов организма в целом, остаются неизвестными.

Опыты проведены на белых беспородных крысах весом 150-200 г. Гипотермическое состояние создавали, помещая животных в камеру, в рубашке которой циркулировала вода с температурой 4-6°C. Активность ЛДГ определена спектрофотометрически, по убыли содержания НАДН в реакционной среде, при различных концентрациях пирувата 0,01 – 25 мМ. Кинетические характеристики (константа ингибирования ( $K_i$ ), максимальная скорость ( $V_m$ ) и константа Михаэлиса ( $K_m$ )) определены методом наименьших квадратов, используя в опции «нелинейное оценивание» уравнение Холдейна.

Обнаружено, что умеренная гипотермия приводит к повышению активности ЛДГ в диапазоне низких концентраций пирувата (0,05-0,8 мМ) и, напротив, снижению активности в диапазоне высоких (0,8-25,6 мМ). При этом изменяется характер концентрационной зависимости ЛДГ: точка оптимума на графике смещается в сторону более низких концентраций пирувата, а сигмоидность на правом, ингибиторном склоне графика концентрационной зависимости становится менее выраженное. Анализ кинетических характеристик ЛДГ при умеренной гипотермии указывает на незначительное повышение  $V_m$  на фоне снижения  $K_m$ , за счет чего эффективность катализа фермента существенно увеличивается (на 43,2%). Гипотермия снижает значение  $K_i$  ЛДГ (на 38,7%), что приводит к значительному повышению значения коэффициента субстратного ингибирования (в 2,4 раза). При этом, диапазон концентрации пирувата, при котором фермент работает с максимальной эффективностью, существенно уменьшается. Обнаруженные изменения кинетических характеристик ЛДГ печени свидетельствуют в пользу предположения о модификации структуры фермента при снижении температуры тела крыс.

## **ПЕРВАЯ АЛЛЕНОКСИДСИНТАЗА ЦИТОХРОМОВ ПОДСЕМЕЙСТВА CYP74B P450**

**Бессолицына Е.К.<sup>1</sup>, Горина С.С.<sup>1</sup>, Топоркова Я.Ю.<sup>1</sup>, Мухтарова Л.Ш.<sup>1</sup>, Мухитова Ф.К.<sup>1</sup>, Гречкин А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>КИББ - обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

*bessolicina\_elen@mail.ru*

Липоксигеназный каскад – источник сигнальных соединений, играющих важную роль при формировании иммунного ответа растений. Его продукты оксипиены играют основную роль в защите растений, функционируя в качестве сигнальных молекул и/или защитных веществ. Главную роль в биосинтезе оксипиенов растений играют ферменты CYP74, которые являются неклассическими цитохромами P450 и включают: алленоксидсинтазу (АОС), гидропероксидлиазу (ГПЛ), дивинилэфирсинтазу (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазу (ЭАС). Все цитохромы P450 имеют сходную третичную структуру белковой молекулы в комплексе с гемом и имеют определенные



консервативные, каталитически важные домены. В частности, в катализе непосредственно участвует гидропероксид-связывающий домен (домен HBD), состоящий из 6 аминокислотных остатков. По правилу 55% гомологии аминокислотных последовательностей ферменты семейства СУР74 классифицируются на подсемейства. Большинство ферментов СУР74 относятся к трем подсемействам: СУР74А, СУР74В и СУР74С. Подсемейство СУР74А включает классические 13-специфичные АОС. Подсемейство СУР74С – самое разнородное, так как сюда входят 9/13-специфичные АОС, 9/13-специфичные ГПЛ. Подсемейство СУР74В объединяет 13-специфичные ГПЛ, а так же 13-специфичную ДЭС.

В семействах В и С есть ферменты, обладающий дуалистичной активностью. В подсемействе СУР74В дуалистичные свойства были показаны нами на предполагаемых ГПЛ: СУР74В3 (*Solanum tuberosum*), СУР74В4 (*Medicago sativa*), СУР74В6 (*Cucumis sativus*), а также ДЭС льна (СУР74В16). Объектом данных исследований стал уникальный фермент моркови *Daucus carota subsp. Sativus* DcСУР74В, принадлежащий подсемейству СУР74В. Целевой ген был клонирован и экспрессирован в бактериальном продуценте. Целевой фермент был очищен методом металл-аффинной хроматографии и методом ГХ-МС анализа были исследованы его каталитические свойства. Для определения типа катализа целевых ферментов были проведены инкубации с субстратами – 9 и 13-гидроперекисями линолевой и альфа-линоленовой кислот. По выравниванию аминокислотных последовательностей домен HBD DcСУР74В абсолютно аналогичен домену HBD типичных ГПЛ. Предпочтительными субстратами этого фермента являются 9-гидроперекиси линолевой и альфа-линоленовой кислот. Таким образом, этот фермент обладает 9-специфичностью, в отличие от других 13-специфичных членов подсемейства СУР74В. Основными продуктами превращения гидроперекисей при участии этого фермента являются альфа-кетолы, продукты АОС. Таким образом, фермент моркови является первым представителем подсемейства СУР74В, представляющим собой 9-специфичную АОС.

Работа выполнена при поддержке грантов 18-34- 01012 мол\_а и МК-5989.2018.4. Эксперименты по детальному изучению структуры продуктов были поддержаны Российским Научным Фондом (грант 16-14- 10286).

## СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ПЛАЗМЕННОГО ФИБРИНСТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ФАКТОРА: СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

**Васильева А.Д.<sup>1</sup>, Юрина Л.В.<sup>1</sup>, Индейкина М.И.<sup>1,2,3</sup>, Бугрова А.Е.<sup>1</sup>, Бычкова А.В.<sup>1</sup>, Кононихин А.С.<sup>1,2,3</sup>, Николаев Е.Н.<sup>1,2,4</sup>, Розенфельд М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ИБХФ РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФИНЭПХФ РАН им. В. Л. Тальрозе, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; <sup>4</sup>Сколковский институт науки и технологий, Московская область, Сколково, Россия

*alexandra.d.vasilyeva@gmail.com*

Как и многие другие белки, плазменный фибринстабилизирующий фактор (FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>) является восприимчивой к окислению мишенью. Влияние отдельных участков молекулы, чувствительных к окислению, на изменения структурно-функциональных характеристик белка, остается полностью неисследованным.

Методами UV-, FTIR- и комбинационной спектроскопии показано, что окисление аминокислотных остатков в полипептидных цепях в основном определяется химическим превращением циклических, NH, SH и S-S групп FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>. Данные динамического светорассеяния свидетельствуют о том, что трехмерная структура rFXIII становится менее плотной при индуцированном окислении. Окисление также влияет на ферментативную активность FXIII-A<sub>2</sub>\*, которая зависит от стадии превращения зимогена в фермент, при котором проводится окисление.

Методом масс-спектрометрии был исследован ряд образцов при индуцированном свободнорадикальном окислении FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> на разных стадиях его активации, изучена степень и химическая природа этих модификаций. Наиболее восприимчивой к окислению оказалась полностью активированная форма (FXIII-A<sub>2</sub>\*), а наибольший вклад в общее количество сайтов окисления принадлежит серосодержащим и циклическим остаткам. Полученные данные



позволили постулировать, что в процессе активации молекулы FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> новые ранее неэкспонированные аминокислотные остатки становятся доступными для окислителя. Обсуждается снижение толерантности к окислению FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> во время его ферментативной активации.

Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского Научного фонда, № 16-14-00181.

## **РОЛЬ HIF1-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ РЕАКЦИЙ МОЗГА НА ПАТОЛОГИЧЕСКУЮ ГИПОКСИЮ**

**Ветровой О.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

*o.vetrovoy@spbu.ru*

Для мозга пентозофосфатный путь (ПФП) метаболизма глюкозы представляет собой ключевой источник восстановленного НАДФ, необходимого для обеспечения эффективной антиоксидантной защиты и предотвращения окислительного стресса. В настоящей работе с применением модели умеренной гипобарической гипоксии *in vivo* на крысах линии Wistar выявлена обратная связь между активностью гипоксия индуцируемого фактора-1 (HIF1) и количеством мРНК ключевого фермента ПФП, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Г6ФДГ). Показано, что тяжелая гипобарическая гипоксия (ТГ) и последующая реоксигенация, вызывающие краткосрочное увеличение количества регуляторной альфа субъединицы HIF1 (HIF1a) в CA1 поле гиппокампа, индуцирует снижение количества и активности Г6ФДГ и количества НАДФН, что сопровождается окислительным стрессом и запуском апоптоза. Инъекция ингибитора HIF1 топотекана перед ТГ предотвращает увеличение количества HIF1a, снижает экспрессию белкового продукта транскрипционной активности HIF1, эритропоэтина, нормализуя количество и активность Г6ФДГ и увеличивая уровень НАДФН, что сопровождается нормализацией окислительно-восстановительного статуса и снижением свободнорадикального окисления в гиппокампе, а также предотвращением апоптотических процессов. Полученные данные расширяют современные представления о механизмах постгипоксических патологий. Использование ингибиторов HIF1 в ранний постинсультный период может оказаться эффективной нейропротективной стратегией.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 16-04-00987, 16-34-00027. Исследования осуществлены с использованием оборудования ресурсных центров «обсерватория экологической безопасности» и «развитие молекулярных и клеточных технологий» научного парка СПбГУ.

## **СОДЕРЖАНИЕ КАТИОННЫХ БЕЛКОВ В ГРАНУЛОЦИТАХ СОБАК**

**Воронина О. А.<sup>1</sup>, Царькова М. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*VoroninaOk-senia@inbox.ru*

Оценка активности отдельных звеньев цепи иммунологических реакций представляет на сегодняшний день особый интерес, как для науки, так и для практической ветеринарной медицины. Такое внимание к проблеме обусловлено в первую очередь тем, что ключевые моменты всех причинно-следственных связей в организме являются отражением реактивности регуляторных систем, в том числе иммунной системы. Целью данной работы было определение уровня антимикробных пептидов в гранулоцитах клинически здоровых собак.

Материалом исследования служила цельная кровь кобелей немецких овчарок в возрасте 6-7 лет. Все животные подобраны по принципу аналогов (возраст, пол, физиологическое состояние, условия содержания и кормления) и на момент исследования были клинически здоровы. Всего исследовано 38 собак.



Для количественной оценки катионных белков, называемых также антимикробными пептидами (АМП), в гранулоцитах использован лизосомально-катионный тест по В.Е. Пигаревскому. Цитохимическую оценку содержания в нейтрофилах катионных белков производили в условных единицах полуколичественным методом (Kaplow L. 1955 г) в модификации (Astaldi G. и Verga L. 1957).

Известно, что присутствие в организме АМП характеризует врожденную способность организма противостоять бактериальным инфекциям. Оценивая средний цитохимический коэффициент (СЦК), можно судить о функциональной активности гранулоцитов и выработке АМП. По итогам проведенной работы получены следующие результаты: среднее значение СЦК в данной выборке  $0,88 \pm 0,35$ ; минимальное значение СЦК в обследованной группе 0,24, максимальное же составило 1,52. Причиной пониженного значения СЦК может являться недостаточная активация гранулоцитов. Причиной повышения СЦК может служить системная активация гранулоцитов, например бактериальной инфекцией. Поэтому при повышенных значениях СЦК следует выполнить ряд дополнительных исследований для выявления возможных участков воспаления. При оценке полученных результатов СЦК следует учитывать данные анамнеза, клинического обследования и других клинико-диагностических исследований.

Определение уровня АМП в клинической лабораторной практике может быть полезно в качестве маркера системной активации нейтрофилов, при мониторинге течения инфекционных и воспалительных заболеваний, а также для подтверждения этиопатогенетической роли иммунозависимых процессов.

## АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Галкина А.А.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*anastasia.a.galkina@gmail.com*

Активные формы кислорода (АФК) составляют отдельную систему в организме, участвующую как в ряде физиологических функций, так и во многих патологических процессах. Нарушения механизмов контроля генерации АФК в тканях и снижение эффективности антиоксидантной системы защиты (АСЗ) организма приводят к избыточной продукции свободных радикалов (СР) и вызывают так называемый «окислительный стресс», проявляющийся повреждением макромолекул. Вследствие этого развиваются альтеративные изменения биологических мембран и нуклеиновых кислот, приводящие к повреждению, старению и возможной неопластической трансформации клеток.

Наиболее часто негативное влияние повышенного уровня СР на образование опухолей объясняют прямым повреждением ДНК, например высокорективный  $\text{OH}^\cdot$  непосредственно разрывает двойные связи в пуриновых и пиримидиновых основаниях, а также повреждает остатки рибозы и дезоксирибозы в молекулах нуклеиновых кислот. Индуцировать канцерогенез возможно, снизив уровень АСЗ организма. Так, у нокаутных мышей, у которых отсутствует CuZnSOD (медь- и цинксодержащая супероксиддисмутаза), катализирующая дисмутацию супероксида ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) в молекулярный кислород и перекись водорода, в более позднем возрасте возрастает скорость развития рака печени. Отсутствие MnSOD (марганецсодержащая супероксиддисмутаза) у мышей приводит к летальному исходу вскоре после рождения при избыточном количестве митохондриального  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . Гетерозиготные животные (50% митохондриального MnSOD) выживают, но проявляют повышенный риск развития лимфомы, аденокарциномы и аденомы гипофиза по мере взросления.

Умеренный уровень СР, как правило, способствует апоптозу «нормальных» клеток. Однако у некоторых злокачественных клеток СР могут вызвать противоположный эффект. Так, в клеточной линии меланомы M14 снижение уровня  $\text{O}_2^{\cdot-}$  за счёт чрезмерной экспрессии CuZnSOD способствовало апоптозу, а снижение уровня CuZnSOD тормозило апоптоз. Торможение апоптоза достигается за счёт окислительной инактивации каспаз 9 и 3. В некоторых клетках повышенный уровень  $\text{O}_2$  приводит к более высокому цитозольному pH, который сдерживает активацию каспазы. Напротив,  $\text{H}_2\text{O}_2$  может способствовать апоптозу за счёт снижения цитозольного pH. Вероятно, это связано с увеличением или уменьшением активности системы обмена  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  плазматической мембраны.



Т. о., избыточный уровень АФК может привести к окислительному стрессу, являющемуся следствием дисбаланса про- и антиоксидантных систем организма, повышенной продукции СР, которые, по-видимому, могут являться промоторами канцерогенеза.

## **ТЕНЗИОМЕРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОКА КОЗ**

**Гейдарова С.Р.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*gadzhi.sultanov@yandex.ru*

Племенная работа с молочными козами проводится в направлении увеличения удоя и повышения качества молока, одним из главных показателей которого является жирномолочность. Знание и контроль за основными физико-химическими свойствами молока позволят дать информацию о здоровье животного и будут полезными при использовании козьего молока в производственных целях.

Целью работы явилось изучение тензиометрических показателей образцов молока 12 клинически здоровых коз альпийской породы, которые были разделены на группы по принципу аналогов: I группа - козы с жирномолочностью 3-4%; II - козы с жирномолочностью 4-5%; III группа - козы с жирномолочностью свыше 8%. При проведении исследований все животные находились на 3-м месяце лактации. Определение тензиометрических показателей проводили на тензиометре ВРА-1Р (Sinterface Technologies, ФРГ) с последующей обработкой полученных тензиограмм (графиков зависимости поверхностного натяжения (ПН) от времени «существования» поверхности) с помощью специальной компьютерной программы ADSA.

В результате получали значения ПН в широком диапазоне времен «существования» поверхности:  $\sigma_0$  (ПН при  $t \rightarrow 0$  с),  $\sigma_1$  (ПН при  $t=0,02$  с),  $\sigma_2$  (при  $t=1$  с),  $\sigma_3$  (равновесное ПН при  $t \rightarrow \infty$  с). При анализе тензиометрических показателей молока было выявлено, что вне зависимости от жирномолочности максимальные значения ПН установлены при минимальных временах «существования» поверхности ( $\sigma_0$  и  $\sigma_1$ ), в среднем  $60,12 \pm 1,18$  мН/м. При увеличении времени «существования» раздела фаз (молоко-воздух) наблюдается плавное достоверное снижение значений ПН:  $\sigma_2$  - в среднем до  $53,16 \pm 2,78$  мН/м,  $\sigma_3$  - в среднем до  $46,78 \pm 3,18$  мН/м. Наиболее достоверные отличия ПН в зависимости от жирномолочности были установлены для показателей  $\sigma_2$  - между группами I и III (с увеличением жирности молока от 3-4% до 8% и выше отмечается снижение на 6%) и  $\sigma_3$  - между группами I и II (с увеличением жирности молока от 3-4% до 4-5% - снижение на 5,5%). Интересно отметить, что для  $\sigma_3$  отмечается небольшое повышение (в пределах ошибки измерений) при переходе от группы II к III, что может объясняться влиянием на данный показатель других компонентов молока, в частности белка (его содержание в группе III было минимальным  $3,05 \pm 0,03\%$ ).

Полученные данные подчеркивают тесную взаимосвязь жирномолочности коз с тензиометрическими показателями молока.

## **ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА**

**Горбач Д. П.<sup>1</sup>, Миттенберг А. Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Института цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*darja.gorba4@yandex.ru*

Протеасома – мультикаталитическая протеиназа, обеспечивающая деградацию большинства внутриклеточных белков двумя путями – убиквитин-зависимым и убиквитин-независимым. Для субстратов убиквитин-независимого протеолиза характерно наличие неструктурированных участков (LDR), сигнальных для запуска протеолиза. Таким образом, выделение из протеасомного интерактома белков, содержащих LDR, позволяет рассматривать такие белки в качестве потенциальных мишеней убиквитин-независимого протеолиза.

На сегодняшний момент, механизмы протеасомной деградации изучены достаточно подробно, что позволяет разрабатывать медикаментозные средства точечного подавления этих



процессов. В частности, в терапии множественной миеломы человека (ММ) широко используются препараты-ингибиторы протеасом (PI), такие как бортезомиб и карфилзомиб, в сочетании с ингибиторами гистоновых деацетилаз (DACI). В настоящей работе проводится анализ влияния эффекта синергии между терапевтическими агентами на интрактом субъединицы PSMA3 ( $\alpha$ 7-субъединицы 20S протеасомы, с которой и связываются субстраты убиквитин-независимого протеолиза) в клетках ММ, что в свою очередь даст возможность выявить новые молекулярные мишени для терапии ММ.

Для поиска новых мишеней таргетной терапии ММ в нашей работе использовались методы аффинной очистки белков (GST pull-down), протеомный анализ (LC-MALDI TOF/TOF масс-спектрометрия), а также ряд биоинформатических подходов для выявления LDR в исследуемых белках. Предполагается, что наиболее перспективными мишенями являются короткоживущие регуляторные белки, уникальные для каждого из типов обработок. На основе полученных белковых наборов может быть проанализирован эффект синергии между препаратами-ингибиторами в клетках ММ и выявлены специфические мишени для терапевтических агентов ММ.

Проверку эффективности и селекцию вариантов сочетанных обработок проводили с помощью теста МТТ и проточной цитометрии. Таким образом, были отобраны следующие сочетания: бортезомиб и ресвератрол, бортезомиб и камптотecin, карфилзомиб и флавопиридол. С помощью масс-спектрометрии в каждом из 8 образцов ядерных и цитоплазматических экстрактов было достоверно идентифицировано от 20 до 250 белков, среди которых обнаружены как уникальные только для контрольных проб, или для определенного типа обработки, так и общие для всех образцов белки. Из данных белковых наборов выделены потенциальные субстраты убиквитин-независимого протеолиза, содержащие LDR.

Выделенные белки охватывают широкий спектр клеточных функций, однако требуется более детальный анализ для доказательства их вовлеченности в развитие ММ.

## ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОТОН-ТРАНСЛОЦИРУЮЩЕГО ДОМЕНА NADH-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Дельцов А. С.<sup>1</sup>, Зарудная Е. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*andrei.deltsow@yandex.ru*

NADH-дегидрогеназа (комплекс I) катализирует перенос электронов с NADH на хинон и связывает эту экзергоническую реакцию с транслокацией четырех протонов против электрохимического градиента. Данный ферментативный комплекс имеет очень сложное строение (огромное количество субъединиц и редокс-кофакторов): у млекопитающих данный фермент состоит из 45 разных субъединиц, у низших эукариот - не менее чем из 30, у многих бактерий - всего из 14 субъединиц. 14 генов, кодирующих субъединицы комплекса I, в геномах большинства прокариот объединены в один оперон, их называют *nuo* (от NADH: ubiquinone oxidoreductase) в алфавитном порядке в соответствии с их последовательностью в опероне, семь из них - гидрофобны (NuoA, H, J, K, L, M, N) и составляют мембранную часть комплекса I.

Мембранная часть фермента простирается на 180 Å от места восстановления хинона до наиболее отдаленного протонного пути. Протон-транслоцирующий мембранный домен комплекса I состоит из трех антипортерных субъединиц, NuoN, M, и L (в кишечной палочке), которые присоединены к гидрофильному домену субъединицами NuoA/J/K/H. Антипортерные субъединицы гомологичны друг другу, а также, например, гомологичны Mgr (multiresistance and pH adaptation) Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-антипортерам и некоторым гидрогеназам. Антипортерные субъединицы имеют идентичность первичной последовательности примерно в 20%. Эти субъединицы содержат несколько важнейших аминокислотных остатков для процесса протонной транслокации: например, пара ионизированных Lys-Glu (или Asp в NuoL) в трансмембранных спиралах 5/7a, что было доказано в экспериментах по сайт-направленному мутагенезу.

При MD-моделировании мембранной части комплекса I наблюдалась самопроизвольная гидратация первоначально сухого интерфейса NuoN/NuoK при 220-240 НС. Полученная водородная цепь установила водородную связь между N-стороной мембраны и погруженными остатками Glu-72K и Glu-36K. Открытие этого проводника воды на N-стороне мембраны





обусловлено положительно заряженными аминокислотными остатками в отверстии протонного канала возле гидрофобных «ворот» перед Glu-72K и Glu-36K. Glu- 72K в центре мембранного домена служит точкой бифуркации с цепочками ионизируемых остатков и молекул воды, продолжающихся как к NuoN, так и к NuoK. Эти результаты показывают, что реверсивно сформированная водяная цепь и погруженные карбоксилаты в центре мембранного домена могут функционировать в качестве медиаторов протонного переноса, что согласуется с расчетами электростатики и экспериментами по сайт-направленному мутагенезу.

## **ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СИНАПСОМАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ИШЕМИИ**

**Джалиев А.А.<sup>1</sup>, Абдуселимова Н.М.<sup>1</sup>, Исмаилова Ж.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*jamilja@mail.ru*

В настоящее время наблюдается рост числа заболеваний, связанных с нарушением церебрального кровообращения. Среди причин смертности ишемия головного мозга занимает 2-е место после заболеваний связанных с сердечнососудистыми нарушениями. Нарушение функций мозга при ишемии/реперфузии взаимосвязано со сбоем в работе антиоксидантной защиты. Нами исследованы активности супероксиддисмутазы и каталазы синапсом мозга при ишемии/реперфузии, а также влияние умеренной гипотермии на активности супероксиддисмутазы и каталазы при ишемии и последующей реперфузии. Оказалось, что при ишемии активность супероксиддисмутазы и каталазы снижаются на 19,4% и на 15% относительно контроля соответственно. Снижение температуры тела непосредственно перед ишемией приводит к снижению активностей супероксиддисмутазы и каталазы. Известно, что восстановление кровотока приводит к еще большему повреждению ткани мозга. В этой связи представляет интерес изучение свободно-радикальных процессов в постишемическом периоде. Проведенные исследования через 1, 3 и 7 суток после часовой окклюзии сонных артерий показали, что активность супероксиддисмутазы нарастает, достигая максимума через 7 суток после ишемии. Активность каталазы, наоборот, после суток снижается, а на 3 и 7 сутки активность хоть и возрастает, но остается ниже контрольных значений. Исследование влияния гипотермии на свободно-радикальные процессы в подострый период ишемии показало, что через сутки после ишемии на фоне гипотермии активность супероксиддисмутазы увеличивается до уровня контроля, активность каталазы превышает уровень при ишемии без гипотермии в 1,6 раз.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что состояние ишемия/реперфузия приводит к увеличению уровня активных форм кислорода в синапсоммах, что способствует существенному подавлению антиоксидантной защиты и способствует повреждению нейронов. Искусственная гипотермия способна блокировать подавляющее большинство повреждающих механизмов, одновременно стимулируя репаративные процессы.

Таким образом, понимание патофизиологических событий, которые вызывают ишемическое повреждение головного мозга, а также выяснение механизмов действия искусственной гипотермии являются наиболее актуальными для поиска средств терапии состояний, связанных с ишемическими и постишемическими нарушениями.



## МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАВЕОЛИНА-1 И GCAPS ФОТОРЕЦЕПТОРНОЙ КЛЕТКИ

**Доктор А.О.<sup>1,2</sup>, Владимир В.И.<sup>1,2</sup>, Зерний Е.Ю.<sup>3</sup>, Бакшеева В.Е.<sup>3</sup>, Сенин И.И.<sup>3</sup>,  
Зинченко Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; <sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

*vermilion94@list.ru*

Белки семейства нейронально-кальциевых сенсоров (НКС), таких как Guanylate cyclase activating proteins (GCAPs), которые стали объектом нашего исследования, вовлечены в процесс фототрансдукции. При низкой концентрации  $Ca^{2+}$ , соответствующей световому состоянию фоторецепторной клетки, GCAPs регулируют активность гуанилатциклазы. При повышении концентрации  $Ca^{2+}$  GCAPs теряют свою способность к взаимодействию с гуанилатциклазой, но за счет проходящего параллельно экспонирования N-концевой миристиновой кислоты белки стабилизируются на фосфолипидной мембране. Как известно, GCAPs и их мишень локализуются в рафт-структурах. Это устойчивые к воздействию неионными детергентами мембранные компартменты, обогащенные холестерином и сфинголипидами, а также некоторыми белками, относящимися, как правило, к сигнальным системам клетки. Одним из таких является интегральный белок кавеолин-1. Принято считать, что кавеолин-1 взаимодействует с некоторыми белками семейства НКС фоторецепторной клетки и может влиять на их функциональные свойства и регуляцию активности их мишеней. Кавеолин-1 связывается с белками участком F<sup>81</sup>-R<sup>101</sup>, находящимся на N-концевом домене M<sup>1</sup>-R<sup>101</sup>. Нами было выдвинуто предположение, что кавеолин-1 может взаимодействовать N-концевым доменом с GCAPs. Преципитация GCAP2 с фрагментом кавеолина-1 показала  $Ca^{2+}$ -зависимое взаимодействие. Как и со своей мишенью GCAP2 лучше связывается с кавеолином-1 в отсутствие  $Ca^{2+}$ . GCAP1 так же показал  $Ca^{2+}$ -зависимое взаимодействие с кавеолином-1. Данные ИТС взаимодействие GCAP1 и GCAP2 с кавеолином-1 в низкой концентрации  $Ca^{2+}$ . Миристоилированная форма белка, близкая к нативной, показала лучшее взаимодействие с кавеолином-1, чем немистоилированная. Примечательно, что иммуноблоттинг показал наличие GCAPs и кавеолина-1 в одной фракции фоторецепторных мембран, полученных из сетчаток быка. При том, что мембраны отмывались с детергентами, а GCAPs являются растворимыми белками. Исходя из этого, предполагается, что кавеолин-1 может влиять на регуляторную функцию GCAPs. Таким образом, взаимодействия GCAP1/2 и кавеолина-1 является перспективным направлением для исследования и позволит лучше изучить механизмы работы фоторецепторной клетки.

## СОПОСТАВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ТРОМБОДИНАМИКИ И КОНТРАКЦИИ СГУСТКОВ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

**Евдокимова Т.А.<sup>1</sup>, Пешкова А.Д.<sup>1</sup>, Сибгатуллин Т.Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Tatyanaevdokimova96@mail.ru*

Образование фибрина (тромбодинамика) и контракция сгустков крови играют важную роль в патогенезе тромботических состояний, осложняющих воспалительные процессы. В основе изучения тромбодинамики лежит аппаратный способ оценки скорости направленного (векторного) роста фибринового сгустка. Этот же прибор может использоваться для изучения кинетики контракции сгустков крови, которая представляет собой сжатие сгустка под действием сократительных белков тромбоцитов. Цель данной работы - изучить и сопоставить параметры тромбодинамики и контракции сгустков крови у пациентов с ревматоидным артритом (РА).

Определение тромбодинамики и степени контракции кровяного сгустка проводили с использованием прибора «Регистратор Тромбодинамики» (ГемаКор, Москва) на основе оптической регистрации размеров сгустка и их изменений во времени. Образование сгустка крови



и его контракцию индуцировали добавлением хлорида кальция и тромбина к цельной цитратной крови. Для исследования параметров тромбодинамики брали бестромбоцитную плазму, переносили в пробирку с реагентом I (ингибитор ферментов контактной фазы), затем в пробирку с реагентом II (хлорид кальция). Полученную смесь перемещали в измерительную кювету, опускали вставку-активатор с тканевым фактором и запускали программу для расчета показателей. Параллельно обследовано 35 образцов крови пациентов с РА и 19 условно здоровых доноров.

Анализ параметров тромбодинамики показывает, что при РА в среднем лаг-период был удлинен до  $0,9 \pm 0,03$  мин при норме  $0,1 \pm 0,03$  мин ( $p < 0,05$ ), начальная скорость роста сгустка составляла  $52 \pm 1$  мкм/мин при норме  $48 \pm 1$  мкм/мин ( $p < 0,001$ ), стационарная скорость роста сгустка была равна  $34 \pm 1$  мкм/мин при норме  $26 \pm 1$  мкм/мин ( $p < 0,001$ ), размер сгустка составлял  $1234 \pm 25$  мкм при норме  $1052 \pm 14$  мкм ( $p < 0,001$ ), плотность сгустка была  $25550 \pm 685$  [отн.ед. при норме  $23240 \pm 767$  отн. ед. ( $p < 0,001$ ). Указанные изменения параметров тромбодинамики достоверно смещены в сторону гиперкоагуляции.

Анализ параметров контракции показывает, что средняя степень контракции в крови больных РА была снижена до  $34 \pm 2\%$  при норме  $43 \pm 1\%$  ( $p < 0,001$ ), наблюдалось снижение средней площади над кинетической кривой до  $243 \pm 15$  отн. ед. при норме  $304 \pm 13$  отн. ед. ( $p < 0,001$ ) и скорости контракции до  $0,027 \pm 0,001$  %/сек. при норме  $0,033 \pm 0,001$  %/сек. ( $p < 0,01$ ), а также удлинение лаг-периода до  $242 \pm 20$  сек. при норме  $158 \pm 14$  сек. ( $p < 0,01$ ). Эти изменения указывают на то, что в крови пациентов с РА тормозятся все стадии процесса контракции сгустка несмотря на высокую концентрацию экзогенного активатора (тромбина), добавляемого при постановке теста.

Одновременное повышение параметров тромбодинамики и снижение способности сгустков крови к контракции отражают сложный патогенез данного заболевания и указывают на повышенный риск развития окклюзивных тромботических осложнений.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и при содействии ООО «ГемаКор», Москва, Россия.

## **ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАТОНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ**

**Жарская А. В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*anastasia-10@bk.ru*

Как известно, мелатонин является эффективным антиоксидантом и иммуномодулятором. Данный факт послужил основанием для изучения изменения содержания мелатонина в эпифизе животных с экспериментальным острым и подострым дерматитом.

В ходе эксперимента было исследовано влияние острой и подострой фазы экспериментального контактного дерматита на уровень мелатонина в эпифизе крыс. Острая форма дерматита представляет собой системное воспаление, и, как показали измерения в ходе проведения эксперимента, приводит к повышению значений ПОЛ в сыворотке крови и снижению активности СОД в гемолизате. Результаты эксперимента показали, что при острой форме дерматита наблюдается статистически значимое снижение содержания мелатонина на 67%. При подострой форме дерматита содержание мелатонина повысилось на 120% относительно группы с острой фазой, что, вероятно, свидетельствует о естественном восстановлении содержания мелатонина, за счет снижения уровня окислительного стресса, а так же частичном снижении воспалительного процесса.

На интактных крысах было исследовано действие лактоферрина и экстракта ириса, которые входили в состав мазевых основ, примененных для воздействия на крыс с экспериментальным контактным дерматитом. Применение мазевой основы с лактоферрином не привело к значительным изменениям в измеряемом показателе. Применение мазевой основы с экстрактом ириса привело к увеличению содержания мелатонина на 22% относительно интактной группы, однако данное изменение не является статистически достоверным. Аналогично применение мазевой основы с лактоферрином совместно с экстрактом ириса не показало статистически значимых изменений.

Также было изучено влияние мазевых основ с содержанием лактоферрина, экстракта ириса и их комбинации на крысах с экспериментальным контактным дерматитом. Применение мазевой



основы содержащей лактоферрин привело к повышению уровня мелатонина относительно группы с пролонгированной формой дерматита на 28%. При применении мази содержащей экстракт ириса, уровень содержания мелатонина повысился относительно группы с пролонгированной формой дерматита на 36%. Возможно, данные результаты связаны с противовоспалительным действием лактоферрина и антиоксидантным действием полифенолов. Это, возможно, снижает расход мелатонина на связывание активных форм кислорода, приводя к повышению его концентрации. Таким образом, при ослаблении активности этих процессов, происходит снижение расходования мелатонина и восстановлению его уровня.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ

Зарудная Е. Н.<sup>1</sup>, Зиневич М. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*mas34418212@mail.ru*

В 90-х гг. XX века был открыт потенциально бессмертный вид медуз *Turritopsis nutricula*, управляющий собственными генами и при необходимости возвращающийся к личиночной стадии. Благодаря идее "вечной жизни" существует более 300 теорий старения, и цель данной работы — их доказательный анализ.

Согласно теории накопления генетических мутаций с возрастом увеличивается частота генетических мутаций. В результате действия экзогенных и эндогенных факторов возникают генетические повреждения в молекуле ДНК, приводящие к накоплению дефектных белков.

При каждом делении клетки уменьшается размер теломер — участков ДНК на концах хромосом. Но практически все опухолевые клетки сохраняют их длину, не допуская укорочения до критического уровня, чем и определяется возможность неограниченного роста клеточного клона.

Под воздействием активных форм кислорода (АФК) возникают новые свободные радикалы (СР), повреждающие мтДНК и приводящие к изменению активности компонентов цепи переноса электронов (ЦПЭ), образованию новых АФК и других СР. «Порочный круг» повторяется. В результате свободно-радикального окисления остатки окисленных жирно-кислотных цепей фосфолипидов мембран могут формировать поперечные сшивки между молекулами, и в клетках накапливаются недоокисленные белки.

В теории «перекрестных сшивок» роль агрессивных веществ играют «сахара», чаще глюкоза. Потеря эластичности тканей вызывается гликозилированием между собой различных белков с нарушением их функций. Механизм разрушения подобных сшивок излишне энергозатратен.

Теория дисфункции митохондрий указывает на большое накопление в их мтДНК делеций и точечных мутаций, снижение активности комплексов ЦПЭ и синтеза убихинона в отдельных тканях, и, как следствие, увеличение продукции АФК. Молодые крысы быстро стареют при введении в клетки с помощью микроинъекции митохондрий из фибробластов старых крыс.

Гормональная теория основана на постепенном замедлении с возрастом работы нейроэндокринной системы. Пересадка клеток эмбрионального гипоталамуса в гипоталамические центры старых животных вызывает эффекты омоложения. Изначально предполагалось существование «гормона смерти», выделяемого гипофизом при достижении полового созревания. Он вызывал снижение восприимчивости тканей организма к гормонам щитовидной железы у старых животных и человека примерно в 3 раза. Введение тироксина старым крысам с удаленным гипофизом приводило к восстановлению функции иммунной и сердечно-сосудистой систем.

Ежегодно выдвигаются новые теории, но на данный момент, ни одна из них не может в полной мере объяснить процессы старения.



## ГИПОТЕЗА CoRR

**Карташова Н.П.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*velikiianroi@yandex.ru*

Гипотеза CoRR впервые появилась в 1993 году в «Journal of Theoretical Biology» под названием «Control of gene expression by redox potential and the requirement for chloroplast and mitochondrial genomes».

Согласно эндосимбиотической теории (Андреас Шимпер, 1883 год), хлоропласты и митохондрии были унаследованы эукариотами от древних свободноживущих прокариот. У обеих органелл имеется свой геном (кольцевая молекула ДНК) и своя система ферментов, обеспечивающая транскрипцию и трансляцию. Считается, что гены хлоропластов и митохондрий являются подмножеством генов, располагающихся в ядре, белки которых всегда оказывают окислительно-восстановительное регулирование экспрессии генов непосредственно рассматриваемых органелл. Было доказано, что изолированные хлоропласты гороха синтезируют специфичные белки. При этом, структура белка зависит от наличия или отсутствия ингибиторов и окислительно-восстановительных реагентов в среде, в которой изучается хлоропласт. Так, дитиотреитол (мягкий восстановитель) поддерживает синтез белков, синтезируемых хлоропластом, с широким спектром молекулярных масс; а аскорбат и дитионит поддерживают синтез качественно различных полипептидов. Для нормального функционирования митохондрий быстрое управление редокс-реакциями является ещё более актуальным. В митохондриях в больших количествах образуются активные формы кислорода (АФК), азота и др. Удержание АФК на определенном уровне в клетке осуществляется с помощью сложнейшего механизма управления редокс-реакциями (т.н. редокс-свитчи), локализованного непосредственно в самих органеллах и опирающегося на их собственные метаболические системы. Рецепторами уровней окислителей типа NO и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в митохондриях являются различные серосодержащие соединения. Например, остатки цистеина в составе митохондриальных белков, окисляясь с образованием серных мостиков, являются эффективным рецептором сигнала, основанным на изменении его структуры и активности самих белков. Ещё одним важным рецептором АФК является механизм S-глутатионилирования, заключающийся в посттрансляционной модификации цистеинового остатка посредством присоединения глутатиона. Иначе реализован рецепторный механизм для NO, который связывается с цитохромами и простетическими группами ферментов (в частности, с атомами меди), изменяя активность целых ферментативных каскадов. Указанные механизмы редокс-свитчей продолжают изучаться, но уже ясно, что они гораздо сложнее и более многофакторны. На их работу влияют также число митохондрий в клетке, уровни белков в них, наличие веществ-протекторов с антиоксидантными свойствами и многое другое.

## РОЛЬ ПРОТЕИНКИНАЗЫ HOG1 В ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЯХ НАРУШЕНИЙ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В СЕКРЕТОРНОМ ПУТИ У ДРОЖЖЕЙ HANSENULA POLYMORPHA

**Красовитов К.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

*krasovitov.kirill.2012@post.bio.msu.ru*

Быстрый и адекватный клеточный ответ на гиперосмотический шок является одним из важнейших условий выживания одноклеточных организмов. В клетках дрожжей адаптивный ответ на осмотический сдвиг определяется активацией сигнального пути HOG (high osmolarity glycerol), центральным элементом которого является митоген-активируемая протеинкиназа Hog1. Передача сигнала об изменении осмотических условий окружающей среды начинается с мембранных белков-осмосенсоров, взаимодействующих с компонентами клеточной стенки за счет своих внеклеточных доменов, которые содержат многочисленные сайты гликозилирования.

Различные маннозилтрансферазы участвуют в гликозилировании белков в секреторном пути, в том числе белков-осмосенсоров и связанных с ними гликопротеинов клеточной стенки. Нарушения гликозилирования у дрожжей часто приводят к повышенной чувствительности клеток



к детергентам, в частности к додецилсульфату натрия (SDS), что, как правило, принято связывать с ослаблением клеточной стенки. Однако имеются данные о том, что инактивация вакуолярной кальциевой АТФазы Pmc1 у дрожжей *Hansenula polymorpha* приводит к гиперчувствительности к SDS, которая не сопровождается изменениями клеточной стенки. Данный эффект опосредуется протеинкиназами Hog1 и Wee1, участвующими в контроле клеточного цикла. Таким образом, можно предположить, что нарушения гликозилирования белков в секреторном пути способны вызывать чувствительность к SDS не из-за ослабления клеточной стенки, а из-за влияния на функцию осмосенсоров плазмалеммы или их лигандов в клеточной стенке, что приводит к Hog1-зависимому ингибированию перехода G2-M.

В ходе работы были получены мутантные штаммы *H. polymorpha* с делецией генов маннозилтрансфераз *PMT4* и *MNN2*, клетки которых характеризуются чувствительностью к SDS. Инактивация гена *HOG1*, а также двойная мутация, приводящая к синтезу мутантного белка Hog1 (замены в консервативных сайтах фосфорилирования: T172A, Y174F), подавляли чувствительность к детергенту у штаммов с нарушением гликозилирования белков. Полученные результаты позволяют предполагать, что чувствительность к SDS у мутантов *pmt4-Δ* и *mnn2-Δ* обусловлена по меньшей мере протеинкиназной активностью Hog1. С помощью метода иммуноблотинга было показано, что уровень фосфорилирования Hog1 у мутантов с нарушением гликозилирования был незначительно снижен относительно штаммов с генами *PMT4* и *MNN2* дикого типа. Обсуждается роль внеклеточных ионов кальция в реализации эффектов SDS.

#### НА-АЦЕТИЛИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ЭУКАРИОТ В УСЛОВИЯХ IN VITRO НА ПРИМЕРЕ ПАРВАЛЬБУМИНОВ

Лаптева Ю.С.<sup>1</sup>, Вологжанникова А.А.<sup>1</sup>, Соколов А.С.<sup>1</sup>, Исмаилов Р. Г.<sup>1</sup>, Пермяков С. Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН,  
Пушино, Россия

*lapteva.julia@gmail.com*

Большинство белков эукариот подвергается N-концевому ацетилированию, что может существенным образом изменять их структурные и функциональные свойства. В этой связи, актуальным представляется разработка методов N<sup>α</sup>-ацетилирования белков эукариот, получаемых в бактериальных системах экспрессии. N<sup>α</sup>-ацетилирование катализируется в клетке несколькими N<sup>α</sup>-ацетилтрансферазами (АТ), различающимися по субстратной селективности, зависящей от N-концевой аминокислотной последовательности белка. Эукариотические АТ являются, как правило, мультисубъединичными ферментами. Поскольку бактериальные АТ содержат по одной субъединице, они привлекательны для использования при N<sup>α</sup>-ацетилировании рекомбинантных белков эукариот в условиях *in vitro*.

Ранее нами было установлено влияние N-концевой ацетильной группы на структурные и функциональные свойства некоторых парвальбуминов. Парвальбумины (ПА) - это небольшие кальцийсвязывающие белки позвоночных, выполняющие в организме роль буфера катионов кальция/магния. Нами клонированы АТ *E. coli* (RimI, RimJ и RimL) и изучена селективность их действия в отношении рекомбинантных парвальбуминов ( $\alpha$ -ПА и  $\beta$ -ПА крысы,  $\beta$ -ПА кижуча), а также влияние конформации ПА на эффективность N<sup>α</sup>-ацетилирования. Содержание N<sup>α</sup>-ацетилированной формы ПА оценивали методом масс-спектрометрии.

Показана селективность действия используемых АТ в отношении отдельных ПА, позволяющая получать в различной степени (от 0% до 100%) N<sup>α</sup>-ацетилированные препараты ПА. Ацетилированию подвержена апо-форма ПА, тогда как связывание ионов Ca<sup>2+</sup> белком блокирует его N<sup>α</sup>-ацетилирование. Таким образом, показана возможность применения бактериальных АТ для *in vitro* N<sup>α</sup>-ацетилирования рекомбинантных парвальбуминов. Предложенный подход может быть распространен на другие рекомбинантные белки эукариот, получаемые в бактериальных системах экспрессии, что позволит изучать и использовать при решении прикладных задач белки в форме, в большей степени приближенной к природной.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-34-00701 мол\_а.



## СУЛЬФОКСИД S-ПРОПИЛ-L-ЦИСТЕИНА: КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С МЕТИОНИН-Г-ЛИАЗОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ

**Лебедева Л.А.<sup>1</sup>, Куликова В.В.<sup>1</sup>, Родионов А.Н.<sup>1</sup>, Ануфриева Н.В.<sup>1</sup>, Ревтович С.В.<sup>1</sup>,  
Коваль В.С.<sup>1</sup>, Демидкина Т.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*Lada3197@mail.ru*

Пиридоксаль-5'-фосфат зависимая метионин- $\gamma$ -лиаза (МГЛ, К.Ф. 4.4.1.11) катализирует реакцию  $\gamma$ -элиминирования L-метионина и его аналогов, а также реакцию  $\beta$ -элиминирования L-цистеина и его S-замещенных производных с образованием меркаптанов,  $\alpha$ -кетокислот и аммиака. Нами установлено, что МГЛ катализирует реакцию  $\beta$ -элиминирования сульфоксидов S-алк(ен)ил-L-цистеина с образованием тиосульфидов, антибактериальная активность которых была показана *in vitro*. Для получения антибактериальных тиосульфидов мы использовали полученную ранее мутантную форму МГЛ с заменой остатка Cys115 на His (C115H МГЛ), которая более эффективно катализировала реакцию  $\beta$ -элиминирования. В качестве субстратов ранее были использованы сульфоксиды S-аллил(метил, этил)-L-цистеина. В данной работе был синтезирован сульфоксид S-пропил-L-цистеина и определены каталитические параметры реакции  $\beta$ -элиминирования данного сульфоксида, катализируемой C115H МГЛ. Скорость реакции  $\beta$ -элиминирования этого субстрата ( $k_{кат}$ ) и эффективность катализа ( $k_{кат}/K_m$ ) оказались выше в 2-4 и 1,5-2 раза по сравнению с другими сульфоксидами. Антибактериальный эффект продукта реакции дипропилтиосульфида был показан для штаммов грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*) и грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium TA98).

Результаты исследований по выделению фермента получены в рамках Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013 - 2020 годы (тема № 01201363820). Остальные результаты получены за счет средств Российского научного фонда (проект №15-14-00009).

## СУБКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА

**Линов А. В.<sup>1</sup>, Моисеенко А. В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*anlinov@yandex.ru*

Малатдегидрогеназа (МДГ, КФ 1.1.1.37) – это мультифункциональный фермент, участвующий в цикле трикарбоновых кислот, челночных механизмах, глюконеогенезе. Активность данного фермента в сыворотке крови используется в качестве вспомогательного диагностического теста при ряде заболеваний, главным образом заболеваний сердечно-сосудистой системы и печени. Ранее, нами было показано, что у больных сахарным диабетом животных резко возрастала активность МДГ, что сопровождалось появлением дополнительной изоформы. В связи с чем, целью данной работы явилось определение субклеточной локализации малатдегидрогеназы в печени крыс в условиях аллоксанового диабета.

В качестве объекта исследования использовали самцов белых лабораторных крыс массой 150-200 г. Животных содержали на стандартном рационе вивария. Сахарный диабет моделировали путем введения экзогенного аллоксана. Для разделения органелл применяли изоплотностное центрифугирование на центрифуге Beckman (США), в градиенте плотности сахарозы со ступенями 1,3; 1,5; 1,8; 2,3; 2,5 М. Активность МДГ определяли спектрофотометрическим методом на СФ-2000 (Россия) при 340 нм. Белок определяли по Лоури.

Вывод о субклеточной локализации малатдегидрогеназы делали на основании распределения активности МДГ в различных фракциях. Выявлено, что большая часть (0,87 и 0,82 Е / мг белка, что составляет 50,9% и 47,9% от общей) активности малатдегидрогеназы из печени здоровых крыс сосредоточена в цитоплазме и митохондриях, соответственно. В пероксисомах активность исследуемого фермента была незначительна и составила 0,019 Е / мг белка, что соответствует 1,1% от общей активности. Интересно, что у больных диабетом крыс активность



пероксисомальной формы выросла в 16 раз до 0,299 Е / мг белка, что составляет 36% от общей активности, по сравнению с 0,019 Е / мг белка, 1% от общей активности у здоровой крысы.

Таким образом, увеличение скорости функционирования пероксисомальной формы МДГ может быть связано с индукцией глиоксилатного пути в гепатоцитах крыс, что подтверждает возможность участия малатдегидрогеназной системы в адаптивной реакции организма при сахарном диабете.

## **ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ НАД-МАЛИК-ЭНЗИМА В ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА**

**Линова Н. В.<sup>1</sup>, Селиванова Н. В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*matviencko.nadezhda@yandex.ru*

НАД-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа или НАД-малик-энзим (НАД-МЭ, КФ 1.1.1.39) — фермент, катализирующий превращение малата в пируват. За счет работы этого фермента протекает обходной путь окисления малата в тех условиях, когда оксидоредуктазная дегидрогеназа (КФ 1.1.1.37) блокируется высоким уровнем оксалоацетата (ОАА), низким рН или недостаточной концентрацией ацетил-КоА. Известно, что активация малатдегидрогеназы при сахарном диабете приводит к увеличению синтеза ОАА (ингибитора сукцинатдегидрогеназы), который медленно утилизируется с помощью цитратсинтазы. Поэтому для ускорения регенерации инициализирующих субстратов для лимонного цикла большое значение имеют шунтирующие реакции. В связи с этим, целью данной работы явилось определение активности малик-энзима в печени крыс в условиях аллоксанового диабета.

Опыты были поставлены на белых лабораторных крысах массой 180-250 г. Животные содержались в обычных условиях вивария на стандартном пищевом рационе в условиях свободного доступа к корму. Воду получали без ограничения во всех условиях эксперимента. Сахарный диабет индуцировали введением препарата моногидрата аллоксана. Для измерения концентрации глюкозы был использован глюкометр «Саттелит плюс». Активность НАД-МЭ определяли спектрофотометрически при 340 нм. Специфическое проявление исследуемого фермента осуществляли тетразолиевым методом.

Удельная активность в печени здоровой и больной крысы составила 0,0029 и 0,0067 Е / мг белка, соответственно. Изоферментный состав идентичен и представлен одной формой фермента. Ранее Савченко А.А. с сотрудниками было показано, что активность НАД(Ф) малик-энзимов увеличивается в лимфоцитах больных инсулинзависимым сахарным диабетом детей и подростков.

Таким образом, можно предположить, что увеличение активности малик-энзима в печени больных животных связано с его адаптивной функцией в условиях аллоксанового диабета.

## **АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ПРАВОГО И ЛЕВОГО ПОЛУШАРИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ У КРЫС**

**Малашук А.Д.<sup>1</sup>, Щелчкова Н.А.<sup>1,2</sup>, Логинов П.А.<sup>2</sup>, Самсонова К.И.<sup>2</sup>, Мухина И.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского", Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

*alexlove084@gmail.com*

Исследование биохимических маркеров ишемии/гипоксии в полушариях головного мозга (ГМ) актуально для понимания и описания механизмов формирования приспособительно-компенсаторных реакций в головном мозге в постишемический период и оценки влияния нейтропротекторов на поддержание жизнеспособности нейронов в течение заболевания.

Цель работы - изучить активность митохондриальных ферментов в полушариях ГМ после моделирования ишемии и коррекции препаратом Цераксон (Ferrer Internacional S.A., Испания).

Локальная ишемия головного мозга (ИГМ) моделировалась на крысах-самцах Wistar путем одностороннего фотохимического тромбоза правого полушария головного мозга. Животные были разделены на 3 группы: интактные, группа с ИГМ (в/в физ.раствор через 1,3,6,8,12,24 часа после ишемии) и группа ИГМ с препаратом Цераксон (в/в 169 мкг/кг через 1,3,6,8,12,24 часа после





ишемии), обладающего установленным нейропротекторным эффектом. На 4-е, 10-е и 20-е сутки проводили выделение митохондрий головного мозга методом дифференциального центрифугирования отдельно из правого (ПП) и левого (ЛП) полушарий, определяли активность ЛДГ (лактатдегидрогеназа), СДГ (сукцинатдегидрогеназа) и Н<sup>+</sup>-АТФазы.

ИГМ вызывала активацию ЛДГ в группе ИГМ относительно интактных значений в среднем в 1,5 раза в обоих полушариях, однако введение препарата приводило к достоверному снижению активности ЛДГ во всех временных точках относительно интактных показателей.

При оценке активности СДГ в группе ИГМ выявили в ЛП восстановление активности фермента на 10-е сутки после моделирования ишемии, в ПП - активность СДГ оставалась на уровне интактных показателей. В группе ИГМ после введения препарата Цераксон наблюдалось угнетение активности СДГ в 2 раза в ПП и на 20% в ЛП.

Активность Н<sup>+</sup>-АТФазы в группе ИГМ возросла во всех временных точках эксперимента относительно интактных показателей в обоих полушариях, что свидетельствует о возможности поддержания энергетического гомеостаза в условиях ИГМ. После фармакологической коррекции препаратом Цераксон показан рост активности Н<sup>+</sup>-АТФазы в ЛП в среднем 3 раза относительно интактных значений, а в ПП наблюдались значения сопоставимые с интактными.

Таким образом, в левом компенсаторном полушарии отмечена лабильность активности митохондриальных ферментов в условиях локальной ишемии ГМ в течение эксперимента. Влияние нейропротекторного препарата Цераксон на митохондриальные ферменты ГМ наблюдалось в большей степени в правом полушарии с ишемическим повреждением.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ СТАРТОВЫХ КОРМОВ АКВАКУЛЬТУРЫ**

**Меланьина Л.А.<sup>1</sup>, Зинченко Д.В.<sup>1</sup>, Муранова Т.А.<sup>1</sup>, Мирошников А.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*lyubavk@inbox.ru*

В аквакультуре в качестве белкового компонента животного происхождения в кормах особую роль играет рыбная мука, так как по аминокислотному составу она близка к естественным источникам питания рыб. В связи с уменьшением популяций рыб и удорожанием рыбной муки на сегодняшний день растительные источники белка являются наиболее востребованными заменителями рыбной муки. В качестве заменителей выступают обезжиренные продукты масличных культур сои, рапса и др.

Целью работы является получение белковых гидролизатов сои и рапса при помощи ферментных комплексов различного происхождения, с целью их дальнейшего использования при создании стартовых кормов для рыбной молоди. Ферментативные препараты были получены из гепатопанкреаса камчатского краба, пилорических придатков трески, а также был использован коммерческий бактериальный препарат протосубтилиин.

Белковые препараты, полученные из жмыха рапса и из обезжиренной соевой муки щелочной экстракцией, гидролизовали лиофилизированными ферментативными препаратами (далее ФП) в различных условиях. Гидролизаты анализировали методом ПААГ-электрофореза в присутствии ДДС-Na, ВЭЖХ и масс-спектрометрически (МС), оценивали содержание свободных аминокислот и образование водонерастворимых продуктов гидролиза.

В результате серии экспериментов показано, что рапсовые и соевые белки в течении 10-20 часов гидролизуются до олигопептидов (по результатам МС-анализа 90% пептидов составляют пептиды с массой до 2000 Да, что соответствует ~15-20 а.к.о.), и свободных аминокислот. Содержание свободных аминокислот в гидролизатах по данным аминокислотного анализа в зависимости от времени гидролиза значительно отличалось при использовании различных ФП. Наименьший общий выход растворимого пептидного материала наблюдался при гидролизе соевых белков протосубтилином. Наиболее высокая степень гидролиза была достигнута при использовании ФП из пилорических придатков трески (процент свободных аминокислот составил 83%). Полученный состав гидролизатов удовлетворяет условиям создания стартовых кормов, позволяя эндопротеазам ранней молоди рыб быстро адаптироваться к белковой пище, и приводит



к увеличению активности пищеварительных ферментов, осуществляющих расщепление белковых и углеводных компонентов корма.

## **ВЛИЯНИЕ АКТИВИРОВАННОГО УГЛЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ И РАЗВИТИЕ КОРНЕЙ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. IN VITRO**

**Мохамед Г.Р.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Gamil.Rayan306@Gmail.Com*

Микроразмножение является одним из наиболее эффективных биотехнологических методов для быстрого размножения большого количества элитных сортов растений и дает возможность получить гомогенное потомство. Голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.), вид из рода Вакциниум (*Vaccinium* spp.) семейства Вересковые (*Ericaceae*), считается одним из перспективных и экономически важных растений в России. Основной целью исследований является изучение действия активированного угля, добавленного в среду WPM, для стимуляции органогенеза корней голубики. Известно, что активированный уголь может адсорбировать выделяемые побегами органические соединения. Кроме того, некоторые авторы считают, что затенение нижней части культуральных сосудов плотной черной материей или добавление в питательную среду активированного угля способствует укоренению микропобегов.

Объектом исследования служили побеги голубики высокорослой. Культивирование микропобегов проводили на среде WPM, содержащей 1,0 мг/л индолил-3-масляной кислоты с добавлением 2% сахарозы, 0,1 г/л миоинозитола и 2,7 г/л фитагеля. Введение в состав среды WPM активированного угля проводили в различных концентрациях (0,0, 0,5, 0,1, 1,5 и 0,2 г/л), pH доводили до  $5,0 \pm 0,2$ . Процент укоренения рассчитывали по среднему числу (шт.) и длине корней (см). Культивирование микропобегов проводили при температуре воздуха  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , относительной влажности воздуха 70%, освещенности 3000 Люкс и 16-часовом дневном периоде в течение 10 недель.

В результате наших исследований показано, что эффективное укоренение микропобегов голубики наблюдалось при внесении в среду 1,0 мг/л индолил-3-масляной кислоты с 0,1 г/л активированного угля. Число корней голубики в этом варианте составило, в среднем 5,90 шт., при этом средняя длина корней достигала 1,05 см., тогда как в варианте без добавления активированного угля у микропобегов число корней было 3,60 шт., а длина корней – 0,74 см. Таким образом, наши исследования показали, что для укоренения голубики необходимо добавление активированного угля в среду культивирования. Такой эффект активированного угля на индукцию корнеобразования может быть следствием потемнения среды и/или адсорбции регуляторов роста растений и других органических соединений.

## **ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ СУСЛИКОВ В ДИНАМИКЕ БАУТА ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ**

**Налибиева Д.<sup>1</sup>, Шихамирова З.М.<sup>1</sup>, Астаева М.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*mashia@mail.ru*

Зимняя спячка сусликов – прерывистый процесс, состоит из последовательности циклов, баутов, прерываемых кратковременными пробуждениями. Баут включает в себя вход, пребывание и выход из спячки. В состоянии оцепенения температура тела животного снижается до  $4^\circ\text{C}$ , все процессы метаболизма снижаются до уровня, который является летальным для негибернирующих животных. При межбаутном пробуждении температура тела сусликов достигает  $37-38^\circ\text{C}$ , все процессы возвращаются к нормальному уровню. Вход и выход из баута сопровождаются изменением кислородного режима тканей, что может повлиять на скорость генерации активных форм кислорода и окислительной модификации белков. В связи с этим нами было изучено изменение интенсивности окислительной модификации белков в плазме крови сусликов в динамике зимней спячки. Исследования показали, что при повторном погружении в спячку содержание белка в плазме крови снижается на 10% по сравнению с межбаутным пробуждением, продолжает падать до середины баута (на 19% ниже) и перед очередным пробуждением



возрастает, но остается ниже уровня при спонтанном пробуждении. Во время межбаутного пробуждения животных содержание белка в плазме крови приближается к уровню контроля. Это согласуется с литературными данными о резком замедлении синтеза белка за счет дезагрегации полисом. В течение баута спячки меняется и скорость протеолиза белков, показателем которой является уровень среднемoleкулярных пептидов (СМП) в плазме крови. Содержание СМП в плазме крови в ходе баута снижается: на 10% относительно межбаутного пробуждения в начале баута, на 54% – в середине баута спячки и на 45% – в конце баута. Межбаутное пробуждение приводит к росту содержания СМП в плазме крови сусликов на 51% относительно контроля. Как показали наши исследования, при входе в баут спячки содержание карбонильных групп в белках плазмы крови увеличивается на 42%, а затем в течение баута снижаются, вплоть до межбаутного пробуждения. При спонтанном пробуждении содержание карбонильных групп в белках плазмы крови оказывается на 15% меньше контроля. Такие изменения степени окислительной модификации белковых молекул, вероятно, связаны с действием компонентов антиоксидантной защиты.

## **РОЛЬ ЦИТОХРОМ b5 РЕДУКТАЗЫ 3 В АДАПТАЦИИ КЛЕТКИ К ГИПОКСИЧЕСКИМ УСЛОВИЯМ**

**Никифорова А.Б.<sup>1</sup>, Харечкина Е.С.<sup>1</sup>, Круглов А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*nikiforanna@yandex.ru*

Условия гипоксии в тканях и органах развиваются при многих социально важных заболеваниях, таких как инфаркты, инсульты, сердечная недостаточность и другие. Состояние гипоксии зачастую ведет к негативным последствиям, вплоть до отмирания клеток и участков ткани. В организме существует множество механизмов, обеспечивающих выживаемость клетки при гипоксии. Далеко не все они изучены. Возможность модифицировать и регулировать эндогенные механизмы защиты от гипоксии поможет предотвратить или облегчить многие заболевания.

Одним из возможных механизмов регуляции жизненных процессов при гипоксии возможно регуляции оксида азота (NO) внутри клетки. NO является естественным ингибитором дыхательных комплексов митохондрий. В условиях недостатка кислорода, ингибирование дыхательной цепи полезно уменьшением потребления кислорода и уменьшением продукции активных форм кислорода (АФК). Существует несколько механизмов регуляции количества NO в клетке. Мы предположили, что митохондриальная цитохром b5 редуктаза принимает роль в одном из них. Белки глобины (нейроглобин, цитоглобин, миоглобин, гемоглобин) способны связывать NO, но при этом им требуется восстановление, в эритроцитах и в эпителиальных клетках кровеносных сосудов, гемоглобин альфа восстанавливает цитозольная цитохром b5 редуктаза, данный механизм показан. Мы предположили, что в других клетках, по такому же принципу может работать митохондриальная цитохром b5 редуктаза со всеми белками глобинами (в зависимости от типа клеток).

Мы исследовали экспрессию белков глобинов и цитохром b5 редуктазы, а также активность последней в различных типах клеток (Нер 2, 3Т3, L929) после инкубации в гипоксических условиях (содержание кислорода 1,2-1,3%). Для исследований применяли иммунофлуоресцентный метод, вестер-блот, а также разработанный нами метод для оценки активности цитохром b5 редуктазы по восстановлению люцигенина до диметибиакридена. Эксперименты показали, что гипоксия по-разному влияет на активность и экспрессию изучаемых систем, в зависимости от типа клеток.

Работа поддержана стипендией президента СП-1624.2016.4.



## ПАРАМЕТРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ СПОРАДИЧЕСКОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬЦГЕЙМЕРСКОГО ТИПА

**Носова М.В.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*mary11n1@mail.ru*

Болезнь Альцгеймера наиболее распространенная форма первичных дегенеративных деменций позднего возраста. Одним из ключевых звеньев патогенеза БА является окислительный стресс (ОС), который может приводить к нарушению метаболизма трансмембранного белка - предшественника бета-амилоида, являющегося основным патоморфологическим коррелятором БА.

Характерным проявлением ОС является интенсификация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), индикатором которого служит увеличение содержания хотя бы одного из его продуктов, разрушение мембран клеток и окислительная модификация белков (ОМБ).

Целью работы явилось исследование параметров ОС в организме больных с нейродегенеративными расстройствами (НДр) по содержанию малонового диальдегида (МДА), диеновых (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК) и окислительно модифицированных белков (ОМБ) плазмы крови в результате спонтанного и металл-катализируемого окисления (МКО) и структурному состоянию мембран эритроцитов.

Объектом исследования ОС стали 104 пациента отделения гериатрической психиатрии НИПНИ им. В.М. Бехтерева с НДр. Из данного количества пациентов 52 находились на начальной стадии БА, 32 на начальной стадии сосудистой деменции и 20 находились в состоянии депрессивного расстройства. У 1 группы больных ДК эритроцитов был  $165,0 \pm 61,3$ ; ТК эритроцитов  $23,2 \pm 9,9$ ; МДА эритроцитов  $17,0 \pm 11,2$ ; ОМБ Sp/мл плазмы  $2,79 \pm 1,62$ ; ОМБ Sp/гбелка  $40,1 \pm 26,5$ ; ОМБ МКО/мл плазмы  $35,3 \pm 7,8$ ; ОМБ МКО/г белка  $441,6 \pm 40,3$ . У 2 группы больных был ДК эритроцитов был  $129,5 \pm 48,1$ ; ТК эритроцитов  $20,4 \pm 7,3$ ; МДА эритроцитов  $15,8 \pm 3,9$ ; ОМБ Sp/мл плазмы  $3,50 \pm 2,13$ ; ОМБ Sp/гбелка  $46,9 \pm 28,2$ ; ОМБ МКО/мл плазмы  $39,6 \pm 8,8$ ; ОМБ МКО/г белка  $500,0 \pm 97,1$ . У 3 группы ДК эритроцитов был  $132,0 \pm 66,0$ ; ТК эритроцитов  $23,3 \pm 9,6$ ; МДА эритроцитов  $11,8 \pm 3,4$ ; ОМБ Sp/мл плазмы  $2,45 \pm 0,97$ ; ОМБ Sp/гбелка  $33,1 \pm 12,8$ ; ОМБ МКО/мл плазмы  $33,1 \pm 4,6$ ; ОМБ МКО/г белка  $449,3 \pm 60,5$

У пациентов всех групп отмечается высокое содержание параметров ОС. ДК и ТК являются первичными, а МДА вторичным продуктом ПОЛ, увеличение которого провоцирует синдром интоксикации. Высокие значения параметров ОС могут быть обусловлены как скоростью ПОЛ, так и дисбалансом активности ферментов антиоксидантной защиты, отмечаемому при БА и других НДр.

Для анализа структурного состояния мембран эритроцитов при БА была исследована кровь десяти пациентов 55 лет с БА. Было установлено, что у всех пациентов были нарушены связи в системе регуляции ПОЛ клеточных мембран.

Таким образом, у пациентов с НДр наблюдается увеличение параметров ОС, наиболее выраженное на начальных стадиях БА.

## ДЕЙСТВИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ДИАРИЛСУЛЬФОНОВ НА ВЫБРОС ГИСТАМИНА ТУЧНЫМИ КЛЕТКАМИ

**Перемотова Д.А.<sup>1</sup>, Бондарюк Е.В.<sup>1</sup>, Ященко В.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, НИЛ "Биохимии обмена веществ", Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>ГНУ Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*dunjaperemotova@mail.ru*

Диарилсульфоны – класс органических соединений, обладающих широким спектром биологических активностей, для которых характерно наличие сульфоновой группы с различными заместителями. Целью настоящей работы явилось изучение действия данных соединений на выброс гистамина тучными клетками. Клетки выделяли из перитонеальной полости крыс и инкубировали с диарилсульфонами в диапазоне концентраций от  $10^{-9}$  до  $10^{-4}$  моль/л. Гистамин определяли флуориметрически с ортофталевым альдегидом. На первом этапе проведён анализ



действия 8 соединений на спонтанный и индуцированный веществом 48/80 выброс гистамина тучными клетками. Спонтанный выброс гистамина стимулировался лишь одним соединением - VAS557 (метил-3-((2-гидрокси-5-(метоксикарбонил)фенил)сульфонил)-5-нитро-4-октанаминобензоат), который вызвал более чем 7-кратный выброс медиатора. В отличие от спонтанного, индуцированный выброс гистамина подавлялся 3 из 8 соединений, которые по силе ингибиторного действия можно расположить в следующем порядке: VAS520, YAN286 и VAS557. Препарат VAS520 в присутствии вещества 48/80 вызывал блокирование выброса гистамина на 95% относительно контроля, при концентрации VAS520 0,1 мкмоль/л. Препарат VAS557 в диапазоне концентраций от  $10^{-9}$  до  $10^{-4}$  моль/л вызывал 7-кратный выброс гистамина. Однако в диапазоне концентраций от  $10^{-6}$  до  $10^{-5}$  моль/л происходил резкий спад активности препарата. Максимальное ингибирование выброса гистамина наблюдалось при концентрации соединения  $10^{-4}$  моль/л и составило 55%. Препарат YAN 286 в присутствии вещества 48/80 вызывал снижение выброса гистамина на 75%. Далее при понижении концентрации препарата наблюдалось дозозависимое снижение данного эффекта. Наличие нитро-заместителей, а также замещенных аминогрупп в одном бензольном кольце в 4-ом и 5-ом положениях соответственно в молекулах диарилсульфонов обеспечило максимальное блокирование выброса гистамина, индуцированного веществом 48/80.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОСТАНОИДА Л1К НА КЛЕТКАХ ЛИНИИ MCF-7

**Петрова С.М.<sup>1</sup>, Юрченко А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*psvetam@mail.ru*

Простагландины (ПГ) - биологически активные соединения, оказывающие влияние на нормальное развитие организма, гомеостаз тканей, воспаление и опухолевый рост. В литературных источниках указывается на то, что циклопентеновые ПГ, являющиеся метаболитами арахидоновой кислоты, могут обладать противоопухолевой активностью на моделях как *in vitro* так и *in vivo*, активируя процессы ведущие к индукции апоптоза в клетках. Возможность ПГ группы В подавлять рост раковых клеток, практически не изучена. Учитывая многообразие биологических эффектов проявляемых ПГ в организме можно предположить наличие у ПГВ и их аналогов цитотоксического действия.

*Цель работы:* исследование цитотоксического действия простаноида группы В (Л1К) на опухолевых клетках.

*Материалы и методы.* Исследования выполнены на клеточной линии аденокарциномы молочной железы человека - MCF-7. Простаноид Л1К синтезирован в лаборатории химии простагландинов ИБОХ НАН Беларуси и любезно предоставлен для исследований. Нами были изучены временные (24, 48, 72 и 96 часов) и концентрационные ( $10^{-10}$ - $10^{-4}$  моль/л) зависимости цитотоксического эффекта простаноида. Влияние Л1К в концентрациях  $10^{-10}$ - $10^{-4}$  моль/л на жизнеспособность клеток оценивали с помощью МТТ-теста по Niks M. и Otto M. Цитотоксичность данного соединения на клетки MCF-7 определяли по выходу цитозольного фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в среду инкубации. Действие простаноида на лизосомы регистрировали по выходу в среду инкубации кислой фосфатазы (КФ). Контролем служили клетки, культивируемые без добавления простаноида.

*Результаты:* Анализируя результаты тестирования специфической гибели клеток в МТТ-тесте было установлено время- и доза-зависимое цитотоксическое действие простаноида Л1К на клетки линии MCF-7. Максимальная специфическая гибель клеток наблюдалась спустя 48 часов при концентрации Л1К  $1 \times 10^{-4}$  моль/л и составила  $96,3 \pm 3,9\%$ . Определение активности ЛДГ в среде культивирования позволило установить, что цитотоксическое действие соединения на клетки MCF-7 достигает максимального значения спустя 24 часа при концентрации Л1К  $1 \times 10^{-4}$  моль/л и равна  $145,5 \pm 4,7\%$  по отношению к контролю. Увеличение активности КФ наблюдалась уже при концентрации Л1К  $1 \times 10^{-8}$  моль/л. Максимальная активность КФ в среде инкубации была зафиксирована при концентрации Л1К  $1 \times 10^{-4}$  моль/л и составила  $206,8 \pm 6,6\%$  по отношению к контролю. Указанный феномен подтверждается и морфологическим исследованием клеток MCF-7 под влияние простаноида Л1К и представляет интерес для дальнейших исследований.



## БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ В МОЛОКЕ ЧЕЛОВЕКА

Принц В. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*prinzv@outlook.com*

Молоко человека является важным источником питательных веществ для новорожденных. Молоко содержит широкий ряд белков, пептидов и других компонентов, обеспечивающих развитие новорожденных и защищающих их от вирусных и бактериальных инфекций. Известно, что белки молока могут образовывать комплексы друг с другом. Следовательно, идентификация и характеристика комплексов белков молока является важной задачей для понимания роли молока для новорожденных.

В данной работе мы исследовали некоторые белковые комплексы из молока человека. Используя гель-фильтрацию и аффинную хроматографию, перекрестную сшивку с помощью гель-фильтрации с последующими SDS-PAGE электрофорезом и MALDI масс-спектрометрией мы установили стехиометрию комплексов лактоферрина и комплексов лактоферрина с IgG. Данные комплексы стабильны в присутствии низких концентрация NaCl и разрушаются только при 0,6 M NaCl. Известно, что лактоферрин имеет большое количество биологических активностей и функций. Из-за того, что лактоферрин найден не только в молоке человека, но и в других биологических жидкостях, таких как эпителиальные секреты, а также во вторичных гранулах лейкоцитов, мы предполагаем, что исследование комплексов лактоферрина и комплексов лактоферрина с IgG в молоке человека важно для понимания роли лактоферрина в различных биологических жидкостях.

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ РАССТРОЙСТВАМИ ПСИХИКИ

Пронина А.А.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*prosha9722@mail.ru*

Психические заболевания позднего возраста делятся на две группы: инволюционные функциональные (обратимые) не ведущие к развитию слабоумия с депрессивно-тревожной симптоматикой и органические психозы, возникающие на фоне нейродегенеративных заболеваний и сопровождающиеся развитием грубых нарушений интеллекта, такие как болезнь Альцгеймера (БА), сосудистая деменция (СД) и др. Актуальность исследования психических заболеваний обусловлена высокой распространенностью этих расстройств у лиц пожилого возраста. При различных психических заболеваниях наблюдают окислительный стресс, который сопровождается повреждениями активными формами кислорода (АФК) различных клеток, тканей и органов; негативно влияет на работу мозга. Причиной развития окислительного стресса является накопление в организме избытка АФК, когда их образование в системе превышает способность системы их нейтрализовать и элиминировать. Этот дисбаланс может быть результатом недостатка системы антиоксидантной защиты (АОЗ).

Целью работы было определить активность ферментов АОЗ супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы (ГПО) у пациентов с психическими расстройствами. Объектом исследования стали 30 пациентов, обратившихся за стационарной или амбулаторной помощью в отделение гериатрической психиатрии, которые были распределены на группы по принципу аналогов на основании проведенного клинико-психологического, психометрического и нейровизуализационного обследования: 1) пациенты с депрессивным расстройством (ДР), 2) пациенты с БА и 3) пациенты с СД. Наибольшая активность СОД (УЕ/г Hb) отмечалась у пациентов с БА и соответствовала  $7,28 \pm 1,86$ , что на 20% выше, чем у пациентов с СД ( $5,76 \pm 2,18$ ) и на 15%, чем у пациентов с БА ( $6,31 \pm 1,58$ ). Активность ГПО (мМ глутатиона/мл эритроц. взвеси) была выше у пациентов с ДР –  $71,86 \pm 93,36$ , при БА она составила  $67,5 \pm 54,9$ , а у пациентов с СД –  $25,9 \pm 35,2$ . Различия в активности каталазы эритроцитов у больных с ДР, БА и СД не наблюдалось. Анализ показателей АОС крови позволят судить о степени выраженности деструктивных поражений тканей за счет генерации АФК. Возможно, выявленное повышение активности СОД и



ГПО можно рассматривать как компенсаторную реакцию компонентов АОЗ при состоянии окислительного стресса. Однако отсутствие повышения активности каталазы, направленной на снижение уровня перекиси водорода – продукта ферментативной реакции СОД свидетельствует о нарушении сбалансированности между компонентами АОС в условиях интенсивной генерации АФК. Это приводит к перекисному разрушению нейронов, активации апоптоза и нарушению соотношения нейродегенерации и нейрогенеза в сторону снижения последнего.

## **ЭКЗОСОМЫ МОЛОКА: ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ И МОРФОЛОГИИ, БЕЛКОВЫЙ И НУКЛЕИНОВЫЙ СОСТАВ**

**Пурвиньш Л.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*ladapurvinsh13@gmail.com*

Экзосомы – мембранные везикулы диаметром 40–100 нм, секретируемые клетками и обнаруженные в различных биологических жидкостях. За последнее десятилетие стала понятна роль экзосом во многих физиологических и патологических процессах в организме, показано наличие в их составе белков, пептидов, ДНК, мРНК и, особенно, микроРНК, выяснена роль нуклеиновых кислот, содержащихся в экзосомах в развитии заболеваний. Накопленные данные о составе и функционировании экзосом служат основой для разработки новых неинвазивных способов диагностики различных заболеваний и средств направленной доставки лекарств в организме.

Молоко – важная, но исключительно сложная биологическая жидкость, содержащая большое количество белков, которые значительно осложняют выделение экзосом стандартными методами (ультрафильтрация, ультрацентрифугирование). В связи с этим актуальной задачей является разработка методов получения гомогенных препаратов экзосом из комплексных биологических жидкостей.

Нами был разработан подход, который сочетает стандартные протоколы выделения с гель-фильтрацией. По данным просвечивающей электронной микроскопии данная методика позволяет получить гомогенные препараты везикул. Иммуноцитохимическим окрашиванием с использованием антител к основным поверхностным белкам экзосом: CD9, CD81, CD63 было подтверждено, что полученные везикулы являются экзосомами.

Кроме того, аналогичные антитела были использованы для создания колонок для аффинного выделения экзосом. Сочетание разработанного подхода, включающего гель-фильтрацию, и аффинного выделения позволяет получить высокоочищенные препараты экзосом для их дальнейшего анализа.

Анализ белкового состава полученных препаратов показал, что в зависимости от способа выделения экзосом из молока число и соотношение белков в препаратах варьирует. В высокоочищенных препаратах экзосом молока присутствует неожиданно небольшое число белков, что указывает на то, что значительная часть молочных белков не входит в состав экзосом, а совыделяется с ними.

Для анализа нуклеиновых кислот нами были получены образцы РНК на разных стадиях выделения экзосом, проведена обратная транскрипция и ПЦР в режиме реального времени с использованием праймеров к нескольким основным микроРНК экзосом молока. Количественная амплификация данных микроРНК может служить эффективным высокопроизводительным способом определения содержания экзосом в препаратах.

Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что при правильной технологии выделения молоко может служить перспективным источником экзосом, пригодных для их дальнейшего анализа.



## ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ И ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС

**Раджабова З.Г.<sup>1</sup>, Чалабов Ш.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*zaraaa.09-85@mail.ru*

В нашей лаборатории показано, что снижение температуры тела крыс до 30°C (кратковременная умеренная гипотермия) способствует развитию окислительного стресса в крови. Об этом свидетельствует существенное повышение интенсивности окислительной модификации липидов и белков плазмы крови и мембран эритроцитов. Перекисное окисление липидов мембран может привести к изменению, как фосфолипидного состава, так и состава их жирных кислот. Это в свою очередь может отразиться на деформируемости эритроцитов в сосудистом русле.

В данной работе проведено исследование влияния кратковременной умеренной гипотермии на содержание фосфолипидов (ФЛ) и состав их жирных кислот в мембранах эритроцитов крыс.

Общую температуру тела крыс снижали до 30°C в течение 30 мин путем наружного охлаждения. Из эритроцитов после гипотонического гемолиза выделяли мембраны. Липиды из мембран эритроцитов экстрагировали по методу Фолча. Состав ФЛ в полученных липидных экстрактах анализировали методом двумерной тонкослойной хроматографии, а суммарных жирных кислот – методом газо-жидкостной хроматографии.

Снижение температуры тела не оказало влияния на содержание фосфатидилхолина и сфингомиелина в липидах мембран эритроцитов. Гипотермия незначительно увеличивает содержание фосфатидилэтаноламина, но повышает содержание его плазмалогенной формы. При низкой температуре тела на 15,1% снижается содержание монофосфоинозида. Снижение содержания ФЛ, возможно, связано с их гидролизом под влиянием фосфолипазы А<sub>2</sub>, поскольку одновременно на 38,3% возрастает содержание лизофосфолипидов.

При гипотермии, наряду с изменением содержания различных классов ФЛ, происходят изменения и их жирнокислотного состава. Анализ жирнокислотного состава суммарных ФЛ эритроцитарных мембран показал, что при кратковременной гипотермии из насыщенных жирных кислот (НЖК) снижается количество только С<sub>18</sub> (на 10,5%). В составе моноеновых жирных кислот (МНЖК) количество С<sub>16:1</sub> снижается на 10,1%, а С<sub>20:1</sub> обнаруживается в надежно регистрируемых количествах. При гипотермии более существенные изменения происходят в составе полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Так, содержание таких ПНЖК, как С<sub>20:4</sub>, С<sub>22:2</sub>, С<sub>22:5</sub> возрастает на 4,6, 26,3 и 6% соответственно, а содержание С<sub>20:3</sub>, С<sub>22:4</sub>, С<sub>22:6</sub> снижается на 10, 36,6, 8,9% соответственно по отношению к контролю. Однако в целом, обнаруженные изменения в содержания ЖК не отразились на общем содержании НЖК, МНЖ и ПНЖК, а также на индексе ненасыщенности.

## СВОЙСТВА МАЛИК-ФЕРМЕНТОВ ИЗ ОБЛИГАТНЫХ МЕТАНОТРОФ METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM 20Z И METHYLOSINUS TRICHOSPORIUM OB3B

**Розова О.Н.<sup>1</sup>, Егорова С.В.<sup>1</sup>, Бочарова К.А.<sup>1</sup>, Солнцева Н.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пущино, Россия

*rozovaolga@rambler.ru*

Малик-фермент катализирует окислительное декарбоксилирование малата до пирувата с восстановлением никотинамидного кофактора. Впервые методом клонирования и гетерологичной экспрессии генов были получены рекомбинантные малик-ферменты из облигатного метанотрофа *Methylosinus trichosporium* OB3b, реализующего сериновый путь С<sub>1</sub>-ассимиляции, и из *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z с рибулозомонофосфатным путем.

Малик-фермент *Ms. trichosporium* OB3b катализирует НАДФ<sup>+</sup>-зависимую обратимую реакцию декарбоксилирования малата до пирувата. Фермент является К<sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> и Mg<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup>-зависимым. Малик-фермент *Ms. trichosporium* OB3b имеет химерную структуру: N-конец (MaE) гомологичен ранее охарактеризованным малик-ферментам, тогда как C-конец является фосфоацетилтрансферазой (ФАТр). Однако малик-фермент не обладал фосфотрансферазной активностью, также как и отдельно полученный ФАТр фрагмент. Видимо, C-конец ответственен





за олигомеризацию фермента, поскольку отдельно полученный N-конец, обладающий активностью малик-фермента, является димером, ФАТр - гексамером и малик-фермент *Ms. trichosporium* ОВ3b также является гексамером. Фермент *Ms. trichosporium* ОВ3b имеет оптимумы pH 7,5 и температуры 60. Максимальная активность фермента в направлении декарбоксилирования малата составила 36 Е/мг белка, тогда как в обратной реакции карбоксилировании пирувата – 7 Е/мг белка. Были получены следующие значения Km: для малата – 2,73 мМ, НАДФ<sup>+</sup> - 64 мкМ, пирувата – 6,02 мМ и НАДФН<sub>2</sub> – 47 мкМ. Расчет kcat/Km показал, что малик-фермент *Ms. trichosporium* ОВ3b в 10 раз эффективнее в направлении декарбоксилирования малата по сравнению с обратной реакцией. Активность фермента ингибировалась на 60% 2мМ АТФ и ФФн и на 80% 0,2 мМ ацетил-КоА, что указывает на инактивацию фермента при высоком энергетическом статусе клетки. Предположительно, основная функция малик-фермента у облигатного метанотрофа *Ms. trichosporium* ОВ3b связана с регенерацией НАДФ<sup>+</sup>.

В отличие от малик-фермента *Ms. trichosporium* ОВ3b, фермент *M. alcaliphilum* 20Z катализирует необратимое НАДФ<sup>+</sup>-зависимое декарбоксилирование малата до пирувата. Малик-фермент *M. alcaliphilum* 20Z является тетрамером (4x65 кДа) с удельной активностью 32 Е/мг белка. Значение Km для малата составило 5,52 мМ, для НАДФ<sup>+</sup> - 57 мкМ. Малик-фермент является Mg<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup>-зависимым, однако ионы K<sup>+</sup> не активировали фермент, а ионы NH<sub>4</sub><sup>+</sup> снижали его активность на 50%. Полученный мутант *M. alcaliphilum* с инактивированным малик-ферментом не имел физиологических отличий от дикого типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-04- 00771).

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ СПОРТИВНЫХ ЛОШАДЕЙ ПОСЛЕ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК ПРИ СКАРМЛИВАНИИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ MARSTAL TURNIER

**Рябова Е.И.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Курилова Н.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*riabchika@mail.ru*

Успех и результативность выступлений в спортивном коневодстве, здоровье и срок жизни лошади в спорте определяется рядом факторов, основными из которых являются – тренинг и полноценное кормление с учетом выполняемой лошадью работы и ее интенсивности. Полноценность и сбалансированность рационов в соответствии с детализированными нормами регулируются балансирующими кормовыми добавками.

Целью данной работы стало изучение изменений показателей восстановления организма лошадей после интенсивных нагрузок при использовании кормовой добавки TURNIER (Marstal, ФРГ). Объектом исследования служили меринки в возрасте 9-10 лет со средней живой массой 460 кг, занятые в тренировках по выездке на базе конноспортивного комплекса "Белая Дача". Животные были разделены на 2 группы по принципу аналогов (n=6): контрольная группа - потребляла основной сеной рацион (ОР: сено - 10 кг, морковь - 1 кг, отруби пшеничные - 1 кг, овёс плющенный - 6 кг); опытная группа - сеной рацион при полной замене овса в ОР немецкими мюсли TURNIER Marstal. Условия содержания и тренировок были идентичными.

Для сравнительной оценки утомляемости и восстановления лошадей после тренировки через 60 дней после начала эксперимента до и через 30 минут после тренинга проводили измерение частоты дыхательных движений (ЧДД), частоты сердечных сокращений (ЧСС), а также уровня глюкозы, пирувата и лактата в крови.

ЧСС и ЧДД у лошадей исследуемых групп соответствовала нормативным, но повышалась в сравнении с исследованиями до нагрузки в опытной группе - на 27% и 89%, а в контрольной - на 29% и 147%, соответственно. Уровень пирувата в крови лошадей через 30 минут после тренировки увеличивался контрольной группе на 33%, тогда как в опытной - на 45%, концентрация лактата более резко (на 252%) возрастала в контрольной группе, в опытной - увеличение было на 198%. Концентрация глюкозы в крови животных через 30 минут после тренинга снижалась, при этом, достоверное снижение (на 9%) до уровня ниже физиологической нормы (3,75±0,22 ммоль/л) отмечалось только для контрольной группы, что свидетельствует о более выраженных адаптационных возможностях животных при скармливании им мюсли TURNIER Marstal.



Т.о., включение в рацион мюсли TURNIER Marstal более полно позволяет обеспечить потребности лошадей, занятых тренировками, в биологически активных веществах, что благоприятно сказывается на протекании метаболических процессов и способствует более быстрому восстановлению организма животных после тренинга.

## **ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА НА КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПАЗЫ**

**Савина А.А.<sup>1</sup>, Абрамова О.В.<sup>1</sup>, Зайцев С.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*kirablackfire@mail.ru*

Некоторые биополимеры, такие как полилизин и хитозан находят свое применение в качестве биологически-активных добавок, в том числе направленных на снижение избыточной массы тела. Несмотря на многочисленные работы по свойствам отдельных компонентов, влияние поликатионов на панкреатическую липазу в литературе описано не достаточно и активно изучается нами. Интересно, что поликатионное окружение способно как активировать, так и ингибировать работу ферментов в зависимости от соотношения концентраций компонентов.

Данная работа посвящена изучению влияния поликатиона хитозана (ММ 40 000 Да, СД 96%, Sigma) на каталитическую активность свиной панкреатической липазы (ПСЛ, ММ 50 000, Sigma). ПСЛ и субстрат (триацетин) растворяли в 5 мл заранее приготовленной смеси равных объемов растворов CaCl<sub>2</sub> (0,05 М) и NaCl (0,05 М). Иммунизация ПСЛ на хитозан проводилась методом физической адсорбции исходя из молярного соотношения компонентов 100:1, 10:1, 5:1, 2:1. Каталитическая активность ПСЛ определялась методом потенциометрического титрования при рН 7, Т 40°С.

Исследование показало, что средняя активность почти всех комплексов ПСЛ-хитозан ниже средней активности чистой ПСЛ, что характерно при формировании полиэлектролитных комплексов из разных компонентов. При этом комплекс ПСЛ-хитозан медленнее теряет активность в течение времени, так в течение часа потеря активности чистого фермента составляет 38%, а комплексы ПСЛ-хитозан (2:1) не меняют своей активности в течение того же времени.

Помимо этого, полученные ПСЛ-хитозан комплексы и индивидуальная ПСЛ (для сравнения) были исследованы на стабильность при хранении в форме раствора при +4°С в течение 28 дней. Через 14 дней ПСЛ снижает активность на 46%, а ПСЛ-хитозан на 49%, через 28 дней активность ПСЛ падает на 75%, а ПСЛ-хитозана на 66%. Т.о., со временем динамика снижения ферментативной активности ПСЛ-хитозан комплексов становится значительно ниже, чем для индивидуальной ПСЛ, что важно для медицинского и биотехнологического применения.

Высокомолекулярный хитозан существенно понижает активность ПСЛ, но стабилизирует активность фермента со временем. В настоящее время ведутся работы по подбору условий для сохранения ферментативной активности ПСЛ-хитозан комплексов в первые дни (на начальных этапах экспериментов).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИофи\_м (грант 15-29-01193).

## **АНАЛИЗ БЕЛКОВ И БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА**

**Скрипкин С.С.<sup>1</sup>, Буркова Е.Е.<sup>2</sup>, Невинский Г.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*skripkin.stan@gmail.com*

Многочисленные биологические функции плаценты осуществляются различными олигомерными структурами и комплексами. Активность белковых комплексов может значительно отличаться от активности отдельных белков.

Ранее был выделен высокостабильный растворимый белковый комплекс плаценты человека, с молекулярной массой, достигающей 1000 кДа. Установлено, что в состав комплекса входят человеческий сывороточный альбумин, трансферрин, IgG, аннексин и другие белки. Данный комплекс проявлял ДНК-гидролизующую и каталазную активности.



Целью данной работы является исследование белков и белковых комплексов плаценты человека, изучение их состава и свойств различными методами.

В работе использовали плаценты 10 здоровых женщин после нормальных физиологических родов. Белки экстракта плаценты разделяли гель-фильтрацией на колонке с сорбентом Sepharose 4В. Во всех случаях наблюдали два белковых пика.

МТТ-тест полученных фракций показал, что некоторые фракции второго пика гель-фильтрации экстракта плаценты человека ингибируют пролиферацию клеток как раковой линии MCF-7, так и нормальной WI-38.

Проточной цитофлюориметрией с обработкой Annexin V и пропидий йодидом было установлено, что цитотоксически активные фракции плацент человека вызывают гибель клеток по механизму апоптоза.

При помощи SDS электрофореза в полиакриламидном геле определены молекулярные массы белков цитотоксичных фракций плаценты человека. В составе фракций мажорными являются белки с молекулярными массами в 64,7, 51,2, 24,8 и 14,8 кДа, минорными – 179,4, 44 и 33,1 кДа.

Далее будут идентифицированы белки цитотоксичных фракций с помощью двумерного электрофореза, вестерн-блота и MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Изучение белков и белковых комплексов плаценты человека позволит глубже понять функциональные особенности некоторых белков, а также механизмы функционирования плаценты.

Работа поддержана проектом № VI.62.1.5. Программы ФНИ СО РАН VI.62.1 (0309-2018-0003) и грантом РФФИ № 16-04-00609.

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ НАРАБОТКИ ДВУХДОМЕННЫХ ЛАККАЗ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

**Трубицина Л.И.<sup>1</sup>, Трубицин И.В.<sup>1</sup>, Лисов А.В.<sup>1</sup>, Леонтьевский А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушино, Россия

*lyubov\_yurevich@mail.ru*

Двухдоменные (2д) лакказы, широко распространённые у бактерий, имеют потенциал применения в текстильной промышленности, благодаря способности окислять синтетические красители различной химической природы. На данный момент 2д лакказы получают, преимущественно, путём экспрессии под контролем T7-промотора в гетерологичной системе (в штаммах *Escherichia coli*). При этом максимальный выход 2д фермента в настоящее время составляет 40-50 мг с 1л среды. Целью данной работы стала оптимизация условий для повышенной продукции 2д лакказ в гетерологичной системе экспрессии.

Оптимизация условий наработки лакказ отработывалась на трёх 2д лакказах, полученных и ранее охарактеризованных нами. Это лакказы из *Streptomyces viridochromogenes* VKM Ac-629, *S. griseoflavus* VKM Ac-993 и *S. anulatus* VKM Ac-728. В рамках данного эксперимента было установлено, что оптимальной температурой для продукции лакказ было 20°C. При 37°C лакказы агрегировали, активность в надосадке была незначительной. Известно, что для оптимальной активности 2д лакказ необходимо наличие ионов меди. Поэтому в среду культивирования вместе с внесением индуктора необходимо вносить ионы меди. Оптимальной концентрацией ионом меди являлось 0,5 мМ (ранее известные литературные данные), индуктора – 0,1 мМ. При более высокой концентрации индуктора (1 мМ) некоторые лакказы склонны к агрегированию. Известно о том, что в микроаэробных условиях ионы меди эффективно проникают внутрь клеток *E. coli*, и при создании микроаэробных условий в процессе продукции лакказы фермент полностью насыщается медью и обладает максимальной удельной активностью. Однако большинство известных примеров по продукции 2д лакказы проводилось без создания микроаэробных условий, и, как следствие, ферменты получались недонасыщенными медью.

Учитывая все факторы, нами были предложены следующие условия для получения 2д лакказ: рост культуры до оптической плотности 1,0 при 600 нм; внесение 0,1 мМ ИПТГ и 0,5 мМ CuSO<sub>4</sub>, культивирование при 20°C и 100 rpm 19 ч; дальнейшая индукция при комнатной температуре без перемешивания 24 ч. Выход трёх 2д лакказ с использованием данной методики



составил: Ас-629 – 130-170 мг, Ас-728 – 150-190 мг, Ас-993 – 60- 110 мг с 1 л среды. Данный выход является самым высоким выходом 2д лакказ, экспрессируемых гетерологично в *E. coli*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34- 00566.

## **ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА НА ЭКСПРЕССИЮ БЕКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP/HSC70 В КЛЕТКАХ ХОЛОДНОВОДНЫХ МОРСКИХ ГУБОК HALICHONDRIA PANICEA**

**Финошин А.Д.<sup>1</sup>, Кравчук О.И.<sup>1</sup>, Люпина Ю.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ИБР им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*alexcolton@yandex.ru*

Микробное сообщество клеток губок может оказывать влияние их протеом и вносить вклад в молекулярные механизмы адаптации. В данной работе была исследована микробиота холодноводной морской губки *Halichondria panicea*, обитающей в Белом море, и её влияние на экспрессию белков теплового шока HSP/HSC70. Были выделены два типа клеток в зависимости от принадлежности к цветовым морфам: тип 1 клеток - желтая окраска; тип 2 – белая окраска. Для выяснения принадлежности симбионтов из клеток выделяли ДНК с помощью TRI Reagent (MRC). На ДНК проводили ПЦР с праймерами к 16S рРНК: 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') и 519 rev (5' ATTACCGCGGCGGCTGG 3'). Отсеквенированные клоны анализировали с помощью BLAST и сравнивали с последовательностями в нуклеотидной базе данных GenBank. В клетках обоих типов также оценивали экспрессию белков теплового шока методом Вестерн блоттинга. Установлено, что симбионтный состав двух типов клеток различен. У типа 1 клеток преобладали бактерии рода *Pseudoaltermonas*, обнаруженные в 58,3% всех исследованных клонов. У клеток 2 типа число 8,3% исследованных клонов содержали бактерии рода *Pseudoaltermonas*. Между двумя типами клеток не было обнаружено статистически значимых различий по содержанию бактерий, выявленных в небольших количествах (не более 10% клонов): *Flavobacterium*, *Lacinutrix*, *Olleya*, *Geobacillus*, *Colwellia* и бактериальный эндосимбионт *Osedax mucosifloris*. Известно, что бактерии рода *Pseudoaltermonas* продуцируют широкий спектр биологически активных веществ и обладают агаразной активностью. При культивировании двух разных типов клеток *H. panicea* в 0,8% агарозе, приготовленной на стерильной морской воде при 4°C было обнаружено, что клетки 1 типа показали повышенную способность к росту и агрегации в агарозе, чем клетки типа 2. Клетки 1 типа обладали большим уровнем экспрессии белков теплового шока HSP/HSC70 по сравнению с клетками 2 типа.

Таким образом, нами были выявлены биохимические особенности у двух типов клеток *H. panicea*, влияющие на их адаптивную пластичность, которая связана с различием в микробном сообществе и экспрессией белков теплового шока HSP/HSC70.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 16-04- 00454.

## **РЕГУЛЯЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ СУПЕРОКСИД АНИОНА ПИРИДИНОВЫМИ НУКЛЕОТИДАМИ В ПЕРМЕАБИЛИЗОВАННЫХ МИТОХОНДРИЯХ**

**Харечкина Е.С.<sup>1</sup>, Никифорова А.Б.<sup>1</sup>, Круглов А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*katya.kypri@gmail.com*

Известно, что пермеабиллизация внутренней мембраны митохондрий при индукции неспецифической  $Ca^{2+}$ -зависимой митохондриальной поры (permeability transition pore, РТР) стимулирует продукцию активных форм кислорода, в частности, супероксид аниона (СА). Также, в патологических условиях, например, ишемии-реперфузии, или в физиологических, при транзитном открывании РТР, наблюдаются так называемые «супероксидные вспышки», механизмы, возникновения которых не известны. Предполагается, что в основе их могут лежать молекулярные перестройки или повреждения дыхательных комплексов I, II и III, усиление работы дегидрогеназ из-за повышения уровня  $Ca^{2+}$  в матриксе, истощение антиоксидантной системы из-за выхода глутатиона при индукции РТР. Настоящая работа посвящена исследованию данного вопроса.



В работе были использованы митохондрии печени крыс. Их пермеабиллизацию вызывали с помощью пороформирующего белка аламетицина и добавлением хлорида кальция. Для регистрации СА использовали высокочувствительный хемилюминесцентный зонд MCLA (3,7-dihydro-2-methyl-6-(4-methoxyphenyl)imidazol[1,2-a]pyrazine-3-one).

Было обнаружено, что NADPH и NADH в низких концентрациях (до 50 мкМ) вызывали быструю и мощную продукцию СА пермеабиллизированными митохондриями. Увеличение концентрации нуклеотидов отодвигало начало генерации СА. Уровень СА при добавлении NADPH был выше, чем при добавлении NADH. Взрыв продукции СА происходил после окисления значительной части нуклеотидов (при сильном сдвиге их редокс-потенциала в область более положительных значений). Ингибитор дыхательного комплекса I ротенон сильно замедлял окисление NADH и тормозил начало активации СА, но слабо влиял на эти параметры в присутствии NADPH. В интактных митохондриях уровень СА при добавлении различных концентраций NADPH и NADH был ниже в 15-20 раз по сравнению с пермеабиллизированными органеллами.

Таким образом, показано, что цитозольный NADPH и NADPH-оксидоредуктаза(ы) митохондриального матрикса могут играть главную роль в возникновении всплеск СА при открывании РТР в условиях, близких к патофизиологическим. При этом всплеск СА происходит при окислении значительной части NADPH и NADH за счет работы внутренних редокс-систем.

Работа поддержана грантом РФФ № 17-75-10122.

## **АКТИВНОСТЬ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ГЛУБИНЫ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ**

**Хизриева С.И.<sup>1</sup>, Арсланова Р.М.<sup>1</sup>, Шапиева М.Ш.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*saimat140992@mail.ru*

В последние годы искусственная гипотермия все чаще применяется для защиты тканей от ишемических и реперфузионных повреждений, при операциях на сердце и мозг. В то же время, гипотермия у гомеотермного животного может провоцировать развитие окислительного стресса и генерацию активных форм кислорода. Поскольку основным источником активных форм кислорода являются митохондрии, исследование эффектов гипотермии на структурно-функциональное состояние этих органелл представляет несомненный интерес.

Исследование активности и термодинамических характеристик сукцинатдегидрогеназы (СДГ) - ключевого метаболического фермента митохондрий, ассоциированного с их внутренней мембраной, может стать важным шагом в раскрытии молекулярных механизмов функционирования митохондрий при низких температурах тела гомеотермных животных.

Исследование показало, что снижение в течение 30 мин температуры тела крыс до 30°C (кратковременная умеренная гипотермия) способствует повышению активности СДГ на 31,3%. При этом, пролонгирование умеренной гипотермии до 3 часов приводит к существенному снижению активности фермента, как относительно кратковременной гипотермии (на 46,3%), так и относительно контроля (на 28,5%). Интересно то, что снижение температуры тела крыс в течении 1 часа до 20°C не оказывает заметного эффекта на скорость катализа СДГ.

Исследование температурной зависимости СДГ мозга крыс, находящихся в различных физиологических состояниях позволило выявить общую закономерность: во всех случаях в координатах Аррениуса она аппроксимирована двумя прямыми, пересекающимися в точке излома при определенной температуре ( $T_t$ ). Для контрольных крыс излом на графике Аррениуса наблюдается при 17°C. Кратковременная умеренная гипотермия способствует смещению  $T_t$  в область более низких температур (15°C). При этом эффективные энергии активации снижаются на 24% (выше  $T_t$ ) и 38% (ниже  $T_t$ ). Дальнейшее пролонгирование гипотермического состояния не оказывает статистически значимого эффекта на значение  $T_t$ , однако, при этом энергии активации СДГ увеличиваются на 30,6% и 44,4%. Снижение температуры тела до 20°C способствует незначительному повышению энергии активации, при этом позиция  $T_t$  остается на уровне 15°C. Обнаруженные изменения активности и термодинамических параметров СДГ мозга крыс при различных гипотермических состояниях могут быть либо связаны с изменениями фазового состояния липидной матрицы, к которой прикреплен фермент, либо с модификациями структуры



самого фермента. Возможно, что ключевую роль в этих процессах играют активные формы кислорода.

## **РОЛЬ ЦИТОХРОМА P450 В БИОТРАНСФОРМАЦИИ КОДЕИНА**

**Цыбина В.И.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*vasilisa9667.tzybina@mail.ru*

Цитохром P450 — суперсемейство ферментов, наибольшая концентрация которых обнаруживается в эндоплазматическом ретикулуме (микросомах) гепатоцитов, играет основную роль в биотрансформации ксенобиотиков и катализирует 70-80% реакций, протекающих на всех стадиях лекарственного метаболизма. Изоферменты цитохрома P450 широко распространены в живых организмах и отличны друг от друга субстратной специфичностью и разнообразием катализируемых ими реакций. Семейства CYP1, CYP2, CYP3 и CYP4 у людей в первую очередь участвуют в метаболизме лекарственных препаратов и др. ксенобиотиков. При этом наиболее распространённой изоформой является CYP3A4, составляя в печени около 30% от общего количества изоферментов P450, CYP3A4 отвечает за метаболическое превращение более 50 лекарственных соединений. Его экспрессия индуцируется глюкокортикоидами, токоферолом и некоторыми лекарственными препаратами (зверобой, дексаметазон, карбамазепин, рифампин, сульфинпиразон). В свою очередь, кетоконазол, итраконазол, метронидазол, вориконазол (азоловые противогрибковые средства), кларитромицин, средства для лечения ВИЧ-инфекции (в т.ч. атазанавир, сульфат индинавира, нелфинавир, ритонавир, саквинавир) являются ингибиторами CYP3A4.

Субстратами CYP3A4 являются различные антибиотики (азитромицин, доксорубин), нестероидные противовоспалительные препараты (диклофенак), гормоны (эритромицин, кортизон, гестоден), аторвастатин, а также кодеин. Кодеин в виде кодеина фосфата — анальгетик, применяемый как противокашлевое и антидиарейное лекарственное средство центрального действия. Кодеин содержится и в др. лекарственных препаратах, а также в американском питьевом напитке Purple Drunk.

Кодеин метаболизируется в печени путем O- и N-деметилирования с образованием норкодеина и морфина при дополнительном участии изофермента CYP2D6: CYP3A4 катализирует образование норкодеина, CYP2D6 — отщепление метильной группы от кодеина и его превращение в морфин (10%); после чего УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT2B7) конъюгирует кодеин, норкодеин и морфин в соответствующие 3- и 6- глюкурониды. Период полураспада составляет 2,5-4 ч. Кодеин и его метаболиты экскретируются почками (5-15% — в неизменном виде, 10% — в виде морфина и его метаболитов, 75-85% — в виде конъюгатов с глюкуроновой кислотой) и с жёлчью.

Т.о., биотрансформация кодеина возможна при наличии CYP3A4 и CYP2D6 в свободном состоянии, что необходимо учитывать при одновременном применении других активных препаратов, которые могут составить конкуренцию за один участок связывания на CYP3A4 (или CYP2D6), что снизит скорость метаболизма одного из них.

## **ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ВИТАМИНА С НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МЕМБРАНАХ СИНАПТОСОМ ИЗ МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ**

**Чалабов Ш.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*biowulf05@gmail.com*

Известно, что гипотермические состояния млекопитающих сопровождаются интенсификацией свободнорадикальных процессов в тканях. В нашей лаборатории на гомогенатах больших полушарий головного мозга крыс было показано, что содержание малонового диальдегида (МДА) — одного из продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), возрастает на начальном этапе снижения температуры тела (33-35°C), значительно увеличивается после умеренной гипотермии (30°C) и снижается до контрольного уровня после глубокой гипотермии



(20°C). Как изменяется интенсивность процессов ПОЛ на уровне синаптических окончаний нейронов мозга при гипотермии не известно.

Целью данной работы было исследование влияния кратковременной умеренной гипотермии на интенсивность ПОЛ в синапсосах из коры мозга, а также возможность коррекции этих процессов витамином С.

Работы выполнены на самцах крыс. Витамин аскорбиновую кислоту вводили внутривентрикулярно ежедневно в течение 10 дней в дозе 100 мг на кг веса тела. Температуру тела крыс снижали до 30°C в течение 30 мин путем наружного охлаждения. Содержание МДА в мембранах синапсосом определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой.

Полученные нами данные показали, что кратковременная умеренная гипотермия приводит к увеличению исходного уровня МДА в мембранах синапсосом на 117% относительно контроля. Эти данные свидетельствуют об интенсификации процессов ПОЛ в мембранах синапсосом. В пробах, полученных из мозга животных с пониженной температурой тела, существенно возрастает также аскорбат-зависимый ПОЛ (рост МДА 31%), что свидетельствует об увеличении доступности жирнокислотных радикалов липидов для оксидантов. Курсовое введение витамина С приводит к снижению интенсивности процессов ПОЛ в синапсосах. На фоне аскорбиновой кислоты при гипотермии снижается содержание МДА в мембранах синапсосом не только относительно гипотермии, но также относительно контроля. Введение аскорбиновой кислоты предотвращает также интенсификацию аскорбат-зависимого ПОЛ.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что гипотермия стимулирует процессы ПОЛ в синапсосах, а введение витамина С предотвращает развитие окислительного стресса, оказывая протекторный эффект.

## **ЛИПОФУСЦИН МИТОХОНДРИЙ МОЗГА МОЛОДЫХ И УМЕРЕННО СТАРЫХ КРЫС**

**Чаплыгина А.В.<sup>1</sup>, Векшин Н.Л.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*shadowhao@yandex.ru*

Одним из маркеров старения принято считать накопление «внутриклеточного мусора» в виде гранул липофусцина, количество которого увеличивается не только при старении как таковом, но также при различных патологиях (нейрональный липофусциноз, паркинсонизм). При недостаточной активности лизосом и протеаз возникает чрезмерное накопление липофусцина, при этом деградации в липофусциновые гранулы наиболее подвержены митохондрии, которые с образованием множества межбелковых и липид-белковых сшивок деградируют в митолипофусцин.

Целью данной работы явилось сравнение уровня флуоресцирующего липофусцина и нефлуоресцирующих белковых агрегатов в митохондриях мозга молодых и умеренно старых крыс.

Исследования выполнены на митохондриях мозга 20-ти крыс линии *Wistar* разных возрастов: 3-4 месяца и 1,3-1,5 лет. Митохондриальную фракцию мозга выделяли стандартным методом, но при этом была предложена методика очистки митохондриальной суспензии мозга от синапсосом при помощи фильтрации через капроновые миллиметровые фильтры диаметром 1 мкм. Количественные цифры по содержанию липофусцина получали в условиях разрушения агрегатов SDS.

Одним из важных свойств митолипофусцина является его флуоресценция в районе 460 нм при возбуждении в ближней УФ-области при 360 нм. У умеренно старых крыс обнаруживается существенно больше липофусцина (на 25% больше, чем у молодых), однако, не многократно, как можно было бы ожидать, учитывая ранние опыты со сравнением уровня липофусцина митохондрий и гомогенатов других органов крыс.

Поскольку для организма поддержание работоспособности мозга носит первостепенный характер, можно предположить наличие в нем специализированных механизмов защиты. Интересно, что из проведенных нами модельных исследований по нагреву гомогенатов органов именно мозг обладал наибольшей способностью к образованию липофусцина.

Дополнительно нами проводилось измерение нефлуоресцирующих ковалентных сшивок, определяемых по изменению светорассеяния при 700 нм. У митохондрий умеренно старой крысы



имеется увеличенное светорассеяние, не устраняемое детергентом (на 15% больше). Это означает, что при старении образуется много прочных межбелковых сшивок, причиной которых может являться денатурация белков, что подтверждается длинноволновым сдвигом триптофановой флуоресценции.

Таким образом, полученные данные показывают наличие в мозге механизмов защиты от чрезмерного накопления липофусцина. При этом наблюдается значительное увеличение нефлуоресцирующих белковых агрегатов.

## **НОРАДРЕНАЛИН ПЕРЕКЛЮЧАЕТ МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ/СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ФЕНОТИП**

**Чечехин В.И.<sup>1</sup>, Иванова А.М.<sup>1</sup>, Тюрин-Кузьмин П.А.<sup>1</sup>, Калинина Н.И.<sup>1</sup>, Нимирицкий П.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва,  
Россия

*v-chech@mail.ru*

Воспаление – патологический процесс, развивающийся в ответ на местное действие патогенного фактора, направленный на уничтожение патогенного агента и регенерацию ткани. Важными участниками воспаления и регенерации являются мезенхимные стволовые клетки (МСК), которые входят в состав большинства тканей организма. МСК способны дифференцироваться в несколько типов клеток, принимая участие в регенерации повреждения. Второй важной функцией МСК регуляции воспаления. МСК влияют на активность клеток иммунной системы путем секреции цитокинов, оказывая противовоспалительное действие. Сами МСК, в свою очередь, подвержены строгой нейро-гуморальной регуляции. Одним из ключевых регуляторов этих клеток является норадреналин, который влияет на секреторную активность и дифференцировку МСК. Ранее мы показали уникальный феномен переключения внутриклеточной сигнализации, активируемой адренорецепторами: норадреналин, стимулируя бета-адренорецепторы в МСК, вызывает гетерологическую сенситизацию альфа1А-адренорецепторов.

В данной работе мы изучали влияние норадреналина на секреторную активность МСК, связанную с регуляцией воспаления. С помощью методики NanoString мы проанализировали, как изменяется профиль экспрессии более чем 700 белков, ассоциированных с регуляцией иммунных клеток. Используя PanCancer Immune Profiling Panel, мы показали, что при стимуляции МСК норадреналином происходит увеличение уровня экспрессии РНК целого ряда провоспалительных цитокинов, их рецепторов и участников сигнальных каскадов, активируемых этими рецепторами, и снижение уровня экспрессии противовоспалительных молекул. Изменение уровня экспрессии 17 провоспалительных цитокинов было дополнительно проверено на уровне белка при помощи прибора BioRad BioPlex. Мы показали, что при действии норадреналина повышается секреция провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, G-CSF, IFN-G и MCP-1. При повторном воздействии норадреналина, существенного изменения экспрессии цитокинов не происходило. Это может свидетельствовать о том, что провоспалительный фенотип МСК приобретают вследствие активации бета-, а не альфа1-адренорецепторов.

Таким образом, мы установили, что воздействие норадреналина на МСК приводит к повышению секреции провоспалительных цитокинов. МСК переключаются с противовоспалительного на провоспалительный фенотип. Работа проводилась при поддержке Грантов Президента России МК-3167.2017.7 и РФФ 14-15-00439.





## ИЗМЕНЕНИЕ ПУЛА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ

**Чумаченко М.С.<sup>1</sup>, Корик Е.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

*chumachenkomaria19@gmail.com*

Аллергический контактный дерматит (АКД) является одним из самых распространенных среди воспалительных заболеваний кожи. Литературные данные последних лет свидетельствуют о значимости метаболического профилирования, активно используемого в качестве принципиально нового диагностического инструмента при дерматитах. Определение биохимических маркеров АКД позволяет диагностировать риск развития заболевания, степень его прогрессирования, а также ответ организма на клиническое вмешательство, что очень важно для правильной стратегии лечения.

Цель данной работы заключается в определении дифференциальных метаболомных профилей аминокислот плазмы крови у животных с экспериментальным аллергическим контактным дерматитом.

Аллергический контактный дерматит был индуцирован 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (1,5%). Носитель – смесь ацетон: оливковое масло (4:1). В эксперименте были использованы самцы крыс линии Wistar массой 280 – 300 г (n=7). Животные были разделены на 3 экспериментальные группы: – контрольная группа, контрольная группа с нанесением носителя, экспериментальная группа с индуцированным аллергическим контактным дерматитом. Материалом для исследования служила плазма крови, которая подвергалась депротенинизации 1М перхлорной кислотой, содержащей внутренний стандарт - норвалин. Определение концентрации свободных аминокислот проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией с о-фталевым альдегидом. Анализ данных проводился в программе Statistica 10,0. Для выявления наиболее информативных показателей, использовали пошаговый дискриминантный анализ.

Были идентифицированы 29 соединений и измерены их концентрации: аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, серин,  $\alpha$ -аминоадипиновая кислота, глутамин, гистидин, цистатионин, глицин, треонин, цитруллин, аргинин, ансерин, карнозин, аланин, таурин,  $\gamma$ -аминомасляная кислота, тирозин,  $\alpha$ -аминомасляная кислота, этаноламин, валин, метионин, 3-метилгистидин,  $\delta$ -аминовалериановая кислота, триптофан, фенилаланин, изолейцин, лейцин, орнитин, лизин.

Дискриминантный анализ пула исследованных соединений показал, что между контролем и группой с АКД имеется существенное различие. Величина лямбда Уилкса составляла 0,1950,  $p < 0,0001$ , что говорит о достаточно высокой дискриминации. В группе с нанесением носителя по отношению к контрольной группе не наблюдалось значимых изменений концентраций пула свободных аминокислот.

Уровни триптофана,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты, валина, цистатионина и лейцина вносили основной вклад в значения обеих канонических переменных (дискриминантных функций) и обладали наивысшими значениями F-константы Фишера среди всех исследованных соединений.

Полученные данные свидетельствуют, что развитие АКД может являться причиной значительного дисбаланса в пуле свободных аминокислот крови и их производных. Результаты представляют интерес для оценки степени метаболических нарушений, а также при выявлении метаболомных маркеров, которые могут быть использованы для изучения патогенеза АКД и разработки эффективных технологий лечения.



**ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕКСАРОТЕНА И N-АЦИЛДОФАМИНОВ ДЛЯ 2D И 3D КУЛЬТУР ГЛИОМ**  
**Шамшурова М.Г.<sup>1</sup>, Ашба А.М.<sup>2</sup>, Акимов М.Г.<sup>2</sup>, Акасов Р.А.<sup>2</sup>, Грецкая Н.М.<sup>2</sup>, Безуглов В.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биорганической химии РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

*mshamshuvarova@mail.ru*

Глиомы – наиболее опасные и неизлечимые опухоли головного мозга. Медиана выживаемости пациентов составляет 14,6 месяцев. С целью поиска нового препарата для химиотерапии мы обратили внимание на ряд веществ, цитотоксический эффект которых известен, но на клетках глиом изучен недостаточно. Среди них оказались вещества бексаротен (Vxг), N-арахидоноилдофамин (AA-DA) и N-докозагексаеноилдофамин (DHA-DA). Так как существуют данные о нежелательных эффектах бексаротена, целью экспериментов также было повышение его специфичности путем модификаций – в данной работе изучали цитотоксический эффект дофаминового (Vxг-DA) и нитроэтаноламинового (Vxг-NEA) производных бексаротена.

Эксперименты проводили на линиях глиом С6 и U-87MG на монослое клеток и на сфероидных клеточных структурах, имитирующих формирование раковой опухоли. Для образования таких сфероидов клетки в течение 72 часов инкубировали с 25 мкМ пептида сусло-RGDfK(TPP). Для изучения цитотоксического эффекта веществ на нормальных клетках организма эксперименты повторяли на линии фибробластов человека VJ-5tm.

Были получены значения полумлетальных доз (LC<sub>50</sub>) исследуемых веществ. Для Vxг LC<sub>50</sub> для С6 в экспериментах на сфероиде составило 147,7±3 мкМ, 150,2±1 для U-87MG, что превышало значения LC<sub>50</sub> для монослоя клеток С6 (121,9±2 мкМ) и U-87MG (141,0±3 мкМ). Аналогичные результаты получены для остальных веществ: LC<sub>50</sub> для сфероидов превышали LC<sub>50</sub> для монослоя для С6 в 1,2 – 6,6 раз и в 1,1 – 3,85 раз для U-87MG.

Было установлено, что для проявления цитотоксического эффекта Vxг-DA и Vxг-NEA требуются более низкие концентрации в сравнении с Vxг. LC<sub>50</sub> Vxг для сфероидов С6 превышало LC<sub>50</sub>, Vxг-DA (50,65±2 мкМ) и LC<sub>50</sub>, Vxг-NEA (40,28±2 мкМ), как и для сфероидов U-87MG (70,02±3 и 58,83±2 мкМ). Это указывает на более высокую эффективность производных бексаротена как антиопухолевых агентов. LC<sub>50</sub> AA-DA и DHA-DA также значительно ниже LC<sub>50</sub> Vxг – для AA-DA в 2,5 раза и в 2,2 раз (С6 и U-87MG соответственно), для DHA-DA – в 6,8 и 3,5 раз.

Наиболее безопасное вещество определяли путем сравнения LC<sub>50</sub> веществ для глиом с LC<sub>50</sub> для VJ-5tm. LC<sub>50</sub> для С6 и U-87MG наиболее превышает LC<sub>50</sub> для VJ-5tm у Vxг-NEA: в 1,9 раз (С6 – 71,09±3 мкМ против 40,28±2 мкМ; для U-87MG в 1,4 раз (LC<sub>50</sub> = 58,83±2 мкМ). Как наименее безопасный агент был выявлен DHA-DA с LC<sub>50</sub> = 43,11±4 мкМ (U-87MG) при LC<sub>50</sub> = 46,92±3 мкМ (VJ-5tm).

Таким образом, среди данных соединений Vxг-NEA является наиболее перспективным потенциальным химиотерапевтическим агентом против глиом.

**ФЕРРИТИН И ТРАНСФЕРРИН КАК БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХОЛЕЦИСТИТЕ**

**Шарипова М.Е.<sup>1</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*sharipkina.marin@mail.ru*

Одной из задач современной абдоминальной хирургии является поиск новых биомаркеров, позволяющих на ранних стадиях диагностировать, оценивать тяжесть и интенсивность воспалительного процесса, осуществлять контроль лечения и своевременно выявлять осложнения деструктивных изменений желчного пузыря. Такими маркерами могут служить сывороточные металлопротеины – ферритин (СФ) и трансферрин (СТ), относящиеся, соответственно, к позитивным и негативным реактантам острой фазы воспаления.



Объектом исследования служили 12 пациентов старше 50 лет с диагнозом острый холецистит, для которых консервативная терапия оказалась неэффективной и была выполнена холецистэктомия. Пациенты были распределены на 2 группы по принципу аналогов: I группа – мужчины; II группа – женщины. У всех пациентов при гистологическом исследовании были выявлены деструктивные изменения в желчном пузыре. Уровень СФ и СТ в обеих исследуемых группах измерялся трижды: перед операцией, на 2-3-е сутки и на 7-14-е сутки после холецистэктомии. Содержание СФ и СТ определяли методом иммуноферментного анализа на анализаторе Olympus 5800. Референтные значения СФ соответствуют: мужчины – 30-200 нг/мл, женщины – 12-110 нг/мл; СТ – в среднем 2,0-3,8 г/л с учетом, что уровень СТ у женщин на 10% выше чем у мужчин.

Результаты нашего исследования показали, что холецистит сопровождается повышенными значениями СФ (у мужчин –  $252 \pm 10$  нг/мл, у женщин –  $124 \pm 4$  нг/мл) и уровнем СТ в пределах  $3,7 \pm 0,7$  г/л – у мужчин и  $3,3 \pm 0,3$  г/л – у женщин. В раннем послеоперационном периоде уровень СФ повысился по сравнению с исходным в среднем на 10% и составил: у мужчин –  $274 \pm 14$  нг/мл, у женщин –  $150 \pm 21$  нг/мл, превысив референтные значения в среднем на 23%. Полученные результаты после холецистэктомии согласуются с имеющимися в литературе данными о повышении уровня СФ в результате операционной травмы. Уровень СТ при этом снизился в среднем на 14%. На 7-14 сутки после операции уровень СФ снизился в среднем на 17% до уровня  $235 \pm 28$  нг/мл – у мужчин и  $122 \pm 8$  нг/мл – у женщин, оставаясь, тем не менее, выше нормального. Уровень СТ на 7-14 сутки после операции в обеих исследуемых группах вновь поднялся, достигнув значений, предшествующих операции. Нужно отметить, что изменения уровня СТ на всем протяжении исследования происходили в пределах ошибки измерения. Полученные нами данные свидетельствуют, что динамика уровня СФ и СТ отражает направленность воспалительного процесса в контроле за лечением острого холецистита, при этом, в качестве наиболее информативного маркера, позволяющего прогнозировать течение данного заболевания, является СФ.

## ОЦЕНКА БАЗОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И УРОВНЯ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД РОДА *OMMATOGAMMARUS*, ОБИТАЮЩИХ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ГЛУБИН

Широкова Ю.А.<sup>1</sup>, Мадьярова Е.В.<sup>1,2</sup>, Лубяга Ю.А.<sup>1</sup>, Ржечицкий Я.А.<sup>1</sup>, Дмитриев И.А.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО НИИ биологии Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия;

<sup>2</sup>АНО Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

*yuliashirokova2501@gmail.com*

В ходе исследования проведена оценка активности ферментов антиоксидантной системы (АОС), таких как пероксидаза, глутатион S-трансфераза, каталаза и уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) - диеновые конъюгаты (ДК), триеновые конъюгаты (ТК) и основания Шиффа (ОШ) - у байкальских эндемичных амфипод из рода *Ommatogammarus*, обитающих в широком диапазоне глубин. Объектами исследования выбраны виды *O. flavus* и *O. albinus*, которые принадлежат к числу наиболее распространенных по всему Байкалу видов и являются эврибатными. Сбор материала проводили в диапазоне глубин 100-1000 м. Амфипод фиксировали сразу после пробоотбора в жидком азоте.

Для обоих видов не было выявлено статистически значимых отличий в активности ферментов АОС у особей, обитающих во всем диапазоне глубин. При сравнении видов с одной и той же глубины отмечено, что активность фермента каталазы у *O. albinus* с глубины 300 м статистически достоверно выше, чем у *O. flavus* с той же глубины.

Содержание продуктов ПОЛ оценивали в нейтральных липидах (НЛ) и фосфолипидах (ФЛ). Для вида *O. flavus* изменения содержания продуктов ПОЛ в НЛ и ФЛ с изменением исследуемых глубин не обнаружено. Для *O. albinus* были выявлены отличия между содержанием продуктов ПОЛ в обеих фракциях. Однако явной корреляции с глубиной не прослеживается.

При сравнении исследуемых амфипод с литоральным видом *Eulimnogammarus verrucosus* показано, что относительное содержание ДК в ФЛ, а также ТК и ОШ в обеих изученных фракциях (в НЛ и ФЛ) у литорального вида значительно выше, чем у глубоководных. Исключение



составили только ДК во фракции НЛ. Сниженное содержание продуктов ПОЛ (в особенности конечных продуктов - ОШ) у глубоководных амфипод может быть обусловлено как меньшей скоростью продукции активных форм кислорода при замедлении процессов энергетического обмена, так и наличием специфических адаптаций АОС у глубоководных организмов. В пользу последнего свидетельствуют данные о более высоком уровне активности каталазы у глубоководных видов по сравнению с литоральными.

Низкий уровень продуктов ПОЛ, наблюдаемый у глубоководных видов, в сравнении с литоральными также может свидетельствовать об общем снижении интенсивности метаболических процессов у глубоководной фауны, обитающей в условиях ограниченного количества пищи.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов РФ (17-14-01063), РФФИ (17-44-388067-р\_а), Гранта президента РФ МК-6804.2018.4, проекта Минобрнауки РФ 6.9654.2017/8.9, Фонда М. Прохорова, Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований «Озеро Байкал».

## **ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КРОВИ СУСЛИКОВ ПРИ ЗИМНЕЙ СПЯЧКЕ И ПРОБУЖДЕНИИ**

**Шихамирова З.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*7101986zainab@mail.ru*

Зимняя спячка – это закреплённая в ходе эволюции уникальная способность к минимализации жизненных функций, позволяющая ряду видов млекопитающих в течение многих месяцев переживать холод, бескормицу, сокращение светлого периода суток. Спячка мелких грызунов состоит из чередующихся периодов глубокого оцепенения и пробуждения, в ходе которого происходит резкое изменение метаболизма, что увеличивает риск генерации активных форм кислорода.

Одним из показателей окислительного стресса является интенсивность перекисного окисления липидов. Малоновый диальдегид (МДА) является вторичным продуктом перекисного окисления липидов. В связи с этим мы исследовали содержание МДА в эритроцитах крови сусликов при спячке и пробуждении при достижении температуры тела 10, 20, 25,30, 37°C. Контролем служили бодрствующие летом суслики.

Полученные нами данные показали, что в состоянии спячки уровень МДА в эритроцитах увеличивается на 18% по сравнению с контролем. На начальном этапе согревания (температура тела 10°C) животных приводит к снижению уровня МДА в эритроцитах на 20,4% по отношению к летнему контролю и 32,7% по отношению к спящему животному. При дальнейшем росте температуры тела уровень МДА увеличивается и достигает максимума при 25°C. Полное согревание животных приводит к снижению уровня МДА на 4,6% относительно летнего контроля.

Таким образом, спячка сопровождается интенсификацией окислительных процессов и наиболее интенсивно перекисное окисление липидов в эритроцитах наблюдается при 25°C. Это связано с увеличением частоты дыхания при пробуждении. Снижение уровня МДА при полном согревании связано с включением антиоксидантной системы.



## **СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ МОЛЕКУЛ ФИБРИНОГЕНА: ИХ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ И ВЛИЯНИЕ НА ПРЕВРАЩЕНИЕ В ФИБРИН**

**Юрина Л.В.<sup>1</sup>, Васильева А.Д.<sup>1</sup>, Идейкина М.И.<sup>1,2,3</sup>, Бугрова А.Е.<sup>1</sup>, Бычкова А.В.<sup>1</sup>,  
Подоплелова Н.А.<sup>4,5</sup>, Кононихин А.С.<sup>1,2,3</sup>, Николаев Е.Н.<sup>1,2,3,4</sup>, Пантелеев М.А.<sup>4,5</sup>, Розенфельд  
М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт энергетических проблем химической физики имени В.Л. Тальрозе РАН, Москва; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; <sup>4</sup>НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева), Москва, Россия; <sup>5</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия; АНО ВПО Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

*mourimotonari91@gmail.com*

Молекулы фибриногена чрезвычайно уязвимы для активных форм кислорода по сравнению с другими белками плазмы.

Набор экспериментальных данных, полученных с помощью электрофореза, аналитического центрифугирования, упругого и динамического светорассеяния, демонстрирует усиление способности фибриногена к самосборке «конец к концу» и образованию сшитых гомополимеров при окислении в присутствии FХШа.

Методом масс-спектрометрии, было обнаружено множество окислительных модификаций аминокислотных остатков, локализованных во всех трех полипептидных цепях фибриногена.  $\alpha$ C область продемонстрировала особенно высокую уязвимость к окислению. Данные масс-спектрометрии указывают на то, что структуры «а» hole и «А» knob оставались неокисленными; ни один из остатков, связывающих тромбин, а также аминокислотные остатки  $\gamma$ 275-309, участвующие в образовании D:D взаимодействия, также не были окислительно модифицированы. В то же время, остаток  $\gamma$ Tyr274, который находится в непосредственной близости от фрагмента  $\gamma$ 275-309, оказался окислен.

Методы конфокальной микроскопии и упругого светорассеяния выявили нарушения в структуре фибриновых сгустков, собранных из окисленных, обработанных тромбином молекул фибриногена.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60244 мол\_а\_дк и 18-04-01313\_а. Масс-спектрометрические данные получены при поддержке гранта Российского Научного фонда, № 16-14-00181.

## **ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ**

**Юсупова С.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

*yusupova.saida86@mail.ru*

Нарушение снабжения кислородом тканей мозга, наступающее при ишемическом повреждении мозга, вызывает усиленную генерацию активных форм кислорода (АФК). При окислительном стрессе АФК могут участвовать в окислительной модификации не только мембранных липидов, но и цитозольных и мембранных белков нервных клеток. В этой связи нами исследована интенсивность образования окислительной модификации липидов и белков мембран синаптических окончаний нейронов головного мозга крыс при ишемии и реперфузии.

Эксперименты проводили на самцах крыс Вистар массой 200-230 г. Ишемия головного мозга осуществлялась перевязкой обеих сонных артерий в течение 1 часа. Для создания реперфузионной модели ишемического повреждения у части животных после окклюзии сонных артерий моделировали реперфузию путем снятия лигатуры. Продолжительность реперфузии составила 1 час. В качестве контроля использовались ложнооперированные животные. Из коры мозга методом дифференциального центрифугирования выделяли синаптосомы и их мембраны. В синаптосомах определяли содержание малонового диальдегида (МДА), а в мембранах – содержание карбонильных групп белков.



Окклюзия сонных артерий в течение 1 ч приводит к повышению исходного содержания МДА в суспензии синаптосом на 20% относительно контроля. Аскорбат-индуцированный уровень МДА при ишемии также возрастает на 20%. В период реперфузии исходное содержание МДА в суспензии синаптосом снижается до контрольного уровня. Однако аскорбат-индуцированный уровень МДА при реперфузии возрастает на 78% относительно контроля. Это означает, что в период реперфузии мембранные липиды синаптосом становятся более доступными для радикалов кислорода, генерируемых *in vitro*.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что окклюзия сонных артерий приводит к значительному увеличению (на 128% относительно контроля) содержания карбонильных групп в мембранных белках. Однако при ишемии образование карбонильных групп в инкубируемых *in vitro* в среде Фентона пробах мембран синаптосом снижается на 42%, что возможно связано с окислением части доступных для АФК аминокислотных остатков белков *in vivo*. После реперфузии содержание карбониллов в белках снижается до уровня контроля.

Проведенное исследование позволяет заключить, что при ишемии/реперфузии липиды и белки мембран синаптосом подвергаются окислительной модификации, что может быть причиной нарушения функции многих важных белков нейронов и привести к их гибели в постишемическом периоде.



## СЕКЦИЯ «БИОМЕДИЦИНА И БИОФАРМАЦЕВТИКА»

### THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE PEPTIDES EXTRACTED FROM BOVINE COLOSTRUM

**Artykbaeva G.M.<sup>1</sup>, Sagdiev N.D.<sup>1</sup>, Yalalova I.R.<sup>1</sup>, Mamadjanov A.<sup>1</sup>, Saatov T.S.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Bioorganic chemistry, Academy of Sciences Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

[gulnoraar@rambler.ru](mailto:gulnoraar@rambler.ru)

Various modification peptides M-4, M-7, M-7H were extracted from bovine colostrum and their effects were studied on mouse immune status, hemopoiesis system and chicken embryo neurotrophic activity. Molecules extracted from bovine colostrums contain antigen information which educates, enhances, and helps maintain immune system balance. The molecules obtained from the spray dried filtrate of bovine colostrum present peptides with M.m.  $\leq 10,000$  D.

Significant increase of total spleen cell amount was observed in all the groups. Administration of M-4, M-7, M-7H modifications increased spleen nuclear contained cell number in 1,5-fold ( $216,1 \pm 10,8 \cdot 10^6$ ), 1,3-fold ( $187,2 \pm 9,4 \cdot 10^6$ ), 1,2-fold ( $172,8 \pm 8,7 \cdot 10^6$ ), respectively. Stimulating activity of M-4 was higher significantly than that of M-7H. Observed data suggest capability of studied drugs to increase immunological activity of organism and total spleen cell number in immunized mice. Tested peptides markedly increase thymus cell amount: 1,36- and 1,3-fold elevation was found for M-4 and M-7, respectively. Thus, these drugs except for M-7H enable to stimulate a process of proliferation in thymus. All tested peptides rise erythrocyte amount in peripheral blood: 1,24-, 1,18-, and 1,15- fold for M-4, M-7 and M-7H compared to control, respectively. All the samples have stimulating effect on hemopoiesis. M-4 and M-7 increase leukocyte number in 1,34- and 1,29-fold comparing control, respectively. Observed data suggest capability of M-4 and M-7 drugs to have stimulating effect on central and peripheral immunity and to increase erythrocyte and leukocyte amount in peripheral blood of immunized mice.

Bovine colostrum is known to have neurotrophic activity. We studied neurotrophic activity of tested peptides in cell culture of chicken embryo spinal ganglions. Growth of neuritis under M-7 administration was found in 4 of 5 balls on scale of Fenton.

Our data showed that small molecule peptides extracted from bovine colostrum possess to raise immunological activity, hemopoiesis in mice and neurotrophic activity in cell culture of spinal ganglions of chicken embryos.

### СРАВНЕНИЕ КИСЛОРОДЗАВИСИМОГО И КИСЛОРОДНЕЗАВИСИМОГО МЕТАБОЛИЗМА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В РЕАКЦИЯХ С НАНОЧАСТИЦАМИ МАГНЕТИТА И БАКТЕРИЯМИ

**Абарбанель Н.В.<sup>1,2</sup>, Разумкова Е.В.<sup>1,2</sup>, Силантьева А.Ю.<sup>2</sup>, Плесскова С.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Научно-образовательный центр «Физика твердотельных наноструктур» Нижний Новгород; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е.Алексеева, Нижний Новгород, Россия

[abarbanel.natash@mail.ru](mailto:abarbanel.natash@mail.ru)

Нейтрофилы как фагоцитирующие клетки играют значительную роль в поддержании гомеостаза организма. Процесс фагоцитоза обеспечивается кислородзависимыми (НАДФН-оксидаза, миелопероксидаза) и кислороднезависимыми механизмами (например, катионные белки), принимающими активное участие в инактивации инвазии различной природы. Цель работы – исследовать влияние наночастиц магнетита и бактерий на ферментативную систему нейтрофильных гранулоцитов (НГ).

Материалы и методы: активность НАДФН-оксидазы исследовалась в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте (Маянский и Пикуза (1993)). Рассчитывались показатели индекса стимуляции (ИС) и функционального резерва нейтрофилов (ФРН). Уровень катионных белков определялся в ЛКТ-тесте. Активность миелопероксидазы изучалась цитохимическим методом Грэхема-Кноллия. Обработка статистических результатов осуществлялась в программе ORIGIN 8.0



Под воздействием бактерий (грамположительные – *S aureus* 2879м и грамотрицательные – *E coli* 321) отмечен рост активности кислородзависимых ферментов нейтрофила, в то время как уровень катионных белков снизился. Полученный результат объясняется угнетением функциональных свойств клетки под влиянием бактерий. Данный факт подтверждается снижением показателей ИС и ФРН в НСТ-тесте.

Наночастицы магнетита (НЧМ) вызывают разобщение работы кислородзависимой системы нейтрофилов. НЧМ угнетают активность НАДФН-оксидазной системы клеток, в то время как активность миелопероксидазы возрастает. Обладая восстановительными свойствами, НЧМ вызывают гиперпродукцию активных форм кислорода, в том числе пероксида водорода – субстрата для миелопероксидазы. На катионные белки нейтрофилов НЧМ не оказывают влияния.

Таким образом, бактерии активируют кислородзависимый метаболизм, заставляя НГ работать на пределе своих возможностей, что сопровождается угнетением кислороднезависимого метаболизма. НЧМ разобщают работу НАДФН-оксидазной и миелопероксидазной систем, не влияя при этом на уровень катионных белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда, № проекта 16-14-10179.

### **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО ПРОИЗВОДНОГО ФУЛЛЕРЕНА С БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ ПО ДАННЫМ ЯМР С ИМПУЛЬСНЫМ ГРАДИЕНТОМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ**

**Авилова И.А.<sup>1</sup>, Солдатова Ю.В.<sup>1</sup>, Файнгольд И.И.<sup>1</sup>, Полетаева Д.А.<sup>1</sup>, Хакина Е.А.<sup>1</sup>,  
Красвая О.А.<sup>1,2</sup>, Котельников А.И.<sup>1</sup>, Котельникова Р.А.<sup>1</sup>, Трошин П.А.<sup>1,3</sup>, Волков В.И.<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Москва; <sup>2</sup>ФГБОУВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», Москва; ЗАНОО ВО Сколковский институт науки и технологий, Москва; <sup>4</sup>ФГБУН Научный центр РАН в Черноголовке, Черноголовка, Россия

[irkaavka@gmail.com](mailto:irkaavka@gmail.com)

В последние годы в качестве соединений, обладающих биологической активностью, особый интерес представляют водорастворимые производные фуллеренов (ВПФ). Установление молекулярных механизмов взаимодействия молекул ВПФ с клетками является важной задачей при разработке и создании биологически активных производных фуллеренов. Для решения данной задачи необходимо привлекать физические методы исследования структуры и динамики на молекулярном уровне. В этой связи особого внимания заслуживает метод ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП). Данный метод нашел широкое применение в исследовании гетерогенных систем, пористых сред и синтетических мембран. Метод ЯМР ИГМП позволяет получить непосредственную информацию о трансляционных перемещениях молекул и измерить парциальные коэффициенты самодиффузии и относительные доли молекул диффузانتов в гетерогенных системах. Важной особенностью данного метода является его неинвазивное воздействие на живые организмы, что позволяет применять его в исследовании биологических систем.

В настоящей работе методом ЯМР ИГМП было оценено взаимодействие молекул пентазамещенного производного фуллерена  $C_{60}[S(CH_2)_3SO_3Na]_5H$  с модельными биологическими мембранами, эритроцитами и «тенями» эритроцитов крови мышей. Наличие пяти анионных аддендов в молекуле  $C_{60}[S(CH_2)_3SO_3Na]_5H$  придает высокую растворимость данному соединению в водных растворах (>100 мг/мл).

В ходе работы были получены и проанализированы диффузионные затухания сигнала спинового эхо молекул ВПФ  $C_{60}[S(CH_2)_3SO_3Na]_5H$  в липосомах, эритроцитах и «тенях» эритроцитов. Были определены парциальные коэффициенты самодиффузии и относительные доли молекул ВПФ  $C_{60}[S(CH_2)_3SO_3Na]_5H$  в каждой системе. Оценено среднее время, характеризующее обмен молекул ВПФ  $C_{60}[S(CH_2)_3SO_3Na]_5H$  между мембраной эритроцитов и водным раствором, которое составило  $438 \pm 65$  мс.





## **ВЛИЯНИЕ КАРБЕНОКСОЛОНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ CA<sup>2+</sup>-ЗАВИСИМОЙ, CSA – ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ПОРЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

**Бабурин Ю. Л.<sup>1</sup>, Крестинина О. В.<sup>1</sup>, Одинокова И. В.<sup>1</sup> Азарашвили Т. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

[byul@rambler.ru](mailto:byul@rambler.ru)

Хроническое потребление алкоголя приводит к множественным поражениям печени, включая стеатоз и цирроз. Механизм действия хронического потребления этанола на функции печени остается неясным и является, поэтому, предметом интенсивных исследований и дебатов. Основной метаболизм этанола в организме происходит в печени. Хроническое потребление этанола ассоциировано также с увеличением уровня циркуляции эндотоксинов и провоспалительных цитокинов, воздействующих на печень. Повышение чувствительности гепатоцитов к внешнему стрессу, неизвестен, но полагают, что он включает нарушение митохондриальных функций и антистрессовых защитных механизмов, а также активацию проапоптотических сигнальных путей.

С другой стороны, алкоголь активирует глюкокортикоиды, которые усиливают действие алкоголя. Эффект глюкокортикоидов модулируется активностью дегидрогеназ. Алкоголь разрушает регуляцию глюкокортикоидов у грызунов и у человека. Карбеноксолон является неселективным ингибитором 11 $\beta$ -HSD и способен уменьшать потребление алкоголя. В связи с этим, были проведены сравнительные исследования по влиянию карбеноксолон на параметры функционирования mPTP в митохондриях, выделенных из печени контрольных и алкоголизованных крыс. Следует отметить, что ранее мы показали, что карбеноксолон индуцирует открытие неспецифической поры (mPTP) в митохондриях мозга и печени крыс. В рамках данной работы было обнаружено, что карбеноксолон значительно усиливал свое действие в митохондриях печени крыс с хронической интоксикацией. Ускорение открытия поры проявлялось не только в сокращении лаг-фазы (времени удержания ионов кальция в матриксе митохондрий), но и в уменьшении пороговой концентрации кальция, необходимой для открытия поры. Также было показано, что в митохондриях, выделенных из печени крыс, подвергавшихся хронической алкогольной интоксикации, высокоамплитудное циклоспорин-чувствительное набухание в присутствии карбеноксолон ускорялось более, чем в два раза по сравнению с соответствующим контролем.

Поскольку ранние изменения при алкоголизации связаны с митохондриями, то проницаемость мембран митохондрий может играть важную роль в этих процессах. Карбеноксолон влияет на способность транслокаторного белка связывать и переносить холестерин, а значит модулировать проницаемость мембран. Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что карбеноксолон вовлекается в развитие/модуляцию алкогольной толерантности и зависимости у крыс.

## **СОЗДАНИЕ И ТЕСТИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СЕНСОРОВ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

**Байрамова Э. М.<sup>1</sup>, Коваленко В. Р.<sup>2</sup>, Медведев С. П.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский государственный университет, Новосибирск; <sup>2</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

[bairamovaelvira@gmail.com](mailto:bairamovaelvira@gmail.com)

В обширную группу нейродегенеративных заболеваний объединяют болезни, причиной которых является избирательная гибель определенных типов нейронов центральной и периферической нервной системы. Патологические механизмы, ведущие к гибели нейронов разнообразны, и тесно связаны между собой. Среди них выделяется дисфункция эндоплазматического ретикулума (ЭПР), которая приводит к накоплению белков в люмене ЭПР, в том числе белков с нарушенным фолдингом. В таких условиях активируется система Unfolded Protein Response (UPR), функцией которой являются восстановление гомеостаза ЭПР и предотвращение гибели клетки. UPR осуществляется белками, заякоренными в мембране ЭПР, – PERK, IRE1 и ATF6. До сих пор до конца не выяснен, механизм связи генотипов пациентов,



страдающих нейродегенеративными заболеваниями, со степень выраженности дисфункции ЭПР и гибелью нейронов.

Целью данного исследования являлось создание и тестирование генетически-кодируемых сенсоров стресса ЭПР в клетках человека.

В ходе данной работы нами созданы плазмидные конструкции, которые экспрессируют молекулярные сенсоры стресса ЭПР. Действие одного из сенсоров основано на детектировании активации фермента IRE1, который вырезает 26-нуклеотидный интрон в мРНК *XBP1*, что приводит к сдвигу рамки считывания и экспрессии активной формы *XBP1* – мощного регулятора фолдинга белков. Мы создали конструкции, содержащие фрагмент гена *XBP1* с данным интроном, а также последовательность, кодирующую белок TagRFP или фермент люциферазу, таким образом, что при стрессе ЭПР интрон вырезается и наблюдается флуоресценция или детектируется активность люциферазы. Работа другого сенсора основана на мониторинге перемещения химерного белка EGFP-ATF6 в ядро клетки, в ответ на активацию UPR.

Динамика функционирования данных сенсоров была исследована после временной трансфекции клеток 293А. Для индукции стресса ЭПР были использованы брефелдин А, туникамицин и дитиотреитол. В результате исследования эффективность сенсорных систем была подтверждена.

## **ПРОТИВОАНЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА ПЕКТИНА С ЖЕЛЕЗОМ И КАЛЬЦИЕМ НА МОДЕЛИ ФЕНИЛГИДРАЗИНОВОЙ АНЕМИИ У КРЫС**

**Беляев Г.П.<sup>1</sup>, Выштакалюк А.Б.<sup>2</sup>, Минзанова С.Т.<sup>2</sup>, Порфирьев А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; <sup>2</sup>ФГБУН Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия

[gregoir4@gmail.com](mailto:gregoir4@gmail.com)

По данным ВОЗ на земном шаре 1.62 миллиарда человек подвержено различным видам анемии, что составляет 24.8% населения планеты. В настоящее время активно ведутся разработки новых лекарственных средств на основе растительного сырья. Одним из таких препаратов является инновационное противоанемическое средство – комплекс пектина с железом и кальцием (натрий-, кальций-, железо- полигалактуронат, или ПГ Na,Ca,Fe).

Целью нашей работы стало изучение гистологического строения селезёнки крыс при фенилгидразиновой анемии и после лечения ПГ Na,Ca,Fe в сравнении с широко используемым французским препаратом «Тотема». В исследовании использовались стандартные гистологические методы, окраска гематоксилин-эозином и по Перльсу. Микроскоп Nikon H550S с программным обеспечением NIS-Elements Basic Research, статистика в программе Past Ver 3.15.

В результате определения площади детекции гемосидерина в красной пульпе селезёнки крыс в процентах от общей площади среза выявлено, что в контрольной группе крыс, подвергшихся токсическому действию фенилгидразина, повысилась площадь гемосидерина по сравнению с интактным контролем (29.27±2.6% и 19.50±1.76% соответственно, при  $p < 0.05$ ), что обусловлено гемолизом эритроцитов и накоплением в тканях высвободившегося железа. Действие ПГ Na,Ca,Fe и противоанемического препарата «Тотема» аналогично и привело к снижению области детекции гемосидерина (20.19±2.18% и 21.44±1.64% соответственно) до уровня интактного контроля ( $p > 0.05$ ), что подтверждает эффективность данных средств. Выяснено, что ПГ Na,Ca,Fe с добавлением аскорбиновой кислоты не оказывает никакого эффекта (29.27±2.6%).

По соотношению площадей зон селезёнки крыс в процентах от общей площади среза показано, что площади красной пульпы, лимфоидного узелка и маргинальной зоны после введения ПГ Na,Ca,Fe (56.62±3.18%, 20.68±1.8%, 22.7±2.09%), ПГ Na,Ca,Fe в смеси с аскорбиновой кислотой (53.23±7.2%, 23.78±3.63%, 22.99±3.65%) и препарата «Тотема» (59.91±2.74%, 17.45±1.67%, 22.64±1.88%) не отличаются ( $p > 0.05$ ) от крыс контрольной группы (57.99±3.32%, 20.73±2.14%, 21.29±1.95%). По сравнению с интактным контролем (49.28±2.91%, 17.94±1.73%, 32.78±1.83%) существует достоверные различия ( $p < 0.05$ ) по площади маргинальной зоны в опытных группах, что может говорить об угнетении иммунной функции селезёнки. При лечении ПГ Na,Ca,Fe выявлена тенденция к уменьшению площади красной пульпы, что свидетельствует о восстановлении кроветворения.

Работа выполнена в рамках Госконтракта № 14.N08.12.1042.



## ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ПЕПТИДЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

**Волкова Л. В.<sup>1</sup>, Гришина Т. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГОУ ВПО Пермский национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

[tatyana\\_grishina\\_1990@mail.ru](mailto:tatyana_grishina_1990@mail.ru)

В течение многих лет поиск новых лекарственных средств, направленных на борьбу с бактериальными инфекциями, был сосредоточен главным образом на получении новых природных и синтетических антибиотиков – соединений сложного химического строения (Кокряков В.Н., 1999; Kang S.J. et al., 2012). В настоящее время существует немало инфекционно-воспалительных заболеваний бактериальной природы, которые вызывают слабопатогенные микроорганизмы с атипичными биологическими свойствами, обладающие множественной антибиотикоустойчивостью (Сипайлова О.Ю., 2013; Semple F. et al., 2012).

Лекарство рассматривается как один из важнейших регуляторов качества жизни. Поэтому высокая эффективность и безопасность являются необходимыми критериями качества препарата. С этой точки зрения традиционные подходы к созданию лекарственных средств путем, например, химического синтеза, почти исчерпаны. Однако согласно современным представлениям о качестве лекарств их адаптированности к человеческому организму наиболее предпочтительными средствами лечения являются естественные компоненты организма с известной биологической активностью (Бочков В.Н., 2004; Бриан Л.Е. 1984). Поэтому разработка способов получения и использование таких веществ в качестве субстанций будущих лекарственных средств является весьма привлекательным и обоснованным подходом к созданию новых препаратов (Овчинникова Т.В., 2011).

Как известно, лейкоциты под воздействием вирусной атаки синтезируют и выделяют в окружающую среду защитный белок – интерферон (Ершов Ф.И., 1980). Учитывая, что в процессе синтеза интерферона синтезируется и антибактериальный пептидный комплекс (Волкова и др., 2015), нами было выдвинуто предположение, что под воздействием физических агентов из лейкоцитарных клеток выделяются в окружающее пространство пептидные соединения, обладающие биологической активностью.

В связи с чем, мы провели ряд экспериментов по влиянию физических факторов на способность лейкоцитарных клеток синтезировать белковые соединения. Ранее нами было показано, что ультразвуковая обработка вирусиндуцированных лейкоцитов, отходов производства, позволяет получать пептидные соединения с антибактериальными свойствами. После проведения ультразвуковой обработки чистых лейкоцитов человека мы получили ряд образцов, обладающих антибактериальной и противовирусной активностью.

Таким образом, нами получена белковая субстанция, обладающая биологической активностью, которая в дальнейшем может служить основой для получения лекарственных препаратов, не вызывающих резистентности бактерий и обладающих низкой аллергенностью.

## КОМПОНЕНТЫ КОРЫ ДУБА КАК ИНГИБИТОРЫ СИСТЕМЫ «КВОРУМ СЕНСИНГА» У БАКТЕРИЙ

**Галаджиева А. А.<sup>1</sup>, Инчагова К. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства, Оренбург, Россия

[annatolmacheva56@gmail.com](mailto:annatolmacheva56@gmail.com)

В связи с возрастающим количеством инфекционных заболеваний, в борьбе с которыми традиционные методы уже не эффективны, становится привлекателен новый подход контроля бактериальных инфекций на основе ингибирования системы плотно-зависимой коммуникации бактерий - «кворум сенсинг» (quorum sensing; QS). При этом актуальны ингибиторы QS на основе продуктов растительного происхождения.

Целью настоящего исследования стал анализ компонентов экстракта коры дуба на способность ингибировать систему «кворум сенсинг» бактерий.

При его проведении анти-QS активность анализировалась у 5 химических соединений, идентифицированных в составе экстракта коры дуба, в отношении 3 мутантных



биолюминесцирующих штаммов *Escherichia coli* JLD271: pAL101, pAL103, pAL105, которые позволяют отслеживать влияние растительных компонентов на биологическую активность систем *rhlI-rhlR* и *lasI-lasR* *Pseudomonas aeruginosa*, *luxI-luxR* *Vibrio fischeri*.

Ранее было установлено ингибирующее влияние на систему QS *cviI-cviR* типа пигментпродуцирующего штамма *C. violaceum* CV026 7 компонентов экстракта коры дуба, 2 из которых: пирогаллол и пропилрезорцин оказывали и антибактериальный эффект, поэтому не анализировались в более чувствительной системе на основе *Escherichia coli*. Динамика кривых ингибирования биолюминесценции ванилином практически не менялась при увеличении концентрации вещества. Тестирование растворов кумарина и скополетина в высоких концентрациях (*E. coli* pAL103 и pAL105) приводила к увеличению значений биолюминесценции. Лидерами по ингибированию биолюминесценции данных штаммов стали конеферилловый спирт и антиарол. Коктейль из 5 тестируемых соединений превосходил показатели снижений биолюминесценции каждого по отдельности соединения. Система QS *E. coli* pAL101 оказалась наиболее чувствительной ко всем веществам коры дуба, а система QS *E. coli* pAL103 – наиболее устойчивая.

Полученный результат на 3 разных системах QS отличался от ранее описанного на системе QS *cviI-cviR* типа, что говорит об уникальности этих систем даже внутри общей QS системы *luxI-luxR* типа, в тоже время подчеркивает универсальность применения лекарственных растений в качестве их ингибиторов, так как совокупность растительных компонентов позволяет применять их для борьбы с разными системами QS.

Найденные регуляторы растительного происхождения системы QS из экстракта коры дуба могут быть потенциально востребованными в качестве кандидатного фармацевтического препарата нового принципа действия для контроля бактериальных инфекций.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 16-16-10048).

## РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ВТОРИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ ПОСЛЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Глубокова Е. А.<sup>1</sup>, Карташова Н. П.<sup>1</sup>, Махмудова Н. Р.<sup>1</sup>, Фалынская И. Н.<sup>1</sup>, Леонова Е. И.<sup>1</sup>, Михайлова Н. А.<sup>1</sup>, Поддубиков А. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия

[eaglubokova@yandex.ru](mailto:eaglubokova@yandex.ru)

Целью данной работы являлась разработка экспериментальной модели вторичной бактериальной пневмонии, вызванной *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) и *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), и развивающейся после гриппозной инфекции, и изучение в ней патогенеза инфекции и механизма развития осложнения.

Материалы и методы: мышей BALB/c инфицировали вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 с последующим заражением клиническими изолятами *S. Pneumoniae* 3405 или *S. aureus* 1986. Патогенез инфекции оценивался по клиническим признакам (выживаемость, продолжительность жизни, уменьшение снижения массы животных), вирусологическим (титр вируса), микробиологическим (плотность бактерий в легких) параметрам и в некоторых случаях подтверждалась патоморфологическими характеристиками состояния легких.

В данном исследовании нами разработана экспериментальная модель сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии, вызванной последовательным заражением мышей интраназально вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 и *S. Pneumoniae* 3405 или *S. aureus* 1986. Показано, что комбинированное последовательное заражение приводит к увеличению смертности мышей, потере веса, а также к уменьшению средней продолжительности жизни по сравнению с группами мышей, инфицированных отдельно вирусом гриппа или каждой из бактерий отдельно соответствующим путем и такими же дозами. Данные по клиническим признакам заболевания были подтверждены вирусологическими и микробиологическими характеристиками инфекции. Титр вируса в легких и КОЭ в высеве из легких при последовательном заражении мышей вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 (H1N1) и каждой из бактерий, значительно выше, чем при аналогичном отдельном заражении вирусом гриппа и *S. Pneumoniae* 3405 или *S. aureus* 1986. Кроме того, бактериальное заражение, последовавшее после вирусного, приводит к увеличению сроков элиминации вируса и бактерий из легких.





Полученные результаты свидетельствуют об усилении роста бактерий и повышении факторов их патогенности в условиях ассоциации с вирусом гриппа.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 18-45-05002

## **ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 1 ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ – РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК**

**Гончаров Р.Г.<sup>1</sup>, Шарапов М. Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[gonrusgeo@gmail.com](mailto:gonrusgeo@gmail.com)

Ишемически-реперфузионные (И-Р) поражения являются причиной развития многих патологических состояний организма, в основе которых лежит окислительный стресс. Одним из подходов в терапии И-Р поражений является использование ферментов-антиоксидантов. В качестве такого фермента - антиоксиданта предлагается использовать рекомбинантный пероксиредоксин 1 (Prx1) – разрушающий пероксиды как органической, так и неорганической природы, а также обладающий шаперонной активностью. На модели И-Р поражения обеих почек мыши проведено исследование защитных свойств рекомбинантного Prx1. Животным внутривенно вводился раствор Prx1 (20 мкг/г веса) за 15 мин до 30-ти мин ишемии, с последующей реперфузией в течении 24 ч. В работе было использовано 3 группы мышей: №1 – интактные животные; №2–И-Р; №3–И-Р+Prx1. В ходе биохимического анализа крови (мочевина и креатинин) обнаружено, что через 24 ч после И-Р в группе №2 наблюдается увеличение уровня мочевины в 5 раз, а уровня креатинина в 6,5 раз. В тоже время, в группе №3 уровень мочевины увеличен в 3 раза, а креатинина в 3,5 раза по сравнению с группой №1. Гистологические исследования почечной ткани, спустя 24 ч после И-Р, показало что в группе №2 наблюдается наличие полнокровия в клубочках нефронов. Просвет извитых канальцев широкий, а их эпителий находится в состоянии гиалино-капельной и вакуольной дистрофии. В группе №3, так же отмечается наличие полнокровия в клубочках нефронов, гиалиново-капельной и вакуольной дистрофии, однако степень выраженности меньше, чем в группе №2. С использованием метода ОТ-ПЦР, проведено исследование уровня экспрессии некоторых маркерных генов спустя 24 ч после И-Р. Выбраны гены маркеры: повреждения почек (KIM, IL-18, L-FABP), воспаления (IL-6, iNOS, eNOS), окислительного стресса (NRF-2), апоптоза (Casp-3; AP-1, NF-kB). В группе №1 уровень экспрессии генов практически не меняется. В группе №2 рост уровня экспрессии генов (раз): KIM (106), eNOS (22), iNOS (14), L-FABP (10,5), AP-1 (7,2), IL-18 (7), NF-kB (5,4), NRF-2 (3,4), IL-6 (2,5), Casp-3 (2,5). В группе №3 увеличение уровня экспрессии генов (раз): KIM (84), eNOS (2), NF-kB (1,5), IL-6 и iNOS (1,3) и уменьшение Casp-3 (0,9), L-FABP (0,8), IL-18 (0,8), AP-1 и NRF-2 (0,5). Выживаемость животных в течении 120 ч в группе №2 ~20%, в группе №3 >51%. Таким образом, применение рекомбинантного Prx1 при И-Р поражении обеих почек мыши способствует нормализации физиологических, биохимических и гистологических показателей, и росту (в 2,5 раза) выживаемости животных. Работа поддержана грантом Президента РФ МК-2261.2017.4.

## **ЭФФЕКТ АНТИОКСИДАНТА SKQ1 В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИАБЕТА И АНАЛИЗ МИКРОРНК КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ**

**Дворецкая Ю.Д.<sup>1</sup>, Гланц В.Ю.<sup>1</sup>, Попов В.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

[dvd16@mail.ru](mailto:dvd16@mail.ru)

Окислительный стресс, как известно, лежит в основе развития сахарного диабета 1 типа и последующих осложнений. Функции митохондрий, и в частности, их способность влиять на клеточный окислительно-восстановительный баланс, являются фундаментальными в контроле над клеточной смертью. В данном контексте митохондриально-направленные антиоксиданты привлекают все больший интерес как потенциально эффективные методы лечения различных заболеваний. Мы изучили эффективность антиоксидантной претерапии препаратом SkQ1 на характер гипергликемии, оценили динамику изменения уровней ряда маркерных микроРНК в



поджелудочной железе и состояние генных компонентов системы антиоксидантной защиты клетки.

Нами показано, что у крыс, получавших антиоксидантную терапию в виде инъекций SkQ, сопровождающуюся последующим введением аллоксана, отмечается тенденция к снижению уровня глюкозы в крови.

Методом qPCR было исследовано изменение экспрессии генов *ant*, *etfdh*, *ucp2*, *ucp3*, *sod1*, *sod2*, *gpx*, *gclc*, *nrf1*, *prdx3*, *prdx5*, *txnr2*. Уровни микроРНК поджелудочной железы крыс в различных условиях эксперимента были исследованы методом qPCR с помощью набора реактивов miScript («Qiagen», Германия).

Из исследованной панели генов сниженной экспрессией в ответ на предварительную терапию SkQ1 характеризовались гены *ucp2*, *ucp3*, *txnr2*, *gclc*, *sod1*, *ant*. В то время как экспрессия *sod2*, *prdx3*, *prdx5*, *gpx*, *etfdh*, *nrf1* значительно увеличилась.

В ряде случаев показана корреляция экспрессии некоторых микроРНК и их таргетных генов, представленных в исследуемой панели, что указывает на возможный механизм регуляции генной экспрессии. Так, микроРНК-15а, позитивно регулирующая биосинтез инсулина путем ингибирования экспрессии *ucp2*, демонстрирует повышенный уровень экспрессии в условиях претерапии на фоне угнетенной экспрессии *ucp2*, что указывает на эффективность терапии. Подобным образом наблюдается характерная обратная зависимость между уровнями микроРНК-377 и *sod2*.

Претерапия SkQ1 характеризуется нормализацией метаболизма глюкозы, что выражается в сниженной экспрессии микроРНК-143. Экспрессия отрицательного регулятора секреции инсулина микроРНК-375 уменьшается в ответ на фармакологическую интервенцию, что также указывает на нормализацию глюкозного метаболизма. Уровень стресс-зависимой микроРНК-25 снижается под влиянием антиоксиданта.

Таким образом, полученные данные позволяют рассматривать антиоксидант SkQ1 в качестве эффективного регулятора клеточного ответа на окислительный стресс и потенциального инструмента коррекции патологических состояний, связанных с избыточной продукцией активных форм кислорода.

## ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧНОСТИ СПЕРМИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ

Доднаева Л. Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Чеченский государственный университет, Грозный, Россия

[dodnaeva.leila@mail.ru](mailto:dodnaeva.leila@mail.ru)

Нами изучена генотоксичность лекарственного препарата спермин по способности индуцировать окислительный стресс и ДНК-протекторную активность в люминесцентных штаммах *E.coli*. Для эксперимента выбраны lux-биосенсоры *E.coli* MG1655 (pRecA-lux), *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux). Штамм *E.coli* MG1655 (pRecA-lux) с SOS-промотором *RecA* позволяет определить ДНК-тропное воздействие изучаемого вещества. Для детекции окислительного стресса использованы штаммы *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) с промоторами *PkatG*, *PsoxS*. Промотор *PkatG* (репрессор *OxyR*) проявляет особый путь реакции на перекись водорода, органические пероксиды, промотор *PsoxS* специфически реагирует на супероксид-анион-радикал.

Спермин обладает высокой противоопухолевой и противолейкозной активностью. Оценку генотоксичности проводили по уровню повышения люминесценции биосенсоров при воздействии спермина в различных концентрациях на микропланшетном люминометре LM01A. Были определены оптимальные концентрации спермина вызывающего люминесценцию и основные параметры, характеризующие реакцию штамма на воздействие спермина. В качестве положительных контролей для биосенсоров *E.coli* MG1655 (pRecA-lux), *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) использовались антибактериальный диоксидин ( $2,25 \cdot 10^{-5}$ М), перекись водорода ( $10^{-5}$ М) и паракват ( $10^{-5}$ М). Отрицательный контроль – дистиллированная вода.

У биосенсоров *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) спермин не индуцирует люминесценцию, т.е. не вызывает окислительный стресс в клетках *E.coli*.

Лекарственный препарат спермин показал незначительное увеличение биолюминесценции у штамма *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), значительно ниже (на 74%) уровня индукции



положительного контроля диоксида. Полученные результаты свидетельствуют, что лекарственный препарат спермин обладает слабым генотоксическим воздействием.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

**Гүноев М.Б.<sup>1</sup>, Джамбетова П.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Чеченский государственный университет, Грозный, Россия

[mansur.gunoev@mail.ru](mailto:mansur.gunoev@mail.ru)

Для выявления биологической активности факторов окружающей среды применяются биосенсоры на основе люминесцентных бактерий *E.coli*, содержащие плазмиду с индуцируемым промотором, слитым с lux-генами светящихся бактерий. Такие штаммы предложены для детекции окислительного стресса, обнаружения генотоксикантов, антибиотиков и тяжелых металлов в окружающей среде. Изучена генотоксичность доксорубина по способности индуцировать окислительный стресс и ДНК-протекторную активность в клетках *E.coli*. Использованы lux-биосенсоры *E.coli* MG1655 (pRecA-lux), *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux). Для определения ДНК-тропного действия использован штамм *E.coli* MG1655 (pRecA-lux) с SOS-промотором RecA, репрессором которого является белок LexA. Для детекции окислительного стресса использованы штаммы *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) с промоторами PkatG, PsoxS. Промотор PkatG (репрессор OxyR) специфически реагирует на перекись водорода, органические пероксиды, промотор PsoxS специфически реагирует на супероксид-анион-радикал. Под воздействием ДНК-повреждающих и индуцирующих окислительный стресс веществ активно синтезируется люциферин-люциферазный комплекс, что приводит к повышению уровня биолюминесценции. Доксорубин обладает высокой противоопухолевой и противолейкозной активностью. Оценку генотоксичности проводили по уровню повышения люминесценции биосенсоров. Были определены оптимальные концентрации доксорубина индуцирующей люминесценцию и основные параметры, характеризующие отклик штамма на воздействие доксорубина на микропланшетном люминометре LM01A. В качестве положительных контролей для биосенсоров *E.coli* MG1655 (pRecA-lux), *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) использовались антибактериальный диоксидин ( $2,25 \cdot 10^{-5}$  М), перекись водорода ( $10^{-5}$  М) и паракват ( $10^{-5}$  М), соответственно. Отрицательный контроль - вода. Показано, что доксорубин оказывает ДНК-повреждающее действие при концентрациях  $17,2 \cdot 10^{-8}$  -  $17,2 \cdot 10^{-7}$  М. Достоверное повышение уровня люминесценции наблюдалось при концентрации  $17,2 \cdot 10^{-8}$  М (R=1,5), и достигала максимума при концентрации  $17,2 \cdot 10^{-7}$  М (R=5,7). У биосенсоров *E.coli* MG1655 (pKatG-lux), *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) доксорубин не индуцировал люминесценцию, т.е. не вызывает окислительный стресс в клетках *E.coli*. Доксорубин показал уровень биолюминесценции у биосенсора *E. Coli* MG1655 (pRecA-lux) на 32% ниже, чем у положительного контроля диоксида, т.е. доксорубин оказывает более слабое генотоксичное действие.

## ИЗМЕНЕНИЕ СЕКРЕЦИИ ЦИТОКИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У МАКРОФАГОПОДОБНЫХ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

**Евстратова Я.В.<sup>1,2</sup>, Кобякова М.И.<sup>1,2</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; <sup>2</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

[yannaevstratova@gmail.com](mailto:yannaevstratova@gmail.com)

Ранее в нашей лаборатории было показано существование способных к адгезии к внеклеточному матриксу (ВКМ) клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Данные клетки были получены в результате селекции стандартной клеточной линии ОМЛ ТНР-1. Полученная клеточная линия (ТНР-1ad) обладает способностью к «мимикрии» под зрелые макрофаги с приобретением макрофагоподобного фенотипа на фоне повышения устойчивости к индукции клеточной гибели без снижения пролиферативной активности.



Также было выяснено, что в формировании лекарственной устойчивости у макрофагоподобных клеток ОМЛ ТНР-1, не принимают участие белки множественной лекарственной устойчивости MDR1, MRP1 и BCRP, однако изменение экспрессии TRAIL-R2 может играть роль в формировании устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу.

Известно, что изменение секреции цитокинов может влиять на лекарственную устойчивость опухолевых клеток. Так, повышенная секреция провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , ИЛ-1 и других, может активировать транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B, что может блокировать запуск апоптоза.

В работе был проведен мультиплексный анализ секреции цитокинов с помощью панели 27ми цитокинов Bio-Plex Pro Human Cytokine Standard Grp I Panel 27-Plex (BIORAD, США). Был проведен сравнительный анализ секреции следующих цитокинов: интерлейкина-2, 1 $\beta$ , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 17а; эотаксина (CCL11), антагонист рецептора интерлейкина 1 (IL-1RA), индуцирующий интерферон- $\gamma$  протеин 10 (CXCL10), макрофагальный воспалительный протеин - 1 $\alpha$  (CCL3), макрофагальный воспалительный протеин -1 $\beta$  (CCL4), тромбоцитарный фактор роста BB (PDGF-BB), RANTES (CCL5), фактор роста фибробластов (FGF), цитокин хемотаксиса моноцитов (MCP-1), фактор некроза опухоли – альфа (TNF- $\alpha$ ), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), интерферона гамма (IFN- $\gamma$ ) и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF).

Было обнаружено, что секреция цитокинов CCL11, Интерлейкинов-5,6,7,8,9,10,12,13,15, IL-1RA, CXCL10, CCL3, CCL4, PDGF-BB, CCL5 была характерна как для стандартной клеточной линии ТНР-1, так и для макрофагоподобных клеток ТНР-1ad. Также была обнаружена секреция цитокинов, характерна только для исследуемых клеток ТНР-1ad – ИЛ-17а, IFN- $\gamma$ , ИЛ-2, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, G-CSF. В тоже время было отмечено достоверное увеличение секреции TNF- $\alpha$  и VEGF макрофагоподобными клетками по сравнению с контрольными клетками ТНР-1.

Таким образом, в формирование лекарственной устойчивости «мимикрирующих» макрофагоподобных клеток ОМЛ, возможно вносит вклад повышенная секреция цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-17 $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , G-CSF и VEGF.

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ К ГЛИКОПРОТЕИНУ ВИРУСА БЕШЕНСТВА ДЛЯ ЭКСТРЕННОЙ ПОСТЭКСПОЗИЦИОННОЙ ПРОФИЛАКТИКИ**

**Ильина Е.Н.<sup>1</sup>, Солопова О.Н.<sup>2</sup>, Ларина М.В.<sup>3</sup>, Зайкова О.Н.<sup>4</sup>, Лосич М.А.<sup>4</sup>, Алиев Т.К.<sup>1</sup>,  
Балабаши Д.С.<sup>3</sup>, Варламов Н.Е.<sup>2</sup>, Долгих Д.А.<sup>1,3</sup>, Гребенникова Т.В.<sup>4</sup>, Свешников П.Г.<sup>2</sup>,  
Кирпичников М.П.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва; <sup>2</sup>ОАО Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; <sup>4</sup>ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

[Ekaterina.iljina.7@yandex.ru](mailto:Ekaterina.iljina.7@yandex.ru)

Получение рекомбинантных моноклональных антител (мАТ), способных эффективно нейтрализовать вирус бешенства в рамках экстренной постэкспозиционной профилактики данного заболевания, является актуальной задачей, поставленной Всемирной Организацией Здравоохранения. Используемые на сегодняшний день поликлональные человеческие и лошадиные иммуноглобулины по причине их высокой иммуногенности, дороговизны и ограниченной доступности требуют замещения на альтернативный препарат, которым может стать коктейль из нескольких нейтрализующих человеческих или гуманизированных мАТ.

В нашей работе была исследована вируснейтрализующая активность двух антител, специфично связывающихся с гликопротеином – поверхностным антигеном вируса бешенства. Для этого был проведен флюоресцентный вируснейтрализующий тест (FAVN) с использованием культурального штамма вируса бешенства CVS-11. Одно из исследуемых антител является полностью человеческим мАТ RabD4, полученное нами в результате *in vitro* иммунизации и представляющее собой иммуноглобулин изотипа IgG1. Второе – полноразмерное антитело изотипа IgG1 человека, сконструированное нами на основе переменных последовательностей гуманизированного Fab-фрагмента мАТ 1C5, полученного ранее. Дополнительно в тестирование





были включены в качестве положительных контролей два известных антитела, CR57 и CR4098, с подтвержденной нейтрализующей активностью в тестах *in vitro* и *in vivo*, полученных компанией Crucell. Исследуемые антитела, RabD4 и 1C5, наравне с контрольными антителами, CR57 и CR4098, были наработаны с помощью транзientной экспрессии в клетках CHO, для чего была использована биплазмидная система на основе вектора pcDNA3.4, несущего отдельно гены тяжелой и легкой цепей антител. Очистка и выделение антител проводились методом аффинной хроматографии на протеин А сефарозе и методом гель-фильтрационной хроматографии на колонке Superdex 75-10/300-GL. Было установлено, что тестируемые антитела проявляют высоконейтрализующую активность против вируса бешенства. Так, антирабическая активность мАТ RabD4 и мАТ 1C5 составила 305,7 МЕ/мг и 631,8 МЕ/мг, соответственно, активность контрольных мАТ CR57 и мАТ CR4098 составила 71,9 МЕ/мг и 463,3 МЕ/мг, соответственно. Также был осуществлен анализ аффинности и специфичности рекомбинантных мАТ к различным вакцинным штаммам вируса бешенства.

Работа выполнялась при поддержке субсидии Министерства образования и науки Российской Федерации (RFMEFI60716X0154).

## ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО И ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДЖЕНЕРИКОВ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

**Каркусова М.Д.<sup>1</sup>, Чопикашвили Л.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Северо-Осетинский государственный университет им. Хетагурова К.Л.,  
Владикавказ, Россия

[meghi.96@mail.ru](mailto:meghi.96@mail.ru)

Поддержка производства дженериков, их использование в медицинской практике и замещение ими «оригинальных» брендированных препаратов является одной из стратегических целей ВОЗ при обеспечении доступа к медицинской помощи. Вместе с тем, как и все лекарственные средства, дженерики наряду с положительным эффектом могут вызвать появление нежелательных либо побочных реакций, проявляющиеся как токсические осложнения, нарушения иммунных свойств организма и т.д.

Настоящее исследование проводилось с целью оценки цитогенетического и цитотоксического действия наиболее часто используемых в медицине дженериков гастропротективного действия Де-Нол, Вентер, Метоклопрамид на организм лабораторных животных.

В работе были использованы самцы крыс линии Wistar. Эксперимент включал 6 групп по 5 особей в каждой: 1-я группа, получавшая Де-Нол (1,74 мг); 2-я группа – Вентер (0,01г); 3-я группа – Метоклопрамид (0,09 мг); 4-я группа – комплекс препаратов – Метоклопрамид (0,09 мг) и Де-Нол (1,74 мг); 5-я группа – комплекс препаратов – Метоклопрамид (0,09 мг) и Вентер (0,01г); 6-я группа – контроль. Препараты вводились опытным группам из расчета на 100 г веса животного перорально 1 раз в сутки. Длительность применения – трое суток. Для проведения исследований использовали метод полиорганного микроядерного теста на эпителиальных клетках мочевого пузыря и толстой кишки экспериментальных животных. Учет хромосомных aberrаций (ХА) в клетках костного мозга млекопитающих осуществляли по Методике Форда-Хамертонна.

Наиболее выраженное цитогенетическое действие на клетки костного мозга проявил препарат Де-Нол (2,4±0,68%), меньший – Метоклопрамид (1,6±0,56%) и Вентер (1,4±0,52%). В медицинской практике при терапии язвенных болезней ЖКТ часто назначаются комплексы препаратов Метоклопрамид-Вентер и Метоклопрамид-Де-Нол. В наших исследованиях у животных 4-й группы, при введении комплекса Метоклопрамид-Де-Нол количество ХА в клетках костного мозга составило 1,8±0,59%. Вместе с тем, комплексное введение препаратов Метоклопрамид-Вентер животным 5-й группы, вызвало большее количество ХА – 2,2±0,66%.

При исследовании цитотоксических показателей дженериков, количество аномалий ядра в клетках эпителия толстой кишки и мочевого пузыря оказалось выше у животных 1 группы и составило в среднем 2,82% и 2,59%, соответственно. Меньший мутагенный эффект, как в клетках эпителия толстой кишки, так и мочевого пузыря, наблюдали у животных, получавшие Метоклопрамид (2,12±0,50% и 2,23±0,51%, соответственно), а также комплекс его с Вентером (2,23±0,51%).



## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСОВ ГРИППА, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ЛЕТАЛЬНЫМИ ИСХОДАМИ, К ПРОТИВОГРИППОЗНЫМ ПРЕПАРАТАМ

**Карташова Н.П.<sup>1,2</sup>, Фалынскова И.Н.<sup>1</sup>, Глубокова Е.А.<sup>1,2</sup>, Ленева И. А.<sup>1</sup>, Бурцева Е.И.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина, Москва; <sup>3</sup>ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

[nadezdakartasova10571@gmail.com](mailto:nadezdakartasova10571@gmail.com)

Целью данной работы являлось изучение чувствительности клинических изолятов вируса гриппа от пациентов с летальными исходами к противогриппозным этиотропным препаратам.

Выделение и накопление клинических изолятов из легких и бронхов пациентов, умерших от гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа А/Калифорния/2009 (H1N1) пндм, проводили в культуре клеток MDCK согласно общепринятому протоколу ВОЗ.

Изучение чувствительности выделенных штаммов к субстанциям препаратов римантадин и умифеновир проводили в культуре клеток MDCK с использованием ИФА модифицированного для определения противовирусной активности веществ. Определение антинейраминидазной активности озельтамивира карбоксилата проводили методом флуоресценции с использованием субстрата 20-(4-methylumbelliferyl)-a-D-N-acetylneuraminic acid (MUNANA) по протоколу ВОЗ (A. Hurt, 2009). На основании полученных данных были построены кривые доза-эффект, из которых были определены ИК50 субстанций препаратов для каждого из изученных вирусов.

Из патолого-анатомических материалов легких 5 и бронхов 4 пациентов, умерших от лабораторно-подтвержденной гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа А/Калифорния/2009 (H1N1) пндм выделены и накоплены вирусные изоляты и проведено изучение их чувствительности в опытах *in vitro* к лицензированным и широко используемым в России противогриппозным препаратам. Изученные препараты прямого противовирусного действия направлены на различные вирусные мишени: ингибитор вирусного фермента нейраминидазы озельтамивир, блокатор М2-ионных каналов римантадин, ингибитор конформационных изменений поверхностного вирусного белка НА-умифеновир. Римантадин в изученных концентрациях от 1 до 20 мкг/мл не ингибировал вирусную репродукцию всех изученных изолятов из легких и бронхов 9 пациентов. Напротив, ИК50 для всех изолятов для озельтамивира карбоксилата и умифеновира были в диапазоне 5 – 12,5 и 0,03 – 3000 нМ соответственно и входили в области значений ИК50 ранее определенных для различных штаммов вирусов гриппа, как чувствительных и к этим препаратам.

Было обнаружено, что клинические изоляты из материалов легких 5 и бронхов 4 пациентов, умерших от лабораторно-подтвержденной гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа А/Калифорния/2009 (H1N1) пндм, были нечувствительны к противогриппозному препарату римантадин и обладали высокой чувствительностью к озельтамивиру.

## ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ CUSCUTA EUROPEAE

**Кахорова К.А.<sup>1</sup>, Хашимова З.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИИ биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз, Ташкент, Узбекистан

[kamola\\_kaharova@list.ru](mailto:kamola_kaharova@list.ru)

Одним из важнейших классов природных соединений, выделенных из растений, являются лектины. Среди них интерес представляют лектины паразитирующих растений обладающие цитотоксическим действием.

Целью данной работы является изучение цитотоксической активности лектиноподобных белков, выделенных из семян повилики, произрастающих в Средней Азии на луговых растениях на перевиваемых линиях клеточных культур.

Лектиноподобные белки выделяли из семян повилики (*Cuscuta europea*) путем экстракции солевым раствором с последующим ступенчатым высаливанием сульфатом аммония. Для этого семена измельчали и одну часть сырья заливали десятью частями ФСБ (фосфатно солевой буфер), содержащий 0,14 М NaCl, pH 7.7. Экстрагировали 2 ч при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Экстракт центрифугировали 20 мин при 5000 об/мин. Собранные после



центрифугирования супернатант (суммарные белки) подвергали ступенчатому высаливанию сульфатом аммония: одну часть осаждали сульфатом аммония до конечной концентрации 20% и вторую часть – до 50%. Центрифугировали и полученные супернатанты, обозначенные нами С<sub>20</sub> и С<sub>50</sub> и осадки – ЛПБ<sub>20</sub> и ЛПБ<sub>50</sub>, диализовали против дистиллированной воды, лиофильно высушивали и использовали для дальнейшей работы.

Наибольшая гемагглютинирующая активность выявлена во фракции ЛПБ<sub>50</sub> и эта же фракция проявляет специфичность к маннозе и глюкозе. Белки охарактеризованы электрофоретически. Содержание белка определено по методу Лоури.

Для определения цитотоксического действия веществ клетки *Hela* (рак шейки матки) и *U<sub>937</sub>* (лимфома человека) рассевали в 96-луночные планшеты в количестве 20 тыс. клеток/мл в 100 мкл среды RPMI 1640 с 10% сыворотки эмбриона теленка и культивировали при температуре 37°C в CO<sub>2</sub> – инкубаторе. Через сутки вводили белки в дозах 100, 10 и 1 мкг/мл на 100мкл среды, культивировали клетки в течение 24 часов и далее вводили в клетки МТТ [3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид] для выявления живых клеток. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 620нм.

Фракции белков повивики оказывает различное воздействие на культуру клеток. Так, цитотоксическое действие на клетки *Hela* оказывает суммарная фракция белка, фракции ЛПБ<sub>20</sub> и ЛПБ<sub>50</sub> - 100%, 98% , 94% и на клетки *U<sub>937</sub>* 100%, 86% и 93% при дозе белка 100 мкг/мл, соответственно. Аналогичные результаты подавления роста клеток получены при подсчете клеток трипановым синим. Изучена степень повреждаемости мембраны клеток по активности лактатдегидрогеназы

Для более детального изучения действия ЛПБ<sub>50</sub> в качестве инструмента нами были использованы клинические препараты известного механизма действия. Для опыта мы вводили ЛПБ<sub>50</sub>, а также препараты этопозид и колхицин в клетки *Hela* отдельно или вместе в дозах, соответствующих СЕ<sub>50</sub> в логарифмической фазе роста клеточной культуры.

Таким образом, нами выделены и охарактеризованы лектиноподобные белки из *Cuscuta europeae*, показано цитотоксическое действие белков ЛПБ<sub>20</sub> и ЛПБ<sub>50</sub> на перевиваемых линиях клеток. Результаты по совместному действию ЛПБ<sub>50</sub> с этопозидом и колхицином, дают нам основание предположить, что ЛПБ<sub>50</sub> повивики, преимущественно, действуют на S - период клеточного деления.

## ПОЛУЧЕНИЕ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ *MEDICAGO TRUNCATULA*, ПРОДУЦИРУЮЩИХ ГАММА ИНТЕРФЕРОН БЫКА

**Квитковская В.А.<sup>1</sup>, Ткаченко А.А.<sup>1</sup>, Бурлаковский М.С.<sup>1</sup>, Емельянов В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,  
Россия

[biosublustrum@gmail.com](mailto:biosublustrum@gmail.com)

За последнее десятилетие значительно возрос интерес к трансгенным растениям как биопродуцентам различных белков медицинского назначения. При получении рекомбинантных белков актуальным остается вопрос поиска высокоэффективных и экономически выгодных систем экспрессии для их наработки. К тому же, с приходом на рынок модифицированные растения стали жертвами скепсиса: покупатель не понимал наличие маркерных генов, они пугали его. Поэтому нашей задачей является получение бородастых корней *Medicago truncatula*, модифицированной геном INFG, без селективных маркёров, отпугивающих потенциальных клиентов, и получение тем самым готовой вакцины в виде сухого корма.



## ОЦЕНКА НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ БИОМАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ДОНОРСКОЙ КОСТНОЙ ТКАНИ В МОДЕЛИ IN VITRO

**Кирсанова П.О.<sup>1,2</sup>, Сенотов А.С.<sup>2</sup>, Теплов И.Ю.<sup>1</sup>, Фадеева И.С.<sup>2</sup>, Звягина А.И.<sup>2</sup>, Акатов В.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, России

[kirsanova\\_polina\\_work@mail.ru](mailto:kirsanova_polina_work@mail.ru)

Создание новых эффективных костнопластических материалов является приоритетной задачей биомедицины, поскольку только на территории Российской Федерации ежегодно регистрируется около 12,0 млн больных с заболеваниями костно-мышечной системы. В лаборатории тканевой инженерии ИТЭБ РАН активно продолжается разработка и модификация имплантов на основе донорской костной ткани ксеногенного происхождения с подавленной иммуногенностью и высокой степенью гомологичности ВКМ. Одним из путей возможного клинического применения экспериментального тканеинженерного матрикса является реконструктивная нейрохирургия, так что данная работа направлена на предварительное исследование способности материала не вызывать нарушений структуры и/или функций нервной системы реципиента.

Оценка нейротоксичности осуществлялась с использованием первичной клеточной культуры нейроглии из гиппокампа новорожденных крыс линии Wistar с экстрактами из экспериментальных образцов. Инкубация экстракта проводилась 24 ч при 37°C в 2-х модельных средах: 1) на нейробазальной среде и 2) на среде DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки. Определение количества живых и погибших клеток через 24 ч после замены культуральной среды в опыте и контроле ( $n \geq 3$ ) производилось при помощи люминесцентного окрашивания пропидий йодидом с последующим изучением на флуоресцентном микроскопе Axio Observer Z1.

Были получены следующие результаты: клеточная гибель в контроле составила  $5,9 \pm 1,3\%$  от общего количества клеток, в экстракте на нейробазальной среде –  $6,4 \pm 2,4\%$  и в экстракте с использованием DMEM+FBS –  $6,5 \pm 1,8\%$ , что позволяет сделать вывод об отсутствии токсичности разработанных матриц. Данный биоматериал перспективен для использования в реконструктивной нейрохирургии (например, в целях аугментации или эндопротезирования костной ткани черепа), а потому нуждается в дальнейшем, более подробном и комплексном изучении.

Работа поддержана Фондом содействия РМП НТС и Программой Президиума РАН «ФИМТ».

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОПУХОЛЕВЫХ И СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА АНАЛОГЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МАТРИГЕЛЬ

**Китаева К.В.<sup>1</sup>, Прудников Т.С.<sup>1</sup>, Гомзикова М.О.<sup>1</sup>, Тазетдинова Л.Г.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>, Соловьева В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

[olleth@mail.ru](mailto:olleth@mail.ru)

Процессы межклеточного взаимодействия в опухолевой строме представляют большой интерес в свете поисков новых подходов в онкотерапии. В настоящей работе представлено исследование самоорганизации мезенхимных стромальных клеток (МСК) и клеток нейробластомы SH-SY5Y при совместном культивировании на трехмерном внеклеточном матриксе Матригель.

Материалы и методы. МСК были выделены из костного мозга человека методом центрифугирования в градиенте плотности фиколла с последующей адгезией к пластику. МСК и SH-SY5Y перед внесением в смешанную культуру были предварительно окрашены витальными красителями Vybrant DiD и DiO Cell-Labeling Solution, соответственно. После окрашивания клетки смешивали в соотношении 1:1 и культивировали на Матригеле при 37 °C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO<sub>2</sub>. Цитофлуориметрический анализ проводили на приборе FACS Aria III.



Результаты и обсуждение. При ко-культивировании, меченые МСК и опухолевые клетки были различимы по своему уникальному флуоресцентному излучению. Несмотря на то, что клеточные популяции вносили в ко-культуру одновременно в форме моноклеточной суспензии, мы наблюдали быструю самоорганизацию различных клеточных популяций. Результатом краткосрочной инкубации МСК и SH-SY5Y в течение 24 часов на Матригеле явилось формирование капилляроподобных структур, которые состояли из клеток SH-SY5Y и прилегающим к ним МСК. Это указывает на положительный тропизм МСК к опухолевым клеткам, который описан в литературе. Однако, полученная структура явилась переходной, так как в течение 3–4 дней МСК и SH-SY5Y формировали кластеры, в центре которых располагались клетки SH-SY5Y, окруженные МСК. Цитофлуориметрический анализ показал наличие в смешанной культуре большое количество клеток с двойной флуоресцентной меткой, что может указывать на обмен мембранными компонентами между стромальными и опухолевыми клетками. Дальнейшие исследования взаимодействия клеток могут повысить эффективность противоопухолевой терапии.

Работа финансировалась грантом РФФИ №16-34-60201.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОЗРЕВАНИЯ В МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА В МНОГОКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ

**Кобякова М.И.<sup>1,2</sup>, Евстратова Я.В.<sup>1,2</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1,2</sup>, Акатов В.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино; <sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

[rita49@gmail.com](mailto:rita49@gmail.com)

Ранее было показано, что в многоклеточных структурах (агрегатах) формируется устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) к действию химиотерапевтических препаратов. Переход клеток ОМЛ в состояние пролиферативного покоя с последующим их созреванием в моноцитарно-макрофагальном направлении способствует повышению их устойчивости к индукции апоптоза. Однако мы показали, что клетки в многоклеточных агрегатах, устойчивые к действию химиотерапевтических препаратов, активно пролиферируют. В связи с этим формирование лекарственной устойчивости в многоклеточных структурах может быть связано с появлением более зрелых пролиферирующих клеточных форм. В работе оценили степень созревания в моноцитарно-макрофагальном направлении клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах.

В качестве объекта исследования использовали клетки ОМЛ человека линий ТНР-1. Для формирования многоклеточных агрегатов клетки высевали по  $5 \times 10^3$  клеток в лунку в 100 мкл полной ростовой среды в 96-луночные планшеты и выращивали на поверхности культурального пластика в течение 120 часов. Сравнивали с клетками ТНР-1 культивируемыми в тех же условиях после 24 часов инкубации. Через 24 часа культивирования многоклеточные агрегаты отсутствовали. Изучение степени созревания проводили с помощью проточной цитометрии. Исследовали экспрессию моноцитарно-макрофагальных маркеров CD11b, CD14, CD45, CD68, CD163 и проводили оценку количества митохондрий, лизосом и продукции NO, с помощью окрашивания клеток MitoTracker Green FM, LysoTracker Green DND-26, DAF-FM DA, соответственно. Для определения фагоцитарной активности использовали pHrodo Green E.coli. Оценку секреции ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 проводили с помощью коммерческих наборов реагентов для иммуноферментного определения концентрации цитокинов.

Показано, что на поверхности клеток ТНР-1 как в контрольных, так и в опытных условиях присутствуют CD45, CD68. В многоклеточных агрегатах появляются  $24 \pm 1\%$  клеток, несущих CD11b, увеличивается число клеток, несущих CD68. Для клеток в многоклеточных структурах выявлено увеличение индуцибельной секреции ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 (более чем в 1,5 раза) и внутриклеточного NO (более чем в 2 раза), а также показано увеличение числа митохондрий (более чем в 3 раза). Фагоцитарная активность и относительное количество лизосом в многоклеточных агрегатах относительно контроля не изменялись.





Таким образом, в многоклеточных структурах возможно появление более зрелых клеточных форм, коммитированных в моноцитарно-макрофагальном направлении и способных к активной пролиферации.

Работа выполнена в рамках гранта Правительства РФ №14.Z50.31.0028.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ НЕЙРОПЕПТИДА «СЕМАКС» ПРИ ЛУЧЕВОЙ ПАТОЛОГИИ**

**Колесникова И.А.<sup>1,2</sup>, Ляхова К.Н.<sup>1,2,3</sup>, Северюхин Ю.С.<sup>1,2,3</sup>, Буденная Н.Н.<sup>1,2</sup>, Молоканов А.Г.<sup>1</sup>, Утина Д.М.<sup>1,2,3</sup>, Иванов А.А.<sup>1,4,3</sup>, Булынина Т.М.<sup>4,3</sup>, Никитенко О.В.<sup>4,3</sup>**

<sup>1</sup>Объединенный институт ядерных исследований, Дубна; <sup>2</sup>ГБОУ ВО МО ГУ «Дубна»; <sup>3</sup>ФГБУ ГНЦ РФ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, Москва; <sup>4</sup>ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

[innakolesnikova0793@gmail.com](mailto:innakolesnikova0793@gmail.com)

Проведено исследование радиопротекторных свойств ноотропного препарата «Семакс», который, предполагается, способен специфически купировать радиационные нарушения в ЦНС.

Цель настоящего исследования - оценка влияния официального препарата Семакс (капли назальные 0,1%) на поведенческие реакции, иммуногематологический статус и силу захвата передних лап мышей, морфологические нарушения в нервной ткани мышей облученных протонами в дозах 2,3 и 3Гр с энергией 70МэВ.

Исследования выполнены на самках аутбредных мышей ICR (CD-1), SPF-категории. Животных облучали на фазотроне ОИЯИ протонами с начальной энергией 170МэВ при толщине дополнительного замедлителя 190мм. Дозы облучения составляли 2,3 и 3Гр в точке облучения, т.е. на тело мыши. Животные были разделены на группы: необлученный контроль; облученные, получавшие Семакс 0,1% (по 1 капле интраназально, начиная со второго часа после облучения), трижды в сутки: утром, днем и вечером в течение 7 суток; облученные, получавшие кипяченую воду по схеме аналогично Семаксу.

Облучение мышей протонами вызывает статистически значимое поражение системы кроветворения и иммунитета. Интраназальное введение облученным животным ноотропного препарата Семакс не отягощало, по большинству исследованных традиционных радиобиологических показателей (масса тимуса и селезенки, число кариоцитов в костном мозге и число лейкоцитов в периферической крови), тяжести лучевого поражения.

Препарат Семакс статистически значимо сохраняет уровень ориентировочно-исследовательской реакции (ОИР) у животных, облученных в дозе 3 Гр. Также препарат нормализует показатель эмоционального статуса (ЭС) на седьмые сутки после облучения в обеих дозах. Препарат Семакс статистически значимо сохранял на уровне нормы соотношение процессов возбуждения и торможения ЦНС, определяемых по показателю отношения ОИР/ЭС.

Установлено, что облучение в дозе 2,3 и 3 Гр снижает показатель мышечной силы мышей до 81,3-84,6% от уровня биоконтроля, а применение Семакса восстанавливает уровень показателя до 93,1-101,1% значений показателя у биоконтроля.

Для нейроморфологического исследования были приготовлены препараты по стандартной гистологической методике, окрашивание крезил-виолетом по методу Ниссля. Установлено, что морфологическая картина в сенсомоторной коре головного мозга облученных животных, леченных Семаксом, соответствовала нормальной у необлученных животных. Эффекта препарата в клетках Пуркинье мозжечка не обнаружено. В коре головного мозга у облученных животных, леченых Семаксом, практически отсутствуют радиационные нарушения капилляров.



## РОЛЬ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО В-ГЛИКОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕХОДА Т-КЛЕТОК ИЗ НАИВНЫХ В ЭФФЕКТОРНЫЕ

**Кочурова С.В.<sup>1</sup>, Тимганова В.П.<sup>2</sup>, Бочкова М.С.<sup>2</sup>, Заморина С.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь; <sup>2</sup>Филиал ПНЦ УрО РАН «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия

[kochurova.sofja@yandex.ru](mailto:kochurova.sofja@yandex.ru)

Трофобластический  $\beta$ 1-гликопротеин (ТБГ) является ключевым маркером функционирования фетоплацентарной системы и доминантным белком во II-III триместрах беременности. Он играет важную роль в становлении иммунной толерантности при формировании Т-клеток памяти к фетоплацентарным антигенам. Известно, что супрессивные эффекты ТБГ на Т-клетки памяти реализуются только на уровне Т-хелперов (CD4+), не затрагивая субпопуляцию CD8+. Поэтому цель работы - оценка роли ТБГ в регуляции перехода наивных Т-клеток в эффекторные Т-клетки на уровне Т-хелперов в системе *in vitro*.

Материалы и методы. Нативный ТБГ человека получали авторским методом. Монокультуры Т-хелперов получали методом иммуномагнитной сепарации с использованием технологии MACS® ("Miltenyi Biotec") из суспензии мононуклеарных клеток периферической крови здоровых доноров (n=8). Выделенные клетки с фенотипом CD4+ ( $1 \times 10^6$  кл/мл) культивировали в 96-луночных планшетах в полной питательной среде в течение 48 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. В качестве активатора использовали анти-CD2/CD3/CD28 частицы («Miltenyi Biotec»), также, вносили ИЛ-2 (10 нг/мл). Определение поверхностных молекул, характеризующих наивные Т-клетки (CD45RA+CD45RO-CD62L+), Т-эффекторы (CD45RA+CD45RO-CD62L-), эффекторные Т-клетки памяти (CD45RA-CD45RO+CD62L-) на CD4+ Т-клетках проводили на проточном цитометре «CytoFLEX S» («Beckman Coulter»). Статистическая обработка данных проводилась с помощью парного t-критерия Стьюдента.

Результаты. При оценке влияния ТБГ в концентрациях, соответствующих физиологической беременности (1, 10, 100 мкг/мл) на уровень наивных Т-клеток установлено, что ТБГ (100 мкг/мл) снижал процент этих клеток в культуре (с  $33,76 \pm 3,24\%$  в контроле до  $27,25 \pm 3,51\%$  в пробе с ТБГ, 100 мкг/мл). В то же время, ТБГ не влиял на количество эффекторных Т-клеток памяти. Интересно, что ТБГ проявил угнетающее действие на количество CD4+ Т-эффекторов (с  $3,22 \pm 1,27\%$  в контроле до  $2,30 \pm 1,15\%$  - ТБГ 100 мкг/мл и  $2,53 \pm 1,27\%$  - ТБГ 10 мкг/мл) в концентрациях соответствующих II-III триместрам беременности (10 и 100 мкг/мл). Очевидно, снижение количества Т-эффекторов может иметь в ситуации *in vivo* фетопротекторный смысл. Таким образом, впервые установлена роль ТБГ в регуляции перехода фенотипа наивных CD4+ Т-клеток (CD45RA+CD45RO-CD62L+) в CD4+ Т-хелперы-эффекторы (CD45RA+CD45RO-CD62L-). Продемонстрировано, что ТБГ снижал количество клеток в эффекторных субпопуляциях Т-хелперов.

Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-00591

## СОЗДАНИЕ ВИРУСНОГО КОНСТРУКТА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ГЕН ВАСЕ1

**Круть В. Г.<sup>1</sup>, Епифанова Е. А.<sup>1</sup>, Бабаев А. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

[krutvika@mail.ru](mailto:krutvika@mail.ru)

Болезнь Альцгеймера (БА) является самым распространённым нейродегенеративным заболеванием людей старшего возраста. Точная причина БА пока не известна. Однако является общепринятым, что в патологии как спорадической, так и наследственной болезни Альцгеймера, центральную роль играет  $\beta$ -амилоид (A $\beta$ ), образующийся путем протеолиза из белка предшественника амилоида (APP). При амилоидогенном расщеплении APP проходит 2 последовательные эндопротеолитические стадии, осуществляемые  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазы. ВАСЕ1 (Beta-site APP-cleaving enzyme 1) расщепляет APP в области N-конца  $\beta$ -пептида, чем инициирует процесс образования A $\beta$ , а дальнейшее расщепление осуществляет  $\gamma$ -секретаз. Таким образом, использование ВАСЕ1 для наработки A $\beta$  в *in vitro* модели БА для дальнейшего поиска терапевтических агентов является перспективным направлением биомедицинских исследований.



Внесение гена *VASE1* в культуру клеток мозга возможно с помощью генно-инженерных конструкций. Вирусные вектора, создаваемые на основе рекомбинантных аденоассоциированных вирусов, являются одними из наиболее эффективных и безопасных способов доставки генетической информации. В связи с этим, целью исследования является создание аденоассоциированного вирусного вектора для экспрессии в клетках мозга гена, кодирующего  $\beta$ -секретазу.

Основой вирусного конструкта была выбрана бактериальная плаزمиды AAV-Syn-kid2. В ходе работы была подобрана система праймеров, используемая при амплификации  $\beta$ -секретазы, в состав которых внесены сайты рестрикции для последующей рестрикции и лигирования в конструируемый вектор. Была проведена наработка кодирующей ДНК, также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать нуклеотидную последовательность *VASE1* с использованием Phusion полимеразы. Начальная денатурация проводилась при температуре 98°C в течение 3 минут. Затем следовал рабочий цикл, повторяющийся 35 раз: 98°C – 15 сек – денатурация - 68°C – 30 сек – отжиг праймеров - 72°C – 1 мин – элонгация. И после этого следовала финальная достройка цепей при температуре 72°C в течение 7 минут. Таким образом, была получена последовательность гена *VASE1*, результат чего был визуализирован на электрофореграмме.

В дальнейшем из шаттл-плазмиды AAV-Syn-kid2 с помощью хелперных плазмид - DJ vector и pHelper, будет собран аденоассоциированный вектор, кодирующий ген *VASE1*.

## **КОНСТРУИРОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ПАНЕЛИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ОНКОЛОГИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ У ДЕТЕЙ**

**Литасова А.С.<sup>1,2</sup>, Максимов А.Ю.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

[alyona12.92@mail.ru](mailto:alyona12.92@mail.ru)

Онкологические заболевания (гемобласты, рак головного мозга и др.) представляют собой важную социально-медицинскую проблему в связи с высокой заболеваемостью и смертностью среди детского населения. В целях снижения риска развития онкозаболеваний, необходимо внедрение в клиническую практику инновационных высокотехнологичных методов ранней диагностики заболеваний. Одним из важных направлений работы является разработка скрининговых генетических тестов, методов генетического анализа на их основе по нескольким интересующим параметрам. Такими параметрами являются наличие/отсутствие определенных мутаций, а общая методика – это анализ продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР). Мутации необходимо выбирать по двум основным признакам:

—клиническая значимость, то есть действительно ли наличие мутации вызывает какие-то нарушения работы организма и/или заболевания,

—частота мутации в популяции, для которой готовится панель.

Проведен анализ опубликованных научных данных о мутациях, связанных с онкозаболеваниями, относительно часто встречающихся в российской популяции.

Дизайн праймеров, используемых для постановки ПЦР, является ключевым фактором результативности генетической диагностики. Для подбора выявляемых мишеней, разработки и оптимизации последовательностей праймеров использовали несколько on-line сервисов GenBank NCBI USA, nucleotide BLAST, NCBI - Primer BLAST, программные пакеты Vector NTI, Primer Premier 5.

В результате проведенной работы определен состав диагностической панели для выявления наиболее распространенных в российской популяции мутаций в генах *NF1*, *RBM6*, *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTM1*, *NAT2*, *CYP1A1*, *CYP2D6\*4*, *CYP1A2\*9*, *FLT3 (ITD)ВТД*, *FLT3 (D835Y)*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *ATM*, *RB1* (экзон 7), *AR*, *TP53* (экзон 1-11), *APC* (экзон 1-14), *TSC1* (экзоны 3-11, 10-15, 19-23), *TSC2* (экзоны 1–11, 9–20, 16–26, 23–34, 28–37, 33–41), *EVT6*, *RBM5*, *RBM6*, *CSF1R*, *GAPDH*.

Работа выполняется при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, программы «УМНИК» (договор №12077ГУ/2017 от 18.07.2017 (код 0032818).





## **ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И ЦИТАРАБИНА НА АКТИВАЦИЮ ПРОЛИФЕРАЦИИ В КЛЕТКАХ ОСТРОГО ПРОМИЕЛОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА (HL-60)**

**Ломовский А.И.<sup>1</sup>, Бабурина Ю.Л.<sup>2</sup>, Кобякова М.И.<sup>1,2</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1,2</sup>, Сотникова Л.Д.<sup>2</sup>,  
Крестинина О.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский Государственный Естественно-научный Институт; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

[lomovskyaalex@gmail.com](mailto:lomovskyaalex@gmail.com)

Цитарабин противоопухолевый и иммунодепрессивный препарат цитостатического действия из группы антиметаболитов-аналогов цитидина. В медицинской практике применяющийся в качестве химиотерапевтического агента. Противоопухолевая активность обусловлена активацией исходного вещества в тканях путем фосфорилирования с образованием цитарабинтрифосфата, который является эффективным ингибитором ДНК-полимеразы. Подавляет синтез ДНК, незначительно действует на синтез РНК и белка, обладает S-фазовой специфичностью. Антислейкемическое действие обусловлено торможением пролиферации миелобластов, лимфобластов и лимфоцитов. Является сильным иммунодепрессантом, угнетает костномозговое кроветворение. Мелатонин является производным биогенного амина (серотонина), который в свою очередь синтезируется из аминокислоты триптофана, секретируется шишковидной железой и другими тканями. В клетке мелатонин участвует в регуляции пролиферацией и дифференцировки. Существуют доказательства антипролиферативной, антиоксидантной и иммуностимулирующей активности мелатонина. Аномальные уровни мелатонина у раковых больных, показывают, что его можно считать физиологическим онкостатическим веществом. В настоящей работе было исследовано влияние цитарабина и мелатонина, а также их совместное действие на рост и активацию пролиферации клеток острого миелоидного лейкоза (HL-60). Было показано, что цитарабин (2 нМ) снижал рост клеток острого промиелоцитарного лейкоза приблизительно на 20%, тогда как мелатонин (1 мМ) уменьшал рост клеток на 50%. При совместном действии цитарабина и мелатонина наблюдалось замедление роста клеток, в этих условиях рост клеток снижался на 70%. Исследование митотической активности показало, что действие цитарабина приводило к снижению активности приблизительно на 30%, а действие мелатонина на 50%. Совместное действие цитарабина и мелатонина приводило к уменьшению митотического индекса на 58%. Известно, что транслокаторный белок (TSPO) и VDAC1 экспрессируется в раковых клетках. В настоящей работе мы проверили изменение уровня этих белков в наших экспериментальных условиях. В результате было обнаружено, что при добавлении цитарабина, мелатонина и при совместном действии мелатонина с цитарабином наблюдалось снижение уровней TSPO и VDAC1 в клетках острого промиелоцитарного лейкоза. Настоящее исследование предполагает, что мелатонин может улучшать действие химиотерапевтических агентов и может быть полезным для новых подходов в раковой терапии.

Работа поддержана грантом РФФИ №17-04-00747.



## РЕМИНЕРАЛИЗАЦИЯ КОСТНЫХ МАТРИЦ ФОСФАТАМИ КАЛЬЦИЯ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ОСТЕОИНДУКТИВНОСТИ

**Меньших К.А.<sup>1</sup>, Сенотов А.С.<sup>2</sup>, Минайчев В.В.<sup>3,2</sup>, Фадеева И.С.<sup>3,2</sup>, Фадеев Р.С.<sup>3,2</sup>, Кирсанова П.О.<sup>2</sup>, Акатов В.С.<sup>3,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Биотехнологический факультет, Москва; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

[aurin.fad@gmail.com](mailto:aurin.fad@gmail.com)

В целях получения успешных клинических результатов, биоматериалы, используемые в инженерии костной ткани (ИКТ), должны обладать не только биосовместимостью, остеоиндуктивностью и остеокондуктивностью, но и соответствующей механической прочностью, необходимой для выдерживания возможных осевых напряжений в месте имплантации.

Деминерализованный костный матрикс (ДКМ) является одним из немногих материалов биологического происхождения, рекомендуемых для использования в ИКТ. В настоящее время активно проводятся исследования, демонстрирующие как высокий потенциал ДКМ, так и необходимость улучшения его остеогенных и механических свойств. Целью данного исследования являлась оценка повышения регенеративного потенциала ДКМ при его насыщении кальций-фосфатными соединениями (КФС) – реминерализации *in vitro*.

В качестве КФС были использованы аморфные фосфаты кальция (амСаР) и наноразмерный гидроксипатит (нГАп). По литературным данным нГАп является наиболее предпочтительным КФС за счет максимально схожих с ГАп нативной костной ткани свойств и более выраженной степени биоинтеграции в организме реципиента. В свою очередь, амСаР являются необходимыми предшественниками естественной минерализации, что может обеспечить качественное улучшение процесса реминерализации непосредственно на матриксе ДКМ в условиях *in vitro*. Для повышения вязкости растворов, степени реминерализации и, таким образом, увеличения регенеративного потенциала костных матриц, при насыщении ДКМ КФС *in vitro*, в части образцов (группы сравнения) использовали сывороточный альбумин (5%).

Образцы ДКМ (губчатая кость) объемом 125 мм<sup>3</sup> помещали в суспензионные растворы КФС и инкубировали *in vitro* в условиях постоянной температуры и рН в вакууме в течение 12 и 48 часов. Предполагалось, что отрицательное давление при насыщении способно обеспечить более эффективную и равномерную адсорбцию КФС на поверхности трабекул ДКМ. Поддержание постоянного уровня рН было необходимым условием для предотвращения закисления среды в растворах с амСаР, что в предыдущих исследованиях негативно сказывалось на сорбции КФС образцами ДКМ.

Для оценки эффективности насыщения матриксов КФС в контрольных точках проводилось измерение концентрации кальция методом адсорбционной спектроскопии (Arsenazo III) в расчете на сухой вес образцов. Наибольшее количество кальция при инкубации в течение 12 ч наблюдалось в группе с амСаР и альбумином (73±3,9 мкг/мг), наименьшее – в группе с нГАп без добавления альбумина (16±2,5 мкг/мг). К 48 ч разница между крайними значениями минимизировалась, а средние данные по всем четырём группам находились в сравнительно узком диапазоне различий (97,5±1,2 мкг/мг соответственно).

При выполнении дифференциального гистологического анализа на локализацию кальциевых отложений (окраска по МакГи-Расселу, Ализариновый красный S, рН 4,2) было показано, что добавление альбумина способствует осаждению КФС непосредственно на поверхности трабекул (экстрафибрилярный тип минерализации), в то время как в группах без альбумина, осаждение депозитов кальция наблюдалось преимущественно в межтрабекулярном пространстве без признаков реминерализации коллагенового матрикса ДКМ.

Выполненное исследование показало перспективность подхода *in vitro* реминерализации ДКМ с помощью выбранных КФС в присутствии кальций-связывающего белка альбумина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям, с использованием МТБ ЦКП ИТЭБ РАН.



## **РОЛЬ ТИРОЗИН КИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА В ТИПА В РАЗВИТИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КАЛЬЦИЕВОЙ АКТИВНОСТИ В НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЯХ В ДИССОЦИИРОВАННЫХ КУЛЬТУРАХ ГИППОКАМПА**

**Воронова Н.В.<sup>1</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1</sup>, Ведунова М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

[voron.dzr@mail.ru](mailto:voron.dzr@mail.ru)

Исследования спонтанной кальциевой активности первичных культур гиппокампа при хроническом введении различных концентраций нейротрофического фактора головного мозга, селективного блокатора тирозинкиназного рецептора В типа и их комбинаций имеют значительную научную новизну, поскольку большая часть работ посвящена изучению краткосрочных эффектов действия нейротрофинов. Наибольшей аффинностью к BDNF имеет тирозинкиназный рецептор В типа. Взаимодействие BDNF с TrkB-рецептором запускает нескольких сигнальных механизмов, обеспечивающих его действие на синаптическую передачу сигнала в клетке. Целью исследования является изучение эффектов, оказываемых BDNF на уровне организации нейронных сетей. Объектом исследований *in vitro* служили первичные диссоциированные культуры клеток гиппокампа, полученные от 18-дневных мышинных эмбрионов линии СВА. Ежедневное добавление в среду культивирования нейротрофического фактора BDNF (1нг/мл), блокатора ANA и их совместная аппликация, осуществлялось, начиная с 3 дня развития культур *in vitro*. На 7, 10 и 14 день после начала курса добавления исследуемых веществ проводилась регистрация кальциевой активности первичных культур гиппокампа.

У первичных культур гиппокампа, по мере роста все больше клеток вовлекается в нейросетевую активность, возрастает частота и процент работающих клеток и к 14 дню она считается полноценной. К 10 дню процент клеток, проявляющих активность в группе с добавлением ANA12 (1 мкМ/мл) стал в 1,6 раза меньше, чем в интактных. Выявленный эффект имеет необратимый характер, активность культур не возвратилась к исходным показателям к 14 дню регистрации. В группе с добавлением обоих веществ процент работающих клеток сопоставим с группой с аппликацией BDNF. На 14 день регистрации доля клеток, проявляющих активность с добавлением BDNF стала достоверно больше, чем показатель в остальных группах. Таким образом, применение BDNF в концентрации 1 нг/мл стимулирует формирование спонтанной активности сетей. К 14 дню частота осцилляций в группе BDNF и ANA12 уменьшился и был достоверно отличным от интактных культур. У группы с ANA12 частота к 14 дню стала достоверно ниже, чем в интактной группе.

Таким образом, применение BDNF способствует увеличению синаптической активности гиппокампа, т.к. увеличилось не только количество работающих клеток, но и частота осцилляций, а блокада TrkB-рецепторов в течение развития первичных культур клеток гиппокампа приводит к угнетению спонтанной кальциевой активности нейронных сетей к 10 дню развития культуры и активность не возвращается к 14 дню культивирования.

## **ПОЛУЧЕНИЕ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МИКРОКОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ СОВМЕСТНОЙ ДОСТАВКИ ГИДРОФИЛЬНЫХ И ГИДРОФОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

**Петухова Д.Д.<sup>1</sup>, Кобякова М.И.<sup>2</sup>, Кочеткова О.Ю.<sup>2</sup>, Антонова О.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

[D1319731@yandex.ru](mailto:D1319731@yandex.ru)

Инкапсулирование гидрофобных веществ является весьма актуальной задачей, простое техническое решение которой открывает широкие перспективы для фармацевтики. Большинство разрабатываемых систем доставки лекарственных препаратов рассчитаны на загрузку и доставку одного препарата. Однако, комплексная терапия более эффективна и перспективна в отношении многих острых и хронических заболеваний. Совместная доставка лекарств имеет ряд преимуществ: подавление лекарственной резистентности, синергический эффект и контролируемое высвобождение каждого препарата. Стоит отметить, что работ направленных на получение со-инкапсулированных препаратов крайне мало.



Целью данной работы являлось получение гибридных полиэлектролитных микрокапсул (гПЭМК) для совместной эффективной доставки гидрофобных и гидрофильных соединений.

гПЭМК были получены в результате модификации методов гелеобразования *in situ* и методики поочередной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов (метод *layer-by-layer* (LbL)) на поверхности коллоидных частиц. На сформированную композитную карбонатную микрочастицу с инкорпорированным гидрофильным соединением BSA-FITC наносили слои PLGA (поли(L,D-лактид-ко-гликолид), CGP (сополимер хитозана с поли(L,L-лактидом), модифицированный желатиной) и олигомеров OLL – олиго(L-лактид), OLD - олиго(D-лактид) с растворенным гидрофобным соединением (родамин В изотиоцианат (RBITC)). В дальнейшем полученные микрочастицы, использовали в качестве основы для получения микрокапсул методом LbL. Поочередно адсорбировали биodeградируемые полимеры (поли-L-аргинин гидрохлорид (PArg) или поли-L-лизин (PLL) и декстран сульфат (DS)). На завершающей стадии получения гПЭМК удаляли карбонатное ядро.

Было проведено исследование влияние гПЭМК на жизнеспособность двух клеточных линий: адгезионной культуры мышечных фибробластов L929 и суспензионной культуры человеческих промиелоцитов HL60. Результаты показали отсутствие токсического эффекта гПЭМК различной архитектуры PLGA/CGP/OLL/OLD(PLL/DS)<sub>2</sub> на исследуемые клеточные линии как при соотношении гПЭМК/клетки 2:1, так и при соотношении 10:1. Так же, было исследовано влияние свободных полимеров PLGA, CGP, OLL и OLD (в концентрации 0,5 мкг/мл) на жизнеспособность клеток и показано, что полимеры в указанной концентрации не вызывали гибель клеток.

Изучение взаимодействия перитонеальных макрофагов с гПЭМК показало, что полученные контейнеры успешно проникают внутрь клеток. В течение 48 часов происходит частичная деградация микрокапсул с высвобождением как содержимого из гидрофильного (BSA-FITC) и гидрофобного слоя (RBITC) внутрь клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-315-00429\18.

## **ИНКАПСУЛЯЦИЯ ЛЮЦИФЕРАЗЫ В ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ**

**Попова Н.Р.<sup>1</sup>, Попов А.Л.<sup>1</sup>, Иванов В.К.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, <sup>2</sup> ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

[antonpopovleonid@gmail.com](mailto:antonpopovleonid@gmail.com)

Разработка новых эффективных систем доставки лекарств является одним из наиболее перспективных механизмов совершенствования схем лечения социально-значимых заболеваний. Большинство терапевтических агентов подвергаются деградации под воздействием агрессивной окружающей средой и не способны в полной мере выполнять свою функцию, что снижает эффективность лечения с их использованием. Особенно важно защищать соединения, которые могут быть повреждены различными физическими и химическими факторами (нагрев, облучение, окисление) для сохранения его нативной активности. Разработка микроструктур, сочетающих способность к защите инкапсулированного препарата и возможность его контролируемого высвобождения, представляет большой интерес в плане разработки новых систем доставки лекарств.

В этой работе представлен подход к изготовлению нового типа композитных микроконтейнеров (микрокапсул) с высокой степенью защиты от микроокружения и способностью к высвобождению инкапсулированного белка. Цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия (CeO<sub>2</sub>), обладающие уникальными антиоксидантными свойствами, были интегрированы в структуру полиэлектролитных микрокапсул в качестве защитной оболочки для инкапсулированной в ядро люциферазы (*Photinus pyralis*) от окисления низкомолекулярным агентом (пероксидом водорода). Проведенный комплексный анализ морфологических характеристик синтезированных микрокапсул различными методами (TEM, SEM, LSCM, EDX анализ и УФ- спектроскопия) подтвердил эффективную интеграцию наночастиц CeO<sub>2</sub> в структуру микрокапсул. Проведенные исследования показали, что эффективность защиты инкапсулированного белка не зависела от концентрации наночастиц в оболочке, при этом максимальная концентрация наночастиц (10<sup>-3</sup> М) в оболочке, по всей видимости, ограничивала доступ субстрата к ферменту, что приводило к снижению сигнала люминесценции фермента.



Гибридные микрокапсулы эффективно проникали в эмбриональные мышинные фибробласты, клетки линии Nela и MNNG/Hos, и не были для них токсичны (в концентрациях до 20 штук на клетку).

Предложенная структура микрокапсулы позволяет обеспечить «активную» и «пассивную» защиту инкапсулированного вещества в условиях агрессивной внешней среды, что может быть использовано при создании новых систем адресной доставки терапевтических препаратов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-60248.

## **РОЛЬ АКТИВАЦИИ ГЕТЕРОДИМЕРНОГО РЕЦЕПТОРА К ЭРИТРОПОЭТИНУ В ИЗМЕНЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В РЕПЕРФУЗИОННОМ ПЕРИОДЕ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6**

**Пчелин П.В.<sup>1</sup>, Глявина М.М.<sup>1,2</sup>, Жученко М.А.<sup>2,3</sup>, Щелчкова Н.А.<sup>2</sup>, Мухина И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Нижний Новгород; <sup>3</sup>ООО "Фармапарк", Москва, Россия

[ptch.pv@gmail.com](mailto:ptch.pv@gmail.com)

Ишемическое поражение головного мозга (ГМ) – социально значимая проблема фундаментальной и клинической медицины, на протяжении многих лет продолжает быть одним из основных факторов инвалидизации и смертности населения по всему миру. Цитокиновая субъединица CD131 гетеродимерного рецептора к эритропоэтину (ЕРО) в настоящее время рассматривается как потенциальная мишень для цитопротекции, стимуляция которой способна положительно влиять на функциональное состояние клеток в зоне ишемической полутени в реперфузионный период. В связи с этим актуальным представляется исследование одного из возможных механизмов такого влияния – изменения содержания регуляторных белков вследствие активации сигнальных путей в клетке.

В качестве объекта исследования использована ткань ГМ самцов мышей линии C57BL/6. Модель ишемии: транзиторная окклюзия средней мозговой артерии, время окклюзии – 1 час. Через 1 час после реперфузии в экспериментальной группе производилось внутривенное пятикратное введение агониста гетеродимерного рецептора к ЕРО (CdЕРО, ООО «Фармапарк», Россия) в дозе 50 мкг/кг, в контрольной группе – физиологического раствора. Определение содержания регуляторных белков производилось посредством метода иммуноферментного анализа в гомогенатах ГМ на 4, 10 и 20 сутки после транзиторной ишемии.

Введение агониста гетеродимерного рецептора к ЕРО в раннем постишемическом периоде предупреждало снижение содержания BDNF в ткани мозга мышей на 4-е сутки после ишемии/реперфузии ( $p=0,015$ ), наблюдаемое в контрольной группе, а также значительное увеличение уровня BDNF и GDNF на 10-е сутки ( $p=0,001$ ), вызванное транзиторной ишемией/реперфузией средней мозговой артерии. Активация гетеродимерного рецептора к ЕРО нормализовала содержание нейротрофических факторов, повышение уровня которых было обусловлено компенсаторными механизмами в ответ на ишемическое повреждение локального участка головного мозга мышей. На 20-е сутки постишемического периода достоверного изменения содержания изучаемых регуляторных белков под влиянием введения CdЕРО относительно контроля и интактного уровня не обнаружено.

Таким образом, активация гетеродимерного рецептора к ЕРО агонистом CD131 при его введении в первые часы после реперфузии не вызывает активации синтеза белков репарации в клетке – BDNF и GDNF, что, вероятно, обусловлено нейропротекторными механизмами действия в раннем периоде после ишемии/реперфузии.





## ВЛИЯНИЕ АЛЛЕРГЕНА DER P 2 НА АКТИВАЦИЮ КЛЕТОК КРОВИ ЭНДОТОКСИНАМИ

**Радзюкевич Я.В.<sup>1</sup>, Морозова А.А.<sup>1</sup>, Прохоренко И.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

[sibiryak93@mail.ru](mailto:sibiryak93@mail.ru)

Аллерген клеща домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 2) участвует в развитии астмы и аллергического ринита.

Попадающие в организм человека аллергены загрязнены эндотоксинами (липополисахаридами, ЛПС). ЛПС, продуцируемый грамотрицательными бактериями, является активатором клеток врождённого иммунитета. Показателем активации клеток крови является синтез провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  и хемокина IL-8 - ведущих цитокинов воспаления.

Известно, что Der 2 обеспечивает активацию клеток НЕК293 эндотоксинами, но в данный момент нет работ по действию Der p 2 и ЛПС на цельную кровь человека.

Цель работы - изучение роли аллергена Der p 2 в активации клеток крови ЛПС.

Исследование проводили на цельной крови условно здоровых доноров (n=8). Кровь инкубировали в 24-луночных планшетах в следующих вариантах: контрольная кровь и предварительно активированная : а) ЛПС *E.coli* 055:B5 (40 нг/мл); б) аллергеном Der p 2 (30 мкг/мл); в) совместным действием агонистов в тех же концентрациях. После добавления реагентов образцы инкубировали 6 ч в CO<sub>2</sub> инкубаторе при 37<sup>0</sup>С и 5% CO<sub>2</sub> и центрифугировали (10 мин, 1000 об/мин). Супернатант отбирали и замораживали при -20<sup>0</sup> С до измерения цитокинов методом ИФА.

Анализ содержания цитокина TNF- $\alpha$  в пробах показал, что ЛПС *E. coli* вызывает наработку TNF- $\alpha$  в концентрации 2,8 [1,7; 3,2] нг/мл, что было больше количества, нарабатываемого в ответ на Der p 2 (0,2 [0,1; 0,4] нг/мл). При одновременной активации крови аллергеном и ЛПС клетки секретируют наибольшее (4,2 [3,6; 5,1] нг/мл) количество TNF- $\alpha$ .

Анализ наработки клетками крови хемокина IL-8 в ответ на Der p 2 показал значительно меньшую наработку IL-8 (1,6 [1,1; 1,8] нг/мл), чем на эндотоксин (5,9 [4,5; 8,5] нг/мл). При одновременной активации клеток крови ЛПС и Der p 2 концентрация IL-8 в крови составила 10,2 [7,5; 11,6] нг/мл.

В литературе показана позитивная корреляция между IL-8 и TNF- $\alpha$  в крови пациентов с аллергической астмой. Нами был определён коэффициент корреляции между общей концентрацией этих цитокинов в крови, активированной агонистами и их комбинацией. Значительная корреляция (0,7) между IL-8 и TNF- $\alpha$  наблюдалась только при одновременном воздействии Der p 2 и ЛПС, что говорит о важной роли ЛПС в развитии аллергии. При активации клеток крови только ЛПС или только аллергеном количество цитокинов не коррелирует друг с другом.

Полученные результаты показывают потенцирующее действие аллергена Der p 2 на наработку провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-8 при активации клеток крови эндотоксином и важную роль ЛПС в развитии аллергического воспаления.



## IN VITRO МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ИНДУЦИРУЕМУЮ ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА МАКРОФАГАМИ

**Румянцева Т.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Москва, Россия

[gracerum@mail.ru](mailto:gracerum@mail.ru)

В последние два десятилетия во всем мире проводятся широкомасштабные исследования по использованию в регенеративной медицине стволовых клеток взрослого организма, в том числе мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК). Установлено, что ММСК обладают уникальными иммуномодулирующими свойствами, а именно, способностью ослаблять активность эффекторных клеток иммунной системы при трансплантации в организм. Благодаря этому трансплантированные ММСК избегают аллогенного отторжения как у людей, так и в экспериментальных моделях у животных.

Несмотря на уже проведенные широкие исследования, механизмы, которые обеспечивают иммуносупрессивные свойства ММСК, остаются до настоящего момента до конца не выявленными. Поэтому можно считать актуальной задачей изучение данных механизмов взаимодействия трансплантируемых ММСК с иммунокомпетентными клетками в системном кровотоке, в том числе с мононуклеарными клетками-фагоцитами.

Цель работы: изучение *in vitro* модифицирующих эффектов мезенхимальных стромальных клеток на уровень продукции активных форм кислорода моно- и полиморфнонуклеарами крови пациентов-доноров.

В работе были использованы четыре вида культур ММСК: ММСК, выделенные из костного мозга пациентов-доноров; фетальные ММСК человека; ММСК из костного мозга крыс и мышей.

Полученные данные в экспериментальных исследованиях свидетельствуют о том, что ММСК, выделенные из костного мозга человека, крыс, мышей и фетальные ММСК, а также их кондиционированные среды оказывают дозозависимое *in vitro* ингибирующее воздействие на зимозан-индуцируемую хемилюминисценцию моно- и полиморфнонуклеарных фагоцитов крови человека и перитонеальных макрофагов мышей. Интенсивность хемилюминисценции макрофагов связана с уровнем продукции активных форм кислорода. Степень угнетения хемилюминисцентного ответа прежде всего зависит от количественного соотношения макрофаги/ММСК, а также от концентрации использованных для исследований кондиционированных сред из под культур ММСК.

Можно предположить, что выявленный механизм ингибирования продукции активных форм кислорода может быть причастен к развитию иммуносупрессивного микроокружения при трансплантации ММСК.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА

**Сабирова А.Э.<sup>1</sup>, Павельев Р.С.<sup>1</sup>, Гарипов М.Р.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

[Alinka.zam@mail.ru](mailto:Alinka.zam@mail.ru)

Многие патогенные и условно-патогенные микроорганизмы формируют биопленки – сообщества микробных клеток, погруженные в полисахаридный матрикс. Биопленки образуются на поверхности слизистых, хронических язв, катетеров и имплантатов, и вызывают воспалительные осложнения в послеоперационном периоде. Бактерии в составе биопленки чрезвычайно устойчивы к биоцидам, антибиотикам и иммунной системе человека, быстро накапливают различные мутации и приобретают гены устойчивости к антибиотикам. Поэтому поиск новых эффективных антибактериальных соединений, эффективных в отношении клеток в составе биопленок, является актуальной задачей современной фармацевтики.

Одними из широко используемых в настоящее время антимикробных препаратов являются катионные поверхностно-активные соединения в виде четвертичных аммониевых солей, например, мирамистин и бензалкония хлорид. В НОЦ Фармацевтики КФУ на основе пиридоксина и фрагментов четвертичных аммониевых солей было синтезировано соединение Gr3, которое в



предварительных исследованиях продемонстрировало высокую эффективность против клеток *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*.

В отношении клеток стафилококков в составе биоплёнок соединение GP3 показало активность, сравнимую с бензалкония хлоридом, и выше чем у мирамистина. Резистентность бактерий к соединению возрастала в 8 раз в течение 7 пассажей, затем при снятии антибактериального воздействия значения МПК возвращались к исходным, в отличие от ванкомицина, в отношении которого приобретенная устойчивость сохранялась. В тесте Эймса не было выявлено генотоксичности соединения, в СОС-хромотесте ДНК повреждающая активность идентифицировалась при концентрациях GP3 выше 150 мг/л. Исследования цитотоксичности GP3 в отношении фибробластов кожи человека показали значения СС50 2-4 мг/л, что сравнимо с бензалкония хлоридом.

Таким образом, GP3 представляет собой новый потенциальный антисептик класса четвертичных аммониевых солей.

### **ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ЦИНКА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В СТРУКТУРАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС**

**Серёгина Е.С.<sup>1</sup>, Стельмашук О.А.<sup>1</sup>, Пьявченко Г.А.<sup>1,2</sup>, Алексеев А.Г.<sup>1</sup>, Воробьев Е.К.<sup>1</sup>,  
Кузнецова Е.А.<sup>1</sup>, Дрёмин В.В.<sup>1</sup>, Жеребцов Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО ОГУ имени И.С. Тургенева, Орёл; <sup>2</sup>ЗАО ФНПП "Ретиноиды", Россия

[e.s.seryogina@gmail.com](mailto:e.s.seryogina@gmail.com)

В данной работе была дана оценка изменений метаболических процессов в структурах коры головного мозга методом флуоресцентной спектроскопии в условии добавления соединений цинка в питьевую воду. Метод основан на возбуждении флуоресценции эндо- и экзогенных флуорофоров биоткани и регистрации спектра в видимой области.

Экспериментальные исследования выполняли на крысах-самцах линии Wistar возрастом 5 месяцев (n=6 в группе), полученных из питомника «Андреевка» ФГБУН "НЦБМТ" ФМБА России. Животных содержали в условиях вивария центра доклинических исследований ЗАО «Ретиноиды» в соответствии с принципами GLP. После двухнедельного карантина их разделили на 3 группы, которые в течение месяца получали ad libitum дистиллированную питьевую воду (1 группа), воду, содержащую сульфат цинка в дозе 3 мг/л (2 группа) и сукцинат цинка в дозе 100 мг/л (3 группа).

В качестве измерительного оборудования использовали комплекс «ЛАКК-М». Спектры флуоресценции регистрировали на длинах волн 365 нм и 450 нм на поверхности коры головного мозга крыс в течении минуты с интервалом 5-8 с. Для изучения состояния метаболических процессов были выбраны области моторной и зрительной коры каждого полушария.

Обработка полученных спектров выявила связь между полученными перорально веществами и интенсивностью флуоресценции в спектральной области излучения NADH и FAD. Отмечено, что интенсивность флуоресценции на длине волны 365 нм в области моторной коры для крыс 2-ой группы увеличивалась по сравнению с контрольной группой, что соответствует увеличению концентрации NADH и улучшению кислородного обмена и клеточного дыхания. У крыс 3-ей группы происходит резкое снижение интенсивности флуоресценции, что свидетельствует о замедлении метаболических процессов и падении концентрации коферментов NADH и FAD, подавлении процессов окислительного фосфорилирования и гликолиза. В зрительной области коры головного мозга изменение флуоресценции было выраженным, происходило резкое снижение интенсивности флуоресценции относительно контрольной группы. Оптические измерения флуоресценции подтвердились морфологическими изменениями в срезах мозга.

Таким образом, можно предположить наличие токсического действия сукцината цинка, поскольку происходит развитие гипоксии и снижение двигательных функций, что говорит о развитии патологических изменений в структурах коры головного мозга и о замедлении метаболических процессов в связи с падением концентрации коферментов NADH и FAD, в то время как применение сульфата цинка ведёт к активации метаболических процессов, улучшению оксигенации.





## ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПРОДУКЦИЕЙ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 4, 6 И ЭКСПРЕССИЕЙ К НИМ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Виткина Т.И.<sup>1</sup>, Сидлецкая К.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Владивостокский филиал ФГБНУ ДНЦ ФПД – НИИ МКВЛ, Владивосток, Россия

[d-karolina-a@mail.ru](mailto:d-karolina-a@mail.ru)

Цель – оценить взаимосвязи между сывороточными уровнями интерлейкина-4 (IL-4) и IL-6 и количеством Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>), экспрессирующих мембранные рецепторы к этим цитокинам (CD124 и CD126), в крови пациентов с хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) стабильного течения.

В исследование были включены 112 пациентов с ХОБЛ легкой, средней и тяжелой степени тяжести (с. т.) стабильного течения. В контрольную группу вошли 32 практически здоровых лица. Уровни IL-4, IL-6 определяли в сыворотке крови методом проточной цитометрии. Число CD4<sup>+</sup>-клеток, экспрессирующих рецепторы CD124 и CD126, определяли методом проточной цитометрии в периферической крови. Корреляционный анализ проводили при помощи коэффициента Спирмена (r), уровень значимости  $p < 0,05$ .

В группе контроля была отмечена сильная положительная корреляция между уровнем IL-4 и числом CD4<sup>+</sup>CD124<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,83$ ), концентрацией IL-6 и количеством CD4<sup>+</sup>CD124<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,77$ ), прямая связь средней силы между уровнем IL-6 и процентным содержанием CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,62$ ). При ХОБЛ легкой с. т. были обнаружены прямые корреляционные связи: связь средней силы – между уровнем IL-6 и количеством CD4<sup>+</sup>CD124<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,53$ ) и слабая связь – между содержанием IL-6 и числом CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,48$ ). В группе пациентов с ХОБЛ средней с. т. не было обнаружено статистически значимых связей между исследуемыми параметрами. При ХОБЛ тяжелой с. т. концентрация IL-6 сильно коррелировала с количеством исследуемых клеток: отрицательно – с уровнем CD4<sup>+</sup>CD124<sup>+</sup>-клеток ( $r=-0,85$ ) и положительно – с числом CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,96$ ).

Установлено, что у здоровых лиц и пациентов с ХОБЛ легкой с. т. возрастание продукции IL-6 модулировалось усилением экспрессии CD124 на Т-хелперах. При тяжелой с. т. ХОБЛ наблюдалась обратная связь между уровнем IL-6 и числом CD4<sup>+</sup>CD124<sup>+</sup>, что свидетельствует об отсутствии адекватной ответной реакции на воспалительный стимул. Таким образом, формирование системного воспалительного процесса при ХОБЛ на начальных этапах сопровождается рассогласованием сигнальных путей IL-6 и IL-4, что приводит к блокированию противовоспалительных механизмов. При ХОБЛ тяжелой с. т. была отмечена сильная связь между уровнем IL-6 и экспрессией его рецептора на Т-хелперах крови, что свидетельствует о важной роли классического сигнального пути, опосредующего противовоспалительное действие IL-6.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛИПЕПТИДА АРНСЗ НА МЫШАХ CD-1

Скобцова Л.А.

Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

[lyu2000@inbox.ru](mailto:lyu2000@inbox.ru)

Исследование общетоксического воздействия на тест-систему проводили по средством определения максимальной толерантной дозы (МТД) препарата АРНСЗ при его однократном: внутривенном, внутримышечном и подкожном введении. В исследовании были использованы самки мышей аутбредного стока CD-1. Использование самок связано с тем, что они более чувствительны в токсикологических исследованиях при определении МТД. Данное исследование выполнено в соответствии с требованиями действующего Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ и согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации. Процедуры с животными были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией ФИБХ РАН.

Исследование начиналось с дозы 50 мкг/кг вследствие отсутствия литературных данных о токсичности испытуемого рекомбинантного полипептида, в дальнейшем дозы были увеличены,



т.к. не наблюдалось гибель. Увеличение дозы до 300 мкг/кг не вызывало проявления токсических эффектов. В дозе 1000 мкг/кг наблюдали выраженное облизывание места введения, что указывает на раздражающее действие исследуемого вещества. В дальнейшем доза была увеличена до 2000 мкг/кг, была обнаружена гибель животных. Снижение дозы до 1800 мкг/кг также вызывало гибель экспериментального животного. Снижение дозы АРНСЗ до 1500 мкг/кг вызывало выраженные токсические эффекты. При этом гибель животных составляла одно животное из пяти. Увеличение дозы до 1600 мкг/кг вызвало гибель 2 животных из 5 и наблюдались выраженные токсические эффекты после введения (вялость, снижение двигательной активности).

Внутримышечное и подкожное введение полипептида АРНСЗ в дозе 2000 мг/кг 3-м животным в группе не вызвало гибели животных. После внутримышечного введения в день исследования наблюдали вялость экспериментальных животных и незначительно облизывания места введения, однако, через 1 час после введения признаки у экспериментальных животных не прослеживались. Аналогичные признаки наблюдали и при подкожном введении, незначительное облизывание места введения, и вялость, признаки не наблюдались через 2 часа после введения.

При макроскопическом исследовании полостей тела и органов и микроскопическом гистроструктуры органов выживших животных через 14 дней у выживших животных после введения препарата АРНСЗ при различных способах введения морфологических признаков отклонения от общепринятой нормы выявлено не было. Таким образом, исследуемый рекомбинантный полипептид АРНСЗ относится к малотоксичным вещества как по ГОСТ 12.1.007.-76 так и классификацией химических веществ OECD, при различных способах введения.

## **ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ ЧАСТИЦЫ КАК ИНСТРУМЕНТ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

**Случанко Т.Е.<sup>1</sup>, Шинкаренко Т.О.<sup>1</sup>, Стельмашук О.А.<sup>1</sup>, Винокуров А.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Орловский государственный университет им. И. С. Тургенева, Орёл, Россия

[tanya.sluchanko@mail.ru](mailto:tanya.sluchanko@mail.ru)

Термин «биодоступность» является неотъемлемой частью при создании новых лекарственных форм. Применение наночастиц как средств адресной доставки позволяет увеличить биодоступность в направленном месте и уменьшить токсический эффект на здоровые ткани и органы. С целью разработки липосомального носителя, гарантирующего направленную доставку и контролируемое высвобождение лекарственного вещества к месту их назначения, были созданы специальные липосомы: 1. Иммунолипосомы. Полиэтиленгликоль - модифицированные везикулы, разработанные для ускользания от распознавания ретикулоэндотелиальной системы, содержащие вектор в виде специфически моноклональных антител и позволяющие модулировать распределение липосом в органах и тканях. 2. Катионные липосомы. Содержат в своем составе заряженный липид, тропный к эндотелию сосудов. Используют для доставки генетического материала в клетку. 3. рН-чувствительные липосомы. Наночастицы способны селективно высвобождать лекарственное вещество в тканях с заниженным значением рН. Это характерно для терапии опухолевых заболеваний, имеющих значение рН тканей немного ниже здоровых. 4. Термочувствительные липосомы. Липосомы состоят из фосфолипидов с температурой фазового перехода выше, чем температура тела, тем самым локализуясь в определенной ткани-мишени путем местного нагревания. 5. Магнитоуправляемые липосомы. Наночастицы магнитного материала адресно доставляются в требуемое место, концентрируются и освобождаются под действием магнитного поля. Спустя долгое время выделены новые и перспективные лиганды для таргетной доставки липосом: 1. Антитело - опосредованная липосомальная доставка. Это направленный транспорт наночастиц с помощью моноклональных антител или Fab<sup>1</sup>-фрагментов моноклональных антител. 2. Фолат – опосредованная доставка. Фолатные рецепторы экспрессированы на опухолевых клетках при раке яичников, толстой кишки, молочной железы, легких, почечно-клеточной карциноме, метастазах эпителиальных опухолей в головной мозг и нейроэндокринной карциноме, поэтому целесообразно использовать фолиевую кислоту при создании модифицированных липосом. 3. Трансферрин – опосредованная доставка. Рецепторы трансферрина экспрессированы на поверхности множества опухолевых клеток, поэтому сам трансферрин является целевым лигандом для направленного транспорта липосом в опухоль. Развитие и поиск новых целенаправленных липосомальных систем доставки лекарственных



веществ до конца не закончен, так как носители лекарственных веществ открывают новые возможности обеспечения высокого уровня избирательного действия и направленной их доставки.

## **ВЛИЯНИЕ ПЕНТАМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub> НА АКТИВНОСТЬ АЛЬДОЗОРЕДУКТАЗЫ И ПРОЦЕСС ГЛИКИРОВАНИЯ**

**Солдатова Ю.В.<sup>1</sup>, Жиленков А.В.<sup>1</sup>, Файнгольд И.И.<sup>1</sup> Полетаева Д.А.<sup>1</sup>, Трошин П.А.<sup>1</sup>, Котельникова Р.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Россия

[soldatovayv@gmail.com](mailto:soldatovayv@gmail.com)

По данным ВОЗ, развитие хронических диабетических осложнений - главная причина инвалидизации и смертности больных сахарным диабетом 2 типа (СД2). Усиление свободнорадикального окисления, повышение неферментативного гликирования белков, активизация полиольного пути метаболизма глюкозы считаются одними из основных факторов патогенеза осложнений, связанных с диабетом. В настоящее время ингибиторы альдозоредуктазы (АР) и гликирования являются потенциальными терапевтическими агентами для лечения диабета и его осложнений.

В работе изучалось влияние восьми водорастворимых пентааминокислотных производных фуллеренов (ППФ) на ферментативную активность альдозоредуктазы, перекисное окисление липидов (ПОЛ) и неферментативный процесс гликирования белков. Было показано, что все исследуемые соединения обладают выраженной антиоксидантной активностью и практически все (кроме GI-396) – антирадикальной. Наиболее активными антиоксидантом является соединение GI-400. Производные GI-349, 364, 377, 380, 400 достоверно ингибируют альдозоредуктазу в концентрации  $10^{-4}$  М. Наиболее эффективными ингибиторами являются GI-349 и GI-400, ингибирующие АР на 51 и 40 % соответственно. Для соединения GI -400, в котором к сфероиду фуллерена C<sub>60</sub> присоединялось противопаркинсонический препарат дигидроксифенилаланин (левадопа) был установлен механизм ингибирования фермента. Показано, GI-400 конкурентно ингибирует АР с константой ингибирования равной  $1,1 \cdot 10^{-5}$  М.

Также мы исследовали влияние ряда ППФ на неферментативный процесс гликирования белков *in vitro*. Показано, что исследуемые ППФ обладают антигликирующей активностью, были определены IC<sub>50</sub> соединений. Наиболее эффективные соединения являются GI-349 и GI-400 с IC<sub>50</sub> равными 30,0 и 15,8 мкМ соответственно.

По результатам исследований было выбрано соединение –лидер - гибридная фуллереновая структура GI-400 (C<sub>60</sub>-L-Дора). Установлено, что это соединение транспортируется в гидрофобные сайты фосфолипидных мембран, практически нетоксично, обладает выраженной антиоксидантной активностью и эффективно действует на мишени СД2, что позволяет рекомендовать его для углубленных исследований в качестве потенциального лекарственного препарата для лечения диабетических патологий.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий-2018» и НОЦ МГОУ.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЕЙ АСТРАГАЛА ОБНАЖЕННОГО *ASTRAGALUS DENUDATUS*

**Сулейманова М.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Дагестанский Государственный Университет, Махачкала, Россия

[maripat1996@gmail.com](mailto:maripat1996@gmail.com)

В настоящее время в медицине и фармации активно изучаются лекарственные растения, которые обладают комплексом лечебных свойств. К таким растениям относятся представители рода астрагаловых. Астрагаловые перспективны для изготовления лекарственных средств, так как обладают рядом лечебных свойств: антимикробным, иммуномодулирующим, антиоксидантным, антигипоксическим, ранозаживляющим, сосудотонизирующим и даже омолаживающим. Лечебные свойства астрагаловых во многом определяются их антиоксидантной активностью, обусловленной высоким содержанием селена – до 1,5 мг/кг. Однако многие виды астрагаловых, в том числе астрагал обнаженный, изучены недостаточно, что сдерживает их практическое применение.

Объектом исследования является астрагал обнаженный, который представляет собой небольшой кустарник подрода трагакантовых, произрастающий на территории Кавказа. Он применяется в народной медицине как гипотензивное и общеукрепляющее средство.

Для проведения фитохимического анализа была определена доброкачественность сырья высушенных корней и надземных частей астрагала по показателям влажности, общей золы и золы нерастворимой в соляной кислоте. Показатели доброкачественности соответствовали требованиям ГФ XI издания.

Определение суммарного содержания биологически активных веществ (БАВ) в сырье выявило наличие таких веществ как флавоноиды, свободные органические кислоты, аскорбиновая кислота, дубильные вещества. Содержание этих соединений составило 1.05, 0.08, 2.9 и 3.6 % на 1 г соответственно. Микроэлементный анализ, выполненный методами атомно-эмиссионной и атомно-адсорбционной спектроскопии, выявил наличие таких элементов, как Mg, Cu, Zn, Mn, Co, Se.

По методу Сирота Т.В. была определена антиоксидантная активность сухих экстрактов растения. Она составила 65 % для экстрактов корней и 53 % для экстрактов надземных частей.

Таким образом, сырье астрагала обнаженного богато БАВ и минеральным составом, а также обладает высокой антиоксидантной активностью, что делает его перспективным для изготовления лекарственных форм.

## ОЦЕНКА МИКРОБИОМА ТОНКОГО КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

**Тажитдинова Э.М.<sup>1</sup>, Полякова Е.А.<sup>1</sup>, Сташкевич Д.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Челябинский Государственный Университет, Челябинск, Россия

[tazhitdinova95@mail.ru](mailto:tazhitdinova95@mail.ru)

Неспецифический язвенный колит (НЯК) - это хроническое рецидивирующее заболевание толстой кишки с тяжелым диффузным язвенно-воспалительным поражением её слизистой оболочки с развитием местных и системных осложнений. В последние годы появились доказательства, что кишечная микробиота вносит вклад в патогенез хронических воспалительных заболеваний кишечника, в том числе неспецифического язвенного колита. Цель нашей работы: установить особенности микробиологического статуса больных НЯК методом газовой хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров. В исследование было включено 52 человека с диагнозом НЯК. Из них 27 женщин и 25 мужчин. В контрольную группу входили 12 мужчин и 3 женщины — потенциальные доноры стволовой клетки (ГБУЗ Челябинская областная станция переливания крови). Для изучения качественного и количественного состава микробиоты применяли метод газовой хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров с масс-селективным детектором *Agilent Technologies 5975*. Статистическая обработка данных: разведывательная техника анализа главных компонент по алгоритму САТРСА с последующими апостериорными парными сравнениями по Коноверу – Инману в рамках теста Краскела – Уоллиса.



В ходе проведенного исследования установлены особенности состава и структуры микробиоты тонкого кишечника больных НЯК в зависимости от пола больных, но не связанные с локализацией язвенно-воспалительного процесса. Изменение структуры микробиоты тонкого кишечника характеризуется уменьшением общего числа липидных маркеров микроорганизмов основных пяти филотипов за счет снижения числа представителей типов *Fusobacterium* и *Proteobacteria* у мужчин, а у женщин за счет снижения представителей всех филотипов, кроме *Bacteroidetes*. У мужчин, больных НЯК, повышен уровень вида *Eggerthella lenta* и рода *Bifidobacterium spp.* относительно группы доноров. В группе женщин, больных НЯК, было снижено количество вида *Eggerthella lenta*, родов *Bifidobacterium spp.* и *Aspergillus spp.* по сравнению с аналогичными показателями группы мужчин.

Полученные данные могут свидетельствовать о том, что изменения микробиоты затрагивают и тонкий кишечник, что может приводить к нарушению метаболизма организма в целом и находить отражение в вариабельности течения и в восприимчивости к лечению.

## **ВЛИЯНИЕ ЦИСЛАТИНА И ПАКЛИТАКСЕЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА**

**Тазетдинова Л.Г.<sup>1</sup>, Алексеева Е.А.<sup>1</sup>, Соловьева В.В.<sup>1</sup>, Гилязиева З.Е.<sup>1</sup>, Архипова С.С.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

[safinaleys@gmail.com](mailto:safinaleys@gmail.com)

Микроокружение опухоли представляет собой динамическую среду, состоящую из различных типов клеток, в том числе и мезенхимных стволовых клеток (МСК). Известно, что МСК способны избирательно мигрировать в области опухолеобразования. Тропизм к опухолевому микроокружению и способность поглощать противоопухолевые препараты без проявления существенных признаков токсичности, МСК можно рассматривать в качестве перспективного вектора для доставки противоопухолевых агентов. В связи с этим, необходимо исследовать влияние противоопухолевых препаратов на ультраструктуру МСК.

МСК из жировой ткани были выделены с помощью ферментативной обработки 0,2% раствором коллагеназы (159 ПЕ/мг). Выделенные клетки имели фибробласто-подобную морфологию и обладали способностью к длительной пролиферации *in vitro* (7–8 пассажей).

В настоящей работе исследовано влияние на ультраструктуру МСК наиболее часто применяемых для терапии солидных опухолей химиотерапевтических препаратов цисплатин (CDDP) и паклитаксел (РТХ).

Нетоксичные концентрации CDDP и РТХ для МСК подбирали с использованием MTS-теста. Показано, что концентрации CDDP 5 мкг/мл, а РТХ 30 мкг/мл существенно не влияли на жизнеспособность МСК и в дальнейшем были использованы для загрузки клеток.

Для электронной микроскопии МСК загружали CDDP и РТХ в течение 24 часов в 6-луночном планшете. Ультраструктура МСК была исследована с помощью трансмиссионного электронного микроскопа Hitachi HT7700.

На полученных снимках было показано, что необработанные препаратами МСК крупные круглые клетки с ядром неправильной формы, содержащие эухроматин с одним или несколькими ядрышками. МСК, загруженные CDDP, не имели значительных изменений в ультраструктуре. Но нетоксическая концентрация РТХ значительно увеличило содержание в цитоплазме МСК вакуолей. Были выявлены микровезикулы на различных этапах формирования. Плазмолемма имела множественные инвагинации вытянутой формы, так же в большом количестве в экстраклеточном пространстве присутствовали экзосомы. Выявлено увеличение цитоплазматических вакуоле-подобных структур, предположительно заполненных противоопухолевым препаратом РТХ.

Наша работа показывает, что в нетоксичных концентрациях данные препараты существенно не влияли на активность митохондриальных ферментов и ультраструктуру загруженных МСК. Так же нетоксичные концентрации могут быть использованы для дальнейших исследований и разработок методов терапии онкологических заболеваний с использованием МСК.





## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОТРИХИНЕЛЛЕЗНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛУПАЗИТИЧЕСКОГО КУСТАРНИКА ОМЕЛА БЕЛАЯ (*VISCUM ALBUM L.*)

Багаева У.В.<sup>1</sup>, Темботова М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Северо-Осетинский государственный университет имени К. Л. Хетагурова,  
Владикавказ, Россия

[tembotova.m.r@gmail.com](mailto:tembotova.m.r@gmail.com)

Методы лечения гельминтозов базируются на применении широкого ассортимента антигельминтных препаратов, использование которых может вызывать нежелательные побочные эффекты, наносящие вред здоровью животных и человека. В связи с этим возникает необходимость совершенствования имеющихся методов лечения, а также поиск новых препаратов, оказывающих выраженное противогельминтное действие с минимальными побочными эффектами. Омела белая (*Viscum album L.*) является материалом для глубоких клинических и фармацевтических исследований, ввиду богатого содержания в вегетативных частях растения вискотоксина, полисахаридов и лектинов.

Терапевтическую эффективность омелы белой изучали в лабораторных условиях на крысах линии *Wistar*, экспериментально инвазированных трихинеллезом (*Trichinella spiralis*). Животных разделяли на 3 группы по 7 особей в каждой: 1 – контрольная (зараженные, не получавшие омелу); 2 и 3 группы – зараженные, получавшие омелу из расчета 9 мг/особь/в сутки и 18 мг/особь/в сутки, соответственно. Курс лечения составлял три дня, суточная доза делилась на два приема. В эксперименте использован порошок, приготовленный из сухих листьев, молодых побегов и ягод растения. Животных заражали одинаковым количеством личинок – по 25 на особь. Крыс взвешивали для расчета дозы приготовленного препарата. Начало лечения проводили на стадии миграции личинок. Исследованно по 10 групп скелетных мышц, учитывая среднее количество личинок на 1 г мышечной массы каждого особи в опытных и контрольной группах.

В результате исследования установлено, что Омела белая обладает противотрихинеллезным действием. У животных контрольной группы личинки трихинелл выявлены во всех десяти исследованных мышцах. Интенсивность инвазии (ИИ) различных мышц в среднем составила 8,38 экз. и варьировала от 1 (поясничные) до 24 (диафрагма) личинок на 1 г мышечной массы. У опытных животных второй группы, личинки трихинелл обнаружены с разной ИИ в 7 группах мышц из 10 исследованных. Среднее количество личинок трихинелл в 1г мышечной массы составило 1,5 экз., что в 5,4 раза меньше в сравнении с ИИ в контрольной группе. У животных 3-й группы единичные личинки выявлены только в межреберных – по 1 капсуле и в мышцах диафрагмы – от 0 до 2 экз. Данный факт указывает о частичном антигельминтном действии омелы на стадии миграции личинок трихинелл в организме хозяина и, возможно, недостаточной дозе для более выраженного эффекта. Полученные результаты указывают на необходимость проведения дальнейших исследований антигельминтных свойств омелы белой, с целью повышения её противотрихинеллезной эффективности.

## ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮКС-ШТАММОВ E.COLI

Тесаев С. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Чеченский Государственный Университет, Грозный, Россия

[avnsolgon@mail.ru](mailto:avnsolgon@mail.ru)

В современной науке для выявления биологической активности факторов окружающей среды активно применяются биосенсоры, фундаментом которых является использование люминесцирующих бактерий *Escherichia coli*, имеющих плазмиду. В плазмиду встроена генетическая конструкция с индуцируемым промотором, спаянным с lux-генами люминесцирующих бактерий в качестве генов-репортеров. Подобные штаммы предложены для детекции описательного стресса, обнаружения генотоксикантов, антибиотиков и тяжёлых металлов в окружающей среде. Целью данной работы является исследование генотоксичности фармакологического препарата ципрофлоксацина по способности индуцировать окислительный стресс и ДНК-протекторную активность в клетках *E.coli*. В эксперименте были использованы lux-биосенсоры *Escherichia coli* MG1655 (pRecA-lux), *E.coli* MG1655 (pKatG-lux) и *E.coli* MG1655



(pSoxS-lux) детектирующие окислительный стресс и ДНК-протекторную активность. Определителем ДНК-тропного действия использован штамм *E.coli* MG1655 (pRecA-lux) с SOS промотором pRecA, репрессором которого является белок LexA. Для обнаружения окислительного стресса использованы штаммы *E.coli* MG1655 (pKatG-lux) и *E.coli* MG1655 (pSoxS-lux) с промоторами pKatG и pSoxS. Промотор pKatG (репрессор OxyR) специфически реагирует на супероксид-анион-радикал. Под влиянием ДНК-повреждающих и индуцирующих окислительный стресс веществ, начинает стремительно производить люцеферин-люцеферазный комплекс, что приводит к повышению уровня биолуминесценции. Ципрофлоксацин - ингибирует бактериальную ДНК-гиразу (топоизомеразы II и IV, ответственные за процесс суперспирализации хромосомной ДНК вокруг ядерной РНК, что необходимо для считывания генетической информации), нарушает синтез ДНК, рост и деление бактерий; вызывает выраженные морфологические изменения (в т.ч. клеточной стенки и мембран) и быструю гибель бактериальной клетки. В эксперименте было взято лекарственное вещество ципрофлоксацин в концентрациях  $6 \cdot 10^{-10}$  -  $6 \cdot 10^{-4}$  М. Достоверное повышение уровня свечения при добавлении ципрофлоксацина наблюдалось у штамма *E.coli* (pRecA-lux) при  $6 \cdot 10^{-9}$  М, а максимальный уровень свечения, наблюдался при  $6 \cdot 10^{-8}$  М, что говорит о том, что данное лекарство оказывает ДНК-тропное действие на клетки *E.coli*. У штаммов *E.coli* (pSoxS-lux) и (pKatG-lux) данное вещество не индуцирует люминесценцию, следовательно, не провоцирует в клетках бактерий окислительный стресс. Таким образом, ципрофлоксацин оказывает генотоксическое действие на клетки *E.coli* повреждая ДНК.

### **АКТИВАЦИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО СИГНАЛЬНОГО ПУТИ С УЧАСТИЕМ RIZK ИНДУЦИРУЕТ ПОЯВЛЕНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ В НЕЙРОНАХ КОРЫ МОЗГА С МУТАЦИЕЙ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SIP1**

**Туровский Е. А.<sup>1</sup>, Туровская М. В.<sup>1</sup>, Бабаев А. А.<sup>2</sup>, Тарабыкин В. С.<sup>2</sup> Зинченко В. П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино; <sup>2</sup> ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

[turovsky.84@mail.ru](mailto:turovsky.84@mail.ru)

Мутация транскрипционного фактора Sip1 играет ведущую роль в патогенезе синдрома Мовата-Вильсона, который также характеризуется наличием выраженных признаков эпилепсии у пациентов. На уровне нейронов коры мозга, гетерозиготные мыши с мутацией Sip1 характеризуются повышенной чувствительностью к активаторам AMPA-рецепторов, тогда как для гомозигот показано формирование резистентности к этим агонистам. Такие нарушения возбуждающей сигнализации, сопровождающие мутацию, отражаются на феномене гипоксического прекондиционирования. AMPA-рецепторы являются ионотропными рецепторами глутамата, но обладают слабой проводимостью для  $Ca^{2+}$ . В норме они практически не проницаемы для ионов  $Ca^{2+}$  за счет присутствия GluA2-субъединицы. Однако, при ишемии происходит уменьшение экспрессии этих субъединиц и даже кратковременная ишемия мозга способна оказывать значительное влияние на активность AMPA-рецепторов, что может приводить к постишемической гибели клеток. Эксперименты были выполнены на первичных нейроглиальных культурах, полученных из коры и ствола (мутация не проявляется, служили контролем) мозга гомозиготных мышей с мутацией Sip1. С помощью флуоресцентной микроскопии удалось показать, что нейроны коры, полученные из мозга гомозиготных Sip1-мышей характеризуются отсутствием эффекта гипоксического прекондиционирования, тогда как у нейронов ствола мозга, полученных из тех же особей происходит последовательное подавление амплитуды  $Ca^{2+}$ -ответов на аппликацию селективного агониста AMPA-рецепторов – 5-Fluorowillardiine кратковременными эпизодами гипоксии. Этот феномен быстрого гипоксического прекондиционирования, возникающий в нейронах ствола мозга Sip1-гомозиготных мышей так же как и отсутствие этого феномена в нейронах коры мозга не определяется активностью AMPA-рецепторов, в которых отсутствует GluA2-субъединица. Ведущим механизмом, ответственным за этот процесс является гипоксия-индуцированная десенситизация AMPA-рецепторов, которая отсутствует у нейронов коры с мутацией Sip1. Однако, активация прекондиционирования в этих нейронах возможна за счет воздействия на сигнальный путь с участием фосфоинозитид-3-киназы с помощью селективных агонистов и противовоспалительного цитокина – интерлейкина-10, который



оказывал быстрый нейропротекторный эффект уже через 15 минут. Длительное воздействие интерлейкина-10 (24 часа) на корковые нейроны совпадает с увеличением экспрессии GluA2-субъединиц AMPA-рецепторов, что усиливает его защитный эффект от гипоксии *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президента РФ – МК-117.2017.4 и МК-626.2018.4.

## **ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ СЕТЧАТКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ СИНИМ СВЕТОМ**

**Фахранурова Л.И.<sup>1</sup>, Ермаков А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

[LFakhranurova@gmail.com](mailto:LFakhranurova@gmail.com)

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) характеризуется необратимым прогрессирующим поражением центральной фотоактивной зоны сетчатки и наиболее часто вызывает потерю зрения среди населения развитых стран мира. В последнее время существенную роль в патогенезе ВМД отводят экспозиции солнечных лучей. Наши данные говорят о том, что наибольший вред для клеток пигментного эпителия сетчатки наносит свет в синей части спектра. В настоящей работе исследовалась транскрипционная активность генов, вовлеченных в клеточный метаболизм пигментного эпителия сетчатки, под действием облучения синим светом.

Наибольшие изменения транскрипционной активности исследуемых генов в клетках пигментного эпителия наблюдались после их облучения светом в течение 10 мин, особенно генов - маркеров окислительного стресса и генов-маркеров некроза. Так через час после облучения увеличивалась концентрация мРНК генов, вовлеченных в развитие окислительного стресса GPX2, CYBB, DUOX1, DUOX2, NOX5 и HMOX1. Также наблюдали увеличение экспрессии ген-маркеров некроза - FOXI1 и RAB25. Если посмотреть на динамику развития ответа на синий свет, то мы наблюдали снижение активности маркеров клеточной гибели, однако, маркеры окислительного стресса оказывались повышенными и на третьи сутки после облучения. Например, для генов GPX5, PTGS1 и APOE наблюдался постоянный повышенный уровень транскрипции. Интересно, что на 3 сутки происходило увеличение концентрации мРНК для большого количества генов, вовлеченных в развитие окислительного стресса, в частности для генов GPX2, GSTP1, DUOX2, PTGS1, APOE, MT3, SOD3, ALOX12, NOX4, UCP2, BNIP3, DHCR24, HSPA1A, SIRT2, HSP90AA1, POLRMT, TFAM.

Пигментный эпителий выполняет огромное количество функций. Дисфункция или развивающиеся дистрофические процессы в пигментном эпителии в последствие могут привести к тяжелым результатам.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и правительства Московской области в рамках научного проекта № 17-44-500740, поддержке гранта РФФИ № 18-015-00447 А и гранта Президента МК-1880.2017.7.





## ЗАКИСЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЫ ЛАКТАТОМ И ПИРУВАТОМ АКТИВИРУЕТ МИТОФАГИЮ В КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SH-SY5Y

**Федотова Е.И.<sup>1</sup>, Мальцева В.Н.<sup>1</sup>, Бережнов А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[delf-fenka@rambler.ru](mailto:delf-fenka@rambler.ru)

Ранее нами было показано (Berezhnov et al., 2016), что закисление внутриклеточной среды протонофором FCCP и нигерицином вызывает активацию селективной аутофагии митохондрий (митофагии) в клетках нейробластомы SH-SY5Y. Эти данные позволяют предложить новый способ терапевтического воздействия при заболеваниях, связанных с нарушениями митофагии/аутофагии, в первую очередь, при болезни Паркинсона. В данной работе мы сосредоточились на поиске нетоксичных способов активации митофагии в клетках через снижение внутриклеточного pH. Была проведена оценка влияния различных воздействий, приводящих к закислению внутриклеточной среды в нейронах мозга крысы и клетках нейробластомы SH-SY5Y. Среди исследуемых воздействий – пируват натрия, лактат, лактат натрия, другие органические кислоты (пропионат, бутират) – соединения, обеспечивающие кратковременное и/или долговременное закисление внеклеточной среды. Эксперименты проводили методами флуоресцентной и конфокальной микроскопии, регистрации уровня мРНК генов-маркеров митофагии/аутофагии.

После получения кривых зависимости уровня внутриклеточного pH (измерено с помощью BCECF) от концентрации кислот были выбраны воздействия и концентрации соединений, вызывающие эффективное кратковременное или долговременное закисление цитозоля клеток, сравнимое по амплитуде с действием 10 мкМ FCCP или 3-6 мкМ нигерицина. Пропионат и бутират оказывали сильный токсический эффект на клетки и в дальнейшей работе не применялись.

Было показано, что лактат натрия и пируват натрия в миллимолярных концентрациях не вызывают гибели клеток (двойное окрашивание Hoechst 33342 + PI) при воздействии в течение 2 и 24 часов, эти воздействия не приводят к существенным изменениям в уровне митохондриального NADH (измерения аутофлуоресценции) и митохондриального потенциала (измерено по флуоресценции Rhodamine 123 и JC-1). Воздействие лактата (более 5 мМ) приводило к набуханию клеток, снижению митохондриального потенциала и снижению жизнеспособности клеток.

Методами количественной оценки колокализации митохондрий и лизосом (Mitotracker Green + LysoTracker Red) и уровня мРНК маркеров митофагии показано, что пируват натрия, лактат натрия и молочная кислота в концентрациях 5-20 мМ вызывают индукцию митофагии в клетках, сопоставимую по амплитуде с воздействием 10 мкМ FCCP.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-02021.

## АНАЛИЗ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ

**Хасаева А. И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Чеченский Государственный Университет, Грозный, Россия

[zalina47@bk.ru](mailto:zalina47@bk.ru)

Нами исследована генотоксичность липоевой кислоты по способности вызывать оксидативный стресс и ДНК-протекторную активность в клетках E.coli. Использованы lux-биосенсоры E.coli MG1655 (pRecA-lux), E.coli MG1655 (pKatG-lux), E.coli MG1655 (pSoxS-lux). Чтобы определить ДНК-тропное действие использовали штамм E.coli MG1655 (pRecA-lux), репрессором которого является белок LexA с SOS-промотором RecA. Для выявления оксидативного стресса использовали штаммы E.coli MG1655 (pKatG-lux), E.coli MG1655 (pSoxS-lux) с промоторами PkatG, PsoxS. Своёобразно реагирует на перекись водорода, органические пероксиды промотор PkatG (репрессор OxyR), а промотор PsoxS своёобразно реагирует на супероксид-анион-радикал.

Липоевая кислота-эндогенный антиоксидант, имеющий способность уничтожать свободные радикалы. Кроме того липоевая кислота восстанавливает состояние печени, устраняя ее выраженные нарушения при хронических заболеваниях, таких как циррозы и гепатиты, а также



выводит из организма тяжелые металлы и токсические вещества. Липоевая кислота оказывает инсулиноподобное воздействие, заменяя инсулин при его нехватке. За счет антиоксидантного эффекта липоевая кислота содействует возобновлению структуры нервной ткани, благодаря чему при использовании этого вещества улучшается концентрация внимания, память и зрение. Благодаря липоевой кислоте происходит ускорение и поддержание выработки АТФ в клетках, которая является многосторонним энергетическим субстратом, необходимым для течения биохимических реакций с расходом энергии.

По степени повышению уровня люминесценции биосенсоров проводили оценку генотоксичных свойств тестируемой липоевой кислоты. Отклик штамма на воздействие липоевой кислоты определяли на микропланшетном люминометре Luminometer photometer LM 01A.

При выполнении опыта в качестве положительных контролей для биосенсоров E.coli MG1655 (pRecA-lux), E.coli MG1655 (pKatG-lux), E.coli MG1655 (pSoxS-lux) применялись антибактериальный диоксидин ( $2,25 \cdot 10^{-5} \text{M}$ ), перекись водорода ( $10^{-5} \text{M}$ ) и паракват ( $10^{-5} \text{M}$ ), соответственно. В качестве отрицательного контроля - дистиллированная вода. Для исследования, нами было взято несколько концентраций липоевой кислоты в пределах  $0,001-0,58 \text{M}$ . В результате эксперимента было показано, что данное вещество не индуцирует люминесценцию у штамма E.coli MG1655 (pColD-lux), следовательно, липоевая кислота не вызывает оксидативный стресс и не оказывает ДНК-повреждающее действие на клетки E. coli, т. е. не является генотоксичным.

## **РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ СХЕМЫ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ НА ПРИМЕРЕ МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА VCD-089**

**Хахулина А. И.<sup>1,2</sup>, Митрошин И. В.<sup>2</sup>, Коржавин Д. В.<sup>2</sup>, Чевновская Т. В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; <sup>2</sup>ЗАО "БИОКАД", МО, Чеховский район, пос. Любучаны, Россия

[khakhulina@biocad.ru](mailto:khakhulina@biocad.ru)

Развитие способов и методов очистки белков является необходимой предпосылкой для прогресса биотехнологии. Ключ к успешной и эффективной очистке белка - это выбор наиболее подходящих стадий и условий очистки и объединение их в единую технологию, обеспечивающую максимальные выход и качество продукта, а также снижающую себестоимость его производства.

Целью данной работы является разработка и оптимизация схемы хроматографической очистки терапевтических рекомбинантных белков на примере моноклонального антитела IgG1 типа VCD-089 компании ЗАО «БИОКАД».

Разработанная ранее схема хроматографической очистки этого антитела включала финальную очистку на сорбенте керамический гидроксипатит (СНТ). Несмотря на то, что очистка на этом сорбенте позволила избирательно отделить мономер белка от его агрегатов и неспецифических процесс-ассоциированных примесей (остаточные белки, ДНК клеток продуцента и иммуногенный лиганд аффинного сорбента), его использование имело ряд недостатков: разрешение на сорбенте в широком диапазоне условий не позволяет отделить фрагменты белка от мономера, сорбент имеет ограничения по обеспечению вирусной безопасности целевого белка, прочность и максимальное количество циклов его использования без изменения динамических характеристик процесса значительно уступает сорбентам на основе модифицированной агарозы. В связи с этим, была поставлена задача выбора альтернативного сорбента для хроматографической очистки с целью повышения качества целевого продукта и надежности процесса выделения и очистки.

Для достижения поставленной задачи была выбрана ионообменная хроматография. Теоретическая изоэлектрическая точка белка равна 8,2, поэтому были выбраны катионообменные сорбенты с лигандами S, SP и CM.

Проведен предварительный скрининг условий хроматографии (рН, концентрация элюента), а также и оценка качества очищенного белка методами электрофореза в денатурирующих условиях и гель-фильтрации.

Сравнение качества белка, полученного при очистке на сорбентах с разными лигандами, показало, что наибольшая гомогенность достигается при очистке на сорбенте Capto SP ImpRes (GE Healthcare) при рН буфера равного 6,0. Кроме того, избирательное отделение агрегатов от



мономера происходит только на сорбенте Carpto SP ImpRes и, соответственно, это способствует большему выходу целевой формы белка.

Таким образом, сорбент Carpto SP ImpRes может быть выбран лучшей альтернативой сорбенту СНТ на стадии финальной хроматографической очистки в технологии выделения и очистки препарата на основе моноклонального антитела BCD-089.

## **МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫЙ АНТИОКСИДАНТ SKQ1 ИНГИБИРУЕТ ДЕГРАНУЛЯЦИЮ БАЗОФИЛОВ КРЫСИНОЙ ЛЕЙКЕМИИ RBL-2H3**

**Челомбитько М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

[atma69@yandex.ru](mailto:atma69@yandex.ru)

Тучные клетки (ТК) – клеточная популяция соединительной ткани, поддерживающая ее нормальный гомеостаз, а также играющая ключевую роль в инициации и регуляции процесса воспаления. Известно, что дегрануляция ТК сопровождается генерацией активных форм кислорода (АФК). Однако данные об источниках АФК и их роли в активации ТК до сих пор мало изучены. Одним из таких источников в клетках служат митохондрии. Для изучения роли митохондриальных АФК (мтАФК) в различных процессах используют митохондриально - направленные антиоксиданты, накапливающиеся в митохондриях благодаря остатку липофильного катиона. Одним из таких антиоксидантов является 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфония бромид (SkQ1). Целью настоящей работы явилось изучение влияния антиоксиданта SkQ1 на спонтанную и индуцированную дегрануляцию клеток базофильной лейкемии крыс линии RBL-2H3, широко использующуюся в качестве экспериментальной модели для изучения механизмов дегрануляции ТК и базофилов.

Клетки линии RBL-2H3 культивировали в присутствии SkQ1 в концентрациях 0,2, 2,0, 20,0, 200,0 и 400,0 нМ в течение 4 дней до индукции дегрануляции, которую вызывали двумя способами: 1) добавляли 50 нМ форболовый эфир (PMA) и 1 мкМ кальциевый ионофор A23187 на 24 часа; 2) сенсibilizировали клетки действием 0,4 мкг/мл anti-DNP IgE в течение 16 часов с последующей антигенной стимуляцией с помощью 1 мкг/мл DNP-BSA в течение 18 мин. Оценка уровня дегрануляции проводили, определяя содержание β-гексозаминидазы по стандартной методике с помощью реакции с 4-нитрофенил-N-ацетил-β-D-глюкозаминидом. Для оценки цитотоксического действия антиоксиданта SkQ1 использовали МТТ-тест.

Результаты оценки цитотоксичности SkQ1 показали, что в концентрациях от 0,2 нМ до 400 нМ антиоксидант не оказывает влияния на жизнеспособность клеток RBL-2H3. Исследование спонтанной дегрануляции клеток не выявило значимых эффектов SkQ1. В случае индукции дегрануляции совместным действием 1мкМ A23187 и 50 нМ PMA наблюдалось ее подавление в 2 раза под влиянием 2 и 200 нМ SkQ1. При антигенной стимуляции дегрануляции наблюдалось ее значимое снижение на 20-30% при действии 0,2, 20 и 200 нМ SkQ1.

Таким образом, в работе показано, что митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 снижает индуцированную дегрануляцию клеток линии RBL-2H3. Сделан вывод, что мтАФК могут играть существенную роль в регуляции активации базофилов и ТК, участвуя в процессе их дегрануляции и секреции гистамина.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект №14-50-00029).



## ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-R В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ

**Черных И.В.<sup>1</sup>, Шулькин А.В.<sup>1</sup>, Мыльников П.Ю.<sup>1</sup>, Гацаного М.В.<sup>1</sup>, Якушева Е.Н.<sup>1</sup>,  
Есенина А.С.<sup>1</sup>, Градинарь М.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

[ivchernykh88@mail.ru](mailto:ivchernykh88@mail.ru)

Актуальность. Гликопротеин-R (Pgp) – эффлюксный мембранный АТФ-зависимый белок-транспортер с широкой субстратной специфичностью, функционирующий в энтероцитах, гепатоцитах, эпителии почечных канальцев и в гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ). Повышение активности транспортера в ГЭБ связывают с развитием резистентной к фармакотерапии эпилепсии и неэффективностью фармакотерапии острого нарушения мозгового кровообращения.

Цель исследования – изучить влияние мексидола на активность Pgp в ГЭБ головного мозга крыс.

Материалы и методы. Работа выполнена на 120 крысах-самцах вистар массой 220–300 г. Активность Pgp в ГЭБ оценивали по степени проникновения его маркерного субстрата – фексофенадина (Ф.) в ткань коры больших полушарий мозга. Животные были разделены на 4 группы (n=30 в каждой). 1-й группе в хвостовую вену вводили Ф. в дозе 10 мг/кг массы; 2-й группе 14 дней вводили рифампицин (индуктор Pgp) per os (20 мг/кг массы) дважды в день, затем на 15-й день в/в вводили Ф.; 3-й группе за 30 мин до введения Ф. в/в вводили верапамил (ингибитор Pgp) в дозе 1,65 мг/кг массы, а 4-й группе – мексидол (50 мг/кг массы). Крыс выводили из эксперимента через 5, 10, 15, 30, 45 и 60 мин после введения Ф. (n=5 на каждую временную точку). Забирали кровь из брюшной аорты, а также ткань лобной доли больших полушарий головного мозга, в которых определяли концентрацию Ф. методом ВЭЖХ по оригинальным методикам. Суммарное количество Ф. в крови и в ткани коры мозга оценивали по площади под кривой концентрация Ф. (в крови или ткани коры) – время (AUC<sub>0-t(плазма)</sub> или AUC<sub>0-t(мозг)</sub>).

Результаты и их обсуждение. Концентрация Ф. в плазме крови крыс через 5 мин после его введения составила 16,6 мкг/мл, затем снижалась до 1,0 мкг/мл к 60 мин. Рифампицин и верапамил не влияли на фармакокинетику Ф. по сравнению с 1-й группой. Введение мексидола вызывало повышение AUC<sub>0-t(плазма)</sub> Ф. на 81,2% (p=0,07). Концентрация Ф. в коре больших полушарий головного мозга через 5 мин после его введения у животных 1-й группы составила 264,0 нг/г, затем достигала 344,8 нг/г через 15 мин и снижалась к 60 мин до 172,2 нг/г. Рифампицин приводил к снижению концентрации Ф. в ткани мозга через 15 мин на 49,5%, через 30 мин на 79,6% (p<0,05) по сравнению с 1-й группой. Верапамил не оказал влияния на концентрацию Ф. в мозге, что, вероятно, связано со снижением АД на фоне его введения. Мексидол повышал концентрацию Ф. в мозге через 45 мин после введения на 109,4% (p<0,05) по сравнению с 1-й группой. Введение рифампицина приводило к снижению AUC<sub>0-t(мозг)</sub> Ф. на 39,6%, а применение мексидола увеличивало данный показатель на 125,0% (p<0,05) по сравнению с контрольной группой. Выявленные изменения фармакокинетики Ф. свидетельствуют о снижении его проникновения в кору головного мозга крыс на фоне индуктора Pgp рифампицина и повышении – при введении мексидола.

Вывод. Мексидол снижает активность гликопротеина-R в гематоэнцефалическом барьере крыс.

## ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ СТАБИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ ИЛ-2

**Чулпанова Д.С.<sup>1</sup>, Соловьева В.В.<sup>1</sup>, Тазетдинова Л.Г.<sup>1</sup>, Клетухина С.К.<sup>1</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

[daryachulpanova@gmail.com](mailto:daryachulpanova@gmail.com)

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) обладают иммунологической инертностью и естественным тропизмом к опухолевым нишам, что делает их перспективными векторами для целевой доставки противоопухолевых агентов. Одним из таких агентов является интерлейкин 2 (ИЛ-2), который регулирует активацию лимфоцитов человека, что позволяет использовать его в качестве иммуномодулятора для терапии злокачественных новообразований.



В настоящей работе была получена и охарактеризована линия МСК из жировой ткани (МСК-ЖТ) человека со сверхэкспрессией ИЛ-2.

Для продукции рекомбинантных лентивирусов был использован вектор рLX303, кодирующий кДНК гена ИЛ-2. Для контроля эффективности трансдукции также был получен лентивирус, кодирующий ген голубого флуоресцентного белка BFP.

МСК-ЖТ модифицировали концентрированными ультрацентрифугированием лентивирусами, кодирующими ИЛ-2 и BFP (МСК-ЖТ-ИЛ-2 и МСК-ЖТ-BFP) с множественностью инфекции (МОИ) 10. После генетической модификации проводили селекцию трансдуцированных клеток путем культивирования с бластицидином S.

Уровень экспрессии ИЛ-2 в генетически модифицированных МСК-ЖТ определяли с помощью ПЦР в режиме реального времени. Пролиферативную активность нативных и генетически модифицированных МСК-ЖТ определяли с помощью MTS-теста в течение 24, 48 и 72 часов культивирования. Не было отмечено статистически значимых различий в пролиферативной активности нативных и МСК-ЖТ, генетически модифицированных ИЛ-2 и BFP. Жизнеспособность клеток анализировали тестом на апоптоз с использованием набора FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit with PI (Sony). Нами было показано незначительное повышение количества жизнеспособных клеток в течение 48 часов культивирования в образцах МСК-ЖТ-ИЛ-2 по отношению к МСК-ЖТ-BFP и нативным МСК-ЖТ (91,6%, 83,6% и 83%, соответственно).

Имунофенотипический анализ нативных и генетически модифицированных МСК-ЖТ показал, что сверхэкспрессия ИЛ-2 не влияет на экспрессию поверхностных маркеров (CD-маркеров). Все образцы МСК-ЖТ были положительны по CD-маркерам мезенхимной стволовой клетки (CD44, CD90, CD29, CD105, CD166 и CD73) и отрицательны по CD-маркерам гемопоэтических клеток. Мультилинейность дифференцировки нативных и генетически модифицированных МСК-ЖТ в адипо-, хондро- и остеогенном направлениях была подтверждена путем культивирования клеток в специальных дифференцировочных средах.

В результате работы были получены и охарактеризованы стабильные культуры МСК-ЖТ-ИЛ-2 и МСК-ЖТ-BFP. Работа была поддержана грантом РФФИ №18-04-01133.

## ПОЛИЭТИЛЕНИМИН В КАЧЕСТВЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО НОСИТЕЛЯ ДНК-ВАКЦИН

**Шинкевич В.А.<sup>1</sup>, Стёганцева М.В.<sup>1</sup>, Мелешко А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

[veroni.shinkevich@gmail.com](mailto:veroni.shinkevich@gmail.com)

В настоящее время активное развитие получает иммунотерапия онкологических заболеваний, которая включает активную иммунизацию (вакцинацию) и клеточную терапию. ДНК-вакцинация – разновидность терапевтической вакцинации, при которой антиген доставляется в составе конструкции ДНК. Для ДНК-вакцин принципиальным является доставка плазмидной ДНК в клетки (трансфекция). Кандидатом для увеличения трансфекции ДНК является синтетический полимер полиэтиленимин (ПЭИ). За счет положительно заряженных аминогрупп ПЭИ образует наноконплексы с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК, что предохраняет от деградации и облегчает эндоцитоз.

В ходе работы проводили сравнение трех изоформ ПЭИ: линейный ПЭИ (Л-ПЭИ) с молекулярной массой 8 и 20 кДа, разветвленный (Р-ПЭИ) – 22 кДа. Клеточную линию НЕК293Т использовали для трансфекции *in vitro*. В качестве векторов для экспрессии были выбраны рTurbo-GFP-N и рсDNA3.1-Luc. Для трансфекции *in vivo* использовали мышей линии A/J, которым проводили инъекцию ДНК-вакцины на основе гена тирозин гидроксилазы. Процент трансфекции определяли методом проточной цитофлуориметрии (FC500, Becton Coulter) для рTurbo-GFP-N и путем детекции фермент-субстратной активности на мультидетекторе (Zenyth 3100) для рсDNA3.1-Luc.

Согласно проведенному исследованию Л-ПЭИ 20кДа характеризуется наибольшей трансфецирующей способностью при допустимом снижении ЖСП клеток. Оптимальным соотношением ДНК-ПЭИ является 1:2, т.к. уровень ЖСП еще сохраняется на уровне контроля (90%), а процент трансфецированных клеток достигает 85-90%. Л-ПЭИ 8 кДа обладает наибольшей трансфецирующей активностью (65%) при соотношении 1:5, что сопровождается





снижением ЖСП (60-65%). Р-ПЭИ 22 кДа достигает эффективной трансфекции в 85% в соотношении 1:1 с ДНК, но имеет наибольшую токсичность при увеличении дозы. Проведены измерения размера и заряда (Zeta-потенциала) комплексов ДНК и Л-ПЭИ в соотношениях, которые показали лучшие результаты *in vitro*. Выяснилось, что средний диаметр комплексов составляет 1000 нм, а заряд +10 мВ. Проверка Л-ПЭИ 8 и 20 кДа для вакцинации против мышинной нейробластомы показали достоверно большую эффективность вакцинации относительно водного раствора плазмиды как по выраженности иммунного ответа, так и по регрессии опухоли.

Установлено, что комплексы ДНК-ПЭИ образуют положительные наночастицы, которые увеличивают процент трансфицированных клеток. Л-ПЭИ 20 кДа характеризуется наиболее оптимальным соотношением эффективность-цитотоксичность и планируется далее задействовать его в доклинических испытаниях.



## СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ»

### УЧАСТИЕ КАРОТИНОИДОВ В ФОТООКИСЛЕНИИ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА В КОМПЛЕКСАХ LH2 СЕРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Ашихмин А.А., Большаков М.А.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*AshikhminAA@gmail.com*

Выяснение особенностей участия каротиноидов как в функционировании бактериальной клетки в целом, так и в организации отдельных пигмент-белковых комплексов фотосинтезирующих бактерий представляет важное и актуальное направление исследований в современной биологии. Пурпурные серные бактерии имеют наиболее просто устроенный фотосинтетический аппарат и являются удобными объектами для изучения функционирования каротиноидов в бактериальном фотосинтезе.

Целью данной работы было исследование влияния структурных особенностей каротиноидов на процесс фотоокисления бактериохлорофилла (БХл) в комплексах LH2 фотосинтезирующих бактерий. Объектами исследования явились пурпурные серные бактерии *Allochromatium (Alc.) minutissimum* и *Ectothiorhodospira (Ect.) haloalkaliphila*. Нативный биосинтез каротиноидов у данных бактерий был подавлен на 95-99% при их выращивании в присутствии ингибитора каротиноидгенеза (дифениламин). Получены бескаротиноидные мембраны из *Alc. minutissimum* и *Ect. haloalkaliphila*. В эти мембраны *in vitro* встроены 7 отдельных каротиноидов (родопин, ликопин, нейроспорин и др.), которые были выделены из различных серных и несерных бактерий. Из мембран со встроенными каротиноидами методом нативного электрофореза в полиакриламидном геле выделены светособирающие комплексы LH1-RC и LH2. Изучено количественное распределение каротиноидов между этими комплексами и проведена оценка эффективности их встраивания. Исследован ряд физико-химических характеристик полученных комплексов LH2 (поглощение, флуоресценция, оптическая активность, стабильность и др.). Изучен процесс фотоокисления БХл в комплексах LH2 с нативным и измененным составом каротиноидов при их облучении сине-зеленым светом, который поглощали каротиноиды. В комплексах LH2 со встроенными сфероиденом, нейроспорином и родопином отмечено быстрое (от 39 до 75%) выцветание БХл с максимумом поглощения при 850 нм. С помощью ВЭЖХ установлено, что продуктом окисления БХл в комплексах LH2 является 3-ацетил-хлорофилл.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (гранты №17-04-00929а, №18-04-00684а, 18-34-00416 мол\_а), а также гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-187.2017.4).

### ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* С НОКАУТ-МУТАЦИЯМИ ПО ГЕНАМ, КОДИРУЮЩИМ БЕЛКИ С ДОМЕНОМ ХОЛОДОВОГО ШОКА, С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/CAS9

Батырева А. М.<sup>1,2</sup>, Злобин Н. Е.<sup>1</sup>, Гребенкина Н. А.<sup>1</sup>, Таранов В. В.<sup>1</sup>, Куприянова Е. В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГОУ ВО МО Московский государственный областной университет, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им.

М.В.Ломоносова, Москва, Россия

*batyrevananas@gmail.com*

Домен холодого шока (CSD) является одним из самых древних и высоко консервативных доменов, связывающих нуклеиновые кислоты. Белки, содержащие домен холодого шока, обнаружены как у про-, так и у эукариот, в том числе у высших растений. CSPs растений содержат домен холодого шока на N-конце, C-концевая область содержит различное количество мотивов цинковых пальцев CCHC типа, разделённых глицин-богатыми участками.

Геном модельного растения *Arabidopsis thaliana* содержит 4 гена, кодирующих белки с доменом холодого шока: AtCSP1, AtCSP2, AtCSP3 и AtCSP4. При этом гены *AtCSP1* и *AtCSP3* кодируют более длинные белки, содержащие по 7 мотивов цинковых пальцев, а гены *AtCSP2* и



*AtCSP4* кодируют более короткие белки с двумя мотивами цинковых пальцев. Предполагают, что кроме устойчивости к низким температурам эти гены принимают участие в регуляции роста и развития растений. Однако роль белков с доменом холодного шока в адаптации к низкотемпературному стрессу, молекулярный механизм их действия в растениях и их значение для холодной акклиматизации до сих пор мало изучены.

Целью исследования являлось изучение функции генов, кодирующих белки с доменом холодного шока в *Arabidopsis thaliana*, с применением подходов обратной генетики. Для этого использовали систему редактирования генома CRISPR/Cas9, которая позволяет вносить в последовательности целевых генов нокаут-мутации, приводящие к сбою рамки считывания. С использованием опубликованного генома арабидопсиса были подобраны направляющие РНК (sgRNA), обеспечивающие специфичность внесения мутаций. На основе вектора pHEE401E были созданы две генетические конструкции, первая кодировала sgRNA к последовательностям генов *AtCSP2* и *AtCSP4*, вторая – к генам *AtCSP1* и *AtCSP3*. Полученные генетические конструкции использовались для трансформации растений методом макания соцветий (Floral dip).

Семена от трансформированных растений были высажены на селективную среду, содержащую гиромидин, поскольку вектор pHEE401E содержал в области Т-ДНК ген устойчивости к данному антибиотику. Из растений, отобранных на селективной среде, выделяли ДНК, амплифицировали участок, содержащий сайт редактирования, и секвенировали полученный продукт по Сэнгеру. Анализ данных секвенирования позволил идентифицировать растения с нокаут-мутациями в генах, кодирующих белки с доменом холодного шока, а также выявить характер данных мутаций.

В настоящее время ведётся работа по фенотипированию полученных растений нокаут-мутантов.

## **СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ РАСТЕНИЙ ПРИ ГИПОКСИИ**

**Бердникова О.С., Ершова А.Н., Возгорькова Е.О.**

ФГБОУ ВО Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, Россия

*aershova@vspsu.ac.ru*

Процессы свободнорадикального окисления происходят в растениях не только в нормальных условиях, но и при действии различных стрессовых факторов, включая гипоксию. При дефиците кислорода в растениях возможно усиление не только интенсивности свободнорадикальных процессов, но и активности ферментов антиоксидантной системы, ферментов цикла Кребса, включая сукцинатдегидрогеназу (СДГ). Однако исследование скорости свободнорадикальных процессов и активности ферментов в условиях гипоксии проводилось на некоторых растениях. В связи с этим исследовали активность СДГ и содержание пероксида водорода в митохондриях проростков сои, среднеустойчивых к гипоксии. Проростки выращивали до 10-дневных на свету методом гидропоники. Надземную часть проростков помещали в темновые условия кратковременной гипоксии и CO<sub>2</sub>-среды на 3,6, 24 часа. Митохондрии выделяли дифференциальным центрифугированием, определяя перекрестное загрязнение по хлорофиллу. Активность СДГ определяли по падению оптической плотности в ходе восстановления ДХФИФ в присутствии ФМС. Содержание пероксида анализировали энзиматическим методом с использованием о-дианизидина. Показано, что в митохондриях проростков сои активность СДГ в CO<sub>2</sub>-среде через 3 часа снижалась в 2 раза, оставаясь на данном уровне до конца опыта. При гипоксии активность СДГ в митохондриях в первые часы опыта была близка к контролю, но затем резко снижалась (в 2,5 раза). Обнаружено, что через 6 часов гипоксии содержание пероксида возрастало в 2 раза, к концу опыта - снижалось до уровня контроля в CO<sub>2</sub>-среде и почти не изменялось в гипоксии. Проведенные исследования показали, что у среднеустойчивых проростков сои, в отличие от неустойчивых растений гороха, повышение процессов свободнорадикального окисления наблюдалось только в первые часы влияния разных газовых сред. При этом обнаружено и менее значительное падение активности СДГ, в отличие от неустойчивых растений гороха. Показано, что CO<sub>2</sub>-среда вызывала более существенное изменение как активности фермента СДГ, так и содержания пероксида в митохондриях проростков сои, чем условия обычной гипоксии. Полученные данные свидетельствуют о важной роли митохондрий в процессах адаптации





различных по устойчивости растений к условиям дефицита кислорода на уровне свободнорадикальных процессов и активности фермента СДГ.

## **РЕГУЛЯЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM* МЕЛАТОНИНОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ**

**Бойко Е.В, Коломейчук Л.В., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В.**

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия

*CaterinaSoloveva@gmail.com*

Универсальностью любого организма является строгое согласование всех процессов жизнедеятельности по скорости, времени и локализации действия. Координация процессов осуществляется за счёт функционирования внутриклеточных и межклеточных механизмов регуляции. Ключевую роль в реализации данного взаимодействия выполняют фитогормоны. В 1995 году появились первые сведения о наличии в растениях индоламина – мелатонина. В своей статье QianChena с соавторами (2003) показали влияние мелатонина на рост корня и эндогенный уровень ауксина в растениях *Brassicajuncea*. На данный момент существуют весьма противоречивые сведения о влиянии мелатонина на ростовые и физиологические показатели растений. Целью данного исследования стало изучение роли мелатонина в регуляции морфогенеза растений *Solanumtuberosum*.

Исследования проводили на оздоровленных растениях-регенерантах *S. tuberosum* среднеспелого сорта Луговской, выращенные в условиях аквакультуры. Растения в возрасте 6-ти недель переносили на среду без (контрольный вариант) или содержащую мелатонин (Мел) в концентрации 1 мкМ (опытные варианты). Длительность эксперимента составила 7 суток. В одном случае растения помещали на раствор ½ МС с Мел на 24 часа (кратковременная обработка), в другом случае, продолжительность воздействия Мел составила 7 суток (длительная обработка). По окончании эксперимента учитывали накопление сырой и сухой биомассы, линейные размеры побега и корня, площадь листовой поверхности, количество столонов, содержание фотосинтетических пигментов.

Экзогенный Мел не вызывал значительных изменений ростовых показателей осевых органов, подавлял образование столонов и снижал суммарную площадь листьев; наибольший эффект отмечен в случае кратковременного воздействия. Накопление сырой и сухой массы побега определялось продолжительностью воздействия; увеличение массы наблюдалось только в случае длительного воздействия. Сырая масса увеличилась на 27 %, сухая – на 15 %. Положительный эффект 24-х часового воздействия Мел показан в отношении фотосинтетических пигментов. Содержание хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов увеличивалось на 19, 37 и 16 % соответственно. При длительном гормональном воздействии наблюдалось недостоверное снижение уровня фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов).

Полученные данные свидетельствуют о том, что направленность эффекта мелатонина зависит от продолжительности времени его воздействия на растения.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 16-04-01071.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ УЧАСТИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КАРОТИНОИДОВ В ОБРАЗОВАНИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ**

**Большаков М.А., Ашихмин А.А.**

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

*lfbv22@gmail.com*

Фотосинтез — это процесс, с помощью которого растения и бактерии способны преобразовывать солнечную энергию в энергию химических соединений (АТФ). Первый этап этого процесса начинается с поглощения квантов света и протекает в специализированных пигмент-белковых комплексах. От указанных комплексов зависит эффективная работа всех метаболических процессов в клетке. Ранее нами было установлено, что у комплексов LH2 из некоторых серных бактерий при освещении в область поглощения каротиноидов, происходит



образование активных форм кислорода, которые окисляют бактериохлорофилл (БХл) с максимумом поглощения при 850 нм.

Цель данного исследования – установить возможность образования активных форм кислорода бактериальными каротиноидами в модельной системе. В качестве объектов исследования были выбраны бактериальные каротиноидыспириллоксантинового пути биосинтеза (ликопин, дзета-каротин, родопин и др.), которые отличаются только количеством сопряженных двойных связей и боковыми заместителями. Для измерения скорости выделения активных форм кислорода использовали водный раствор изучаемого каротиноида (с добавлением детергента) и ароматическую аминокислоту гистидин (10мМ), которая выступала в качестве ловушки синглетного кислорода. Таким образом, была проведена оценка способности различных индивидуальных каротиноидов при непрерывном освещении сине-зеленым светом инициировать образование активных форм кислорода в модельной системе с применением ловушек синглетного кислорода. Установлено влияние количества сопряженных двойных связей и боковых заместителей в молекуле каротиноида на скорость выделения активных форм кислорода.

Полученные результаты позволяют расширить наше представление о свойствах каротиноидов и могут быть полезны для развития исследований в области искусственного фотосинтеза.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (гранты №17-04-00929а, №18-04-00684а, 18-34-00416 мол\_а"), а также гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-187.2017.4).

## **ВЛИЯНИЕ НИКЕЛЯ И ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА РОСТ *TRITICUM AESTIVUM* L.**

**Гамоненко О.В., Смирнова Ю.В., Курамшина З.М.**

ФГБОУ ВО Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, Стерлитамак,  
Россия

*o.gamonenko@mail.ru*

На сегодняшний день одной из актуальных проблем сельскохозяйственной биологии является разработка эффективных средств и способов повышения устойчивости культурных растений к неблагоприятным факторам внешней среды, в частности, к действию тяжелых металлов. Одним из токсических металлов, загрязняющих окружающую среду, является никель. Избыток никеля в почве быстро сказывается на корневой системе растений, вызывая торможение роста и развитие растительного организма (ингибируются процессы фотосинтеза, дыхания, нарушается водно-солевой баланс и т.д.).

Целью работы явилось изучение влияния эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* 26Д и 11ВМ на устойчивость растений пшеницы (сорта Омская – 35) к действию никеля. Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Семена растений перед проращиванием промывали в мыльной воде, споласкивали в проточной, а затем в дистиллированной воде. В экспериментах использовали бактерии *Bacillus subtilis* штамма 26Д (ВНИИСХМ № 128) и 11 ВМ (ВНИИСХМ № 519). Обработку семян проводили в стерильных условиях в ламинар - боксе. Семена обрабатывали эндофитными бактериями из расчёта на 1 г 20 мкл суспензии клеток в концентрации 10<sup>6</sup>кл/мл. Обработанные и необработанные семена растений выращивали в вегетационных сосудах. Металл вносили в почву в виде раствора соли Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O, однократно после посадки семян, в концентрации ионов никеля 10, 200 и 500 мг/кг почвы. Контрольные растения пшеницы поливали дистиллированной водой. Растения выращивали в течение 30 суток при температуре 18 – 20°С при равномерном освещении, далее проводили измерение длины и биомассы побегов. В результате проведённых экспериментов было выявлено, что невысокие концентрации никеля стимулировали рост растений, с повышением концентрации металла происходило угнетение развития растений. Обработанные бактериями растения *Triticum aestivum* L., росли лучше необработанных во всех исследованных концентрациях металла. Таким образом, предобработка растений пшеницы эндофитными штаммами *Bacillus subtilis* оказывала положительное влияние на рост побегов пшеницы при загрязнении почвы никелем.



## **ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ НАД-ЗАВИСИМОЙ МДГ И СДГ В ЗЕЛЁНЫХ ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ**

**Гатауллина М. О., Анохина Г. Б., Карабутова Л. А., Селиванова Н. В.**

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

*marina.gataullina@gmail.com*

Особое место в изучении механизмов регуляции процессов метаболизма живых организмов занимают проблемы исследования ферментативных систем. Адаптации растений к разным температурным условиям даже в пределах одного вида различны. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение влияния низких и высоких температур на функционирование сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1) и малатдегидрогеназы (МДГ, КФ 1.1.1.37) в листьях кукурузы.

Исследование влияния низких и высоких температур на скорость функционирования СДГ и МДГ показало, что данный фактор оказывает существенное влияние на активность исследуемых ферментов. Экспонирование растений в холодных условиях способствовало усилению работы СДГ на протяжении всего времени эксперимента. В то время как общая активность растений, которые инкубировались при температуре +37°C, за первый час инкубации увеличилась почти в 2 раза по сравнению с контролем. В дальнейшем наблюдалось резкое снижение активности сукцинатдегидрогеназы ниже уровня контроля.

В некотором роде, сходная картина наблюдается и в работе МДГ при действии на растение экстремальных температур. Активность данного фермента, несмотря на значительное падение в первые часы, к третьему часу инкубации превышала контрольные значения, начиная с 3 часа инкубации, в дальнейшем постепенно снижаясь.

В ходе данного исследования был проведен анализ уровня транскриптов гена *sdh 2-3*, кодирующего В субъединицу СДГ методом ПЦР в реальном времени. Установлено, что экстремальные температуры оказывают стимулирующее действие на работу гена *sdh2-3*. Полученные данные коррелируют с результатами исследования активности СДГ в условиях действия температурного стресса. В ходе изучения транскрипционной активности, показано, что в адаптации МДГ-системы растений к действию экстремальных температур больший вклад вносит пероксисомальная МДГ, которая увеличивает свою активность вдвое при холодном стрессе через сутки экспозиции. При тепловом стрессе максимума уровень транскриптов достигает на 3 час, а затем снижается. Уровень транскриптов митохондриальной формы при обоих стрессах меньше контрольных значений.

Таким образом, исследование показало, что экстремальные температуры оказывают стимулирующее действие на функционирование МДГ и СДГ, в первые часы действия стрессов, что говорит об интенсификации ЦТК. Установлено, что в адаптивной реакции МДГ к действию экстремальных температур принимают участие разные формы фермента.

## **ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ И МЕЛАТОНИНА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН И РОСТ ПРОРОСТКОВ HORDEUM VULGARE**

**Данилова Е. Д., Кайлер О. А., Ефимова М. В.**

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия

*nusy.l.d@gmail.com*

На сегодняшний день значительное количество почв во всем мире содержат легкорастворимые соли в количествах, превышающих порог токсичности, что приводит к угнетению роста и развития растений. Наиболее распространено засоление, вызываемое хлоридом натрия; оно же оказывает наибольший негативный эффект на растения. Возникает острая необходимость применения эффективного и экологически безопасного средства повышения устойчивости растений к данному виду стресса.

Достоверно известно, что фитогормоны играют значительную роль в регуляции многих биохимических и физиологических процессов в растениях, не только в норме, но и при действии неблагоприятных факторов. В этом свете представление о том, что такое вещество как мелатонин может являться перспективным средством для повышения стрессоустойчивости растений весьма



актуально, и подтверждено количеством исследований, опубликованных в последние несколько лет.

В качестве объекта исследований были использованы растения ячменя *Hordeum vulgare*. В ходе исследований изучено действие различных концентраций NaCl (75 и 100 мМ) и мелатонина ( $10^{-5}$  М) на прорастание и морфогенез проростков ячменя в темноте. Процент проросших семян и ростовые показатели проростков (масса надземной и подземной частей растения) анализировали на 7-е сутки после прорастания в исследуемых условиях.

Наибольший процент прорастания семян (77%), так же, как и величина надземной и подземной массы отмечены для варианта с добавлением гормона в питательную среду. Присутствие соли ожидаемо снизило величину всех исследуемых показателей. Минимальное количество проросших семян было в варианте с добавлением 100 мМ NaCl (36%), снижение массы как надземной, так и подземной частей растений было практически равным как для 75 мМ, так и для 100 мМ NaCl. Мелатонин продемонстрировал положительное влияние на растения в условиях солевого стресса, масса и количество проросших семян ячменя при добавлении гормона в концентрации  $10^{-5}$  М практически достигала значений контрольного варианта.

Протекторный эффект мелатонина при действии негативных факторов отмечен многими исследователями, но стоит отметить что эффективность его действия зависит не только от вида стресса, но и от вида растения. В нашем исследовании продемонстрировано положительное влияние мелатонина на ростовые показатели *Hordeum vulgare*.

Исследования поддержаны грантом РФФИ (16-04-01071-а).

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ЯРОВОГО ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE* L.) ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ДЕЙСТВИЮ КАДМИЯ**

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

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии

*ar.djuna@yandex.ru*

Кадмий является одним из наиболее опасных загрязнителей окружающей среды. Однако до настоящего времени остаются неясными многие детали механизмов его воздействия на организм растений. Удобным тест объектом для изучения механизмов устойчивости к действию тяжелых металлов (ТМ) на разных уровнях организации растительного организма является яровая ячмень, являющийся также одной из сельскохозяйственных культур, генетическая структура которого хорошо изучена.

Цель работы – провести исследование внутривидового полиморфизма по устойчивости 50 сортов ярового двурядного ячменя различного географического происхождения к действию кадмия, отобрать контрастные по устойчивости к этому металлу сорта.

Для исследования внутривидового полиморфизма ярового двурядного ячменя по устойчивости к кадмию использовали 50 сортов ячменя из мировой коллекции ВИР. В предварительном эксперименте для определения тестирующей концентрации тяжелого металла (ТМ) был использован диапазон возрастающих концентраций  $Cd(NO_3)_2$ , на растворах которых проращивали семена ячменя рулонным методом. Через 5 суток оценивали морфологические параметры проростков – длину корешков и ростков, количество сильных проростков и всхожих семян. На основе анализа этих показателей была выбрана тестирующая доза (ТД) – концентрация, вызывающая 50% угнетение указанных величин. Воздействие кадмия вызывало также появление таких аномалий как нарушение геотропизма корешков, уплотнение тканей и изменение их окраски, образование вздутий и подавление образования корневых волосков. Результаты определения тестирующей дозы по морфологическим параметрам были подтверждены данными цитогенетического исследования апикальных меристем корней проростков.

С использованием найденной концентрации ( $0,35$  мг/мл  $Cd^{2+}$ ) по описанной методике были протестированы 50 сортов ячменя. На основе результатов анализа четырех количественных морфологических показателей были вычислены коэффициенты депрессии (КД), характеризующие действие ТМ и позволяющие разделить сорта на устойчивые и чувствительные к действию кадмия. Проведено сравнение контрастных по устойчивости к кадмию и свинцу сортов ячменя и обнаружено существование значительного полиморфизма в их реакции на действие этих ТМ. Обнаружено, что лишь два сорта (один устойчивый и один чувствительный) оказались идентичны по реакции на действие кадмия и свинца.



Полученные результаты позволяют заключить, что сорта ячменя разного географического происхождения отличаются выраженным полиморфизмом по устойчивости к действию кадмия и характеризуются выраженными различиями на действие различных ТМ.

## ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS* НА БИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС

**Егорова Е.Д.<sup>1</sup>, Виноградова С.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГУ «ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Одной из фундаментальных задач современной биологии является определение молекулярно-генетических механизмов формирования иммунного ответа у высших растений при патогенезе. Мох *Physcomitrellapatens* широко используется в качестве модельного объекта для изучения клеточной и эволюционной биологии растений. Рассматривая мох, как звено между первыми растениями, колонизировавшими сушу, и современными цветковыми растениями, можно проанализировать процесс формирования защитных ответов на стресс.

Ранее нами были обнаружены несколько патогенных для *P. patens* штаммов биотрофных бактерий родов *Pseudomonas* и *Xanthomonas*. Для изучения метаболической регуляции защитных механизмов мха на биотический стресс гаметофоры *P. patens* инокулировали суспензиями бактерий *P. viridiflava*, *P. syringae* и *X. arboricola*, выделяли метаболиты и определяли их состав методом газовой-хромато-масс-спектрометрии. В результате было обнаружено 78 метаболитов, 50 из которых детектированы в неинокулированных гаметофорах и 15 – только после инокуляции одной из бактерий.

Ранее было показано, что в ответ на проникновение патогена у цветковых растений активируется синтез вторичных метаболитов фенилпропаноидного пути, таких как салициловая кислота, флавоноиды, изофлавоноиды, фитоалексины и лигнинины, которые являются структурными компонентами клеточных стенок и выполняют роль сигнальных молекул. В наших экспериментах у зараженных растений *P. patens* мы также наблюдали накопление метаболитов фенилпропаноидного пути (кумарин, кофеилхинная и хлорогеновая кислоты, токоферол).

При инвазии патогена у цветковых растений активируются окислительные процессы, приводящие к изменению жирнокислотного состава липидов мембран клеток растений: увеличивается содержание пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислот. У *P. patens* также было отмечено изменение содержания жирных кислот (пальмитиновой, линолевой, пальмитолеиновой и олеиновой) и накопление оксипинов (арахидоновая и эйкозапентаеновая кислоты). Кроме того, в инфицированных образцах наблюдали накопление антимикробных соединений (мио-инозитол, кампастерол и стигмастерол).

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что у *P. patens* в ответ на поражение фитопатогенными бактериями активизируются схожие пути вторичного метаболизма, как и у цветковых растений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-40104 и Гранта Президента РФ МК-7138.2015.4 на базе ЭУИК (U-73547).



## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ТМТД-ПЛЮС В БОРЬБЕ С ПАТОГЕННАМИ НА ВЕГЕТИРУЮЩИХ РАСТЕНИЯХ *FRAGARIA ANANASA DUCH.*

Картабаева Б.Б.<sup>1</sup>, Глинушкин А.П.<sup>1</sup>, Яфаров С.Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Фитопатологии, пос. Большие Вяземы, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный заочный университет, Оренбург, Россия

*kartabaeva040893@mail.ru*

Земляника садовая – широко распространенная ягодовая культура, отличающаяся способностью к быстрому вегетативному размножению. В настоящее время известно более 3000 сортов садовой земляники, которая выращивается в различных широтах – от юга до тундры.

Земляника в процессе вегетации поражается болезнями разной этиологии – бактериальной, грибной, вирусной. При разработке защитных мероприятий необходимо определить состав патогенного комплекса.

Основной проблемой при разработке защитных мероприятий в борьбе с болезнями является выбор наиболее эффективного препарата с оптимальной дозой применения. Мероприятия с использованием ХСЗР необходимы, так как фитопатогены выделяют микотоксины, которые накапливаются в ягодах и несут вред человеку.

Целью исследований было поставлено определить технологию применения инновационного препарата ТМТД-плюс для снижения фитопатогенного фона зараженности и реализации потенциала земляники садовой сорта «Альбион» и в условиях открытого грунта.

Полевые исследования проводились в Соль-Илецком районе Оренбургской области на базе ИП «Войтин» Объектами исследований послужили 2 ремонтантных сорта: Альбион и Гала Чив. Высаживали растения рядами. посадки земляники в хозяйстве шириной 45 см и шириной междурядья 100 см. В качестве вариантов выбрали 3 располагающихся рядом ряда и проводили вегетационное опрыскивание и влияние ТМТД-плюс (400 г/л тирама) с нормами расхода препарата 2 и 4 л/га контрольный вариант оставляли без обработки Расход рабочей жидкости составлял 200 л/га. При визуальном осмотре на растениях были обнаружены проявления симптомов болезни. В лабораторных условиях изучались особенности фитосанитарного состояния растений и ягод земляники

При идентификации возбудителей были обнаружены конидии черной гнили – *Rhizopus Nigricans* и серой гнили – *Botrytis cinerea*.

Проведенные исследования в условиях «ИП Войтин Ю.И.» Соль-Илецкого района Оренбургской области, показали хорошую эффективность применения в борьбе с серой гнилью показала положительный эффект норма расхода препарата ТМТД-Плюс 2 л/га. Обработать в ранние утренние и в период покоя так как устьица закрыты и растение не транспирирует. Обработка в дневное время опасно, что капли раствора создают эффект лупы, что в условиях Соль-Илецкого района это опасно, получают двойной ожог и ослабевают, позволяя инфекции развиваться.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, КОДИРУЮЩИХ NCR-ПЕПТИДЫ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*)

Клюкова М.С., Афонин А.М., Жуков В.А., Тихонович И.А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

*marina.kliukova@gmail.com*

При установлении бобово-ризобиального симбиоза, индуцируемого азотным голоданием растения-хозяина, почвенные бактерии группы *Rhizobium* избирательно проникают в *denovo* сформированные симбиотические структуры на корнях бобового растения – клубеньки, где происходят процессы их дифференцировки в азотфиксирующие бактериоиды. При этом степень дифференцировки строго зависит от вида растения. Так, у бобовых, принадлежащих к IRLC (Inverted Repeat-Lacking Clade) кладе, бактерии необратимо дифференцированы и не жизнеспособны после экстракции из клубенька. Было показано, что основными регуляторами



данного процесса выступают клубенок-специфичные цистеин-богатые пептиды (NCR-пептиды), которые впервые были описаны у модельного бобового растения *M. truncatula*, в геноме которого их количество достигает порядка 700 последовательностей. Для ценного сельскохозяйственного растения гороха посевного было показано наличие восьми NCR-пептидов, участвующих в процессе установления симбиоза. Поэтому целью исследования является идентификация и характеристика новых последовательностей, относящихся к семейству NCR-пептидов у гороха посевного.

Для поиска генов-кандидатов на роль NCR-пептидов были проанализированы общедоступные базы транскриптомов клубеньков гороха посевного линии SGE, Cameor, Kasper, Parafield, а также транскриптомамикоризованных корней линии Frisson. Анализ проводился с использованием специализированной программы SPADA (SmallPeptideAlignmentDiscoveryApplication), алгоритм работы которой включает в себя построение скрытых марковских моделей, в данном случае основанных на известных последовательностях NCR-пептидов *M. truncatula* и *P. sativum*. Таким образом, было идентифицировано 555 последовательностей, удовлетворяющих всем критериям, установленным для представителей данного семейства. Далее были проанализированы их физико-химические показатели, такие как заряд, гидрофобность, показатель антимикробной активности и др. На основании полученных данных были отобраны последовательности, обладающие наибольшим потенциалом к проявлению антимикробной активности, как одной из ключевых характеристик, необходимых для управления дифференцировкой эндосимбионта.

Далее планируется проведение химического синтеза выбранных NCR-пептидов *P. sativum* для подтверждения наличия антимикробной активности в опытах *invitro*.

Исследование поддержано грантами РФФИ (17-76-30016 и 16-16-00118).

## **ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОЛИНА В РАСТЕНИЯХ *SOLANUM TUBEROSUM* L.**

**Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Ефимова М.В.**

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск,  
Россия

*kolomeychuklil@mail.ru*

Техногенное загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами – одна из наиболее остро стоящих экологических проблем в современном мире. Несмотря на то, что многие тяжелые металлы, в низких концентрациях жизненно необходимы для нормального роста и развития организмов, в высоких концентрациях они оказывают токсическое и даже летальное действие на растения. В ответ на нарушение баланса неорганических ионов и водного статуса в растении включаются некоторые общие механизмы устойчивости, прежде всего это активизация антиоксидантной защиты и стресс-индуцированное накопление совместимых осмолитов. Одним из наиболее распространенных и важных осмолитов считается иминокислотапролин, обладающая мультифункциональным действием на клеточный метаболизм.

Исследования проводили на оздоровленных микроклонах *S. tuberosum* среднеспелого сорта Накра. Растения-регенеранты картофеля в возрасте 30 суток переносили на жидкую 1/2 питательную среду Мурасиге и Скуга под люминесцентные лампы в фитотрон с 16-часовым фотопериодом и температурой  $20 \pm 3$  °C. После двухнедельного выращивания на гидропонной установке, растения переносили на среду без (контрольные варианты) и содержащую  $\text{CuSO}_4$  в концентрациях 100 и 200 мкМ (опытные варианты). Исследовали действие данных концентраций на накопление пролина в листьях, стеблях и корнях растений.

Нами было отмечено, что наибольшая концентрация пролина накапливалась в стеблях и листьях растений, многократно превышая его содержание в корнях. Действие меди способствовало увеличению уровня пролина в стеблях на 25% и 58% в концентрациях 100 мкМ и 200 мкМ соответственно. Одновременно с этим, содержание пролина в корнях растений снижалось на 14% и 27%. Отсюда следует, что надземные и подземные органы растений используют разные механизмы устойчивости к действию ионов меди. Вероятно, что при влиянии стрессора в корнях был инициирован синтез антиоксидантных ферментов, которые в данном случае оказались эффективнее пролина, что и проявилось в снижении интенсивности его аккумуляции.



Таким образом, нами выявлена органоспецифичность реакции растений *S. tuberosum* на действие ионов меди разной концентрации.

Исследования поддержаны грантом РФФ № 16-16-04057.

## **ФЛУКТУАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СТРУКТУРЫ ЦВЕТКА У СЕДМИЧНИКА ЕВРОПЕЙСКОГО**

**Курмазов Н.С., Лебедева М.А., Творогова В.Е., Тиходеева М.Ю., Тиходеев О.Н., Гурина А.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*Kurm1337@mail.ru*

Изменчивость – одно из ключевых свойств живых существ, лежащее в основе биологического разнообразия. Традиционно считают, что это разнообразие формируется тремя факторами: генотипом, стадией развития и условиями среды. Соответственно, различают три формы изменчивости: генотипическую, онтогенетическую и модификационную. Но некоторые признаки варьируют даже в том случае, когда все перечисленные факторы строго выровнены. Это значит, что существует еще один фактор, порождающий биологическое разнообразие. Речь идет о стохастике молекулярных процессов. Соответствующую изменчивость называют флуктуационной. Мы исследовали ее роль в природных популяциях седмичника европейского (*Trientaliseuropaea*). Для него типичны актиноморфные гептамерные цветки, но встречаются и различные отклонения, причем даже цветки одного растения могут быть разными. В результате многолетних наблюдений мы выявили два типа нарушений в структуре цветка седмичника. Первый – изменение исходной кратности зачатков, в результате чего возникают цветки с одинаковым числом чашелистиков, лепестков и тычинок, варьирующим в пределах от 5 до 10. Такие цветки мы называем равномерными. Второй – локальные аномалии развития, приводящие, например, к появлению 1 лишнего лепестка или к нехватке 1 чашелистика. Такие цветки мы называем неравномерными. Мы исследовали 4 популяции седмичника европейского на острове Коневец в Ладожском озере. В трех популяциях доля нерегулярных цветков была типичной для данного вида, в одной (К-2) мы обнаружили уникально высокое разнообразие цветков (более 40 вариантов). Доля неравномерных цветков сохраняется в каждой популяции на протяжении четырех лет, что говорит о слабой зависимости локальных аномалий от внешних условий (по крайней мере, погодных). Также не выявлена связь частоты неравномерных цветков от порядка их распускания на одном побеге, что исключает онтогенетический характер явления. Как показал проведенный нами статистический анализ, различные типы локальных аномалий подчиняются в популяции К-2 распределению Пуассона, что указывает на их случайную природу. Для проверки этой гипотезы мы провели RAPD-анализ растений из четырех популяций. Он показал, что уникальная популяция К-2 является преимущественно клональной, а потому наблюдаемые различия в структуре цветков не связаны с генотипическим разнообразием. Эти данные подтверждают наше предположение о высокой роли флуктуационной изменчивости в формировании структуры цветка у седмичника европейского.

## **ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КАДМИЯ НА РОСТ *SINAPIS ALBA*, ОБРАБОТАННЫХ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ**

**Кусяпкулова Л.Н., Курамшина З. М., Смирнова Ю. В.**

ФГБОУ ВО Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, Стерлитамак,  
Россия

*liliakusa@mail.ru*

Среди многочисленных загрязнителей окружающей среды одними из наиболее распространенных и наиболее опасных являются тяжелые металлы (ТМ). Причинами загрязнения экосистем ТМ являются природные (вулканы, естественное выветривание горных пород) и антропогенные (промышленная деятельность, автотранспорт) источники. Агрэкосистемы, используемые для получения сельскохозяйственной продукции, не являются исключением. Кадмий (Cd) – самый распространенный тяжелый металл в сельскохозяйственных почвах. Он легко поглощается растениями и является высокотоксичным для них. Кадмий ингибирует рост и развитие растений, нарушает нормальный ход различных биохимических процессов. Одним из





современных методов повышения устойчивости сельскохозяйственных растений к ТМ является применение эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*.

Целью работы явилось изучение влияния эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* шт. 26D и шт. 11ВМ на рост побегов растений горчицы белой (*Sinapis alba* L.).

Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Семена горчицы перед посевом промывали в мыльной воде, стерилизовали 96%-ым этанолом, ополаскивали дистиллированной водой, подсушивали, затем использовали в экспериментах. В экспериментах использовали бактерии *B. subtilis* шт. 26D и шт. 11ВМ. Обработку семян бактериями проводили в стерильных условиях, в ламинар-боксе. Растения выращивали в вегетационных сосудах, размером 20 × 20 см, на выщелоченном черноземе при температуре 18–20°C при искусственном освещении. В почву металл вносили в виде раствора соли  $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ , однократно после посева семян, рассчитывая соответствующую концентрацию ионов металла (200, 500 мг/кг почвы). Контрольные растения поливали дистиллированной водой. Измерение биомассы растений проводили на 30 сутки.

В ходе эксперимента было установлено, что биомасса побегов растений горчицы, выросших в присутствии кадмия снижалась, в отличие от контрольных растений, не подвергшихся влиянию металла. Угнетение роста было тем большим, чем выше была концентрация кадмия в почве. Показатели сырой массы растений горчицы, обработанных бактериями *B. subtilis*, были выше, чем у неинокулированных растений, во всех исследованных концентрациях ТМ. Более высокие ростовые показатели обработанных бактериями растений могут свидетельствовать о большей устойчивости этих проростков к действию кадмия.

#### **ОБРАБОТКА ПРОДУКТАМИ ПОВЕРХНОСТНОГО РАЗРЯДА СЕМЯН ОЗИМОЙ РЖИ**

**Лазукин А.В.<sup>1,2</sup>, Сердюков Ю.А.<sup>1</sup>, Алёшин И.Н.<sup>2</sup>, Забелин М.А.<sup>2</sup>, Кауэр Е.А.<sup>2</sup>, Низамов Д.Ю.<sup>2</sup>, Кривов С.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии растений им К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО НИУ «Московский энергетический институт», Москва, Россия

*lazukin\_av@mail.ru*

Обработка семян культурных растений продуктами низкотемпературной плазмы атмосферного давления (коронного разряда, объемного барьерного разряда, поверхностного барьерного разряда, плазменной струй) позволяет повысить качественные характеристики прорастания семян и снизить фитопатогенную нагрузку на прорастающее семя. Эффективность метода показана для ряда зерновых культур, в частности, для мягкой пшеницы, ячменя и овса.

В данной работе приведены результаты двухлетнего исследования воздействия продуктов поверхностного диэлектрического барьерного разряда на качественные характеристики прорастания семян озимой ржи (*Secale cereale* L., сорта «Чулпан», урожай 2013 года). Исследование выполнено в два 6-ти месячных этапа в 3-4 кварталах 2016 и 2017 годов с использованием семян из коллекций ЦКП «Биоресурсный центр» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Поверхностный диэлектрический барьерный разряд развивался вдоль твердого диэлектрика (алундовая керамика, 1 мм толщины) при атмосферном давлении, во влажном воздухе, без принудительного потока воздуха через зону обработки. Электронная система, использованная при обработке семян, состояла из девяти полосовых электродов шириной 1 мм, расположенных на расстоянии 5 мм друг от друга. Семена размещались в один слой на металлическом заземленном электроде на расстоянии 10 мм от плоскости барьера. К полосовым электродам прикладывалось синусоидальное напряжение 2,5 кВ действующего, частотой 15 или 25 кГц. Обратный электрод-подложка заземлен. Эффективный режим подбирался путем изменения времени экспонирования от 5 до 700 секунд. Выдержка семян между обработкой и проращиванием – не более суток. Семена проращивались в термостатируемых условиях (24 °C) в темноте трое суток. На третьи сутки контролировались морфологические характеристики проростков (длина ростка и корневой системы) и энергия прорастания.

В каждой экспериментальной серии проведено по 5-9 опытов, в каждом опыте от 3 до 7 вариантов обработки по 3 повтора на вариант, 50 семян на повтор. Достоверные отличия между обобщенными вариантами выявлялись по тесту множественных сравнений Тьюки.



Показано, что обработка при питании напряжением частоты 15 кГц не вызывает значимого ответа ни одной из контролируемых характеристик. При переходе на 25 кГц проявляется значимый ответ длины ростка (стимуляция на 10 и 60 секунда экспозиции) и длины корневой системы (стимуляция при всех вариантах плазменного экспонирования)

## **ЛОКАЛИЗАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ ПЕПТИДОВ *CLE* В ОПУХОЛЯХ РЕДИСА (*RAPHANUS SATIVUS*L.)**

**Маловичко Ю.В., Ткаченко А.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А.**

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*271296251017a@gmail.com*

Рост и органогенез растений осуществляются при участии особых пролиферативных тканей, или меристем. При эктопической пролиферативной активности клеток формируются так называемые нерегулярные меристемы, дающие начало таким морфологическим образованиям, как раневые и эмбрионные каллусы, опухоли и галлы. В отличие от галлов и каллусов, формирующихся у многих растений при поранении или инфекции патогенами, формирование опухолей в естественных условиях было показано для сравнительно небольшого количества видов, включая представителей родов *Nicotiana* (табак), *Raphanus* (редька/редис), *Arabidopsis*, *Bryophyllum* и т.д.

Наша научная группа исследует различные аспекты образования опухолей у инбредных линий редиса, включая участие в данном процессе сигнальной системы WOX-CLE. На данный момент в опухолях была обнаружена экспрессия ряда генов *CLE*, включая *RsCLE1*, *2*, *11*, *13*, *16*, *19* и *41* (Gancheva *et al.*, 2016). В данной работе мы планируем выявить конкретную роль пептидов *CLE* в морфо- и гистогенезе опухолей редиса путем локализации некоторых их рецепторов, а именно *CRN*, *CLV2* и *PXY*. Экспрессия генов данных рецепторов и их лигандов в опухолях была показана путем ОТ-ПЦР и транскриптомного анализа. Для локализации рецепторов мы сконструировали плазмиды, содержащие кодирующие последовательности соответствующих генов и репортерного гена *GFP* под контролем промоторов, клонированных из генома *Arabidopsis*. Растения двух линий редиса (опухолеобразующей и контрольной) были трансформированы с помощью *Agrobacterium rhizogenes*. Эффективность трансформации была подтверждена анализом срезов бородачатых корней на конфокальном флуоресцентном микроскопе. Аналогичным образом планируется локализовать рецепторы в естественных опухолях. Мы также планируем визуализировать домены экспрессии данных генов при помощи репортерных конструкций с кодирующей последовательностью гена *GUS*, а также оценить при помощи аналогичных методов участие и дифференциальную экспрессию транскрипционных факторов *WOX4* и *WOX5* и секретлируемых пептидов *CLE41*, *42*, *44*, *45*. Кроме того, нами получены транскриптомные данные для естественных и вызванных агробактериями опухолей редиса.

Работа осуществляется в рамках гранта РФФИ № 16-16-100 11.

Ссылки:

Gancheva MS, Dodueva IE, Lebedeva MA *et al.* Identification, expression, and functional analysis of *CLE* genes in radish (*Raphanussativus* L.) storage root // BMC Plant Biol. 2016 Jan 27;16 Suppl 1:7. doi: 10.1186/s12870-015-0687-y.

## **РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ МАГНИЙ-ХЕЛАТАЗЫ В УСЛОВИЯХ НАРУШЕНИЯ БИОСИНТЕЗА ХЛОРОФИЛЛА У ЗЕЛеноЙ ВОДРОСЛИ CHLAMYDOMONAS REINHARDTII**

**Матиив А.Б., Чекунова Е.М.**

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*antonmattiiv@yandex.ru*

Хлорофиллы – уникальные природные тетрапирролы, играющие ключевую роль не только в жизни фотосинтезирующих организмов, но и во всей биосфере. Изучение супрессии мутаций, блокирующих ключевые этапы биосинтеза хлорофилла (БХ), позволяет выявить компенсаторные механизмы, обеспечивающие функционирование аппарата БХ при его нарушении, и оценить адаптивный потенциал фотосинтезирующей клетки.



У зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* мутация *brs-1* в гене *CHLH*, кодирующем большую субъединицу магний-хелатазы (МХ) – ключевого фермента БХ, блокирует синтез этого тетрапиррола. Безхлорофильные клетки мутантов по этому гену светочувствительны и в темноте формируют оранжевые колонии. В результате их УФ-мутагенеза ( $\lambda 260$ ) было получено несколько зеленых светоустойчивых ревертантов, у которых БХ восстанавливался в темноте и на свету. Один из этих ревертантов, R6-*brs*, стал предметом исследований механизмов, восстанавливающих БХ в условиях нарушения функций МХ.

Для определения генетической природы реверсий был проведен гибридологический анализ ревертанта R6-*brs*, который показал, что супрессорная мутация является ядерной, наследуется моногенно, и тесно сцеплена с геном *CHLH*.

Клетки ревертанта морфологически отличаются от штамма дикого типа. Они формируют мелкие колонии за счет уменьшения скорости деления, – время их удвоения в 2,5 раза превышает данный показатель у дикого типа. Клетки ревертанта во время роста достигают размеров, втрое превышающих объемы клеток дикого типа. Супрессорная мутация привела к возрастанию в 28 раз способности к синтезу 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) и к увеличению содержания хлорофилла (Хл) и гема (в 5 и 4 раза соответственно) по сравнению с диким типом.

Анализ экспрессии генов, кодирующих ферменты БХ, показал, что в клетках ревертанта уровень транскрипции гена *CHLH* в темноте выше, чем в клетках дикого типа. Транскрипция гена *GUN4*, кодирующего белок, регулирующий активность МХ, напротив, слабее. Экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза АЛК (*GTS*, *GSA*), и субъединицы *CHLD* МХ у ревертанта не отличалась от таковой у дикого типа и сохраняла светоиндуцированный характер. По-видимому, усиление синтеза АЛК у ревертанта происходит на посттранскрипционном уровне. Ген *CHLH* малой субъединицы МХ у ревертанта и в темноте, и на свету экспрессируется слабее, чем у дикого типа.

Дальнейшие исследования, направленные на изучение супрессорной мутации, помогут выяснить генетическую природу механизмов восстановления функции МХ у *C. reinhardtii*.

## **ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА РОСТ КОРНЕЙ АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ *ARABIDOPSIS THALIANA***

**Матюш И.Д., Крытынская Е.Н.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*krylena@inbox.ru*

Несмотря на факт, что  $H_2O_2$  является реактивной молекулой, которая играет двойную роль в процессах развития и сопротивлении стрессу, вопрос о влиянии экзогенного пероксида водорода на прорастание и рост корней все еще остается открытым. Установлена двойственность эффектов  $H_2O_2$ . Стимулирующий эффект  $H_2O_2$  хорошо коррелирует с окислением ряда белков, смещением антиоксидантного метаболизма и гормонального профиля проростков. Отрицательный эффект можно связать с индуцируемым усилением степени лигнификации, повышением жесткости клеточной стенки. Важность представляет выявление концентрационных зависимостей эффектов  $H_2O_2$  с применением разных биологических моделей на основе ростовых тестов. В настоящей работе исследовали эффекты 0,3 и 3 ммоль/л пероксида водорода на рост корней асептической культуры *A. thaliana* (L.) Heynh. природного экотипа Wassilevskija (WS-0). Проростки *A. thaliana* получали чашечным агаровым методом, с использованием методики асептического выращивания Ф. Лайбаха, питательной средой выступала Мурашиге-Скуга (МС). Чашки инкубировали вертикально в камерах роста длительностью 12 суток. На 4 сутки развития (включая срок стратификации), когда длина корней проростков составляла 9 мм (стадия роста 1.02) чашки были разделены на две группы: «контроль» (n=35) и «опыт» (n=40) и подверглись частичной замене МС-среды. Воздействие  $H_2O_2$ , добавленного в МС-среду «опытной» группы чашек, оценивали на протяжении 4-12 суток, осуществляя с помощью линейки замеры расстояний между двумя метками с интервалом в 24 часа. Обработку данных проводили методами непараметрической статистики ( $p < 0.05$ ) с использованием программы SPSS. В результате исследований установлено дозозависимое торможение роста корней, что свидетельствует о токсическом действии  $H_2O_2$  в рассмотренных концентрациях. Ингибирующий эффект 3 ммоль/л  $H_2O_2$  сопровождался нарушением морфологических норм. Была рассчитана степень ингибирования прироста, как показателя отношения фактического прироста (мм) корней контрольного варианта за



определенное время к фактическому приросту обработанных пероксидом водорода корней, за тот же интервал времени (мм). Начальный показатель (5-7 сутки) в среднем не превысил 20% при внесении в среду 0,3 ммоль/л  $H_2O_2$  и составил 30-40% с увеличением концентрации  $H_2O_2$  до 3 ммоль/л. К 12 суткам - 12-16% и 60%, соответственно. Таким образом проростки асептической культуры *A. thaliana* способны воспринимать минорные изменения в концентрации  $H_2O_2$ . Отрицательный эффект 3 ммоль/л  $H_2O_2$  на рост и развитие корней не является следствием торможения деления клеток и свидетельствует о снижении способности корневой системы поглощать ионы и воду, понижая устойчивость проростков.

## РОЛЬ ВЕТРООПЫЛЯЕМЫХ РАСТЕНИЙ В РАЗВИТИИ ПОЛЛИНОЗА В ГОРОДЕ СТЕРЛИТАМАК

Меликова Д.А., Гильванова Э.Р.

ФГБОУ ВО Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, Стерлитамак, Россия

*dianamelikova95@mail.ru*

Аллергия - эпидемия нашего времени, до сих пор остается загадкой для ученых – биологов и врачей. Встречаемость аллергических заболеваний в последние десятилетия по всему миру неуклонно растет. Наблюдается утяжеление сенсibilизации у людей, страдающих аллергией к пыльце, что послужило интересом для изучения пыльцевого состава воздуха в г. Стерлитамак.

В составе аэропалеонтологического спектра зарегистрирована пыльца растений 40 таксонов, 17 из которых обладают ярко выраженными аллергенными свойствами. При изучении было выявлено, что пыльца растений, вызывающая поллинозы, имеет мелкие (10-25 мкм) и средние (25-50 мкм) размеры, например, пыльца полыни – 20-30 мкм, злаков – 20- 50 мкм, можжевельника – 22-36 мкм, дуба – 20-30 мкм и т. д., обладает специфическим строением: относительно гладкую поверхность с одной порой имеет пыльца злаковых трав – тимофеевки луговой (*Phleumpratense L.*), ежи сборной (*Dactylisglomerata L.*) и др. На начало, продолжительность и интенсивность пыления влияют температура, скорость ветра и атмосферные осадки. Установлено, что на территории г. Стерлитамак наиболее значимыми метеорологическими факторами, влияющими на динамику пыления большинства растений, которые продуцируют пыльцу с аллергенными свойствами, являются скорость ветра, температура и влажность воздуха. Как показал корреляционный анализ, наибольшее влияние из этих факторов оказывает влажность. Для вегетационного сезона характерны волны пыления, различающиеся по качественному и количественному составу спектра. Первая волна пыления приходится на апрель - май и связана с пылением сережкоцветных, в первую очередь березы, вторая – на конец мая - июнь (пыление злаков), третья – конец июля – август – сорные травы (полынь, лебеда). Было установлено, что луговые травы: ежа сборная (*Dactylisglomerata L.*), пырей ползучий (*Elytrigiarépens L.*) начинают пылить в конце мая (двадцатые числа), В первых числах июня зафиксирована пыльца мятлика лугового (*Poapraténsis L.*), осоки (*Carexsp.*), овсяницы луговой (*Festucapratensis L.*), что значительно отличается от существующих данных. Данные выводы заинтересовали врачей аллергологов-иммунологов, так как стандартными сроками пыления луговых трав в республике Башкортостан считается начало июня (после 10 июня). Эти данные повлияли на сроки назначаемого лечения. Врачи аллергологи-иммунологи г. Стерлитамак начали назначать антигистаминные препараты пациентам с сенсibilизацией к луговым травам с середины мая, так как предварительный прием антигистаминных средств, предотвращает развитие поллиноза.



## РОЛЬ CLE-ПЕПТИДОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ КЛУБНЕЙ У КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM*)

**Полюшкевич Л.О., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А.**

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*soslowhoshi@gmail.com*

Картофель является важнейшей сельскохозяйственной культурой, занимающей первое место среди незерновых культур. Клубни картофеля представляют собой видоизменённые укороченные подземные побеги, развитие которых связано с деятельностью различных меристем: апикальной меристемы побега, камбия и перимедулярной зоны. Кроме того, известно, что развитие клубня картофеля зависит от факторов внешней среды – в частности, высокое содержание азота в среде задерживает клубнеобразование. Клубни картофеля активно употребляются человеком в пищу, поэтому исследование генетических аспектов еще слабоизученного процесса клубнеобразования у *S. tuberosum* представляется весьма актуальным как для фундаментальной науки, так и для ее прикладных аспектов. В процессе развития растений пептиды группы CLE (CLV1/EMBRYO SURROUNDING REGION) играют роль медиаторов, обеспечивающих межклеточную и внутриклеточную коммуникацию и контролирующих активность различных типов меристем. Помимо этого, пептиды CLE участвуют в реакции растения на факторы окружающей среды: у *Arabidopsis thaliana* экспрессия некоторых CLE индуцируется нехваткой азота в корнях. Так как развитие клубня картофеля зависит от активности различных меристем, а также от количества азота в среде, то было логично предположить участие пептидов CLE в формировании клубня картофеля. Известно, что сигнальный путь CLE-пептиды индуцируют посредством контакта с рецепторами, локализованными в клеточной мембране. На данный момент у картофеля нами идентифицированы 22 гена, кодирующих пептиды CLE (*StCLE*) и 10 генов, кодирующих рецепторы пептидов CLE. Мы проанализировали их структуру, локализацию в хромосомах, а также провели филогенетический анализ. Мы провели количественный анализ экспрессии выявленных генов 1) в разных частях растений картофеля, 2) в разных тканях клубня 3) на разных стадиях развития клубня, и 4) в корнях картофеля при различном содержании азота в среде. Было показано, что уровень экспрессии некоторых генов CLE в разных тканях и при разных условиях сильно изменяется. В результате мы выделили три основных кандидата на роль регуляторов клубнеобразования: *StCLE8*, *StCLE12*, *StCLE24*. Гены *StCLE8* и *StCLE12* являются гомологами *CLE41* и *CLE44A. thaliana* – ключевых регуляторов деления камбия. Предполагаемым регулятором ответа на содержание азота в среде является ген *StCLE24*, гомолог *CLE 1, -3, -4, и -7A. thaliana*: уровень его экспрессии возрастает при пересадке растений картофеля на среды с различной концентрацией нитрата калия.

## ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДА И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ЛИСТЬЯХ *TRITICUM AESTIVUM L.* И *SECALE CEREALE L.* ПРИ КИСЛОТНОМ И ЩЕЛОЧНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

**Правкова А.А.**

ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет

*NP1996\_96@mail.ru*

Влияние неблагоприятных факторов вызывает в клетках повышение концентрации активных форм кислорода. Значительную роль в ответных реакциях растений играют ферменты антиоксидантной системы защиты. На активность ферментов оказывают влияние температура, pH, ионный состав среды и др. Эти факторы способны изменять конформацию активного центра ферментов и скорость катализируемых ими реакций. Для нормальной работы ферментов необходимо поддерживать постоянство клеточной среды, которое обеспечивается при помощи различных механизмов, в числе которых регуляция pH-стата клетки.

Кислые и щелочные почвы формируются под воздействием как природных, так и антропогенных факторов. Вне зависимости от причины отклонения pH от нейтральных значений растения должны обладать механизмами устойчивости к этому фактору. На данный момент реакция высших растений и их ферментов на кислотность и щелочность почв остается малоизученной.



Цель данной работы – оценка влияния кислой и щелочной реакции корневой среды на содержание пероксида водорода и активность пероксидаз в листьях пшеницы и ржи.

Исследование проведено в опытах с вариантами 3 и 10 pH. Растения выращивали на вермикулите в течение 7 дней, после чего на них воздействовали растворами с разной реакцией. В листьях измеряли содержание пероксида водорода и пероксидазную активность через 0,5, 1, 2, 3, 4 и 24 часа после воздействия стресса.

У пшеницы в результате смещения реакции корневой среды в кислую сторону в несколько раз повысилось количество пероксида водорода, и одновременно возросла активность ферментов. При ощелачивании среды количество пероксида водорода колебалось по срокам наблюдений, не показывая направленного тренда во времени. Аналогичные колебания прослежены в динамике пероксидазной активности пшеницы при изменении pH корневой среды.

У ржи под влиянием кислой среды количество пероксида по срокам было повышено, или не отличалось от контроля. Подобным образом изменялась и активность фермента. При воздействии щелочного фактора накопление пероксида отмечено в середине наблюдений, а достоверное усиление пероксидаз – в начальный период.

Таким образом, в результате изменения реакции корневой среды у обоих растений отмечалось накопление пероксида и усиление активности пероксидаз; согласно современным научным данным эта реакция свидетельствует о развитии окислительного стресса. На состояние показателей пшеницы в большей степени оказала кислая среда, а у ржи – щелочная.

## **ФОТОАКТИВАЦИЯ ОРАНЖЕВОГО КАРОТИНОИДПРОТЕИНА В ПРИСУТСТВИИ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФОСФАТОВ**

**Слатинская О.В., Максимов Г.В.**

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

*slatolya@mail.ru*

Под действием сине-зеленого света, оранжевый каротиноидпротеин (ОКП, OrangeCarotenoidProtein — ОСР, фотоактивный водорастворимый белок) переходит из оранжевой стабильной формы (ОСР<sup>0</sup>) в красную активную форму (ОСР<sup>R</sup>), которая способна образовывать комплексы с фикобилисомами цианобактерий. Это обеспечивает защиту фотосинтетического аппарата цианобактерий от разрушений с помощью механизма нефотохимического тушения флуоресценции. Цвет ОСР определяется положением хромофора белка (кетокаротиноид 3'-гидроксиэхиненон) между N- и С-структурными доменами белка. Ранее, было показано, что высокие концентрации фосфата, необходимые для извлечения фикобилисом, оказывают значительное влияние на фотоиндукцию ОСР и снижение эффективности нефотохимического тушения.

В данной работе исследовали изменение структуры хромофора и интенсивности фотоконверсии ОСР в присутствии высоких концентраций фосфата (до 1,2 М) методом абсорбционной спектроскопии. Для исследования оказываемого эффекта высоких концентраций фосфата на ОСР<sup>0</sup> применяли метод термостатирования.

Для исследования оказываемого эффекта высоких концентраций фосфата на ОСР<sup>R</sup> использовали нефотоактивный белковый мутант ОСР с аминокислотной заменой триптофана-288 (Trp288 и Tyr201 — сайты связывания между кето-группой каротиноида и С-доменом белка) на аланин. ОСР<sup>W288A</sup> является функциональным и спектральным аналогом красной формы, который способен принимать участие в нефотохимическом тушении флуоресценции фикобилисом *in vitro*.

Наши эксперименты демонстрируют, что высокие концентрации фосфата в среде (более 0,8 М) стабилизируют ОСР в оранжевой форме, препятствуя протеканию фотоконверсии после освещения. Характерные изменения спектров и величины энергии активации указывают, что при концентрациях фосфата более 0,4 М, белковый мутант ОСР<sup>W288A</sup> приобретает способность к осуществлению фотоконверсии.

В результате, было установлено, что присутствие высоких концентраций фосфатов стабилизирует белок в неактивной оранжевой форме. Так же, показано, что для осуществления фотоконверсии значительное влияние оказывает наличие только одной связи между кето-группой каротиноида и Tyr-201 в С-домеине белка.



## **ВЛИЯНИЕ СВИНЦА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ПОБЕГАХ *SINAPIS ALBA*, ОБРАБОТАННЫХ КЛЕТКАМИ *BACILLUS SUBTILIS***

**Смирнова Ю.В., Курамшина З.М., Матлашова А.Г.**

ФГБОУ ВО Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, Стерлитамак,  
Россия

*matlash1702@yandex.ru*

Тяжелые металлы, к которым относится свинец, являются одними из самых распространенных и токсичных антропогенных загрязнителей окружающей среды. В ответ на действие свинца в растениях изменяются физиолого-биохимические показатели: происходит снижение интенсивности фотосинтеза и дыхания, нарушение водного баланса, развитие окислительного стресса, снижение уровня пролина. Пролин, являясь одним из самых распространенных поглотителей активных форм кислорода в растениях, инактивирует ионы тяжелых металлов путем образования комплекса пролин-металл, влияет на синтез фитохелатинов в растительных тканях. Одним из современных методов повышения устойчивости сельскохозяйственных растений к тяжелым металлам является применение эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*.

Целью работы явилось исследование влияния свинца на содержание пролина в тканях побегов горчицы белой (*Sinapis alba* L. сорта Рапсодия), обработанных клетками эндофитных штаммов *B. subtilis* шт. 11ВМ.

Семена горчицы промывали в мыльной воде, стерилизовали 96%-ым этанолом, ополаскивали в дистиллированной воде, подсушивали, и использовали в экспериментах. Обработку семян бактериями проводили в стерильных условиях, в ламинар-боксе. Растения выращивали в вегетационных сосудах (20 × 20 см) с выщелоченным черноземом при температуре 18–20°C при искусственном освещении. В почву металл вносили в виде раствора соли  $Pb(NO_3)_2$ , однократно после посева семян, рассчитывая концентрацию ионов металла (10, 1500, 3000 мг/кг почвы). Контрольные растения поливали дистиллированной водой. Измерение растений и отбор проб для определения пролина проводили на 30 сут. Экстракцию и определение свободного пролина осуществляли по методике Шихалеевой с соавт. (2014), используя кислый нингидриновый реактив.

В ходе опытов было установлено, что при загрязнении почвы свинцом, одновременно с угнетением роста побегов горчицы происходило уменьшение содержания пролина в тканях необработанных бактериями растений. Так, при концентрации свинца 3000 мг/кг почвы содержание пролина в тканях необработанных растений было ниже на 56% в сравнении с проростками, растущими в чистой почве. Показатели содержания пролина в побегах растений, обработанных бактериями *B. subtilis*, были выше, чем у неинокулированных, во всех исследованных концентрациях ТМ. Более высокие ростовые показатели и уровень содержания пролина в тканях обработанных бактериями растений могут свидетельствовать о большей устойчивости этих проростков к действию свинца.

## **РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СООТНОШЕНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И КАЛИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ТОМАТОВ В ГИДРОПОННЫХ УСЛОВИЯХ**

**Стафеев В.И., Якимов Ю.Е., Куровский А.В.**

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Томский государственный университет

*Disside@mail.ru*

Современное растениеводство базируется на рациональном использовании удобрений, предполагающем необходимость учета продуктивности растений и баланса питательных веществ для прогнозирования и удовлетворения потребности культур в биогенных элементах, улучшения качества урожая. В настоящий момент изучены и описаны потребности растений в макро- и микроэлементах, составлен и используется ряд питательных растворов для гидропонных культур, используемых как для получения урожаев, так и в качестве удобного метода изучения роли отдельных элементов и их соотношения.



Известно, что для растений в процессе роста и развития имеет значение не только концентрация, но и соотношение отдельных макроэлементов, таких как ионы кальция и калия. Считается, что преобладание в среде  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к увеличению вязкости цитоплазмы клеток, уменьшению степени их обводнения, торможению ростовых процессов, но вместе с тем к повышению уровня стабильности и снижению варьирования ростовых процессов во времени. Преобладание  $\text{K}^+$  увеличивает обводнение цитоплазмы, ускоряет рост клеток, способствует набору вегетативной массы. Таким образом, регулируя соотношение данных элементов в соответствии с потребностями растений, можно достичь максимальной продуктивности.

Целью работы являлась разработка питательных смесей для оценки влияния соотношения ионов кальция и калия на рост и развитие томатов в гидропонных условиях.

Объектом исследования служили томаты сорта Грунтовый Грибовский. Семена предварительно проращивали 3–4 суток во влажных камерах в чашках Петри. Проростки помещали в емкости объемом 100 мл, заполненные питательными растворами, содержащими  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  в концентрациях 2, 3, 9, 2, 4, 1, 9 мг-экв/л соответственно, с вариациями по соотношению  $\text{Ca}^{2+}$  к  $\text{K}^+$  в диапазоне 0,3–3,0 при содержании калия 4 мг-экв/л. Оценка эффективности использования питательного раствора проводилась по уровню транспирации растений и их биомассе.

Экспериментально показано, что предложенный состав питательного раствора позволяет оценить влияние соотношения  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{K}^+$  на прирост и физиологическое состояние растений. Наибольший прирост биомассы и наибольший уровень транспирации томатов отмечен при соотношении 1:1 (по 4 мг-экв/л), что соответствует эффективности классических растворов. При соотношении 0,3:1 содержание кальция недостаточно для нормального функционирования растений, а при его увеличении до 3:1 отмечено засоление раствора.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА**

**Усербаева А.А., Косалбаев Б.Д., Карабекова А.Н., Ахметкалиева А.Е., Талпакова А.Е.,  
Заядан Б.К.**

Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

*kossalbayev.bekzhan@gmail.com*

Использование фототрофных микроорганизмов для получения биодизельного топлива может оказаться подходящей альтернативой, потому что цианобактерии являются наиболее эффективными биологическими продуцентами жирных кислот, а также универсальным возобновляемым источником биомассы. Идентификация жирнокислотного состава общих липидов цианобактерий с последующим подбором условий культивирования позволит вырабатывать продукт (биодизель) с улучшенными технологическими и функциональными характеристиками.

В связи с этим, целью данной работы являлось выделение штаммов цианобактерий, перспективных для получения биотоплива.

Объектом исследования являются выделенные культуры цианобактерий из различных водных экосистем: горячий источник в п. Тургень, холодного озера Иссык и соленого озера Балхаш. В пробах воды из экстремальных источников обитания обнаружено 19 представителей цианобактерий. Из них выделено 3 аксеничных штамма. На основании морфологических характеристик и анализа нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК эти штаммы идентифицированы как *Synechococcus* sp. Is-2, *Cyanobacterium* sp. Is-6 и *Cyanobacterium aponinum* T-1. В результате опыта, были установлены следующие оптимальные условия культивирования для выделенных штаммов цианобактерий: *Cyanobacterium aponinum* T-1- рН – 7,0, освещение 4000 люкс, температура 40°C; *Synechococcus* sp. Is-2 - рН – 7,0, освещение 4000 люкс, температура 25°C; *Cyanobacterium* sp. Is-6- рН – 7,0, освещение 4000 люкс, температура 25°C. По результатам газохроматографического анализа Обнаружено, что липиды культуры *Cyanobacterium aponinum* T-1 богаты жирными кислотами с длиной цепи C14 (40%) и C16 (55% и 60% соответственно) относительно других исследованных видов. Тогда как штамм *Cyanobacterium* sp. Is-6 в основном содержал жирные кислоты с длиной цепи C16 доля которых составляет порядка 90%, а у *Synechococcus* sp. Is-2 данный показатель составлял всего 25%.





Таким образом, показано, что штаммы цианобактерий *Cyanobacteriumaponinum* T-1 и *Cyanobacterium* sp. Is-6 могут быть подходящими кандидатами в качестве продуцентов биодизельного топлива.

Также, нами проводятся работы по выделению штаммов цианобактерий, производящие фотобиологическим путем, биоводород.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *AJUGA TURKESTANICA*

Харитонов Т.Д., Титова М.В., Собољкова Г.И., Кочкин Д.В., Носов А.М.

ФГБУН Институт физиологии растений им К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

*Khartimur@mail.ru*

Фитоэкдистероиды – широко известная группа природных нетоксичных полиоксистероидов (группа полигидроксилированных стероидных соединений). Впервые эти низкомолекулярные биорегуляторы были выделены из куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori* A. Бутенандом и П. Карлсоном в 1954 г. [1]. Однако структура первого выделенного экдистероида –  $\alpha$ -экдизона была установлена лишь спустя 11 лет с помощью рентгеноструктурного анализа [2]. Было показано, что фитоэкдистероиды обладают высокой биологической активностью и выполняют функции гормонов линьки и метаморфоза насекомых [3]. Научным прорывом стало обнаружение этого класса веществ в растениях. Почти одновременно экдистероиды были обнаружены в *Podocarpus elatus* R. Br., *Achyranthes fauriei* Levl., *Polypodium vulgare* L. и *Taxus baccata* L. К настоящему времени экдистероиды обнаружены в грибах, водорослях, папоротникообразных, голосеменных и цветковых растениях [4]. В связи с тем, что экдистероиды широко распространены в мировой флоре, интерес к ним не уменьшается и в настоящее время.

Живучка туркестанская *Ajugaturkestanica* (Rgl.) Briq. многолетнее травянистое растение, относится к семейству Lamiaceae – эндемик Западного Тянь-Шаня и Гиссаро-Алая, произрастает на территории Узбекистана и Таджикистана, полукустарник семейства Яснотковые. Побеги живучки туркестанской применяются в спортивной медицине и косметологии, благодаря наличию в них специфического фитоэкдистероида - туркестерона, который по анаболическому эффекту не уступает синтетическим препаратам, не являясь при этом допингом. Туркестерон не токсичен, проявляет тонизирующее действие, стимулирует работоспособность, предохраняет от негативного воздействия различных стрессорных факторов. Живучка туркестанская является источником разнообразных фитоэкдистероидов. Это растение продуцирует экдистерон, аюгалактон, аюгастерон, циастерон, 22-ацетилциастерон, туркестерон [5]. Для этих соединений установлен широкий спектр биологической активности при различных экспериментальных патологических состояниях [6]. Сумма экдистероидов растения обладает гипогликемической активностью [7]. Экдистерон и туркестерон оказывают благотворное действие на энергетические реакции организма [8]. Также эти соединения обладают способностью блокировать процессы свободнорадикального окисления.

Живучка туркестанская является среднеазиатским эндемиком с узким ареалом распространения. В связи с этим большой интерес представляет разработка биотехнологического способа получения экдистероидов с использованием культур клеток *Ajugaturkestanica*.

Цель: разработка оптимальных условий выращивания культур клеток *Ajugaturkestanica* с максимальным накоплением фитоэкдистероидов, преимущественно туркестерона.

Задачи:

- Разработка метода химического анализа содержания туркестерона в биомассе культуры клеток *Ajugaturkestanica*;
- Химический анализ содержания туркестерона в каллусных и суспензионных культурах клеток.

Каллусные и суспензионные культуры были получены в Институте физиологии растений РАН. Культуры *Ajugaturkestanica* выращивали на модифицированной среде Мурасиге и Скуга с добавлением фитогормонов.

На первом этапе работы было проведено изучение влияния различных условий экстракции на извлечение экдистероидов из лиофилизированной биомассы культуры клеток *Ajugaturkestanica*. Также была проведена оптимизация методики очистки полученных экстрактов. В процессе работы сопоставляли различные методы экстракции: н-бутанолом, этилацетатом, хлороформом, водой и



смесью этанол/вода (в разных соотношениях и при различных температурах). Кроме того, изучали влияние кислотного гидролиза биомассы смеси Килиани и 1,0 н. HCl в 50% MeOH на выход экистероидов. Оптимальным методом экстракции культуры оказалась экстракция горячим 80% этиловым спиртом с последующей очисткой экстракта с использованием патрона Supelclean ENVI-18 SPE.

Очищенные экстракты анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), которую проводили на приборе Agilent 1200 Compact LC (Agilent Technologies, США). После оптимизации условий разделения был выбран изократический режим анализа с использованием колонки Zorbax C18 (250×4,6 мм), размер частиц 5 мкм. В качестве компонентов подвижной фазы использовали ацетонитрил: вода 15:85, по объему.

В результате был разработан метод количественного определения содержания экистероидов в биомассе каллусных и суспензионных культур клеток *Ajugaturkestanica* методом высокоэффективной ВЭЖХ. С использованием этого метода проведен скрининг более 50 образцов биомассы культур клеток живучки туркестанской на содержание этих соединений. Показано, что в некоторых линиях каллусных и суспензионных культур клеток *Ajugaturkestanica* содержатся туркестерон и экистерон, при этом в ряде случаев их содержание может быть сопоставимо с интактным растением.

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА И НИКЕЛЯ НА КОРНЕОБРАЗОВАНИЕ ПШЕНИЦЫ СОРТА ИРЕНЬ

**Шептор А.С.<sup>1</sup>, Муханбетжанова К.Т.<sup>2</sup>, Годымчук А.Ю.<sup>2</sup>, Куровский А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет

*asheptor@gmail.com*

Уникальные свойства наноразмерных частиц никеля и цинка, находят применение во многих сферах науки и практики, в том числе, – в сельском хозяйстве. Наночастицы (НЧ) этих металлов – микроэлементов способствуют увеличению урожайности и устойчивости сельскохозяйственных культур к факторам окружающей среды. Известно, что растения способны в больших количествах накапливать металлы. Например, содержание цинка в тканях злаковых и бобовых может достигать 15-60 мг/кг сухой массы. Тем не менее, существуют неизученные вопросы, касающиеся исследования различий влияния металлов – микроэлементов на растения в виде ионов, обычных для почвенных растворов, и наночастиц. Целью работы являлась оценка влияния НЧ цинка и никеля на корнеобразование проростков пшеницы сорта Ирень. В работе на основе питательного раствора Хьюитта готовили суспензии электровзрывных наночастиц Ni (75 нм) с концентрациями 10, 25, 50, 100, 250, 500 мг/л и Zn (80 нм) с концентрацией 100 мг/л. Суспензии были подвергнуты обработке в ультразвуковой ванне в течение 30 минут при мощности 50 Вт. В эксперименте в каждую чашку Петри, на фильтровальную бумагу, смоченную суспензией (7 мл) выкладывали по 25 семян пшеницы. Контролем служил питательный раствор Хьюитта без добавления НЧ. Закрытые чашки Петри выдерживали в термостате при температуре 25°C в течение 48 часов. Проросшие семена фотографировали на черном фоне. Компьютерную морфометрию длины образовавшихся корней осуществляли с помощью программы анализа изображений ImageJ. Согласно результатам экспериментов, добавление в среду прорастания НЧ Zn в концентрации 100 мг/л приводило к статистически значимому уменьшению длины образовавшихся корней (24±3,6 мм против 30,2±6,8 мм в контроле). НЧ Ni, напротив, в широком диапазоне концентраций (от 10 до 500 мг/л) оказывали статистически значимый стимулирующий эффект на длину образовавшихся корней у проростков пшеницы. Средняя величина этого эффекта составила 24% по сравнению с контролем. Сама экспериментальная группа представляла собой совокупность однородных, практически не отличающихся между собой выборок. Об этом свидетельствовали результаты дисперсионного анализа (p=0,84). В аналогичном эксперименте с использованием ионной формы никеля (NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) было показано выраженное токсичное влияние хлорида никеля на семена пшеницы. Прорастание семян было угнетено и наблюдалось только при концентрациях 10, 25, 50 мг/л.



## ПРОТЕКТИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КАРБОАНГИДРАЗЫ CrCAN3 НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В УСЛОВИЯХ ЗАЩЕЛАЧИВАНИЯ СРЕДЫ ЛЮМЕНА

**Шукшина А.К., Терентьев В.В., Шитов А.В.**

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН

*ferrretka@mail.ru*

Смещение оптимального рН (6,2-6,5) для фотосистемы 2 (ФС2) в кислую или щелочную стороны приводит к ингибированию ее активности, в частности, работы водоокисляющего комплекса (ВОК) из-за конформационных изменений «внешних» белков ФС2, структурных изменений в  $Mn_4CaO_5$ -кластере и большей уязвимости ВОК от  $H^+$ , образующихся в нем при окислении воды. Значение рН люмена в темноте или при сильном затенении может находиться на уровне 6,8-7,0, и попадание света на ФС2 в таких условиях в случае естественного колебания интенсивности светового потока, может привести к значительному повреждению ВОК. Карбоангидраза (КА) CrCAN3, как было предположено ранее, может участвовать в транспорте  $H^+$  от  $Mn_4CaO_5$ -кластера ВОК.

Мы предполагаем, что КА CrCAN3 может проявлять протектирующее действие на фотосинтетическую активность ФС2 при защелачивании люмена. Поэтому целью работы было изучить влияние КА CrCAN3 на фотосинтетическую активность ФС2 при смещении рН от оптимальных значений в щелочную сторону. Для этого исследовалось ингибирующее действие смещения рН от 6,5 до 7,0 на фотосинтетическую активность ФС2 в присутствии, отсутствии или при ингибировании CrCAN3.

В качестве объектов исследования были использованы мембранные частицы, обогащенные ФС2 (далее ФС2), изолированные как из дикого типа (ДТ) зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, так и из мутанта *cia3*, с отсутствующей КА CrCAN3. При оптимальных для фотосинтетической активности ФС2 значениях рН, равных 6,2-6,5 скорость выделения  $O_2$  не отличались у ДТ и мутанта *cia3*, и составляла около 285  $\mu\text{моль}O_2/\text{мг Хл}^*\text{ч}$ . При смещении рН в щелочную сторону наблюдалось усиление ингибирования  $O_2$ -выделяющей функции ФС2, причем, кривые зависимости скорости выделения  $O_2$  от рН значительно отличались у ДТ и мутанта *cia3*. В случае ФС2 из ДТ скорость выделения  $O_2$  уменьшалась примерно на 12% при рН 6,8 и 18% при рН 7,0. В случае мутанта *cia3* отмечалось снижение  $O_2$ -выделяющей активности ФС2 на 19% уже при рН 6,8 и 30% при рН 7,0. Ингибирование КА CrCAN3 в ФС2 из ДТ с помощью ингибиторов КА: ацетазоламида, этоксизоламида и трифторметансульфонамида, различающихся по своим физико-химическим свойствам, приводило к уменьшению устойчивости  $O_2$ -выделяющей функции ФС2 при смещении рН в щелочную сторону, причем, величина этого снижения была сравнима с полученной для мутанта *cia3*.

Таким образом, в результате проведенной работы показано, что присутствие активной КА CrCAN3 вблизи ВОК ФС2 оказывает значительное протектирующее действие на его функцию при смещении рН в щелочную сторону (подобное смещение рН возможно *in vivo*).



## СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»

### АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНОМА ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ ЭЛЬ ТОР В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД ЭВОЛЮЦИИ ЭТОГО ПАТОГЕНА

Агафонов Д. А.<sup>1</sup>, Краснов Я. М.<sup>1</sup>, Смирнова Н. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб", Саратов,  
Россия

*rusrapi@microbe.ru*

В связи с чрезвычайно высокой пластичностью генома, одним из уникальных модельных объектов изучения микроэволюционных преобразований является возбудитель холеры – бактерия *Vibrio cholerae*. Семь известных пандемий холеры были вызваны *V. cholerae* O1 серогруппы двух биоваров – классического и Эль Тор. Особый интерес представляют штаммы биовара Эль Тор, вытеснившие более 90 лет назад холерные вибрионы классического биовара в эндемичных по холере регионах и вызвавшие седьмую пандемию холеры, продолжающуюся с 1961 г. по настоящее время. При этом около 30 лет эпидемические осложнения по холере в мире были вызваны типичными штаммами этого биовара. В ходе микроэволюции в эндемичных по холере регионах в 1991-1994 гг. возникли новые измененные варианты этого патогена, или геноварианты, у которых структура и функция геномов отличаются от ранее известных типичных штаммов. Принято считать, что генетически измененные штаммы возникли в результате горизонтального переноса генов от *V. cholerae* классического биовара в клетки типичных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор. К настоящему времени для геновариантов возбудителя холеры Эль Тор характерно глобальное распространение. Одно из основных отличий измененных штаммов состоит в более высоком уровне вирулентности, что выражается в тяжелых клинических формах болезни, нередко с летальным исходом. Выраженные различия в вирулентности между типичными и измененными штаммами связаны, прежде всего, с разным уровнем продукции ими холерного токсина – ключевого фактора вирулентности, вызывающего развитие острой диареи. При этом геном атипичных штаммов оказался весьма нестабильным. В результате в последнее десятилетие возникли высоковирулентные штаммы биовара Эль Тор с набором мутаций в мобильных генетических элементах, связанных с патогенностью (профаг СТХφ, остров патогенности VPI-1) или адаптацией к стрессовым воздействиям окружающей среды (остров пандемичности VSP-II). Геномные вариации были результатом небольших изменений в структуре ключевых генов вирулентности за счет точковых мутаций, а также делеции протяженного участка генома. Важно отметить высокую селективную ценность обнаруженных изменений генома, поскольку недавно сформированные атипичные штаммы вытеснили ранее возникшие варианты во многих эндемичных по холере регионах. Представленная динамика геномных вариаций приводит к функциональным изменениям генома и направлена на усиление вирулентности и эпидемического потенциала возбудителя.

### ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСА БАКТЕРИЙ ИЗ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ АЛЬМЕТЬЕВСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Аетдинова С.Э.<sup>1</sup>, Миндубаева Л.Н.<sup>1</sup>, Шах Махмуд Р.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*a.sevilya@mail.ru*

Состав вирусов в почве косвенно определяет свойства почвы, пригодность почвы для различных сельскохозяйственных процедур и научных исследований, так как для каждой почвы характерно наличие экосистемы и таких ее представителей, возможность существования которых в данных условиях тесно связана со свойствами этой почвы, поэтому, зная примерный состав представителей почвы, можно примерно предсказать её свойства. Кроме того, вирусы играют важную роль в экосистемах. Бактериофаги влияют на численность почвенных бактерий, поэтому, изучив состав вирусов в почве и то, на какие бактерии они влияют, можно определить состав почвенных бактериальных видов и предсказать качество почв по содержанию полезных или вредных бактерий.



Целью нашей работы было выделение вируса из лесной почвы Альметьевского района Республики Татарстан (РТ). Альметьевский район, как и другие, богат разными видами почвы: чернозём, полевая, лесная, городская нефтезагрязнённая, городская незагрязнённая. В связи с этим нами были выбраны малоизученные учёными вирусы лесной почвы, из которой мы выделили вирусы.

В ходе исследования 200 мкг почвенного образца инкубировали вместе со штаммами бактерий *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis* при температуре 37°C в течение 24 часов с аэрацией. Затем смесь центрифугировали в течение 30 минут при 10000g. Надосадочную жидкость отфильтровали через стерильные бумажные фильтры и поместили в микропробирку, затем прогрели в термостате при 65°C в течение 30 минут. Полученную суспензию, предположительно содержащую вирусы, хранили в холодильнике при 4°C. Наличие фагов подтвердили методом Фишера, а затем методом Грациа.

В работе было установлено, что в лесной почве имеется вирус бактерий рода *Bacillus*, который поражает *Bacillus pumilus* и *Bacillus licheniformis*, но не поражает *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*.

Таким образом, в лесной почве села Борискино Альметьевского района РТ имеется вирус, который избирательно поражает бактерии видов *Bacillus pumilus* и *Bacillus licheniformis*.

### **МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ ХВОСТОХРАНИЛИЩА АРЦВАНИК: ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ИХ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТЬ**

**Айвазян И. С.<sup>1</sup>, Маргарян А. А.<sup>1</sup>, Трчунян А. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

*irina.ayvazyan@ysumail.am*

Хвостохранилище Арцваник, эксплуатируемое Каджаранским медно-молибденовым комбинатом, является одним из наибольших среди отходных резервуаров Армении. Оно очень богато различными тяжелыми металлами и иными токсичными компонентами, чем и является уникальным экотопом для формирования сообществ металлоустойчивых микроорганизмов, состав которых мало изучен.

Целью данной работы является выделение и идентификация металлоустойчивых алкалофильных бактерий из образца, взятого из хвостохранилища Арцваник, а также исследование генов, обуславливающих их металлоустойчивость.

Были выделены три металлоустойчивые алкалофильные (pH<sub>оптимум</sub> 9-10), палочкообразные, аэробные, не образующие спор бактерии. На основании фенотипического анализа и секвенирования 16S рДНК изоляты были идентифицированы как штаммы *Rheinheimera soli* AI1, *Pseudomonas* sp. AI2 и *Algoriphagus aquaeductus* AI3. Они имели высокую гидролазную активность, благодаря чему могут рассматриваться как продуценты гидролитических ферментов.

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> и Cr<sup>6+</sup> для выделенных штаммов определяли методом серийных разведений в агаре. Установлено, что *R. soli* AI1 и *Pseudomonas* sp. AI2 более устойчивы к Cu<sup>2+</sup> и Zn<sup>2+</sup> (МИК составляет 4 мМ и 5 мМ, соответственно), тогда как *A. aquaeductus* AI3 был устойчив к Cu<sup>2+</sup> и Ni<sup>2+</sup> (МИК составляет 4 мМ и 2 мМ, соответственно). Гены, определяющие устойчивость к тяжелым металлам, идентифицировали с помощью ПЦР-амплификации с использованием специфических праймеров. Показано, что устойчивость к Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup> и Hg<sup>2+</sup> у *Pseudomonas* sp. AI2 обусловлена генами *copABC*, *nccA*, *chrB* и *merA*, тогда как у *R. soli* AI1 и *A. aquaeductus* AI3 резистентность обеспечивали гены *nccA* и *copC*.

Результаты показывают, что выделенные и идентифицированные металлоустойчивые алкалофильные бактерии перспективны для применения в биотехнологии как продуценты ферментов и в биоремедиации загрязненных участков окружающей среды.



## ПОЯВЛЕНИЕ МУТАНТНОЙ КУЛЬТУРЫ *A. NIGER*, БОЛЕЕ УСТОЙЧИВОЙ К БЕЛОМУ ФОСФОРУ

Акосах Й.А.<sup>1</sup>, Миндубаев А.З.<sup>2</sup>, Бабынин Э.В.<sup>1</sup>, Бадеева Е.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН  
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, Казань, Россия

*mindubaev-az@yandex.ru*

Очень интересно спонтанное появление в среде с белым фосфором культуры *Aspergillus niger* AM1 с измененной морфологией и окраской, быстрее растущей в среде с исследуемым ксенобиотиком. Возможно, это результат мутации и дальнейший этап адаптации микроорганизма к среде, содержащей белый фосфор.

Мы произвели пересев культуры *A. niger* AM1 по стандартной схеме, в трех повторах. Первые признаки роста (появление бахромы субстратного мицелия белого цвета вокруг старых колоний) стали наблюдаться через 6 суток после посева. Через 11 суток колонии образовали воздушный мицелий, окрасившийся в темно-желтый цвет. Через 12 суток появились первые конидиеносцы. Через 49 суток во всех повторах колонии были покрыты черной россыпью спор. Это доказывает, что и в среде с белым фосфором аспергилл может сохранять нормальную фертильность. Обращает на себя внимание тот факт, что в одном повторе колония стала развиваться быстрее, чем в других, хотя условия были совершенно идентичны. Возможно, это следствие мутации, обеспечившей лучшую приспособленность к необычным (и экстремальным) условиям существования.

После добавления равного объема культуральной среды на 53 день между лидирующей в росте культурой и остальными накопилось еще больше различий. Через 55 суток после посева лидирующая культура стала вырабатывать пигмент и приобретать более насыщенную желтую окраску. Через 56 суток она стала оранжевой. Колонии в остальных двух повторах растут медленнее и имеют гораздо более светлую окраску. Через 59 суток окраска лидирующей колонии была визуальным образом охарактеризована как темно-оранжевая. Окрасилась не только колония, но и культуральная среда, т.е. пигмент хорошо растворим в воде. Примерно в это время мы дали этому аспергиллу неофициальное название «рыжий гриб».

Через 180 суток произвели пересев «рыжего» *A. niger* AM1. Через две недели колония созрела. Культура, судя по виду и окраске спор, безусловно, является черным аспергиллом, но морфология колонии необычная. Воздушный мицелий низкий, споры формируются почти на поверхности среды. В первые двое суток культура отличалась от предковой выделением в среду желтого пигмента, но после созревания спор становилась такой же черной и неотличимой. Это является еще одним свидетельством того, что в культуре произошла мутация. Впрочем, требуется более детальное изучение морфологии этого аспергилла. А судя по тому, что «рыжий» гриб эффективнее набирал биомассу в среде с белым фосфором, эта мутация повышает его приспособленность к существованию в данной среде.



## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM* НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА

Александрова А.М.<sup>1</sup>, Карпова О.В.<sup>1</sup>, Наргилова Р.М.<sup>1</sup>, Екатеринская Е.М.<sup>2</sup>, Кушнарченко С.В.<sup>3</sup>, Каримов Н.Ж.<sup>3</sup>, Исаков Б.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РГП на ПХВ Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина КН МОН РК, Алматы, Казахстан; <sup>2</sup>РГП на ПХВ Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова МОН РК, Костанай, Казахстан; <sup>3</sup>РГП на ПХВ Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, Алматы, Казахстан

*alena\_pisarenko@inbox.ru*

Картофель является одной из самых популярных сельскохозяйственных культур, возделываемых во всем мире. Вегетативное размножение картофеля клубнями способствует накоплению и передаче последующим поколениям большого количества патогенов. Вирусные инфекции опасны не только значительным снижением урожайности картофеля, но и отсутствием фенотипического проявления заболеваний. Наибольший урон картофелеводству наносят вирус скручивания листьев картофеля (*Potato leaf roll virus*, PLRV), М-, S-, X- и Y-вирусы картофеля (*Potato virus M*, PVM; *Potato virus S*, PVS; *Potato virus X*, PVX; *Potato virus Y*, PVY). Диагностика картофеля на наличие вирусных инфекций необходимый этап оценки посевного материала, технологий оздоровления картофеля, а так же общей оценки вирусного фона на отдельной территории.

Нами была налажена молекулярная диагностика на пять наиболее распространенных вирусов картофеля: PLRV, PVX, PVM, PVS и PVY. Тестирование растений картофеля на наличие вирусной инфекции проводили двумя методами – иммуноферментным анализом (DAS-ELISA) и реакцией обратной транскрипции, сопряженной с мультиплекс полимеразной цепной реакцией (ОТ-мпПЦР). Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей геномных РНК вирусов, аннотированных в базе данных NCBI GenBank, позволил отобрать наиболее консервативные центральные регионы, кодирующие фрагменты аминокислотных последовательностей белков оболочки пяти вирусов, к которым были подобраны праймеры для проведения ОТ-мпПЦР. Всего было проанализировано 442 образца растений картофеля: 268 образцов из Алматинской области (в культуре *in vitro*) и 174 образца из Костанайской области (листовые диски). Вирус PLRV не был обнаружен ни в одном из исследуемых образцов растений. Выявлено преобладание множественной вирусной инфекции: PVM+PVS – 40,6%, PVM+PVY – 3,6%, PVM+PVX – 2%, PVS+PVY – 0,8%, PVM+PVS+PVY – 4%, PVM+PVS+PVX – 1,2%, PVM+PVX+PVY – 0,4%. Одиночная инфекция составила: PVM – 32,1%, PVY – 0,4%; вирусы PVS и PVX обнаружены только в составе множественной инфекции. В Алматинской области соотношение вирусного поражения растений следующее: PVM – 70,9%, PVS – 31%, PVY – 13,8% и PVX – 1,1%. В Костанайской области заражение картофеля составило: PVM – 78,2%, PVS – 40,8%, PVY и PVX – по 2,9%.

В ходе оптимизации метода ОТ-мпПЦР обнаружены 4 изолята PVS и 2 изолята PVM, имеющие особенности в нуклеотидном составе. В настоящее время ведется работа по установлению полной нуклеотидной последовательности геномных РНК выявленных изолятов вирусов.

## *CLOSTRIDIUM FRIGORIPHILUM* - НОВЫЙ ВИД АНАЭРОБНЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ ПСИХРОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Алексеев Н. А.<sup>1</sup>, Трошина О. Ю.<sup>2</sup>, Печерицына С. А.<sup>2</sup>, Щербакова В. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*nadyaalekseenko@mail.ru*

Переохлажденные водные рассолы в вечной мерзлоте (криопэги) представляют собой водные системы с постоянной отрицательной температурой (-10°C), высокой соленостью (60-300 г/л) и изолированы от внешнего воздействия в течение геологического времени. Микробиологический анализ воды криопэгов показал, что эта уникальная экологическая ниша



является средой обитания психрофильных микроорганизмов (Gilichinsky et al., 2003), имеющих значительный биотехнологический потенциал в качестве источника холодоактивных ферментов.

Нами из воды криопэга Колымской низменности на среде с глюкозой и пептоном в анаэробных условиях была выделена новая спорообразующая психрофильная бактерия названная штамм 14F<sup>T</sup>. Клетки изолята представляли собой подвижные палочки, с закругленными концами (1-1,2 × 2-4 мкм). Цель работы заключалась в физиолого-биохимической характеристике и определении таксономической обособленности штамма 14F<sup>T</sup>.

В результате проведенного исследования установлено, что изолят растёт при температуре от -5 до 18°C (оптимально при 6-8°C), при pH 5.5-8.0 (оптимум 6.6-7.3) и солёности (NaCl) в диапазоне от 0 до 20 г/л (оптимум 1-5 г/л). Было исследовано 56 субстратов (простые сахара, спирты, полисахариды, органические кислоты, многокомпонентные источники) и показано, что штамм 14F<sup>T</sup> использует простые сахара и спирты как источники углерода и энергии для роста. При длительном хранении культуры в оптимальных температурных условиях на всех субстратах (кроме глюкозы и пептона) процесс спорообразования не обнаружен.

Согласно данным филогенетического анализа последовательности гена 16S рНК, новая бактерия наиболее близка *Clostridium frigoris* DSM 14204<sup>T</sup> (сходство 99,6%), однако уровень ДНК-ДНК реассоциации не превысил 38%. Таким образом, несмотря на высокое сходство по последовательностям гена 16S рНК, новый штамм 14F<sup>T</sup> дифференцируется от других психрофильных клостридий.

На основании этих отличий, а также учитывая уникальность источника выделения, мы считаем правомерным отнесение штамма 14F<sup>T</sup> к новому самостоятельному виду рода *Clostridium*: *Clostridium frigophilum* sp. nov.

1. Gilichinsky, D., Rivkina, E., Shcherbakova, V., Laurinavichius, K. and Tiedje, J Supercooled Water Brines Within Permafrost -An Unknown Ecological Niche for Microorganisms: A Model for Astrobiology // *Astrobiology*. 2003. V. 3. N.2. P. 331-341.

## ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ К КЛИНИЧЕСКИ РАСПРОСТРАНЕННЫМ АНТИБИОТИКАМ

Анисимова Е.А.<sup>1</sup>, Горохова И.В.<sup>1</sup>, Каримуллина Г.Р.<sup>1</sup>, Яруллина Д.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт Фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

*elizaveta-real@mail.ru*

Бактерии рода *Lactobacillus* часто применяются в современных пробиотиках. Антибиотикорезистентность (АР) пробиотических штаммов тестируют, во-первых, с позиций использования устойчивых к антибиотикам лактобацилл совместно с антимикробной терапией, и, во-вторых, чтобы не допустить включение в препарат штаммов с мобильными генами АР.

Целью работы является характеристика антибиотикорезистентности лактобацилл, выделенных из пробиотических препаратов.

Из коммерческих пробиотических препаратов («РиоФлора Баланс Нео», «Ацилакт», «Линекс», «Эвиталя», «Аципол», «Лактобактерин сухой», «Наринэ», «Гастрофарм») выделили 22 штамма лактобацилл и с помощью MALDI TOF масс-спектрометрии установили их принадлежность к видам *L. plantarum* (n = 14), *L. helveticus* (n = 4), *L. paracasei* (n = 3) и *L. fermentum* (n = 1). При этом в большинстве случаев виды отличались от заявленных производителями пробиотиков в аннотациях. Диско-диффузионным методом оценили устойчивость лактобацилл к 17 антибиотикам, наиболее часто применяемым в клинической практике. Обнаружена высокая устойчивость к ванкомицину, аминогидкозидам (амикацину) и цефалоспорином (цефотаксиму, цефтазидиму, цефтриаксону, цефоперазону, цефепиму), которая среди лактобацилл встречается достаточно часто и, по-видимому, является природной. Среди исследованных штаммов широко распространена чувствительность к β-лактамам (ампициллину, амоксициллину), макролидам (эритромицину, кларитромицину), карбапенемам (имипенему, меропенему, эртапенему), и тетрациклину.

Гены устойчивости к тетрациклину (Тет) особенно подвержены горизонтальному транспорту. Поэтому определили минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) Тет в отношении штаммов, проявивших промежуточную устойчивость к этому антибиотику. Методом микроразведений установили, что МИК Тет для одного штамма составила 32 мкг/мл, что





позволило отнести данный штамм к резистентным к Тет и несущим угрозу распространения генов AP в микробиоме человека.

Полученные результаты способствуют созданию пробиотических препаратов нового поколения, клинически безопасных и эффективных при совмещении с антимикробной терапией.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 17-00-00456 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе и грантом РФФИ 18-34-00268.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕСВЕРАТРОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* К СТРЕПТОМИЦИНУ

Безматерных К.В.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН ПФИЦ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*hydrargyrum@iegm.ru*

Ресвератрол, относящийся к полифенолам, является обычным компонентом растений и широко используется в фармакологической, косметической и пищевой промышленности. Известно, что бактерии в кишечнике человека и животных подвергаются воздействию высоких концентраций немодифицированных полифенолов, которые могут различным образом влиять на видовой состав микробиоты, в том числе модулировать действие антибиотиков. Несмотря на многочисленные исследования в области полифенолов, механизмы их действия на микробиом, являющийся важным метаболическим органом, остаются не до конца изученными.

В работе изучалось влияние 1-100 мкг/мл ресвератрола на чувствительность *Escherichia coli* BW25113 к 10 и 40 мкг/мл аминогликозида стрептомицина (СТР). Исследования показали, что минимальная ингибирующая концентрация (МИК) СТР составляла 5 мкг/мл. При этом ресвератрол не оказывал влияния на МИК антибиотика. В условиях периодической культуры доза СТР 10 мкг/мл приводила к постепенному снижению удельной скорости роста ( $\mu$ ) бактерий в 2.9 раза по сравнению с контролем, а доза 40 мкг/мл резко ингибировала рост и вызывала лизис через 60 мин после внесения антибиотика. В отсутствие антибиотика ресвератрол дозозависимо ингибировал  $\mu$  клеток, максимально снижая ее в 1.5 раза при дозе 100 мкг/мл. Предварительная обработка бактерий 1-40 мкг/мл ресвератрола в течение 20 мин до добавления СТР не оказывала значительного влияния на  $\mu$  *E. coli* после внесения антибиотика в среду культивирования, однако доза 100 мкг/мл значительно снижала ингибирующее действие 10 мкг/мл СТР и полностью предотвращала лизис, вызванный 40 мкг/мл СТР. Способность бактерий формировать колонии через 70 мин экспозиции к 10 мкг/мл стрептомицина снижалась в 95 раз, а при дозе 40 мкг/мл происходило резкое падение числа колониеобразующих единиц (КОЕ) в  $7.8 \cdot 10^4$  раза. Ресвератрол в диапазоне концентраций 1-12 мкг/мл не влиял на колониеобразующую способность *E. coli*. Более высокие дозы ресвератрола 40-100 мкг/мл снижали эффективность бактерицидного действия 10 мкг/мл стрептомицина от 31 до 53 раз. В случае 40 мкг/мл СТР доза 100 мкг/мл ресвератрола оказывала наиболее выраженное протекторное действие на *E. coli*, увеличивая число КОЕ к концу культивирования в 747 раз по сравнению с контролем.

Модулирующее влияние ресвератрола и созданных на его основе биологически активных добавок на чувствительность бактерий к антибиотикам требует дальнейшего детального изучения и должно учитываться при антибиотикотерапии.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-00762 и гранта Президента РФ МК-3376.2018.4.



## РОЛЬ БЕЛКОВ GROESL В ДЕГРАДАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ БАКТЕРИЯМИ *R. PYRIDINIVORANS* 5AP

Букляревич А.А.<sup>1</sup>, Евдокимова О.В.<sup>2</sup>, Титок М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*ann\_bukl@tut.by*

Белки теплового шока GroESL, являясь частью универсальной для всех живых организмов генетической системы толерантности, активно синтезируются в клетке в ответ на изменения, вызванные различными факторами среды, влияющими на ее физиологический статус. Кроме того, в норме они обеспечивают конформационные изменения полипептидов, необходимые для их функциональной активности. Изучение влияния белков теплового шока на способность бактерий утилизировать различные углеводороды создает основу для целенаправленного конструирования штаммов-деструкторов с повышенными адаптивными свойствами.

Используя в качестве матрицы тотальную ДНК бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap, методом полимеразной цепной реакции изолировали фрагмент генов *groESL* (1000 п.н.), который встраивали в состав суицидального вектора pK18mob. Полученную гибридную конструкцию использовали для направленной инактивации генов *groESL* путем ее введения в бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap методом конъюгации (донором служили бактерии *E. coli* BW19851). В результате с частотой  $1,8 \times 10^{-7}$  были отобраны искомые мутантные варианты (встраивание плазмиды в область генов *groESL* регистрировали методом ПЦР).

Анализ динамики роста исходных и мутантных бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap позволил установить, что они растут с одинаковой скоростью в полноценной жидкой среде при температуре 28°C и по-разному при повышенной температуре культивирования (45°C). При температуре 45°C через 24 часа культивирования титр бактерий исходного штамма составил  $6,8 \times 10^9$  КОЕ/мл (исходный титр составлял  $3,9 \times 10^6$  КОЕ/мл). В аналогичных условиях через 24 часа культивирования количество жизнеспособных мутантных бактерий увеличивалось только в 4,5 раза (при исходной концентрации клеток  $2,0 \times 10^6$  КОЕ/мл титр увеличился до значения  $9,0 \times 10^6$  КОЕ/мл).

В связи с высокой скоростью испарения углеводородов при 45°C их утилизацию исследовали при более низкой температуре культивирования бактерий (42°C). Для первичного анализа определяли способность исходных и мутантных бактерий формировать изолированные колонии на плотной минимальной среде с добавлением углеводородов в качестве источника углерода. Установлено, что инактивация генов *groESL* снижает способность бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap утилизировать керосин, дизель, гексадекан, нафталин, 2-метилнафталин, фенантрен и ацетон и не влияет на деградацию октана, гексана, фенола, флюорена и бифенила. С помощью газовой хроматографии установлено, что при 28°C исходные и мутантные бактерии утилизуют гексадекан с одинаковой эффективностью, а при 42°C мутантный вариант утилизировал гексадекан в 1,7 раз менее эффективно.

## КАРТИРОВАНИЕ Т-КЛЕТОЧНЫХ ЭПИТОПОВ БЕЛКА С-TYPE LECTIN-LIKE PROTEIN ВИРУСА АЧС

Бурмакина Г.С.<sup>1</sup>, Малоголовкин А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Покров, Россия

*lila5757@yandex.ru*

Африканская чума свиней (АЧС) является одним из наиболее опасных вирусных заболеваний домашних свиней. Актуальность болезни возросла в 2007 году, когда вирус АЧС был занесен из Восточной Африки на Кавказ и далее широко распространился по регионам России, достигнув в 2014 году стран восточной Европы.

Несмотря на многолетние исследования и особый интерес ученых, защитный иммунитет при АЧС плохо охарактеризован. Эффективный иммунный ответ от АЧС развивается у свиней при иммунизации аттенуированными штаммами возбудителя или после переболевания (Takamatsu H.H., et al., 2013). Неоднократно было продемонстрировано, что специфический Т-клеточный ответ играет ключевую роль в борьбе с инфекцией. Однако протективные антигены для вируса



АЧС не обнаружены. Ранее (Malogolovkin et al., 2015; Burmakina et al., 2016), мы показали, что белки CD2v и C-type lectin определяют серотиповую специфичность вирус АЧС и необходимы для развития перекрестной защитой. Учитывая роль Т-клеточного звена иммунного ответа при АЧС, нами было высказано предположение о наличии Т-клеточные эпитопов в составе серотип-специфических белков вируса.

Целью нашей работы была идентификация Т-клеточных эпитопов в серотип-специфическом белке C-type lectin вируса АЧС. Наличие Т-клеточных эпитопов было предсказано с использованием ТЕРИТОРЕрап и IEDB. Для идентификации Т-клеточных эпитопов использовали метод ELISpot (IFN- $\gamma$ ) на основе пептидных библиотек C-type lectin (коротких перекрывающихся аминокислотных последовательностей белка) и пула Т-клеток от животных реконвалесцентов.

Наиболее активная экспрессия IFN- $\gamma$  наблюдалась у Т-клеток в ответ на 6 перекрывающихся пептидов (LNLTSFLNLTLYNHSYWNYSLNN) области CLECT домена. Данный факт свидетельствует о наличии Т-клеточных эпитопов в белке C-type lectin вируса АЧС. Способность данных пептидов активировать выработку IFN- $\gamma$  была продемонстрирована с использованием клеток, полученных от разных доноров (n=6) в нескольких сериях независимых экспериментов, что позволяет говорить о функциональной значимости выявленных Т-клеточных эпитопов.

Таким образом, результаты исследований IFN- $\gamma$ -продуцирующих мононуклеарных клеток крови в ответ на стимуляцию единичными пептидами *in vitro* позволило нам идентифицировать Т-клеточные эпитопы белка C-type lectin-like protein вируса АЧС.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-16-00090).

## ИЗМЕНЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Бырса М.Н.<sup>1</sup>, Березюк Ю.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Республика Молдова

*mellon23@yandex.ru*

Проблема надёжной консервации микроорганизмов в жизнеспособном и стабильном состоянии является очень актуальной в связи с постоянно возрастающей потребностью иметь для успешного развития биотехнологии культуры микроорганизмов, характеризующиеся стабильностью своих исходных фенотипических свойств. Сохранение культурой жизнеспособности при консервации может не коррелировать с сохранением её активности, что особенно важно при хранении штаммов-продуцентов различных биологически активных веществ, в том числе и с антимикробной активностью (а.м.а.).

Установлено, что а.м.а. стрептомицетов на момент выделения штаммов из почвы Молдовы не одинакова. Так, например, диаметр зон задержки роста *X. campestris* 8003 b варьировал от 10,0 мм (*S. sp.* 37) до 32,0 мм (*S. sp.* 19), у *Cl. michiganensis* 13<sup>a</sup> – 14,0-23,0 мм. Длительное хранение (10 лет) и периодические пересевы привели к существенным изменениям в а.м.а. изучаемых штаммов: к *X. campestris* 8003 b - уменьшение активности у штамма *S. sp.* 9 на 35 % и *S. sp.* 19 на 62,5 %. Замечены штаммы, активность которых к этому тесту даже увеличилась (у *S. sp.* 12 и *S. sp.* 33 на 10-33 %). Для *Cl. michiganensis* 13<sup>a</sup> обнаружены штаммы, у которых а.м.а. практически сохранилась (*S. spp.* 11 и 12) и штаммы, где она уменьшилась (*S. spp.* 9, 17, 33 и 37). По отношению к фитопатогенным грибам замечено: полное подавление роста *A. alternata* (*S. sp.* 10, 33, 37) и *F. graminearum* (штамм *S. sp.* 10), несколько слабее - у штамма *S. sp.* 37 (зона 25,0 мм). Периодические пересевы стрептомицетов привели к снижению активности, но в разной степени. Обнаружены штаммы, активность которых сохранилась по отношению к *A. niger*, *A. alternata* и *A. solani*, а к *F. graminearum* даже повысилась (*S. sp.* 9).

Определение а.м.а. хранящихся в лиофильном виде в течение 4-6 лет коллекционных штаммов показало, что она незначительно снизилась у некоторых из них по отношению к фитопатогенным бактериям и грибам. У выделенных из почвы Молдовы штаммов также не было замечено существенных изменений в а.м.а.

Таким образом, установлено, что хранение стрептомицетов в течение 10 лет периодическими пересевами, в основном, приводит к уменьшению а.м.а. Выявлены штаммы, у которых антагонизм к фитопатогемам сохраняется и у которых а.м.а. не только не исчезает, а, наоборот, выявляется в большей степени. У штаммов с сохранившейся а.м.а. после длительного



хранения периодическими пересевами можно выявить естественные варианты с повышенной активностью и в дальнейшем хранить их в лиофилизированном виде.

## IS100-ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ КАВКАЗА

Вагайская А.С.<sup>1,2</sup>, Дентовская С.В.<sup>2</sup>, Анисимов А.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФБУН ГНЦ Прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

*vagaiskaya.anastasiya@gmail.com*

Чума – особо опасное инфекционное природно-очаговое заболевание, характеризующееся различными путями передачи возбудителя. В группу Кавказских природных очагов чумы входят высокогорные очаги полевого типа (04-06) и сусликового типа (01), расположенные в субальпийских и альпийских поясах Малого и Большого Кавказа и равнинно-предгорные очаги песчаночьевого типа (07, 08), расположенные на низкогорьях и среднегорьях Приараксинской и Араратской долин. В последнее время решающую роль в изучении генетического многообразия чумного микроба, играют молекулярно-генетические методы. Методы типирования, основанные на определении положения одного из IS-элементов - *IS100* в геноме чумного микроба, обладают высокой разрешающей способностью и позволяют прямо обнаружить места внутригеномных перестроек.

Целью настоящего исследования являлось изучение локализации *IS100* в геномах штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Кавказских природных очагов чумы. Метод основан на определении полиморфизма фрагментов, образующихся при амплификации регионов, локализованных между *IS100* и соседней открытой рамкой считывания.

В работе использовали 59 штаммов, из них *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *mediaevalis*: 20 штаммов из Центрально-Кавказского (01), 2 - из Приараксинского (07), 5 – из Бозчельского (08) природных очагов и *Y. pestis* subsp. *microtus* bv. *caucasica*: 12 штаммов из Ленинанканского (04), 5 – из Присеванского горного (05), 6 – из Зангезуро-Карабахского горного (06), 9 – из Приараксинского низкогорного (07) и 5 – Восточно-Кавказского высокогорного очагов чумы, полученных из ГКПМ «Оболенск». В качестве референтного использовали штамм *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *orientalis* EV НИИЭГ. *IS100*-типирование коллекции штаммов проводили с 27 парами ПЦР – праймерами как описано ранее [J Bacteriol. 2002; 184 (4):1019-27]. В качестве референтного использовали штамм *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *orientalis* EV НИИЭГ и тестирование остальной части коллекции проводили в сравнении с фингерпринтом, полученным для данного штамма.

Расположение *IS100* в геноме контрольного штамма *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *orientalis* EV НИИЭГ полностью совпадало с фингерпринтом, опубликованным ранее для генетически гомогенных штаммов bv. *orientalis* [J Bacteriol. 2002; 184 (4):1019-27]. Фингерпринт штаммов bv. *mediaevalis* отличался от bv. *orientalis* отсутствием как минимум 10 полос. Штаммы *Y. pestis* subsp. *microtus* bv. *caucasica* обладали уникальным набором полос фингерпринта.

Таким образом, *IS100*-типирование наряду с другими методами генотипирования может быть использовано для внутривидовой идентификации штаммов чумного микроба при проведении эпиднадзора за природными очагами чумы.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.



## РОСТСТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*)

Васильева Е.Н.<sup>1,2</sup>, Афонин А.М.<sup>2</sup>, Ахтемова Г.А.<sup>2</sup>, Жуков В.А.<sup>2</sup>, Борисов А.Ю.<sup>2</sup>, Тихонович И.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ ВНИИ Сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия

*grayman616@gmail.com*

Возможность использовать эндофитные бактерии в сельском хозяйстве является одним из факторов, вызывающих интерес к исследованиям в этой области. Известно, что эти микроорганизмы способны различным образом положительно влиять на рост и развитие растений, то есть оказывать рост-стимулирующий эффект, что может использоваться в практике экологически-ориентированного растениеводства для создания высокоэффективных биопрепаратов.

Для эксперимента были выбраны три генотипа гороха посевного - (К-8274 - высокоэффективный и К-3358 – низкоэффективный при взаимодействии с полезной почвенной микрофлорой, а также коммерческий селекционный сорт «Триумф», созданный на базе ФГБНУ ВНИИЗБК и являющийся потомком линии К-8274, унаследовавшим признак высокой эффективности взаимодействия с почвенными микроорганизмами).

Эндофитные бактерии выделяли из поверхностно стерилизованных растений в стадии цветения. Таксономическую принадлежность выделенных штаммов определяли с помощью секвенирования диагностического фрагмента V3-V12 гена 16S рРНК.

Всего было выделено 118 морфологически различных культивируемых штаммов эндофитов, 80 из которых были идентифицированы и принадлежали филумам *Proteobacteria*, *Firmicutes* и *Actinobacteria*.

Все штаммы эндофитных бактерий были проверены на рост-стимулирующую активность на корнях тестового растения кресс-салата (*Lepidium sativum L.*).

Большинство проанализированных штаммов эндофитов при высокой концентрации (титр  $10^8$  КОЕ) ингибировали рост корней кресс-салата, влияние суспензии бактерий с титром  $10^7$  КОЕ, незначительно. При титре  $10^6$  КОЕ были обнаружены штаммы, которые проявили рост-стимулирующую активность. Эта способность была обнаружена у восьми исследованных штаммов, причем каждый генотип гороха, содержал хотя бы один штамм, претендующий на звание рост-стимулирующего агента.

В листьях высокоэффективной линии гороха К-8274 были обнаружены рост-стимулирующие эндофитные бактерии из рода *Serratia*. В стеблях и в листьях линии Триумф - энтеробактерии из родов *Serratia*, *Rahnella* и *Enterobacter*. Наибольшее количество рост-стимулирующих бактерий было обнаружено в растениях гороха низкоэффективной линии К-3358, принадлежащих к родам *Bacillus* и *Acinetobacter* в листьях и к роду *Rahnella* в стеблях.

Таким образом, в вегетативных органах гороха посевного присутствуют эндофитные бактерии, часть которых выполняет рост-стимулирующую функцию.

Работа поддержана грантами РФФИ № 16-16-00118, 17-76-30016 и выполнением Государственного задания по теме № 0664-2014-0046.



## ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN AC-06 ЧЕРЕЗ ГОД ХРАНЕНИЯ В ЛИОФИЛЬНОМ ВИДЕ В ПРИСУТСТВИИ ПРЕПАРАТОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Васильчук А. В.<sup>1</sup>, Бырса М. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Республика Молдова

*vasilchuk2009@mail.ru*

Лиофилизация на сегодняшний день является эффективным способом хранения микроорганизмов. Стрептомицеты более всех подвержены естественной изменчивости, поэтому сохранение состава популяции штаммов-продуцентов биологически активных веществ является актуальной проблемой в области биотехнологии.

Целью исследований явилось изучение влияния препаратов цианобактериальной природы (BioR и полисахариды) в различных концентрациях на жизнеспособность *Streptomyces massasporeus* CNMN Ac-06 после года хранения в лиофильном виде.

Лиофилизацию проводили на приборе LabCONCO во флаконах. Криопротекторной средой служили препараты цианобактериальной природы BioR (0,5 %, 1%, 2%) и полисахариды (10%, 30%, 50%), регидратант - вода. Жизнеспособность высчитывали по logКОЕмл-1.

Установлено, что жизнеспособность штамма *S. massasporeus* CNMN Ac-06 после года хранения в лиофильном виде в присутствии криопротекторной среды (желатин 2,5%+глюкоза 7,5%) с препаратом цианобактериальной природы BioR (0,5 %, 1%, 2%) по сравнению с контролем составила: при 0,5% – 92,5%, 1% - 92,1%, 2% – 103,4%, а в присутствии препарата цианобактериальной природы полисахаридов сульфатированных с цинком (10 %, 30%, 50%) по сравнению с контролем составила: 10% - 104,1%, 30% - 101, 50% - 110,7%.

Следовательно, жизнеспособность *S. massasporeus* CNMN Ac-06 после года хранения в лиофильном виде в присутствии препаратов из цианобактерий увеличилась по сравнению с контролем максимально с препаратом BioR в концентрации 2% на 3,4% по сравнению с контролем, а с препаратом полисахаридов сульфатированных с цинком в концентрации 50% на 10,7 % по сравнению с контролем.

Таким образом, для лиофилизации *S. massasporeus* CNMN Ac-06 в качестве новых криопротекторных сред можно использовать экстракты из цианобактерий, позволяющие сохранить достаточно высокую жизнеспособность данного штамма в течение года хранения в лиофильном виде.

## ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS AUREOFACIENS* ПРИ ИХ АДАПТАЦИИ К ТЕТРАЦИКЛИНУ

Власова А.И.<sup>1</sup>, Минаева О.М.<sup>1</sup>, Апенышева М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*ales1995.com@mail.ru*

Развитие биотехнологических способов защиты растений от болезней связано с разработкой новых функционально эффективных и экологически безопасных биопрепаратов. Эксперименты по внедрению бактерий в зону ризосферы неразрывно связаны с возможностью подтверждения успешности интродукции применяемых штаммов в зону ризосферы, возможности бактерий успешно развиваться в ней, используя корневые экзометаболиты и конкурировать с естественными обитателями. Для этого, используют штаммы или мутанты с признаками, позволяющими выделить их среди остальной микрофлоры (генетическая маркировка). В качестве маркеров наиболее широко используются устойчивость бактерий к антибиотикам.

Целью работы являлась сравнительная оценка биологических активностей бактерий *Pseudomonas aureofaciens*, адаптированных к тетрациклину, и штамма-предшественника.

Эксперименты проводили с использованием метода фитопатологического анализа семян пшеницы. Были рассмотрены варианты бактериализации семян штаммом *P. aureofaciens*, устойчивым к тетрациклину в концентрации 0,4 г/л, а также неустойчивым к антибиотику (штамм-предшественник). Семена бактериализовали путем замачивания в суспензиях бактериальных культур с концентрациями  $1-5 \cdot 10^6$  клеток/мл на 20 минут. В качестве контролей использовали обработку



семян раствором для разведения и соответствующей концентрации тетрациклина ( $4 \cdot 10^{-5}$  г/л). Наличие фунгистатического эффекта у бактерий оценивалось по снижению зараженности семян возбудителями семенных инфекций, наличие ростостимулирующей способности – по увеличению длины проростка бактеризованных растений.

Показано, что использование чистого антибиотика для обработки семян в указанной концентрации не приводит к уменьшению пораженности семян, напротив, наблюдается значимое увеличение зараженности семян на 9% по сравнению с чистым контролем. Бактерии *P. aureofaciens* неустойчивые и устойчивые к тетрациклину способны одинаково статистически значимо подавлять проявление семенных инфекций, уменьшая их распространенность в 4,7–6,6 раз по отношению к контрольным вариантам, а также увеличивать длину проростка пшеницы на 18,7–22,8%.

Таким образом, полученный мутантный штамм бактерий *Pseudomonas aureofaciens*, устойчивый к тетрациклину, обладает выраженной биологической активностью по отношению к возбудителям семенных инфекций пшеницы и ростостимулирующей способностью. При этом его биологическая активность находится на уровне активности штамма-предшественника, что свидетельствует о стабильности положительных свойств.

## ОЦЕНКА АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СИЛОСА

Гаврилова Е. А.<sup>1</sup>, Ярулина М.Н.<sup>1</sup>, Анисимова Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, 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 16SpPHK. Целью работы было охарактеризовать антагонистическую активность выделенных лактобацилл с *K.pneumoniae*, *E.coli* и *S.aureus* в составе биопленки. Лактобацилл засеивали совместно с *K.pneumoniae*, *E.coli* и *S.aureus* на среду MRS и через 2 суток культивирования оценивали жизнеспособность клеток путем подсчета КОЕ на селективных средах. Показано подавление всеми штаммами лактобацилл клеток *S.aureus* и *E.coli* при концентрации глюкозы 2,5%. При добавлении раствора 0,25% глюкозы антагонизм не наблюдался. Также ночную культуру лактобацилл вносили к двухсуточной биопленке *K.pneumoniae*, *E.coli* и *S.aureus*, и через сутки подсчитывали КОЕ. Лактобациллы снижали количество жизнеспособных клеток *S.aureus* при концентрации глюкозы 0,25% на 4 порядка, штаммы 9 и 16 на 5 порядков. При добавлении раствора 2,5% глюкозы наблюдалось полное подавление жизнеспособности клеток *S.aureus*. Замер pH культуральной жидкости показал, что при концентрации глюкозы 0,25% pH снижался на 1 единицу, и на 3 единицы при 2,5% глюкозы, что свидетельствует о возможности подавления жизнеспособности из-за кислотности. Таким образом, 6 новых штаммов лактобацилл, изолированных из силоса, представляют интерес для производства новых пробиотиков.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ17-00-00456 комфи.



## СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, ДЛЯ БОРЬБЫ С АСПЕРГИЛЕЗОМ ЗЕРНА

Галлямова С.Р.<sup>1</sup>, Идиятов И.И.<sup>1</sup>, Бирюля В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

*galliamova95@mail.ru*

Довольно часто в продовольственном сырье и пищевых продуктах обнаруживаются микроскопические грибы и их метаболиты. Одним из них является микромицет *Aspergillus flavus* и его метаболит афлатоксин В1 [1]. Они признаны наиболее вредоносными в нашей стране, так как накопление в зерне грибов снижает урожайность сельскохозяйственных культур на 40-50%; а афлатоксин В1 выступает как канцероген [2].

В связи с этим целью настоящего исследования явился поиск микроорганизмов, обладающих противогрибковой активностью в отношении микромицетов *Aspergillus flavus*.

В ходе исследования осуществлено выделение микроскопического плесневого гриба *Aspergillus flavus* из кормового сырья, проведен отбор проб из природных биотопов, выделение из них чистой культуры микроорганизмов, исследование противогрибковой активности изолятов в отношении микромицета *Aspergillus flavus* методами встречных культур, агаровых блоков, модифицированного штриха и отсроченного антагонизма.

Скрининг культур, выделенных из природных биотопов, показал, что противогрибковой активностью в отношении микромицета *Aspergillus flavus* обладали 15 изолятов, из них 4 показали фунгистатическую алиментарную активность, 6 антибиотическую, 5 изолятов характеризовались высоким противогрибковым действием в процессе роста и активностью метаболитов. Следовательно, данные культуры могут служить основой для производства биофунгицидов.

По результатам работы подана заявка на изобретение «Способ обработки семенного зерна пораженного микроскопическими грибами и микотоксинами», получено уведомление о положительном результате формальной экспертизы заявки и присвоен № 2017117406/04(030151).

Список литературы:

1. Идиятов И.И., С.Р. Галлямова и др. Поиск эффективных средств биологической защиты растений и кормов против микромицета *Aspergillus flavus* // Ветеринарный врач. – 2017. – №5. – С. 24-30.

2. Идиятов И.И., С.Р. Галлямова и др. Первичный скрининг микроорганизмов - антагонистов к микроскопическим грибам рода *Aspergillus flavus* и *Fusarium sporotrichioides*/И.И. Идиятов, Д.А. Валиуллина, С.Р. Галлямова, В.В. Бирюля, // Ученые записки КГАВМ– 2017. – № 231 (III)- С. 90-93.

## УСТОЙЧИВОСТЬ К В-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ СРЕДИ ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ Г. РЯЗАНИ

Гаськова А.С.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>, Ефремова Е.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*microbiog@mail.ru*

Устойчивость представителей семейства *Enterobacteriaceae* к β-лактамным антибиотикам приобретает глобальные масштабы. Особенно это касается энтеробактерий - возбудителей внутрибольничных инфекции. Так, в стационарах России резистентность к препаратам этой группы составляет порядка 80% и более (Сухорукова и др., 2014). Но и среди внебольничных изолятов наблюдается рост количества вариантов, устойчивых к β-лактамам.

Поскольку поверхностные водные объекты являются своего рода «накопителями» различных вариантов энтеробактерий, циркулирующих на данной территории (за счет попадающих в них сточных вод, ливневых стоков, поверхностного стока с водосборной площади и т.д.), то анализ их устойчивости позволяет дать обобщенную оценку распространения резистентности среди этих микроорганизмов на рассматриваемой территории.

Целью работы была оценка устойчивости к β-лактамным антибиотикам общих колиформных бактерий (ОКБ), населяющих поверхностные водные экосистемы. ОКБ были изолированы из 27 поверхностных водных объектов г. Рязани в весенне-летний 2017 гг. Было





выделено 790 изолятов колиформных бактерий, представленных 10 видами. Среди них наиболее часто встречались *Escherichia coli* (42%) и *Citrobacter freundii* (33%). В исследование было включены 8 антимикробных препаратов трех классов  $\beta$ -лактамов: пенициллины, цефалоспорины (I-IV поколения) и карбопенемы.

Подавляющее большинство выделенных изолятов оказалось устойчиво к ампициллину (81,4%), тогда как к защищенным пенициллинам уровень резистентности оказался значительно ниже (около 30%). Среди цефалоспоринов наибольшее число устойчивых изолятов зарегистрировано к препарату I поколения - цефазолину (52%). Наиболее эффективным был цефтриаксон (III поколение), только 17,9% резистентных вариантов. Опасным, с медицинской точки зрения, являлось обнаружение большого количества устойчивых колиформ к цефепиму (45,1%) и имипенему (58,4%), которые являются препаратами резерва и используются в случае тяжелых и особо тяжелых инфекций. Продукция  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра (ESBL) обнаружена у 53,6% всех исследованных изолятов колиформных бактерий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Рязанской области в рамках научного проекта №16-44-620157 «р\_а».

## ЦИТОТОКСИЧНЫЕ СВОЙСТВА ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ФУРАНОНОВ

Глазкова Р. М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*frau.gimadeeva@mail.ru*

Грамотрицательные бактерии используют АНЛ-зависимые отношения для взаимодействия с эукариотами и растениями. Было показано, галогенированные фураноны могут выступать как антагонисты АНЛ, оказывая негативное воздействие на способность бактерий образовывать биопленки. В то же время, некоторые галогенированные фураноны обладают токсичностью. В данной работе мы исследовали токсичность галогенированных производных фуранона, синтезированных в институте органической химии Казанского федерального университета. Тесты проводили с разными видами микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Bacillus firmus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Aspergillus niger*. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) фуранонов определяли методом серийных разведений в жидкой среде. Мы установили, что все тестируемые соединения обладали токсичными свойствами. Наибольшая цитотоксичность была выявлена у фуранонов F1, F2 и F4 (МИК 25-200 мкг/мл), а наименьшей токсичностью обладали фураноны F3 и F15 (100-800 мкг/мл). Выявлена зависимость токсичности от структуры. Наибольшей устойчивостью к воздействию различных видов фуранона обладал штамм *Pseudomonas aeruginosa*. Согласно литературным данным высокая устойчивость *P. aeruginosa* к различным антибактериальным агентам связаны с низкой проницаемостью мембраны этого организма, что может играть важную роль в устойчивости и к фуранонам. Чувствительность к фуранонам эукариотического организма *Aspergillus niger* не отличалась от чувствительности бактериальных организмов к данному соединению.

Для выявления изменения состава белков в ответ на воздействие фуранона F1 провели протеомный анализ штамма *Salmonella typhimurium* до и после воздействия фураноном с использованием масс-спектрометра MALDI TOF/TOF Ultraflextreme. В нашей работе было подтверждено, что фураноны оказывают действие на гены, связанные с чувством кворума (*tig*, *msrB*, *sodA*, *luxS*, *glyA*, *glyS*, *gltI*). Среди систем, которые ингибируются, мы выявили белки участвующие в трансляции (гены *rplC*, *rplY*, *rplA*, *rplF*, *rpsJ*, *rpsH*). Было также установлено, что под действием фуранона повышается уровень белков шаперонов (*dnaK*, *grpE*, *groL*), которые запускаются в ответ на действие различных видов стресса и при ингибировании синтеза белка. Активация генов, связанных с метаболизмом углеводов (*tal2*, *mglB*, *rbsB*), может свидетельствовать о нарушении углеводного обмена под действием фуранонов. Мы предполагаем, что токсичность фуранонов связана с ингибированием различных систем у бактерий.



## ЧИСЛЕННОСТЬ ПОЛЕЗНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ В СИДЕРАЛЬНЫХ ПАРАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМПЛЕКСА МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И РАЗНЫХ СПОСОБОВ ЗАДЕЛКИ ФИТОМАССЫ

Григчин М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия

*Maxim\_GMV@mail.ru*

Сидерация – эффективный агрономический прием, который позволяет вернуть почве утраченную структурированность, повысить эрозионную устойчивость, обогатить питательными веществами, за счет возврата органического вещества. Разложение сидератов происходит в результате жизнедеятельности почвенных микроорганизмов. Способы заделки фитомассы и пути активизации её деструкции остаются актуальной проблемой в земледелии.

Цель исследований: изучить влияние комплекса микробных препаратов – деструкторов растительных остатков (КБП-5М) и способов заделки озимой тритикале (*Triticosecale Wittmack*) на показатели биологической активности почвы чернозем южный в сидеральных парах.

Озимую тритикале в фазу начала колошения заделывали в почву с применением КБП-5М из расчета 1 л на гектар. Заделку фитомассы производили двумя способами – дискованием на глубину 10-15 см и вспашкой на глубину 16-20 см. Образцы почвы отбирали через 0,5, 1,5 и 5 месяцев после заделки сидеральной культуры.

Внесение комплекса микробных препаратов (КБП-5М), при заделке сидеральной культуры дискованием, способствовало увеличению количества аммонификаторов и diaзотрофов на 15,8%, 23,4% и 17,7% соответственно через 0,5, 1,5 и 5 месяцев в сравнении с контролем.

При заделке фитомассы путем вспашки и внесении КБП-5М, через 0,5 месяца от начала опыта численность аммонификаторов была выше в 2,8 раз, чем в контроле. В образцах почвы последующих отборов (1,5 и 5 месяцев) их количество уменьшилось в 2-2,4 раза. При заделке фитомассы тритикале дискованием, через 1,5 месяца эксперимента численность diaзотрофов увеличилась в 2 раза и снижалась через 5 месяцев. В начале опыта (0,5 мес.) количество фосфатмобилизаторов было высоким, снижалось через 1,5 месяцев и увеличивалось через 5 месяцев эксперимента. Дискование стимулировало развитие этой группы микроорганизмов через 1,5 месяца от начала опыта. Отмечено, что при дисковании численность целлюлозолитических микроорганизмов снижалась через 1,5 месяца экспозиции и возрастала через 5 месяцев как в контрольном, так и в опытном варианте.

Таким образом, установлено, что при заделке сидеральной культуры тритикале озимого в фазу колошения как путем вспашки, так и дискованием складываются благоприятные условия для развития исследуемых эколого-трофических групп микроорганизмов. Применение КБП-5М стимулирует развитие аммонификаторов, diaзотрофов, и целлюлозолитических микроорганизмов на разных этапах разложения фитомассы.

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИБИОТИКОВ НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ ЙОГУРТА

Демьянова А.В.<sup>1</sup>, Никонова Д.О.<sup>1</sup>, Асланова А.А.<sup>1</sup>, Казакова С. А.<sup>1</sup>, Натапов В.А.<sup>1</sup>,  
Хабибулина Р. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>МБОУ СОШ №3, Пущино, Россия

*ramila66@bk.ru*

Целью нашей работы был анализ устойчивости микроорганизмов йогурта к широкодоступным антибиотикам. В связи с целью нами были поставлены следующие задачи: выделить микроорганизмы из йогурта известных торговых марок, высеять их на среды, содержащие антибиотики и провести тест устойчивости к антибиотикам уже выросших микроорганизмов. Для достижения поставленной цели нами были использованы йогурты нескольких торговых марок: Актимель (Данон), Оптималь (Савушкин продукт), Лакомо, а также йогурт, приготовленный в домашних условиях из пастеризованного молока "Белый Город". Выбранные йогурты были разведены стерильной водой в 100, 1000, 10000 и 100000 раз и высеяны на агаризованную среду LB. После подсчета выросших колоний, для дальнейшей работы был выбран продукт Оптималь торговой марки Савушкин продукт, количество микроорганизмов в котором было максимальным. Далее были проведены два варианта теста на устойчивость к



канамицину, ампицилину и цефотоксиму. В первом варианте йогурт в разведении 100 был высеян на чашки со средой, содержащей антибиотики в концентрации 100 мкг/мл. Во втором образцы высевали на чашки со средой без антибиотика и после появления газона микроорганизмов на него выкладывали бумажные диски, пропитанные антибиотиками в той же концентрации, что и в первом эксперименте. В результате было выяснено, что в первом случае роста микроорганизмов не происходило, а во втором диски с антибиотиками не оказывали заметного влияния на бактериальный газон. Исходя из полученных результатов, были сделаны выводы о том, что в выбранных условиях исследованные антибиотики в концентрации 100 мкг/мл угнетают рост микроорганизмов, но мало влияют на уже выросших бактерий.

## ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАЦИЛЛАМИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Динь Т.Л.<sup>1</sup>, Ахметова Г.Р.<sup>1</sup>, Рудакова Н.Л.<sup>1</sup>, Шарипова М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*nhanhlanrung01102000@gmail.com*

Сообщество поверхностно-ассоциированных бактерий или биопленки рассматриваются как один из преобладающих режимов выживания микроорганизмов. Они способны повлиять на жизнь человека на самых различных уровнях – от промышленной техники (трубопроводы, очистные сооружения) и сельского хозяйства (ризосферные симбионты) до здравоохранения (трудно поддающиеся лечению инфекции, колонизация имплантов). Непатогенные бактерии рода *Bacillus* способны образовывать биопленки и являются удобной моделью для их изучения. Мы исследовали штаммы *B. subtilis* на способность к образованию биопленок на жидкой среде в условиях солевого и этанольного стресса. Штамм *B. subtilis* 168 является не модифицированным природным изолятом. Штамм *B. subtilis* 3-19 является рекомбинантным штаммом, устойчивым к стрептомицину и обладает повышенным уровнем секреции внеклеточных протеиназ. В геноме штамма *B. subtilis* BRB14 делетированы гены, кодирующие 14 внеклеточных протеаз. При культивировании на жидкой среде при 37 °С в течении 48 часов все три штамма образуют пристеночные биопленки. При внесении в среду культивирования NaCl в конечной концентрации 1М уровень образования биопленок штаммами 168 и 3-19 к 48 часу роста снизился более чем на 50% относительно контроля. При этом снижение уровня образования биопленок штаммом BRB14 не превышало 17%. Внесение в среду культивирования этанола в конечных концентрациях 5% и 7.5% вызвало снижение образования биопленок штаммом 168 на 25% и 40% соответственно, штаммом 3-19 на 35% и 65% соответственно. Для штамма BRB14 снижение образования биопленок в обоих случаях не превысило 35%. Протеазодефицитный штамм проявлял большую стрессоустойчивость, чем штаммы с полноценным набором протеиназ. Возможно, отсутствие секретлируемых протеаз позволяет штамму BRB14 эффективнее формировать биопленки в условиях стресса. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.



## ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ *GRAPEVINE FLECK VIRUS* В ЗАПАДНОМ ПРЕДКАВКАЗЬЕ

Дмитренко Ю.Д.<sup>1</sup>, Поротикова Е.В.<sup>2</sup>, Юрченко Е.Г.<sup>1</sup>, Виноградова С.В.<sup>3,2</sup>

<sup>1</sup>ФГУ ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева; <sup>3</sup>ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Виноград (*Vitis vinifera*) является одной из самых ценных сельскохозяйственных культур, которая возделывается в регионе Западного Предкавказья. Виноградную лозу поражает более 60 видов вирусов, принадлежащих к разным родам. Многие из них являются причиной серьезных заболеваний, которые замедляют рост и развитие растения, снижают содержание сахара, приводят к ранней изреженности виноградных насаждений и снижению урожайности.

Болезнь крапчатость листьев винограда вызывается вирусом *Grapevine fleck virus* (GFkV), который относится к роду *Maculavirus* семейства *Tymoviridae*. Этот вирус является флорноограниченным и передается через прививку. GFkV в сочетании с другими вирусами вызывает снижение урожайности виноградной лозы и уменьшение роста привитого материала на подвое: на подвое 420 А снижение происходит на 51%, на Kober 5BB - на 37%. Это влияет на качество производимого посадочного материала. При поражении GFkV наблюдаются следующие симптомы: обесцвечивание жилок на молодых листьях, а на более старых – хлоротичный мозаичный рисунок, а листовая пластинка может скручиваться вверх. Симптомы хорошо проявляются весной до наступления высоких температур. Данные о распространении вируса крапчатости винограда в регионе Западного Предкавказья отсутствуют. В связи с этим целью нашей работы было изучение распространения вируса крапчатости в этом регионе.

В результате фитосанитарного обследования виноградных хозяйств Западного Предкавказья было отобрано 175 листовых образцов винограда со следующими симптомами: межжилковое пожелтение, скручивание листьев вверх, мозаика и хлоротичность листовой пластинки. Определение наличия GFkV проводили методом ОТ-ПЦР с последующим секвенированием ПЦР-продуктов.

В результате обследования 4 агроэкологических зон Западного Предкавказья GFkV был выявлен на сортах Красностоп, Бианка, Молдова, Шардане, Рислинг, Пино Нуар, Цитронный Магарача, Августин, Ркацителли. Из 175 отобранных образцов GFkV был обнаружен в 29,1% образцов. В Таманской подзоне Анапо-таманской агроэкологической зоны 20,8% отобранных образцов были поражены GFkV, в Анапской подзоне Анапо-таманской агроэкологической зоны виноградарства – 35,5%, в Центральной агроэкологической зоне виноградарства – 20,1%, в Черноморской агроэкологической зоне виноградарства – 43,5%.

Работа выполнена на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547) при поддержке Гранта РНФ 17-76-10067.

## ФУНКЦИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ МОНГОЛИИ

Дуламсурэн Х.<sup>1</sup>, Норовсурэн Ж.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Монгольский государственный сельскохозяйственный университет, Улан-Батор, Монголия;

<sup>2</sup>Институт общей и экспериментальной биологии АНМ, Улан-Батор, Монголия

*dulamsuren.kh@mul.s.edu.mn, norvo@mail.ru*

Актиномицеты представляют собой единое звено в трофической цепи любой экосистемы, осуществляя в ней функции микробов – редуцентов. Основная роль мицелиальных прокариот состоит в разложении таких сложных примеров, как лигнин, хитин, ксилан, целлюлоза, гумусовые соединения. Актиномицеты (порядок *Actinomycetales*) обладают высокой хитиназной активностью, что дает им возможность извлечения азота из труднодоступных соединений и, как следствие, включение этого элемента в круговорот почва – атмосфера.

По нашим данным с использованием метода посевов из почв инкубированных хитином общая численность актиномицетов в каштановых почвах (темно-каштановых образец № 290, каштановых образец № 309) колеблется в одиноковых количествах до сотен тысяч КОЕ/г почвы, а



в каштановой почве сухой степи (образец № 113), отобранной в Средне – Гобийском аймаке сомоне Унждул и бурой пустынно – степной почве (образец № 117), отобранной в Южно - Гобийском аймаке сомоне Булган отмечена общая численность актиномицетов на порядок выше на хитиновой среде.

Одной из характерных особенностей, благодаря которой актиномицеты стали предметом интенсивных исследований во всех странах мира, является способность к образованию антибиотиков. Большинство число антибиотиков (не менее 70%), широко применяемых на практике, относятся к веществам, образуемым актиномицетами (порядок *Actinomycetales*). Выделение и изучение антибиотических веществ актиномицетного происхождения приняло очень широкие размеры. В результате настойчивых поисков получено много ценных препаратов, применяемых в химиотерапии, в сельскохозяйственной практике и в пищевой промышленности.

По полученным нами данным, выделенные из разных субстратов штаммы стрептомицетов подавляют рост следующих микроорганизмов: *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Вопрос об экологической роли антибиотиков широко обсуждается в литературе.

Потенциал функциональных проявлений актиномицетов природе далеко не исчерпан.

## ОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОЙ ФЛОРЫ МИДИЙ ГРЕЯ (*CRENOMYTILUS GRAYANUS*) ЯПОНСКОГО МОРЯ

Дункай Т. И.<sup>1</sup>, Богатыренко Е.А.<sup>1</sup>, Бузолева Л.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова, Владивосток, Россия

*emelianova.fefu@gmail.com*

Мидия Грея (*Crenomytilus grayanus*) важный элемент прибрежного сообщества, который является объектом вылова и марикультуры в Приморском крае [1]. Современные методы воспроизведения гидробионтов позволяют достичь высокой продуктивности морских хозяйств, но в крупномасштабном разведении, высок риск возникновения инфекционных заболеваний [2]. Предотвращение и контроль вспышек болезней основывается на антибактериальных препаратах. Из-за развития патогенными бактериями устойчивости к антибиотикам актуальность приобретают научные работы, основанные на поиске микроорганизмов – пробиотиков.

Цель работы - изучить таксономическое разнообразие сообществ культивируемых бактерий пищеварительного тракта мидии Грея *Crenomytilus grayanus* из акваторий Японского моря.

Район работ включал бухту со значительным влиянием бытовых стоков (б. Аякс, залива Петра Великого) и без существенной антропогенной нагрузки (б. Северная, Славянского залива), пролив Старка, без значительной антропогенной нагрузки и отличающимися экологическими условиями.

Для экспериментов брали особей мидий одного размера с глубины 3-5 метров. Гомогенат тканей после серийных разведений высевали на агаризованную питательную среду для морских микроорганизмов и культивировали в термостате при температуре 25°C в течение двух суток [3]. Идентификацию полученных штаммов бактерий проводили на основе морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств. Для определения таксономической принадлежности некоторых микроорганизмов использовали готовые тест-системы API 20E, API 20NE и API 50CH (bioMérieux, Франция) и анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК.

В результате проведенных исследований было выделено и идентифицировано 146 штаммов бактерий. В микробных сообществах пищеварительного тракта мидий Грея всех исследуемых акваторий доминировали представители сем. *Micrococcaceae*. В микрофлоре мидий из б. Северная и б. Аякс также были многочисленны бактерии пор. *Actinomycetales*, а из прол. Старка – рода *Pseudoalteromonas*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Соглашение № 14-50-00034).

1. Галышева, Ю. А. Современное состояние и долговременные изменения сообщества *Crenomytilus grayanus* в заливе Восток Японского моря // Экология. – 2008. – №. 4. – С. 287-293.



2. Акулин, В. Н. Аквакультура на Дальнем Востоке: вчера, сегодня, завтра / В. Н.Акулин, В. Д. Дзизюров, С. Е. Поздняков // Труды ВНИРО. – 2015. – Т. 153. – С. 121-136.

3. Youchimizu, M., Kimura T. Study of intestinal microflora of Salmonids // Fish Pathol. - 1976. - V. 10. - № 2. - P. 243-259.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP7 В ПРИСУТСТВИИ КВЕРЦЕТИНА В ДИНАМИКЕ РОСТА**

**Дымо А.М.<sup>1</sup>, Борисова С.В.<sup>1</sup>, Жадаева А.А.<sup>1</sup>, Каневский М.В.<sup>1,2</sup>, Коннова С.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

*matvejkanev@mail.ru*

Изменение условий культивирования микроорганизмов (в том числе использование разных источников углерода и азота, внесение в среду культивирования биологически активных веществ) приводит к изменению метаболизма бактерий. Результатом может быть замедление или ускорение роста культуры, изменение состава и структуры полимеров, представленных на поверхности клеток, а также изменение активности транспорта веществ через мембрану.

Удобными экспресс методами скрининга происходящих изменений являются импедансометрия и электрооптический анализ клеточных суспензий, которые основаны на регистрации сопротивления и проницаемости клеток.

При культивировании типового штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 на богатой среде LB и синтетической среде с малатом натрия и хлоридом аммония не выявлено достоверных отличий в показателях импеданса на протяжении всех исследованных частот (10 Гц- 1 МГц). Показатели электрооптической экстинкции (ЭОЭ) клеток, выращенных на синтетической среде, были на 9-29% выше. Максимальное отличие (29%) наблюдалось в высокочастотном диапазоне (1-3 МГц), который характеризует активность транспорта через мембрану клеток.

Внесение кверцетина в концентрации 37,5 мкг/мл в среду выращивания бактерий приводило к изменениям импеданса и ЭОЭ клеток азоспирилл. При этом выращивание бактерий на богатой среде LB приводило к возрастанию ЭОЭ на 40-60% и снижению сопротивления на 10-25% по сравнению с контролем, а под действием кверцетина в синтетической среде наблюдался противоположный эффект: уменьшение показателя ЭОЭ на 30-45% и увеличение импеданса на 10%.

Полученные результаты свидетельствуют о разных по характеру изменениях, происходящих с клетками. Возрастание сопротивления и снижение ЭОЭ в высокочастотном диапазоне является следствием падения активности транспорта через мембрану. Это, вероятно, обусловлено защитной реакцией клетки, стремящейся предотвратить проникновение комплекса флавоноида и железа, обязательного компонента синтетической среды, внутрь. Под влиянием кверцетина в богатой среде без железа у бактериальных клеток наблюдается увеличение интенсивности транспорта.

Изменения показателя ЭОЭ под влиянием флавоноида в диапазоне 50-800 кГц свидетельствуют о модификациях структуры и состава полимеров поверхности и компонентов мембраны бактерий, которые индивидуальны для каждой из исследованных сред, и, вероятно, обусловлены разным действием свободного кверцетина и его комплекса с железом.



## АНАЛИЗ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕКОМБИНАНТНЫХ ВЕКТОРНЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIA*

Евсина А. С.<sup>1</sup>, Смолоногина Т. А.<sup>1</sup>, Котомина Т.С.<sup>1</sup>, Исакова-Сивак И. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*anastasiia.evsina@gmail.com*

*S.pneumonia* является основным возбудителем пневмонии и менингита, а бактериальное инфицирование, следующее после заражения вирусом гриппа, ведет к отягощенному протеканию болезни, осложнениям, а также повышает смертность и заболеваемость среди населения.

Целью исследования явилось создание рекомбинантных векторных вакцин против *S.pneumonia*, используя в качестве вирусного вектора штаммы живой гриппозной вакцины (ЖГВ). В качестве векторной системы использовали аттенуированные вакцинные штаммы, унаследовавшие шесть генов внутренних белков от донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), а два поверхностных антигена (НА и NA) от актуальных вирусов А/Анзи/1/2013 (H7N9) и А/Южная Африка/3626/2013 (H1N1). Для конструирования вакцин выбраны наиболее перспективные бактериальные полипептиды, являющиеся иммуногенными белками *S.pneumonia*: PspA и Spr1895. Данные пептиды (PspA (160-262 а.о.) или Spr1895 (94–161 а.о.) встраивали между НА1 СЕ и сигнальным пептидом молекулы НА. Пространственное моделирование показало, что бактериальная вставка экспонирована снаружи вирусной частицы и не нарушают структуру самого вирусного белка НА.

Оценку экспрессии бактериальных антигенов векторными вакцинами проводили в Western Blot и иммуноферментном анализе (ИФА) с помощью гипериммунной кроличьей сыворотки, специфической бактериальным белкам PspA, Spr1895 и PsaA. Интересно отметить, что антиген PspA четко выявлялся как в WB, так и в ИФА, тогда как вакцины, экспрессирующие белок Spr1895, связывались с сывороткой только в ИФА.

Анализ ростовых характеристик *in vitro* (куриные эмбрионы, культура MDCK) показал, что полипептид PspA значительно снизил инфекционную активность вакцинных штаммов H1N1 и H7N9 в РКЭ и культуре клеток MDCK при оптимальной температуре инкубации, тогда как Spr1895 не оказывал негативного влияния на репликативные свойства вирусов. Важно отметить, что рекомбинантные вакцинные штаммы были температурочувствительны и холодоадаптированы, т. е. сохранили аттенуированный фенотипом.

В экспериментах на мышах (BALB/c) была проведена оценка репродукции векторных вакцин, несущих PspA белок *S.pneumoniae*, в сравнении с контрольными штаммами ЖГВ H1N1. Рекомбинантный вирус выделялся из верхних дыхательных путей мышей в значительно более низких титрах, по сравнению с контрольными вирусами, что согласуется с результатами оценки репликации вирусов *in vitro*. Наиболее важным результатом является отсутствие детектируемого вируса в легких мышей – как у контрольных штаммов ЖГВ, так и у рекомбинантных векторных вакцин, что указывает на аттенуированный фенотип сконструированных вакцинных вирусов.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ ГРУППЫ АМИНОБЕНЗИМИДАЗОЛОВ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ГРИППА *IN VITRO*

Есаулкова Я. Л.<sup>1</sup>, Морковник А. С.<sup>2</sup>, Диваева Л. П.<sup>2</sup>, Зарубаев В. В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; <sup>3</sup>ФБУН Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

*basya251040@gmail.com*

Вирус гриппа человека представляет опасность для всех групп населения Земли, каждый год приводя к масштабным эпидемиям, и пандемиям при резкой смене антигенного подтипа вируса. Вирус вызывает респираторное заболевание, которое может повлечь за собой серьезные осложнения вплоть до смерти. Ежегодные эпидемии являются результатом распространения штаммов вируса, отличных друг от друга каждый год, а, следовательно, и требующие различных мер защиты и лечения. Поэтому необходимо исследовать альтернативные способы лечения гриппа



и искать новые превентивные и лекарственные препараты, обладающие иными по сравнению с используемыми в клинике мишенями и механизмами действия.

Цель данной работы заключается в рассмотрении противогриппозных и цитотоксических свойств группы препаратов – аминобензимидазолов на примере одного соединения в опытах *in vitro*.

Исследование вели на культуре клеток MDCK (Madin Darby canine kidney) с использованием штамма вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Инфекционный титр вируса оценивали в присутствии препарата в диапазоне концентраций: от 200 до 2 мкг/мл. Для оценки цитотоксических свойств и противогриппозной активности соединения проводили метилтетразолевый тест и реакцию гемагглютинации соответственно. По результатам проведенного исследования определяли 50% цитотоксическую дозу (CC<sub>50</sub>), вычисляли 50% эффективную дозу (EC<sub>50</sub>) и индекс селективности (отношение CC<sub>50</sub> к EC<sub>50</sub>).

На основании полученных данных значение CC<sub>50</sub> определить не удалось, поскольку препарат не обладает цитотоксическими свойствами во всем диапазоне проверенных нами концентраций (CC<sub>50</sub><200). Эффективная концентрация составила 13,3 мкг/мл. Используя полученные показатели, рассчитали индекс селективности, равный 15,3, что указывает на высокую избирательность соединения и перспективность дальнейшего его изучения с использованием систем *in vivo*.

Таким образом, на основе проведенной работы можно сделать вывод, что аминобензимидазолы являются перспективной группой препаратов, нуждающейся в дальнейших исследованиях как потенциальное средство борьбы с гриппом.

## АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЕК Г. РЯЗАНИ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД

Ефремова Е.С.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина, Рязань, Россия

*efremova.elena-efremova@yandex.ru*

Известно, что холодные температуры могут стимулировать пролиферацию генов устойчивости к антибиотикам и элементов переноса генов (Miller, Novak, Knocke, 2014). С целью изучения распространения фенотипической устойчивости к антибактериальным препаратам среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* в зимний период было выделено 136 изолятов из четырех рек г. Рязань: р. Ока, р. Трубеж, р. Лыбедь и р. Листвянка.

Выделение энтеробактерий выполнено методом мембранной фильтрации на поверхности среды Эндо. Видовая идентификация проводилась с помощью тест-системы для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий "Рапид-энтеро 200 М". Половина выделенных изолятов относилась к роду *Citrobacter* (из них 43% составляли *C. freundii* и 7% - *C. koseri*). Субдоминантами (по 17%) оказались *Escherichia coli* и *Providencia alcalifalcolifacies*. Также выделены *Kluyvera ascorbate* (9%) и *Enterobacter spp.* (7%).

Оценка устойчивости к 19 антибактериальным препаратам выполнена диско-диффузным методом на среде Мюллера-Хинтона в соответствии с критериями EUCAST. Все выделенные изоляты энтеробактерий оказались устойчивы к одному и более антибиотику, в весенне-летний период 2016 г. таких культур среди изолятов, выделенных из этих рек, было 98,7%. В зимний период произошел значительный рост числа культур с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) (97,1%, летом 2016г. – 71,4%). В тоже время, фенотипом возможной экстремальной резистентности (XDR) обладало только 7,4%, что значительно ниже, чем в весенне-летний период.

Увеличение числа (на 10%) устойчивых вариантов энтеробактерий зафиксировано только в отношении к цефазолину. Уровень резистентности выделенных изолятов к имипенему, амикацину, цiproфлоксацину, офлоксацину, ко-тримаксозолу и тетрациклину практически не изменился. На четверть сократилось количество вариантов, устойчивых к цефепиму.

Таким образом, в зимний период для изолятов энтеробактерий, выделенных из водных экосистем, характерно увеличение числа полирезистентных вариантов, тогда как резистентность к отдельным препаратам изменяется не значительно.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Рязанской области в рамках научного проекта №16-44-620157 «р\_а».





## БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИД ПРОДУЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОЗЕРА КАРУН ФАЮМСКОГО ОАЗИСА, ЕГИПЕТ

Ибрахим И.М.<sup>1</sup>, Коннова С.А.<sup>1,2</sup>, Сигида Е.Н.<sup>2</sup>, Федоненко Ю.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

*ibrahim.egypt2016@yandex.ru*

Восемь образцов соли были собраны в 2015-2016 гг. в озере Карун. 39 экзополисахарид (ЭПС) продуцирующих штаммов были выделены с использованием модифицированной среды S-G (Sehgal and Gibbons 1960) и на основании способности роста при различных концентрациях NaCl они были разделены на 4 группы. К 1 группе отнесены 5 изолятов, выдерживающих 25% содержание NaCl в среде культивирования (экстремальные галофилы). Три штамма из них были не способны расти при содержании NaCl менее 25%, два штамма были также способны расти при 15% NaCl. К 2, 3 и 4 группам были отнесены 7, 12 и 15 изолятов, способных расти при 15, 10 и 5% NaCl в среде, соответственно. Шесть штаммов из групп 2, 3 и 4 были способны расти при содержании NaCl от 0 до 10%, что позволяет отнести их к галотолерантным микроорганизмам. Девять изолятов из групп 2, 3 и 4 росли в широком диапазоне содержания NaCl от 0 до 25% и относились к факультативным галофилам. Оставшиеся 19 изолятов были способны расти в диапазоне концентраций NaCl от 0 до 15%, что позволяет отнести их умеренным галофилам. Большинство из исследованных штаммов имели форму палочек или вытянутых палочек, за исключением двух изолятов 1 группы, которые были плеоморфными, и двух изолятов группы 3, представляющие собой кокки или диплококки. 23 изолята были грамположительными, 16 изолятов были грамотрицательными. 17 изолятов были спорообразующими, 22 - неспорообразующими, 34 штамма были подвижны, 5 – не подвижны. На основании продукции ЭПС были отобраны 19 перспективных штаммов. Анализ последовательности генов 16S рРНК некоторых из них позволил выявить их принадлежность к восьми родам: *Bacillus*, *Salinibacillus*, *Virgibacillus*, *Piscibacillus*, *Halobacillus*, *Haloterrigena*, *Halobacterium* и *Chromohalobacter*. Процент сходства большинства выделенных изолятов и наиболее близких штаммов из базы данных NCBI составлял 98-99%, а для некоторых изолятов он достигал 100%. Таким образом, из озера Карун были выделены ЭПС-продуцирующие микроорганизмы – представители следующих семейств: *Halobacteriaceae*, *Halomonadaceae* и *Bacillaceae*. К семейству *Halomonadaceae* относились умеренные галофилы рода *Chromohalobacter*. Семейство *Halobacteriaceae* было представлено экстремальными галофилами, принадлежащими к родам *Halobacterium* и *Haloterrigena*. К семейству *Bacillaceae* относились галотолерантные микроорганизмы, среди которых преобладали представители родов *Bacillus*, *Salinibacillus*, *Virgibacillus*, *Piscibacillus* и *Halobacillus*.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ПИЕЛОНЕФРИТОМ И ЦИСТИТОМ НА ТЕРРИТОРИИ Г. САРАТОВ

Казанцев А.В.<sup>1</sup>, Осина Н.А.<sup>1</sup>, Абдрашитова А.С.<sup>1</sup>, Проскуракова М.В.<sup>1</sup>, Ситмбетов Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора, Саратов, Россия

*andreikazancev@mail.ru*

Основным этиологическим агентом при инфекциях мочевыводящих путей является уропатогенная *E. coli* (УРЕС). Штаммы *E. coli*, выделенные от пациентов с диагнозами пиелонефрит и цистит, характеризуются разным набором генетических маркеров, ассоциированных с адгезией, вирулентностью и персистенцией [Firoozeh et al., 2014]. В тоже время, данных о свойствах генома штаммов УРЕС, выделенных на территории Российской Федерации, крайне мало. В связи с этим, особую актуальность приобретают исследования, направленные на определение генетических особенностей штаммов УРЕС, выделенных от пациентов с указанными заболеваниями.



Цель работы: изучение молекулярно-генетического профиля штаммов UPEC, выделенных на территории г. Саратов.

Объектами исследования были выбраны 53 штамма *E. coli*, выделенные из клинического материала (мочи) от 44 пациентов с пиелонефритом, 9 – с циститом.

Для генетической характеристики изучаемых штаммов методом ПЦР, выявляли гены, кодирующие синтез фимбриальных адгезинов: *fimH*–фимбрий I типа, *sfa*–S-фимбрий, *pap*–P-фимбрий, *afa*– афимбриального адгезина, *iha*–негемагглютинирующего адгезина; сидерофоров: *iroN*–С-гликолизированного энтеробактина, *iuc*–аэробактина, *irp2*–иерсиния бактина; факторов устойчивости и персистенции: *ompT*–защита от мочевых катионных пептидов, *cva*–колицина.

У штаммов UPEC, выделенных при пиелонефрите ген *fimH* выявлен во всех культурах, *pap*– в 23, *sfa*–в 3, *afa*–в 2, *iha*–в 22 изолятах. В тоже время встречаемость аналогичных генов, у штаммов UPEC, выделенных при цистите была значительно ниже: *fimH*–в 8, *pap*–в 3, *sfa*–в 2, *iha*–в 4 штаммах. Ген *afa*, кодирующий синтез афимбриального адгезина, не выявлен.

Гены *iuc*, *irp2* и *iroN* выявлены в 6, 7 и 5 штаммах UPEC, выделенных от пациентов с циститом. Тогда как для культур UPEC выделенных от больных с пиелонефритом более характерно наличие генов *iuc* и *irp*–в 35 и 30 штаммах. Ген *iroN* выявлен только у 15 изолятов.

Ген *ompT*, был выявлен у большинства штаммов UPEC, выделенных от пациентов с циститом–8 случаев. У штаммов UPEC, выделенных от пациентов с пиелонефритом, ген *ompT* встречался в 30 изолятах. Ген *cva* чаще обнаруживался у штаммов UPEC, изолированных от пациентов с пиелонефритом в 5 случаях. Среди штаммов, выделенных от пациентов с циститом, данный ген был выявлен только в 1 случае.

Штаммы уропатогенных *E. coli*, выделенные от пациентов с диагнозами пиелонефрит и цистит на территории г. Саратов, имеют различный набор генетических маркеров, ассоциированных с адгезией, вирулентностью и персистентностью.

#### **БАКТЕРИОФАГИ ФВ83, ФKIR1 И ФIZH57, ИНФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ ГРУППЫ *BACILLUS CEREUS***

**Казанцева О.А.<sup>1</sup>, Пилигримова Э.Г.<sup>1,2</sup>, Загородный В.А.<sup>3</sup>, Кулябин В.А.<sup>4</sup>, Шадрин А.М.<sup>1,5</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, Киров, Россия; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. С.П. Королева, Самара, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВО Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия; <sup>5</sup>ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*andrey2010s@gmail.com*

В последнее время вновь возрос интерес к бактериофагам – вирусам, инфицирующим бактерии. Бактериофаги и их компоненты часто становятся основой для разработки систем диагностики, антибактериальных препаратов и доставки лекарственных средств. В данной работе мы описываем три бактериофага, способных заражать бактерии группы *Bacillus cereus*. Бактериофаг фВ83 был выделен при индукции митомицином С из штамма *Bacillus thuringiensis*, бактериофаги фKIR1 и фIzh57 были выделены из образцов почвы, отобранных на газонах городов Кирова и Ижевска. Бактериофаги фВ83 и фIzh57 формировали бляшки диаметром около 1 мм, бляшки бактериофага фKIR1 были диаметром более 2 мм. В рамках данной работы были определены особенности заражения выделенными бактериофагами штаммов бактерий-хозяев при температуре +30, +37 и +42°C. Проведен анализ специфичности бактериофагов фВ83, фKIR1 и фIzh57 к штаммам *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. megaterium*, *B. subtilis*. Для каждого бактериофага были определены две случайно выбранные последовательности ДНК длиной 0.7-1.3 кб и с помощью BLASTn были выявлены родственные бактериофаги.



## АУКСОТРОФНЫЕ ВАРИАНТЫ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ Г. РЯЗАНИ

Калчугина В.Д.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина, Рязань, Россия

*lera.kalchugina@yandex.ru*

Вопросы встречаемости, распространения и выживаемости бактерий с потерей биосинтетических генов, в частности ауксотрофов, в объектах окружающей среды в последние годы становятся весьма интересной научной задачей. Особенно это касается водных экосистем, в которых содержание необходимых для ауксотрофных вариантов факторов роста (аминокислот, витаминов, нуклеиновых оснований) весьма низки.

Целью данной работы было оценка распространения ауксотрофных вариантов среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* в водных экосистемах.

В июне-июле 2016 г. был произведен отбор проб воды из 27 поверхностных водных объектов г. Рязани. Выделено 775 штаммов энтеробактерий, по 25 изолятов на каждый створ. Ауксотрофные варианты определялись по неспособности к росту на минимальном агаре (по Clowes, Hayes, 1968). Всего выделено 66 изолятов (8,5% от всех штаммов) с потребностью в факторах роста из 18 водных объектов. Зависимости между численностью энтеробактерий (ОКБ и ТКБ) и количеством обнаруженных ауксотрофов не обнаружено, т.о. их встречаемость определяется не интенсивностью антропогенного загрязнения, а гидрологическими и гидрохимическими условиями в конкретных водных объектах.

Наиболее часто ауксотрофами являлись *Providencia alcalifaciens* – 38 изолятов (57.6%). 13 культур (19,7%), нуждающихся в факторах роста, относились к *Citrobacter freundii*, к *Enterobacter spp* – по 6 культур. Наименьшей встречаемостью обладали виды *Escherichia coli*, *Edwardsiella targa* и *Hafnia alver* – по 3 штамма. Требуется отметить, что в типичном состоянии все эти виды являются прототрофами, т.е. не нуждаются в присутствии факторов роста в среде.

Было проведено исследование аминокислотных потребностей выделенных штаммов методом тотальной селекции на глюкозо-минимальной среде с наборами аминокислот. Из 66 выделенных из водоемов Рязани ауксотрофных вариантов ОКБ в присутствии аминокислот нуждалось только 6 культур (9% от всех ауксотрофов). В наличии метионина в среде роста нуждалось 3 штамма. Ауксотрофами по аминокислотной кислоте оказалось 2 культуры и 1 - по лейцину.

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ СИМБИОНТОВ ИНFUЗОРИЙ РОДА *PARAMECIUM*

Коротаев А.В.<sup>1</sup>, Бенкен К.А.<sup>1</sup>, Сабанеева Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

*alvkorotaev@gmail.com*

Одно из характерных свойств инфузорий – это формирование симбиотических ассоциаций с различными микроорганизмами, как правило, бактериями. Использование последних в качестве пищевого субстрата является важной предпосылкой этого процесса. Организмы, которые смогли избежать разрушения в пищеварительных вакуолях и колонизировать клетку инфузории, могут называться эндосимбионтами. Такие системы могут быть моделями для изучения молекулярных аспектов процесса узнавания «хозяин-симбионт», горизонтального переноса генов и биоразнообразия.

В солоноватоводных заплесках на побережье Белого моря в районе губы Чупа, нами была собрана популяция инфузорий рода *Paramecium*, содержащая бактериальных эндосимбионтов. Для описания симбиотических систем мы использовали микроскопические (световая, атомно-силовая, конфокальная лазерная сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия), молекулярные (флуоресцентная гибридизация *in situ* с олигонуклеотидными зондами, специфичными к участкам последовательности 16S rRNA) и цитохимические методы исследования. Видовой состав популяции (*P. nephridium*) был определен по данным



нуклеотидных последовательностей гена 18SpРНК. Были изучены три эндосимбионта (Эс): подвижные бактерии веретеновидной формы с характерной светопреломляющей структурой в центре клетки (Эс1); неподвижные бактерии извитой формы (Эс2); подвижные короткие палочки правильной формы (Эс3). Клетки выделенных клонов *P. nephridiatum* формируют двух- (*P. nephridiatum* и Эс3) и трехкомпонентные симбиотические системы (*P. nephridiatum* и Эс1 + Эс3, либо Эс2 + Эс3). Флуоресцентная гибридизация *in situ* с группоспецифичными олигонуклеотидными зондами показала, что все симбионты принадлежат к группе *Alpha-proteobacteria*. Трансмиссионная электронная микроскопия выявила наличие плотных светопреломляющих тел правильной округлой формы и многочисленных жгутиков у Эс1. Цитохимическое окрашивание с помощью амида черного Б подтвердило, что тела имеют белковую природу.

Определение нуклеотидных последовательностей генов 16SrRNA позволило выяснить, что Эс1 имеет 86% гомологию с *Candidatus Midichloria mitochondrii* и, таким образом, может быть выделен в новый род семейства *Candidatus Midichloriaceae*. Эс2 имеет 95% степень сходства с *Candidatus Paraholospira nucleivisitans* и может быть отнесен к новому роду. Эс3 имеет 99% гомологию с недавно описанным видом рода *Candidatus Megaira*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 15-04-06410 и № 18-04-00562) с использованием оборудования Ресурсного Центра микроскопии и микроанализа и Ресурсного Центра развития молекулярных и клеточных технологий.

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ И АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА

Костеневич А. А.<sup>1</sup>, Фальковская У. В.<sup>1</sup>, Бирюков Р. Н.<sup>1</sup>, Губчик К. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*A.Kastsianeovich@gmail.com*

Лактоферрин (ЛФ) – белок из группы трансферринов, контролирующие уровень железа в организме. Он представляет собой гликопротеид с молекулярной массой 76–80 кДа. ЛФ существует в двух формах – железонасыщенной и железоненасыщенной.

Одной из важнейших функций ЛФ является его способность транспортировать ионы железа и регулировать их всасывание в организме. Поскольку железо влияет на многие клеточные процессы, например, синтез ДНК, РНК, белков, секрецию антител и многие другие, то ЛФ, регулируя процессы всасывания железа, косвенно влияет на очень широкий спектр физиологических процессов. Для ЛФ была показана как бактериостатическая, так и бактерицидная активность, причем последняя проявляется против широкого спектра микроорганизмов. ЛФ действует синергично с лизоцимом и антибиотиками, увеличивая их активность. Бактериостатические свойства ЛФ обусловлены его железосвязывающей способностью, т.е. оттягивая ионы железа на себя, создается дефицит необходимых ионов для микрофлоры *in vivo*. Связывание ЛФ железа также приводит к ингибированию роста многих видов бактерий и грибов *in vitro*.

В качестве тест-культур для определения антимикробной активности рекомбинантного человеческого лактоферрина (рчЛФ) использовали штаммы различных видов как грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов (*Escherichia coli* БИМ В–378, БИМ В–699, *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В–278, *Bacillus cereus* БИМ В–416, *Bacillus firmus* БИМ В–172, *Bacillus licheniformis* БИМ В–175, *Bacillus megaterium* БИМ В–176, *Bacillus subtilis* БИМ В–276, так и мицелиальных грибов *Aspergillus niger* БИМ F–18, БИМ F–183, *Penicillium chrysogenum* БИМ F–281, *Penicillium expansum* БИМ F–171, *Penicillium variable* БИМ F–314).

В результате проведенной экспериментальной работы установлено, что наибольшая антимикробная активность рчЛФ луночно-диффузионным методом в отношении *Bacillus licheniformis* БИМ В–175 и *B. subtilis* БИМ В–276, соответственно составила 7,5 и 12,5 мм. Максимальная антифунгальная активность рчЛФ выявлена в отношении *B. licheniformis* БИМ В–175 (4,5 мм) и *A. niger* БИМ F–18 (4,0 мм).



## ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ НУТРИЦИОННОГО ОБМЕНА НА ВИРУЛЕНТНОСТЬ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* НА ПРИМЕРЕ АВС-ТРАНСПОРТЕРА МЕТИОНИНА

Красильникова Е.А.<sup>1</sup>, Иванов С.А.<sup>1</sup>, Шайхутдинова Р.З.<sup>1</sup>, Комбарова Т.И.<sup>1</sup>, Светоч Т.Э.<sup>1</sup>, Дентовская С.В.<sup>1</sup>, Анисимов А.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ Прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

*krasilnikowa.katya111@yandex.ru*

Вспышки, эпидемии и пандемии чумы вызываются штаммами *Yersinia pestis* subsp. *pestis*, распространенными повсеместно и обладающими универсальной гипервирулентностью для широкого спектра восприимчивых млекопитающих. Представители другого подвида *Y. pestis* subsp. *microtus* циркулируют на территории евразийских природных очагов чумы и «избирательно вирулентны» для полевых и лабораторных мышей, но не патогенны для людей и морских свинок. При проведенном нами ранее сравнительном анализе двумерных электрофореграмм белков, экспрессирующихся в принципиально отличающихся по вирулентности субкультурах штамма И-3189 (bv. *ulegeica*), выращенных в имплантированных в перитонеальные полости морских свинок диализных камерах, с последующей масс-спектрометрией выявили повышенную продукцию MetQ (субстрат-связывающего белка АВС-транспортера) в вирулентной для морских свинок культуре.

Целью настоящего этапа исследования явилось изучение влияния MetQ на вирулентность штаммов *Y. pestis*, относящихся к разным подвидам.

Для получения нокаутных мутантов по гену *metQ* на модели авирулентного штамма *Y. pestis* subsp. *pestis* EV НИИЭГ использовали метод одношаговой инактивации путем RedGam мутагенеза. Далее мутантную аллель  $\Delta metQ::kan$  клонировали по SmaI сайту в суицидном векторе pCVD442. Сконструированную плазмиду pCVD442 $\Delta metQ::kan$  трансформировали в штамм *E. coli*S17( $\lambda$ pir). Донорный штамм *E. coli*S17( $\lambda$ pir)/pCVD442 $\Delta metQ::kan$  использовали для получения мутантов на модели вирулентных штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis* 231, *Y. pestis* subsp. *microtus* bv. *ulegeica* И-3189, *Y. pestis* subsp. *microtus* bv. *caucasica* С-376. Вирулентность сконструированных мутантов 231 $\Delta metQ::kan$ , И-3189 $\Delta metQ::kan$ , С-376 $\Delta metQ::kan$  определяли по величине LD<sub>50</sub> по сравнению с исходными высоковирулентными штаммами на модели бубонной формы инфекции у беспородных белых мышей.

Мутантные штаммы *Y. pestis* 231 $\Delta metQ::kan$  и *Y. pestis* И-3189 $\Delta metQ::kan$  не вызывали гибели мышей при введении в дозе 10<sup>4</sup> КОЕ. Вирулентность штамма С-376 $\Delta metQ::kan$  при подкожном введении мышам снижалась в 10 раз по сравнению с исходным штаммом.

Установлено, что MetQ *Neisseria gonorrhoeae* участвует в процессе адгезии к эпителиальным клеткам, а мутанты, лишённые соответствующего гена, не способны выживать в макрофагах и сыворотке крови [Infect Immun. 2017;85(2) pii: e00898-16]. Выяснение тонких механизмов снижения вирулентности мутантных штаммов *Y. pestis*  $\Delta metQ$  продолжается.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проекта № 14-15-00599).

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДОНОРОВ АТТЕНУАЦИИ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VIVO*

Кругикова Е. В.<sup>1</sup>, Литфуллоев А.А.<sup>1</sup>, Степанова Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*krutikova.iem@mail.ru*

Введение. Доноры аттенуации живой гриппозной вакцины (ЖГВ) – холодоадаптированные вирусы гриппа, являющиеся источником генов, кодирующих внутренние белки вакцинного штамма. Гены доноров аттенуации содержат набор мутаций, обеспечивающих температурочувствительность и апатогенность штамма гриппа для человека, что обеспечивает безопасность применения живой вакцины. Доноры аттенуации отечественной ЖГВ подготовлены в 1960-70 годы методом длительного пассирования в развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) при пониженной температуре. Для подготовки штаммов ЖГВ подтипа В в отделе вирусологии института экспериментальной медицины было параллельно получено два донора: используемый в настоящее время В/СССР/60/69(В60) и В/Ленинград/14/17/57(В14), оставшийся в качестве резервного. Геном штамма В14 содержит большее количество замен, чем геном В60, их роль в



аттенуации штамма до конца не установлена. Целью данной работы было сравнение показателей аттенуации штаммов В60 и В14, а также реассортанта на их основе.

Материалы и методы. Доноры аттенуации ЖГВ В14 и В60 были получены из музея отдела вирусологии ФГБНУ «ИЭМ». На основе двух доноров был подготовлен реассортант, 7 генов которого унаследованы от В14, а ген РВ1 – от В60. Накопление, получение реассортанта, определение титра вирусов производили в РКЭ. Анализ происхождения генов реассортанта проводился методом пиросеквенирования с помощью системы генетического анализа PyroMark Q24. Проводили сравнение способности двух доноров аттенуации и их реассортанта к репликации за пределами температурного оптимума (25°C и 37°C). Уровень аттенуированности оценивали в эксперименте. Мышей заражали вирусами в дозе 6,0 lg ЭИД<sub>50</sub>/мл, оценку патогенности вирусов для мышей оценивали по уровню репликации вируса в легких на 1, 3, 5 сутки после заражения, определенному методом титрования в РКЭ.

Результаты. Оценка фенотипических свойств выявила более высокую температурочувствительность донора В14 по сравнению с донором В60. Реассортант, полученный на основе двух доноров, был идентичен по фенотипу донору В14. Оценка патогенности на животной модели показала, что как донор В14, так и реассортант на основе двух доноров, являются более аттенуированными для мышей, чем донор В60. Наиболее аттенуированным из трех исследованных вирусов был донор В14.

Таким образом, резервный донор аттенуации В14 является более аттенуированным вариантом холодоадаптированного штамма – донора аттенуации ЖГВ. Реассортант, содержащий гены РВ2, РА и NР от более аттенуированного донора В14, унаследовал свойство повышенной аттенуированности.

## ИНТЕГРОНЫ В ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММАХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В 2003-2015 ГГ

Леонова Е.С.<sup>1</sup>, Асташкин Е.И.<sup>1</sup>, Лев А.И.<sup>1</sup>, Агеева Е.Н.<sup>1</sup>, Карцев Н.Н.<sup>1</sup>, Тазина О.И.<sup>1</sup>, Светоч Э.А.<sup>1</sup>, Фурсова Н.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ Прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

*e.leonova@mail.ru*

Цель исследования. Детекция и характеристика интегронов классов 1 и 2 в геномах грамотрицательных бактерий, выделенных в г. Москва и в других регионах РФ в 2003-2015 гг.

Материалы и методы. Госпитальные штаммы грамотрицательных бактерий (n=1246), в том числе семейства *Enterobacteriaceae* (n=694) и неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ) (n=552). Видовую идентификацию и определение чувствительности к 7 классам антибактериальных препаратов проводили на приборах MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Карлсруэ, Германия) и VITEK-2 (Biomerieux, Лион, Франция). Методом ПЦР детектировали интегроны классов 1 и 2. Первичную структуру генных кассет интегронов определяли методом ДНК-секвенирования по Сэнгеру. Секвенированные нуклеотидные последовательности размещали в базах данных GenBank и INTEGRAL.

Результаты. Большинство штаммов (94%) отнесены к категории МЛЮ-патогенов. Одним из важных механизмов формирования МЛЮ-фенотипа являются мобильные генетические элементы – интегроны. В 67% штаммов (42% энтеробактерий и 25% НГОБ) детектированы интегроны, в том числе класса 1 (59%) и класса 2 (8%). В 48 % интегронов класса 1 идентифицированы 25 вариантов наборов генных кассет: (*aadA1*), (*aadA7*), (*aadB*), (*dfrA7*), (*dfrA1-aadA1*), (*dfrA12-orfF-aadA2*), (*aadA6-orfD*), (*aacA4*), (*dfrA17-aadA5*), (*aadA2*), (*blaPSE-1*), (*dfrA1-aadA1*), (*aadB-catB3*), (*bla<sub>OXA1</sub>-aadA1*), (*dfrA1-orfC*), (*dfrA5-ereA2*), (*aacC-orfX-aadA1*), (*aacC1-orfX-orfY-aadA1*), (*orfD-aacA4-orf105-catB8*), (*aacA7-smr2-orfD*), (*aadB-aadA1y*), (*aacA4-cmlA1j*), (*dfrA12s-orfF-aadA2*), (*estX*) и (*aacA4-OrfD*). В 79% интегронов класса 2 выявлены 3 варианта интегронных вставок: (*dfrA1-sat2*), (*dfrA1-sat2-aadA1*) и (*dfrA1-IS911-sat1-aadA1*). Наиболее распространенными генными кассетами были *aadA5*, *dfrA17*, *aadA2*, *dfrA12*, *aadA1* и *orfF*, которые относятся к числу самых распространенных в геномах бактерий, размещенных в базе данных GenBank.

Закключение. Выявлено большое разнообразие интегронных структур в штаммах грамотрицательных бактерий, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, выделенных в России в 2003-2015 гг., что указывает на большую значимость интегронов, как мобильных генетических элементов, аккумулирующих генетические детерминанты



антибиотикорезистентности. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

## ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ, СУПРЕССИРУЮЩИХ МУТАЦИИ В ПОЗДНИХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНАХ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*P.SATIVUM*)

Масликова Т.И.<sup>1,2</sup>, Афонин А.М.<sup>2</sup>, Сулима А.С.<sup>2</sup>, Жуков В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия

*kosha44@yandex.ru*

Недостаток азота – один из основных лимитирующих факторов развития растений. Дополнительными поставщиками азота для бобовых растений служат симбиотические клубеньки, образованные азотфиксирующими бактериями из группы ризобий. Развитие клубеньков контролируется генетической программой растения, а также зависит от особенностей штамма бактерий. Клубеньки, не способные к фиксации азота (по причине мутации в симбиотическом гене растения или из-за несовместимости штамма, попавшего в клубенек, с данным растением), подвергаются раннему старению и отмирают. В исключительных случаях некоторые штаммы ризобий способны образовывать клубеньки, успешно фиксирующие азот, на корнях мутантных растений, таким образом, супрессируя мутации.

Мутанты Р61 и Р63 гороха посевного (*Pisum sativum* L.), несущие мутации в генах *Sym25* и *Sym26*, при взаимодействии со многими известными штаммами клубеньковых бактерий образуют неэффективные (Fix<sup>-</sup>, т.е. не фиксирующие азот), преждевременно стареющие клубеньки. Более 20 лет назад [Sagan et al., 1993. New Phytol. 125: 757-761] были обнаружены штаммы, способные супрессировать эти мутации, вследствие чего на корнях растений образовывались эффективные клубеньки, однако в дальнейшем эти штаммы были утеряны. Целью настоящей работы является поиск новых штаммов бактерий, способных супрессировать мутации в поздних симбиотических генах *Sym25* и *Sym26* у линий гороха посевного Р61 и Р63, и их генетическая характеристика.

Растения линий Р61 и Р63 выращивали в течение месяца в нестерильных условиях в трёх различных почвах из Ленинградской области, в результате чего на корнях у них образовались белые (неэффективные) и красные (эффективные) клубеньки. Из клубеньков были выделены бактериальные изоляты, которыми в аксеничных условиях (стерильные вегетационные микробоксы) повторно инокулировали растения тех же линий. Из образовавшихся наиболее крупных эффективных клубеньков были выделены в чистую культуру отдельные штаммы (9 штук для Р61, и 14 штук для Р63), способные к супрессии мутаций в генах *Sym25* и *Sym26*.

В настоящее время проведено секвенирование геномов трёх супрессорных штаммов, результаты которого будут обсуждены в докладе. Наличие в геномах определенных детерминант, способствующих проявлению супрессорного фенотипа, позволит сделать вывод о механизмах, посредством которых бактерии расширяют круг растений-хозяев, преодолевая генетически обусловленные «блоки» со стороны растения.

Работа поддержана грантами РНФ 17-76-30016 и 16-16-00118.



## КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСОВ ГРИППА - КАНДИДАТОВ В УНИВЕРСАЛЬНУЮ ЖИВУЮ ГРИППОЗНУЮ ВАКЦИНУ

Меженская Д.А.<sup>1</sup>, Котомина Т.С.<sup>1</sup>, Исакова-Сивак И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*dasmez@mail.ru*

Вирус гриппа (ВГ) является возбудителем острого инфекционного заболевания, от которого ежегодно по всему миру умирает 250000-500000 человек. Вакцинация является наиболее эффективным способом борьбы с данным заболеванием, однако она является неэффективной мерой против пандемий, так как зачастую вакцинные штаммы не соответствуют пандемическому вирусу.

Кандидатом для создания универсальной вакцины против гриппа А является внеклеточный домен вирусного белка М2 (М2е) – высоко консервативный белок ВГА. Сам по себе М2е является слабым иммуногеном из-за своего малого размера, малого числа копий в вирионе и, возможно, из-за экранирующего воздействия более крупных мембранных белков ВГ, поэтому многие исследования были посвящены увеличению иммуногенности М2е с использованием различных носителей.

Ранее была выдвинута гипотеза о том, что для увеличения иммуногенности вакцины на основе эпитопов М2е необходимо создание особой рекомбинантной конструкции, содержащей в себе 4 тандемных повтора М2е (4М2е) (2 – человеческих, 1 – свиной, 1 – птичий), которые были бы клонированы в HA1 субъединицу гемагглютинина, поверхностного белка ВГ. Живые рекомбинантные вирусы гриппа, экспрессирующие данную конструкцию 4М2е, были успешно получены на основе вирусов гриппа А/Швейцария/9715293/2013 (H3N2), А/Ануи/1/2013 (H7N9) и А/Южная Африка/3626/2013 (H1N1) генно-инженерными методами. Сконструированные рекомбинантные вирусы гриппа содержали внутренние и неструктурные белки от отечественного донора аттенуации для живой гриппозной вакцины – штамма А/Ленинград/134/17/57 (H2N2). Western blot и иммуноферментный анализ с моноклональным антителом 14С2, специфичным внеклеточному домену М2е, подтвердили высокий уровень экспрессии 4М2е эпитопов сконструированными рекомбинантными вирусами гриппа. Проведенный анализ фенотипических характеристик рекомбинантных вирусов свидетельствует о сохранении температурочувствительного и холодоадаптированного фенотипов, свойственных безвредному донору аттенуации. Кроме того, было показано отсутствие влияния вставки М2е тандемных повторов на ростовые характеристики штаммов-кандидатов в универсальную живую гриппозную вакцину в системах *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-15-0034.

## СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА КИШЕЧНИКА ЛИЧИНОК ЖУКОВ *ACMAEOPS SEPTENTRIONIS* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)

Мохаммед В.Ш.<sup>1</sup>, Зиганшина Э.Э.<sup>1</sup>, Зиганшин А.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Waleed.shaapan@yahoo.com*

Насекомые являются одними из самых разнообразных организмов в мире, населяющие различные места обитания и питающиеся различными субстратами. Насекомые колонизируются различными микроорганизмами, многие из которых полезны и необходимы для организмов-хозяев. Большинство личинок семейства *Cerambycidae* питаются здоровыми, мертвыми или разлагающимися тканями растений. Представители данного семейства могут нанести ущерб лесным насаждениям и сухим бревнам.

Симбиотические отношения между прокариотами и насекомыми рассматриваются как одни из основных областей исследований фундаментальной микробной экологии с потенциальным применением результатов в биотехнологиях. В данном исследовании всесторонне изучались личинки вида жуков *Acmaeops septentrionis*, питающиеся различными древесными компонентами.

Видовая принадлежность личинок жука была подтверждена секвенированием фрагментов гена первой субъединицы цитохром с оксидазы (COI). Далее определяли структуру бактериального сообщества, ассоциированного с кишечником. Тотальная ДНК из семи образцов





экстрагировалась с помощью набора для выделения ДНК FastDNA SPIN Kit (MP Biomedicals) согласно инструкциям производителя. Полученную ДНК далее использовали для ПЦР с использованием универсальных праймеров (амплифицировали ген бактериальной 16S рРНК). Высокопроизводительное секвенирование было выполнено на платформе MiSeq (Illumina). Далее все прочтения обрабатывались и анализировались с использованием QIIME (версия 1.9.1).

Всего было обработано более 700 тысяч последовательностей с высоким качеством (без химерных последовательностей) и назначено 119 операционных таксономических единиц (ОТЕ) (после обработки всех семи образцов кишечника). Обнаружено различие кишечной микробиоты в пределах одного вида данных насекомых. Так, одна группа личинок *A. septentrionis* содержала большую часть представителей семейства *Dietziaceae* (*Actinobacteria*), следующая группа – *Bradyrhizobiaceae*, *Burkholderiaceae*, *Comamonadaceae* и *Oxalobacteraceae* (*Proteobacteria*), в то время как в бактериальном сообществе еще одной личинки доминировали семейства *Pseudonocardiaceae*, *Propionibacteriaceae* (*Actinobacteria*) и *Pseudomonadaceae* (*Proteobacteria*).

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации в рамках научного проекта МД-100.2017.4.

### **ВЛИЯНИЕ АКРИЛАМИДА НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ *ESCHERICHIA COLI* K12 TG1 (PXEN7)**

**Мочалова Е.М.<sup>1</sup>, Максимова Ю.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*19mochalova96@mail.ru*

Акриламид – непредельное органическое соединение, высокотоксичное реакционно-способное вещество, широко используемое в промышленности. Кроме того, акриламид образуется при высокотемпературной обработке пищи, обладает канцерогенным и мутагенным действием. В настоящее время существует ряд методов обнаружения токсичных соединений, одним из которых является биолюминесцентное тестирование.

Целью настоящей работы явилось изучение биолюминесценции микробного сенсора при воздействии различных концентраций акриламида. В качестве биосенсора был использован штамм *Escherichia coli* K12 TG1 (pXen7).

В данной работе исследовано влияние времени воздействия и концентрации акриламида в диапазоне от 10 до 1500 мМ на свечение бактерий. Определение проводили в 96-луночной планшете, люминесценцию регистрировали на универсальном микропланшетном ридере Infinite M1000pro (Tecan).

Показана зависимость гашения свечения штамма от времени экспозиции с акриламидом. Гашение люминесценции на 50% наблюдали при концентрациях 500, 350, 250, 210, 190, 150 и 100 мМ акриламида за 0, 10, 20, 30, 40, 50 и 120 мин соответственно. Следовательно, это вещество, оказывая токсический эффект на физиологию бактерий, подавляет интенсивность свечения, и биосенсор такого рода может быть применен для определения концентрации акриламида. Однако подобный сенсор не обладает специфичностью, и с его помощью невозможно обнаружить это соединение в смеси различных токсичных веществ. Поэтому для качественного и количественного определения акриламида следует разрабатывать более специфические биосенсоры.



## ПРОТЕОМНЫЙ ФАЗОВЫЙ ПЕРЕХОД БАКТЕРИИ *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С КЛЕТКОЙ-ХОЗЯИНОМ

Мусарова В. А.<sup>1</sup>, Матюшкина Д.С.<sup>1</sup>, Бутенко И.О.<sup>1</sup>, Побегуц О.В.<sup>1</sup>, Фисунов Г.Ю.<sup>1</sup>, Говорун В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

*varvaramys@gmail.com*

Бактерии класса *Mollicutes* характеризуются низким содержанием G+C оснований, отсутствием клеточной стенки, очень маленьким геномом и редуцированными метаболическими путями, поэтому их жизнедеятельность сильно зависит от их взаимодействия с клеткой-хозяином. Бактерии данного класса чрезвычайно распространены в природе и их хозяевами являются практически все живые существа. В данной работе на модели *Mycoplasma gallisepticum* (патоген птиц) был продемонстрирован протеомный фазовый переход бактерии при инвазии в различные клеточные линии (человека, курицы и мыши), который оставался стабильным после изоляции бактерии из эукариотических клеток. Было проанализировано 2 модели инфекции: острая (24 часа совместной культивации) и хроническая (7 недель совместной инкубации). Методами двумерного дифференциального электрофореза, МАЛДИ-масс-спектрометрии и ВЭЖХ-МС было показано, что наблюдаемые нами протеомные изменения микоплазмы после внутриклеточной инфекции сохранялись на протяжении длительного периода культивации бактерии на питательной среде (16 пассажей). Полученные протеомные профили *M. gallisepticum* были схожи для трех различных клеточных культур (HeLa, HD3, mES).

Наиболее выраженные изменения касались белков, ответственных за защиту клетки от окислительного стресса, белков гликолиза, факторов элонгации трансляции, гемагглютининов семейства VlhA и двух регуляторных белков: SpxA и YebC/PmpR. Проведенное с помощью ОТ-ПЦР измерение мРНК *M. gallisepticum* после внутриклеточной инфекции таких выраженных изменений не продемонстрировало. Таким образом, полученные данные могут свидетельствовать о наличии новых механизмов адаптации и взаимодействия бактерий с минимальным геномом. Подобные механизмы могут являться предпосылкой к развитию бактериальной клеточной памяти, отражающейся на уровне протеома.

Работа была проведена на средства гранта «Системное исследование минимальной клетки на модели *Mycoplasma gallisepticum*» РФФ № 14-24- 00159

## ВЛИЯНИЕ ПОНИЖЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ДЕЙТЕРИЯ В СРЕДЕ НА ПРОДУКЦИЮ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА И ПРИРОСТ БИОМАССЫ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Никитина М.А.<sup>1</sup>, Волченко Н.Н.<sup>1</sup>, Самков А.А.<sup>1</sup>, Джимаков С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

*ksmnl@gmail.com*

Микроорганизмы являются одним из универсальных объектов для исследования влияния физико-химических факторов на метаболические процессы. Эффекты большинства из них (температура, pH, окислительно-восстановительный потенциал и др.) хорошо изучены, одним из перспективных направлений регуляции метаболизма микробов является изотопный состав воды. Подавляющее число исследований посвящены влиянию на живые системы “тяжелой воды”, обладающей повышенным содержанием дейтерия, однако биологическими эффектами обладает и легкая вода (ЛВ) с пониженной, относительно естественной, концентрацией дейтерия.

Исследуемым объектом являлись дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, традиционно служащие модельным эукариотическим микроорганизмом. В качестве функции отклика на воздействие оценивали продукцию биомассой углекислого газа и ростовую активность. Первую измеряли с помощью цифрового датчика газообразной углекислоты, вторую – по оптической плотности клеточной суспензии дрожжей на фотоэлектроколориметре КФК-2мп.

Целью исследования являлась оценка продукции CO<sub>2</sub> биомассой дрожжей штамма *Saccharomyces cerevisiae* OenofermC2 на средах, различных по содержанию дейтерия в воде – 10, 50, 100, 150 ppm (контроль). Продолжительность опыта составила 9 суток. В качестве



единственного субстрата использовали сахарозу. Максимальная динамика прироста биомассы отмечалась в среде на основе воды с 10 ppm, минимальная – 100 ppm. Продукция CO<sub>2</sub> как интегральный показатель биологической активности микроорганизмов имела более сложную картину. В период с 1 по 4-5 сутки она во всех вариантах опыта увеличивалась, что коррелировало с приростом биомассы, далее снижалась вплоть до 7 суток. Пик продукции CO<sub>2</sub> наблюдался на уровне концентрации CO<sub>2</sub> в газовой фазе сосуда культивирования, равной 1680-1790 ppm. Несмотря на колебания, дыхательная активность дрожжей в среде с содержанием дейтерия на уровне 50 ppm была в среднем выше, чем при 10 ppm. Остальные варианты опыта различались в меньшей степени.

Таким образом, показано, что изотопный состав воды оказывает различное влияние на прирост клеточной биомассы *S. cerevisiae* и их метаболическую активность, связанную с выделением CO<sub>2</sub>.

## ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ДРОЖЖЕЙ *PICHLIA PASTORIS* С ИНТЕГРИРОВАННЫМ ГЕНОМ БАЦИЛЛЯРНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ Ногманова С. Р.<sup>1</sup>, Валеева Л. Р.<sup>1</sup>, Трошагина Д. С.<sup>1</sup>, Сулейманова А. Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*nogmanova.96@mail.ru*

Бактериальные протеиназы широко используются в различных областях промышленности, как, например, для производства моющих средств, и имеют большой потенциал применения в качестве фармакологических препаратов. Бактерии рода *Bacillus* являются хорошо известными продуцентами секретируемых высокоактивных протеиназ различных классов. Однако экспрессия протеиназ непосредственно в клетках бактерий создает ряд трудностей в связи со сложностью проведения генно-инженерных работ в данных бактериях, а также с несоответствием полученных таким методом ферментов регламентам пищевой, сельскохозяйственной и фармацевтической индустрии. В связи с этим, необходима разработка высокопродуктивных гетерологичных систем экспрессии бактериальных протеиназ, и наиболее подходящими продуцентами для рекомбинантной экспрессии являются дрожжи.

Целью работы – получение рекомбинантных штаммов *Pichia pastoris* с интегрированным геном бактериальной протеиназы.

Мы провели клонирование гена сериновой протеиназы *Bacillus pumilus aprBp* в штамм дрожжей *P. pastoris*, мутантный по генам протеиназ *pep4* и *prb1*, а также по гену *ade2* (ауксотроф по аденину). Провели кодон-оптимизацию последовательности гена бактериальной протеиназы для эффективной экспрессии в дрожжах. С 3'-конца гена присоединили последовательность His-tag для анализа рекомбинантной экспрессии белка. Химически синтезированный оптимизированный ген *aprBp*-His-tag субклонировали совместно с сигнальным пептидом дрожжевой инвертазы SP<sub>invertase</sub> в дрожжевой экспрессионный вектор pPink-НС под контроль промотора P<sub>AOX1</sub> в штамм *E. coli* DH5. Наличие полноразмерной вставки SP<sub>invertase</sub>: *aprBp*-His-tag подтвердили рестрикционным, ПЦР-анализом и секвенированием. Полученную конструкцию интегрировали в геном дрожжей *P. pastoris* методом трансформации электропорацией путем гомологичной рекомбинации. Результаты клонирования подтвердили ПЦР-анализом.

Таким образом, нами получены рекомбинантные штаммы *P. pastoris* с интегрированным геном бактериальной сериновой протеиназы *aprBp*. Далее нами будет проведен скрининг и отбор наиболее продуктивных штаммов по уровню экспрессии рекомбинантной протеиназы и протеолитической активности. Экспрессия высокоактивных бактериальных протеиназ в дрожжах позволит в дальнейшем оптимизировать использование бактериальных ферментов в промышленности.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 16-16-04062.



## МОБИЛЬНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS* 5AP

Охремчук А. Э.<sup>1</sup>, Чернявская М. И.<sup>1</sup>, Валентович Л. Н.<sup>2</sup>, Титок М. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*bio.ohremchuae@bsu.by*

Ключевую роль в изменчивости бактерий играют мобильные генетические элементы (МГЭ). Являясь необязательными структурами геномов, они обеспечивают горизонтальный перенос генов, придавая адаптивные свойства содержащим их микроорганизмам. Для успешного использования биотехнологически ценных штаммов бактерий необходимо знание всех генетических структур, входящих в геном, в том числе, МГЭ. В этом плане интерес представляют конъюгативные плазмиды биодegradации и входящие в их состав транспозоны, способные распространяться в природных популяциях бактерий.

В результате сиквенс-анализа (использовали алгоритмы MAFFT, RAST, blastn, Нидлмана-Вунша) в клетках бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap были обнаружены две конъюгативные D-плазмиды, определяющие деградацию дибензофурана и устойчивость к арсенатам (размером около 230 т.п.н.), а также утилизацию нафталина и фталата (более 100 т.п.н.). В их составе выявлены гены, обеспечивающие репликацию, распределение плазмидных копий в процессе деления, конъюгационный перенос. В геноме плазмиды биодegradации дибензофурана обнаружено 14 транспозоноподобных элементов. Один из них (размером 7564 п.н.) отнесен к семейству Tn3, ограничен несовершенными инвертированными повторами размером 44 п.н., включает гены, кодирующие транспозазу, транскрипционный репрессор и резольвазу, обеспечивающие перемещение путем репликативной транспозиции. В составе транспозона также обнаружены три детерминанты, кодирующие интегральный мембранный белок эффлюкс-системы, универсальный белок стресса, фермент семейства тиоэстераз, определяющих гидролиз тиоэфиров в метаболизме жирных кислот и деградацию фенилуксусной кислоты и 4-хлорбензоата. Сходные транспозоны входят в состав плазмид pDF01 *Rhodococcus* sp. p52, p1 *Rhodococcus* sp. 2G, pNF2 *Nocardia farcinica* IFM 10152. В составе плазмиды биодegradации нафталина и фталата, обнаружено семь МГЭ. Учитывая способность исследованных плазмид передаваться путем конъюгации, можно предположить, что выявленные МГЭ являются важным фактором изменчивости актиномицетов.

Исследуемые бактерии также содержат внехромосомный элемент размером более 150 т.п.н., не имеющий сходства с известными плазмидами бактерий рода *Rhodococcus*. К ранее неописанным плазмидным детерминантам следует отнести гены, кодирующие синтез белка инициации репликации, сидерофоров, систему рестрикции-модификации I типа. В составе плазмиды обнаружено три МГЭ: два выявляются в геномах других видов актиномицетов (*Rhodococcus* sp., *R. opacus*, *R. phenolicus*), а третий обнаруживает сходство с белками транспозиции бактерий *N. ciriacigeorgica*, *R. opacus* B4.

## ПРОИЗВОДНОЕ 2(5Н)-ФУРАНОНА ИНГИБИРУЕТ РОСТ БИОПЛЕНОК И УСИЛИВАЕТ ДЕЙСТВИЕ АМИНОГЛИКОЗИДОВ ПРОТИВ *BACILLUS CEREUS*

Павлова А.С.<sup>1</sup>, Шарафутдинов И.С.<sup>1</sup>, Хабибрахманова А.М.<sup>1</sup>, Курбангалиева А.Р.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*Anbio96@yandex.ru*

На сегодняшний день инфекционные заболевания остаются серьезной проблемой в сфере здравоохранения. Приобретение бактериями устойчивости к антибиотикам приводит к необходимости поиска новых антимикробных препаратов. Так же бактерии способны образовывать прочные биопленки, что повышает их вирулентность. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* показывают, что бактериальные биопленки, значительно более устойчивы к антибиотикам и иммунной защите хозяина, чем те же планктонные клетки. *Bacillus cereus* – повсеместно



встречающийся микроорганизм, способный образовывать прочные биопленки и вызывающий пищевые отравления, бактериемию, септицемию или пневмонию. В данной работе мы показали, что производное 2(5*H*)-фуранона эффективно ингибирует рост и образование биопленок *B. cereus* и увеличивает эффективность аминогликозидов.

Минимальная подавляющая концентрация (МПК) исследуемого фуранона (Ф123) оказалась равной 8 мкг/мл для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* и *B. cereus*, тогда как для *B. subtilis* МПК был равен 16 мкг/мл. Все изучаемые грамотрицательные бактерии, такие как *E. coli*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* оказались невосприимчивыми к соединению. Минимальная бактерицидная концентрация (МБК) для Ф123 была обнаружена только на бактериях *B. cereus* и была равна значению ее МПК. Минимальные подавляющие концентрации биопленки (МБПК) были определены путем окрашивания кристаллическим фиолетовым остаточных биопленок. Для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* и *B. subtilis* МБПК соответствовали их значениям МПК. Значительная способность Ф123 влиять на клетки в составе зрелой биопленки была обнаружена только на *B. cereus*. Ф123 уменьшил количество КОЕ *B. cereus* находящихся в биопленке на 2 порядка в концентрации 64 мкг/мл. Методом шахматной доски определили, что Ф123 усиливает действие аминогликозидов на клетки *B. cereus* в 64 раза при концентрации 4 мкг/мл.

Обобщив данные, можно сказать, что соединение Ф123 является интересным соединением для лечения инфекций *B. cereus*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 15-14-00046.

## АНАЛИЗ МИКРОФЛОРЫ У РЫБ СЕМЕЙСТВА COTTIDAE ОЗЕРА БАЙКАЛ

Павлова Ю.А.<sup>1,2</sup>, Литасова А.С.<sup>1,2</sup>, Максимов А.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН ПФИЦ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*pavlova\_ua@mail.ru*

Инфекционные болезни наносят большой экономический ущерб рыбоводным хозяйствам России, в частности, акватории озера Байкал. Растущая агрессивность среды приводит к снижению резистентности организма рыб и возникновению бактериальных заболеваний в скрытой и явной форме, спаду рыбопродуктивности. Так, периодически в водоемах Бурятии выявляется вирулентная бактерия *Aeromonas hydrophila*. Необходим постоянный мониторинг для предупреждения возникновения инфекционных заболеваний рыб. Одним из потенциальных резервуаров ихтиопатогенов ценных видов рыб могут быть распространенные в акватории Байкала бычки семейства *Cottidae*. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что эндемичные бычковые рыбы, которые в природе контактируют с ценными видами рыб Байкальской акватории, содержат виды бактерий *Pseudomonas* и *Aeromonas* и микроскопические грибы рода *Saprolegnia*. Установлено, что наиболее представлены среди микрофлоры поверхностных покровов, ротовой полости и жабер бычковых Байкала микроорганизмы *Acinetobacter baumannii* и *Staphylococcus sciuri*. В большом количестве содержатся и другие виды этих родов (*A. gernerii*, *A. johnsonii*, *A. rhizosphaerae*, *S. fleuretii*), а также *Bacillus butanolivorans*. По данным ПЦР-анализа установлено, что более 13% образцов содержат культуры *Pseudomonas* 17% - культуры *Aeromonas* и около 6,5% – *Flavobacterium*. Метагеномный анализ также подтвердил наличие условно-патогенных представителей *Pseudomonas*, составляющее 13% изолятов и большого количества бактерий рода *Aeromonas*, количество ридов для которых в образце составляет более 300 тыс. и на порядок превышает количество псевдомонад, энтеробактерий и флавобактерий.

Таким образом, микробиологическими и молекулярно-биологическими методами показано, что патогены в существенных количествах присутствуют в составе микрофлоры, выделенной у байкальских рыб семейства *Cottidae*. Это подтверждает предположение, что последние играют роль одного из резервуаров ихтиопатогенов в системе озера Байкал.

Работа выполнена по контракту № ЗК-031-Т-44-Ц в рамках ФЦП «Охрана озера Байкал и социально-экономическое развитие Байкальской природной территории на 2012 - 2020 годы»



## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В УКРАИНЕ, К ВОЗБУДИТЕЛЮ БАЗАЛЬНОГО БАКТЕРИОЗА

Пастошук А.Ю.<sup>1</sup>, Буценко Л.Н.<sup>2</sup>, Скивка Л.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина; <sup>2</sup>Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев, Украина

kotsyuk93@ukr.net

Проблемы бактериальных болезней пшеницы характерны как для регионов Украины, так и для России [1, 2]. Наиболее распространенным среди возбудителей бактериальных болезней зерновых культур в является *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* – возбудитель базального бактериоза пшеницы [2, 3]. Патоген поражает все части растений и может быть причиной низкой всхожести семян [3].

В работе исследовали чувствительность разных сортов пшеницы к *P. syringae* pv. *atrofaciens* штамм 8281, который хранится в коллекции живых культур отдела фитопатогенных бактерий Института микробиологии и вирусологии НАНУ. Активность бактерий и их метаболитов изучали относительно семи сортов пшеницы: Печерянка, Хуторянка, Дискус, Тацитус, Патрас, Хукулус, Гренни.

Установлено, что обработка семян пшеницы всех сортов живыми клетками *P. syringae* pv. *atrofaciens* 8281 приводит к уменьшению их всхожести: для сорта Печерянка на 15% , Хуторянка – 20% , Дискус – 10% , Тацитус – 10% , Патрас – 20% , Хукулус – 25% , Гренни – 30%. Обработка семян пшеницы липополисахаридом (ЛПС) *P. syringae* pv. *atrofaciens* 8281 также приводила к уменьшению их всхожести. Отмечено также угнетение роста проростков пшеницы при обработке живыми клетками и ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 8281. Среди исследованных сортов наиболее чувствительным оказался сорт Гренни. Наибольшей устойчивостью характеризовались сорта Дискус и Тацитус.

Список литературы:

1. Matveeva E.V., Pekhtereva E.S., et al. Distribution and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, causal agent of basal glume rot, in Russia // Presentations from the 6th International Conference on *Pseudomonas syringae* pathovars and related pathogens, Maratea, Italy, September 15–19, 2003. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, P. 97–105/

2. Фитопатогенные бактерии. Бактериальные болезни растений : Монография / [ Р.И. Гвоздяк, Л.А. Пасичник, Л.М. Яковлева и др.]; под ред. В.П.Патики. – К.: ТОВ «НВП «Интерсервис», 2011. -58 с.

3. Пасичник Л.А., Савенко Е.А., Буценко Л.Н., Патыка В.Ф. *Pseudomonas syringae* в агрофитоценозе пшеницы // Наука и мир. Международный научный журнал. – 2014. – №4 (8). – С. 52–56.

## ПОИСК СПОСОБОВ ИНГИБИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Пиядина А.Ю.<sup>1,2</sup>, Сухина М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ Государственный научный центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих Минздрава России, Москва, Россия

denovobios@mail.ru

Большинство микроорганизмов в природной среде и организмах хозяев существует в виде специфически организованных сообществ - биопленок (Biofilms), что приводит к неэффективности антибиотикотерапии, так как многие лекарственные препараты не способны проникать внутрь биопленки и оказывать нужный эффект. В связи с этим, в настоящее время ведутся активные разнонаправленные исследования по поиску способов ингибирования процесса формирования биопленок или их разрушения.

Цель исследования. Оценка степени ингибирования биопленкообразования активными внеклеточными веществами лактобацилл и противомикробными агентами.

Материалы и методы. При поиске способов ингибирования процесса образования биопленок использовали чистые культуры микроорганизмов, которые были выделены из гемокультуры и



других клинических образцов пациентов. Научный интерес представляли следующие штаммы: *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Acinetobacter baumannii* 480. В качестве ингибирующих факторов были выбраны: Пронтосан (препарат для промывания ран), АНД 2000® - EXPRESS (кожный антисептик), фильтрат лактобацилл, в котором находилось противомикробное вещество – бактериоцин, обладающее антагонистическими свойствами против других микроорганизмов.

Для выявления воздействия этих факторов на процесс формирования биопленок готовили клеточные суспензии четырех исследуемых культур по стандарту мутности (ед. по МакФарланду). Затем смешивали 1мл клеточной суспензии с 1 мл каждого из 3-х выбранных факторов. После чего полученные суспензии наносили на покровные стекла для биопленкообразования и микроскопировали. В качестве контролей были приготовлены планктонные суспензии клеток.

Результаты. Оценка биопленкообразования проводилась по 5-ти бальной шкале. Исследуемые штаммы без воздействия ингибирующих факторов формируют биопленки на 2-3 уровне. После воздействия выбранных агентов процесс биофильмогенеза соответствовал 1 уровню в 80% случаев, в остальных образцах - степень формирования биопленок была ниже. Кожный антисептик и Пронтосан полностью подавили рост клеток, находящихся в планктонной форме.

Выводы. Все выбранные факторы обладают хорошей ингибирующей способностью и по силе воздействия находятся приблизительно на одном уровне. Кожный антисептик и жидкость для промывания ран обладают лишь ингибирующим действием на процесс формирования биопленок, в то время как на планктонную форму клеток данные препараты оказывают бактерицидный эффект.

#### **ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНЫХ И ЦИСТОПОДОБНЫХ ПОКОЯЩИХСЯ КЛЕТОК ХИЩНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ *KAISTIA SP.*, ШТАММ NF1 И *CHRYSEOBACTERIUM SP.*, ШТ. NF4 – УМЕРЕННЫХ АНТАГОНИСТОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ**

**Погодина Е.И.<sup>1</sup>, Поливцева В.Н.<sup>1</sup>, Абашина Т.Н.<sup>1,2</sup>, Мачулин А.В.<sup>1</sup>, Шорохова А.П.<sup>1</sup>, Сузина Н.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*pogodinatya@yandex.ru*

В естественной среде обитания микроорганизмы подвержены воздействию различных физических факторов и постоянно меняющегося в результате деятельности человека химического состава почв, грунтов и воды в водоемах. Неблагоприятные условия в природе клетки переживают в цистоподобном покоящемся состоянии. При наступлении благоприятных условий клетки бактерий выходят из состояния покоя, и начинают активно размножаться. После выхода из покоящегося состояния бактерии могут приобретать новые свойства: например, резко возрастает почти утраченная антимикробная активность или расширяется спектр их бактерий-жертв, активность в отношении утилизации ряда субстратов также может возрасти. Нами проведено сравнительное изучение цитологических и физиологических особенностей цистоподобных покоящихся клеток (ЦПК) и вегетирующих клеток модельных штаммов ультрамикробактерий бактерий: *Kaistia sp.*, шт. NF1 и *Chryseobacterium sp.*, шт. NF4. Важным свойством отобранных штаммов является способность к факультативному паразитизму на некоторых видах бактерий. Кроме того, экспериментально доказано их участие в разрушении клеток цианобактерий. Эта способность явилась наиболее значимым критерием отбора модельных штаммов в наших исследованиях, поскольку одним из современных экологически безопасных подходов к решению проблемы подавления массового развития цианобактерий в водоемах является использование эффективных природных антагонистов. С целью получения специализированных покоящихся клеток модельных штаммов осуществлен подбор оптимальных соотношений C/N в инкубационных средах, температуры и времени инкубации. При помощи методов электронной просвечивающей и фазово-контрастной световой микроскопии всесторонне охарактеризованы морфологические и ультраструктурные перестройки клеток модельных штаммов в динамике формирования ЦПК, а также особенности физиологии прорастающих ЦПК в сравнении с



вегетативными клетками постоянно пересеваемых культур. Изучена антагонистическая активность прорастающих ЦПК модельных штаммов по отношению к цианобактериальным обрастаниям. Исследования, проведенные на модельном штамме *Kaistia* sp., шт. NF1 подтвердили мало изученный в настоящее время феномен биокристаллизации нуклеоида. Это явление наблюдали в экспериментально полученных цистоподобных клетках штамма NF1 в условиях длительного (7 мес.) хранения в среде, лимитированной по источнику азота. Осуществлена фильтрация изображения области с периодической составляющей на основе преобразования Фурье.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), грант № 16-04-01347.

## ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ФИТОПЛАЗМ НА ВИНОГРАДЕ

Поротикова Е.В.<sup>1</sup>, Юрченко Е.Г.<sup>2</sup>, Виноградова С.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГУ ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва, Россия

*svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru*

Фитоплазменные заболевания являются одними из особо опасных болезней, поражающих большое количество сельскохозяйственных, декоративных культур, деревьев, кустарников, а так же многолетних древесных лиан, к которым относится культурный виноград (*Vitis Vinifera*). Источником инфекции являются микоплазменные организмы, относящиеся к классу *Mollicutes*, род *Candidatus Phytoplasma*. Фитоплазмы, поражающие виноград, наносят серьезный ущерб урожаю. Болезнь может носить эпифитотийный характер, приводить к поражению и последующей гибели 80-100% растений винограда в течение нескольких лет. Поэтому целью нашего исследования является изучение распространения фитоплазм.

Нами были проведены обследования виноградников, расположенных на Таманском полуострове в Краснодарском крае. На листьях пораженных растений в зависимости от сорта наблюдали хлорозы и покраснения, часто встречали секторальное изменение окраски, а также отмечали хрупкость и сильное скручивание листовой пластинки. Образцы отбирали для лабораторной диагностики.

Выделение ДНК производили по протоколу ЕРРО. Экстрагированную ДНК использовали в качестве матрицы для проведения вложенной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием универсальных праймеров P1/P7 и Fu5/Ru5. В результате ПЦР-анализа было показано наличие фитоплазмы в 42% отобранных образцов. Данные были подтверждены секвенированием полученных ПЦР-продуктов.

Работа выполнена на базе Экспериментальной установки искусственного климата (регистрационный номер УНУ U-73547) при поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-6087.2018.11.

## ГЕНЫ ПОЛИКЕТИДСИНТАЗ 1-ГО И 2-ГО ТИПОВ У АКТИНОБАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БАЙКАЛЬСКИМИ ЭНДЕМИЧНЫМИ АМФИПОДАМИ

Протасов Е. С.<sup>1</sup>, Аксенов-Грибанов Д. В.<sup>1,2</sup>, Лубяга Ю. А.<sup>1</sup>, Краснова М. Е.<sup>1</sup>, Тимофеев М. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия; <sup>2</sup>АНО Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

*protasov.evgenii@gmail.com*

Целью настоящего исследования была оценка разнообразия генов поликетидсинтаз 1-го и 2-го типов (PKS I и PKS II соответственно) у актинобактерий, ассоциированных с байкальскими эндемичными амфиподами (*Amphipoda*, *Crustacea*). В качестве объектов выделения штаммов были использованы амфиподы, собранные в южной котловине озера с разных глубин: *Pallasea brandtii flaviceps* (126 м), *Crypturopus tuberculatus* (126 м), *Acanthogammarus godleuskii* (126 м), *Eulimnogammarus ussolzewii* (150 и 300 м), *Eulimnogammarus aheneus* (150 м), *Ommatogammarus carreolus malanophthalmus* (200 м и 300 м). По результатам филогенетического анализа было





показано, что штаммы относятся к родам *Amycolatopsis*, *Micromonospora*, *Pseudonocardia*, *Streptomyces*. Для выявления генов поликетидсинтаз PKS I и PKS II были использованы следующие пары праймеров: KSMA-F/KSMB-R (Izumikawa, M. et al., 2003), K1/M6R (Ayuso A. et al., 2005), 540F/1100R (Wawrik B. et al., 2005).

Показано, что 7 исследованных штаммов обладают генами поликетидсинтаз PKS I (праймеры KSMA-F/ KSMB-R). Вторая пара праймеров для гена PKS I, K1/M6R, выявила наличие целевого фрагмента гена поликетидсинтаз у 10 штаммов из 15. Для 9 штаммов показано наличие ПЦР-сигнала для пары праймеров PKS II (540F/1100R). Пять штаммов показали наличие ПЦР-сигнала для всех трех исследуемых генов.

Лишь 4 штамма подавляли рост *Pseudomonas putida* и/или *Escherichia coli* – *Pseudonocardia* sp. IB2015P10-1, *Micromonospora* sp. IB2015P11-2, *Streptomyces* sp. IB2015P143-2, *Streptomyces* sp. IB2015P143-3. Все 4 штамма также показали активность против грибов и грам+ бактерий, что может свидетельствовать в пользу наличия смеси различных по своей структуре антибиотических веществ. Также было показано, что не существует прямой зависимости от количества генов PKS и степени ингибирования роста тест-микроорганизмов.

Таким образом, наличие и состав генов поликетидсинтаз 1-го и 2-го типов могут служить дополнительными критериями при выборе перспективных штаммов для выявления биосинтетического потенциала штаммов. Данные вещества могут играть определенную роль во взаимоотношениях между ракообразными и актинобактериями, предположительно защищая организм хозяина (амфипод) от инфекций, в частности грибных.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов РФ (17-14-01063), РФФИ (16-34-60060, 16-34-00686), проектов Минобрнауки РФ 6.12737.2018/12.2, 6.9654.2017/8.9, а также Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований «Озеро Байкал».

## **ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (PISUM SATIVUM L.) К ВЫСОКОЙ КИСЛОТНОСТИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ИОНАМ АЛЮМИНИЯ**

**Пухальский Я.В.<sup>1</sup>, Макарова Н.М.<sup>1</sup>, Азарова Т.С.<sup>1</sup>, Шапошников А.И.<sup>1</sup>, Сафронова В.И.<sup>1</sup>, Белимов А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия

*puhalskyan@gmail.com*

В сельскохозяйственных угодьях Российской Федерации распространены почвы с сильно- и среднекислой реакцией среды ( $pH_{KCl}$  менее 5,0). В кислых почвах заметно снижается активность полезных почвенных микроорганизмов, особенно азотфиксирующих свободноживущих и клубеньковых бактерий, для развития которых наиболее благоприятная нейтральная реакция среды. Повышенная кислотность почвы приводит к увеличению подвижных (легкодоступных) форм алюминия ( $Al^{3+}$ ), находящихся в твердой фазе ППК, являющихся токсичными для растений. Лишь очень немногие культуры хорошо развиваются в условиях кислой реакции среды (например, люпин, картофель, чайный куст). Однако большинство культур даёт наиболее высокие урожаи в условиях слабокислой или нейтральной реакции среды. Бобовые растения, как правило, менее терпимы к повышенной кислотности почвы и чувствительны к подвижному алюминию. Это проявляется в снижении фиксации атмосферного азота, ингибировании роста корней и ухудшении минерального питания. Климашевский Э.Л. с соратниками, ещё в 60-80-х годах 20 века выявил закономерности, связанные с реакцией растений гороха на действие ионов водорода и алюминия. Он установил, что устойчивость растений к действию алюминия находится под генетическим контролем и, вероятно, контролируется целым семейством генов.

В рамках нашего проекта была поставлена цель изучить устойчивость к высокой кислотности среды и алюминию у клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, образующих азотфиксирующий симбиоз с горохом. Объектом исследования послужили 60 штаммов, депонированных в коллекции ВКСМ (ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург). Работа проводилась методом периодических культур при культивировании бактерий на агаризованной питательной среде с  $pH$  5,0. Для каждого штамма были установлены минимальные ростингибирующие и летальные концентрации алюминия. Результаты показали, что большинство



штаммов данного вида способны расти при относительно высоких концентрациях алюминия: 110-130 мг Al/л. Однако они обладают низкой вариабельностью по данному признаку. Наиболее устойчивыми к алюминию штаммами были 1023, 1031, 1033, 1034, 1038, 1041, 1043, 1049, 1078, 1079 и 1081, а наиболее чувствительными были штаммы 1040, 1060 и 1065.

Информация об устойчивости и изменчивости бактерий по данным признакам представляет большую ценность для селекции устойчивых к алюминию и высокоэффективных микросимбионтов гороха и изучения растительно-микробных взаимодействий в условиях кислых почв.

Работа проведена при поддержке РФФ (14-16- 00137).

## ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ЗАКВАСОК НА ПИТАТЕЛЬНОСТЬ СИЛОСА

Рахманина А.К.<sup>1</sup>, Азимова Н.Ш.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ Микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

*smile-8383@inbox.ru*

В странах с засушливым климатом заготовка запасов травяных кормов является проблемой. Поэтому важно задействовать все возможные резервы в пополнении кормового рациона. Одна из таких возможностей заготовка силоса из кукурузных стеблей.

Проведены исследования по выявлению влияния совместного применения различных микроорганизмов на основные питательные свойства силоса, приготовленного из кукурузных стеблей. Для ферментации силоса использовали культуральную жидкость мицелиального гриба *Trichoderma harzianum* UzCF-28, гомоферментативные лактобациллы *Lactobacillus plantarum*, способствующие подавлению нежелательной гнилостной микрофлоры, увеличению содержания сухого вещества, и бактерию *Bacillus subtilis*, продуцирующую антибиотикоподобные вещества и ферменты, губительные для гнилостной микрофлоры. Результаты по влиянию микроорганизмов на приготовленный силос получены после трех месяцев силосования.

Важнейшими характеристиками при силосовании растительной массы являются: содержание общего азота, сырого протеина и сухого вещества. Определение общего азота в силосе из кукурузных стеблей проводили по методу Кьельдаля, сырого протеина - по методу Венде, пересчетом содержания общего азота на коэффициент 6,25. Определение сухого вещества проводили по ГОСТ 31640-2012.

После трех месяцев силосования содержание азота и сырого протеина в силосе, приготовленном с применением ассоциативной закваски, составило 2,87(%) и 17,98 (%) соответственно, что значительно превышает показания контрольных образцов, приготовленных без внесения закваски. В контроле содержание общего азота составило - 2.47(%), а сырого протеина - 15,1(%). Содержание сухого вещества также увеличилось по отношению к контролю (46,34%), и составило - 49,28% .

Необходимо отметить, что органолептическая оценка силоса, приготовленного с применением ассоциативной закваски, была высокого качества. В этих образцах был отмечен приятный фруктовый запах.

Таким образом, показано, что применение силосных заквасок на основе микроорганизмов *Trichoderma harzianum* UzCF-28, *Lactobacillus plantarum* и *Bacillus subtilis* при силосовании, стимулирует ферментационные процессы в силосе, в результате чего увеличивается содержание азота, сырого протеина и сухого вещества.



## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА "СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ" ДЛЯ ОТБОРА И ХРАНЕНИЯ ПРОБ БИОМАТЕРИАЛА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Сальников Н. И.<sup>1</sup>, Кольцов А. Ю.<sup>1</sup>, Сухер М. М.<sup>1</sup>, Усадов Т. Р.<sup>1</sup>, Янжиева Д. В.<sup>1</sup>, Луницын А. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФИЦ Вирусологии и микробиологии, п. Вольгинский, Владимирская область, Россия

*nsalnikov@vniivvm.ru*

Чума мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) – высоко контагиозная вирусная болезнь овец и коз, протекающая преимущественно остро или подостро, характеризующаяся лихорадкой, язвенными поражениями слизистых оболочек ротовой и носовой полостей, конъюнктивитами, геморрагическим гастроэнтеритом, поражением лимфоидной системы и развитием пневмонии. Возбудитель болезни - РНК-содержащий вирус семейства *Paramyxoviridae*, рода *Morbillivirus*.

Целью данной работы являлось изучение использования метода «сухих пятен крови» для отбора и хранения проб биоматериала для выявления генома вируса ЧМЖЖ.

В работе использован культуральный материал, содержащий вирус ЧМЖЖ, штамм «Nigeria 75/1». Данным вирусом инокулировали стабилизированную ЭДТА кровь от интактных овец в соотношении 1:1000. Приготовление препаратов «сухих пятен крови» проводили следующим образом: на вырезанные из фильтровальной бумаги кружки диаметром около 4-5 см наносили 0,05 см<sup>3</sup> инокулированной вирусом крови и подсушивали на воздухе при комнатной температуре. Далее фильтры помещали в микроцентрифужные пробирки с 800 мкл буфера, содержащего 4 М гуанидинизотиоцианат, и инкубировали 10 мин при 56°C. После инкубирования пробирки центрифугировали, надосадочную жидкость использовали для выделения РНК методом нуклеосорбции. Выделенные препараты исследовали методом ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием праймеров и зонда, комплементарных фрагменту гена гемагглютинина вируса ЧМЖЖ.

Для определения времени хранения фильтров, еженедельно в течение месяца исследовали методом ОТ-ПЦР в реальном времени партии из 3-х фильтров, приготовленных одновременно в начале месяца. В течение месяца фильтры хранились при комнатной температуре в плотно закрытых полиэтиленовых пакетах. Все препараты РНК, выделенные из этих фильтров, были положительными в ОТ-ПЦР, значения Ct незначительно отличались от первоначального значения (ΔCt 2-3).

Метод «сухих пятен крови» может использоваться для экспресс-доставки образцов в диагностические лаборатории из регионов, где произошла вспышка ЧМЖЖ при невозможности провести лабораторные исследования на месте и невозможности соблюсти холодовую цепь при доставке стандартного биоматериала.

## ВЛИЯНИЕ FUR-РЕГУЛОНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Самойлова З.Ю.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

*samzu@mail.ru*

В клетках *Escherichia coli* транскрипционный регулятор Fur контролирует метаболизм ионов железа. Доступность ионов железа играет важную роль в формировании биопленок. Считается, что наличие в среде хелаторов железа стимулирует биопленкообразование. Целью данной работы явилась оценка интенсивности биопленкообразования зрелыми сессильными культурами бактерий *E. coli* QC771 (wt) и QC1732 ( $\Delta fur$ ) при инкубации на свежей среде в присутствии экстрактов лекарственных растений (6.64 мг сухого вещества)/мл), обладающих железо-хелатирующей активностью. Интенсивность биопленкообразования оценивали, используя стандартную методику окрашивания генцианвиолетом.

При переносе на свежую среду биопленок штамма QC771 и QC1732 показатель валового биопленкообразования (OD<sub>540</sub>) составил  $0.369 \pm 0,033$  и  $0.472 \pm 0,043$ , соответственно. Через час инкубации биофильмы штамма QC771 подвергались дезинтеграции, на что указывало снижение



биоупленкообразования в 1.7 раза. Далее до конца инкубации показатель биоупленкообразования в отсутствие экстрактов существенно не изменялся. Наличие мутации  $\Delta fur$  препятствовало дезинтеграции биоупленков. В целом, у мутантов  $\Delta fur$  в отсутствие экстрактов на протяжении всего периода инкубации показатель биоупленкообразования был приблизительно на 35% выше, чем у родительских штаммов.

К концу инкубации высокие дозы всех экстрактов, за исключением *L. japonica*, стимулировали биоупленкообразование в штамме QC771. Максимальные стимулирующие эффекты обнаружены в присутствии экстрактов *A. uva-ursi* и *V. vitis-ideae*. Наличие мутации  $\Delta fur$  приводило к значительно более раннему (на 60 минут по сравнению с родительским штаммом) достоверному стимулированию биоупленкообразования в присутствии *A. uva-ursi*, *V. vitis-ideae*, зеленого и черного чая. Тем не менее, кратность стимулирующих эффектов была несколько выше в родительском штамме.

Исследование выполнено при поддержке грантами Президента МК-3376.2018.4 и РФФИ №16-04-00762.

## МИКРООРГАНИЗМЫ-ДЕСТРУКТОРЫ КУРИНОГО ПОМЕТА

Слепцова Н. А.<sup>1</sup>, Сидоренко М. Л.<sup>2</sup>, Бойко А. Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия; <sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток, Россия

*sleptsova-n@bk.ru*

Интенсивное развитие птицеводства в России сопряжено с проблемой утилизации органических отходов жизнедеятельности птиц и порождает круг проблем, обусловленных формированием в зонах птицефабрик значительных территорий с повышенным уровнем биологической опасности. Куриный помет представляет собой смесь большого количества различных химических соединений, значительную часть которых составляют жиры, белки и углеводы.

Цель данной работы заключалась в определении деструктивного потенциала 100 штаммов микроорганизмов по отношению к этим компонентам помета.

По результатам скрининга отобрано 11 наиболее активных штаммов, которые показали амилотическую, протеолитическую и липолитическую активность: *Bacillus subtilis* Ф-II-1, *Bacillus subtilis* Ф-II-2, *Bacillus subtilis* Ир-В-63-08, *Bacillus subtilis* Ф-III-1, *Bacillus thuringiensis* 105, *Trichoderma harzianum* Б-Тх-22, *Saccharomyces cerevisiae* X-1, *Saccharomyces cerevisiae* П-1, *Aeromonas species* 2079, *Alcaligenes eutrophus* 2075, *Alcaligenes denitrificans* 2077.

В ходе дальнейшего исследования установлено, что все 11 штаммов, ингибировали рост *Listeria monocytogenes* 4b NCTC 10527 и *Escherichia coli* BL21. На рост *Yersinia pseudotuberculosis* 512 и *Salmonella typhimurium* 13095 ингибирующее влияние оказывали только 50% штаммов.

Отобранные культуры микроорганизмов показали различную активность и скорость в отношении деструкции куриного помета. Максимальная степень деструкции достигается у культур *B. subtilis* Ф-III-1 за 25 суток, близкими по активности являются *T. harzianum* Б-Тх-22 (30 суток), *B. subtilis* Ир-В-63-08 и *S. cerevisiae* П-1 (35 суток). Очень пассивной по отношению к куриному помету оказалась культура *A. species* 2079, что говорит о толерантности микроорганизмов данного рода по отношению к куриному помету.

Образцы помета, инокулированные исследуемыми штаммами, изменили свою структуру и влажность: стали рыхлыми и значительно более сухими, а также исчез неприятный аммиачный запах. Влажность помета уменьшилась, с начальных 63% до 24%. Также наблюдали изменение pH субстрата с начальных 9,4-9,6 до 7,0 - 7,5. Тест на наличие БГКП в курином помете, который подвергся деструкции микроорганизмами рода *Bacillus* и *Trichoderma* показал отрицательный результат, яйца гельминтов не обнаружены. Это указывает на обеззараживающее действие указанных культур микроорганизмов, т. к. анализ нативного куриного помета показал наличие БГКП и яиц гельминтов.



## ШТАММЫ РОДА *AZOTOBACTER* – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Смирнова И. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия

*irina\_smirnova86@bk.ru*

Одним из перспективных экологических приемов повышения продуктивности сельскохозяйственных культур является применение микробных препаратов на основе азотфиксирующих, фосфатмобилизирующих, ростстимулирующих бактерий и бактерий-антагонистов фитопатогенов. Несмотря на широкий ассортимент на мировом рынке, усовершенствование и создание биопрепаратов нового поколения является одной из актуальных задач промышленной сельскохозяйственной микробиологии. В связи с этим постоянно ведется поиск активных штаммов микроорганизмов с полезными для растений свойствами.

Цель работы – исследовать спектр полезных для растений свойств эффективных штаммов бактерий рода *Azotobacter*.

Из почв с разной антропогенной нагрузкой нами были выделены штаммы бактерий, по физиолого-морфологическим свойствам идентифицированы как *Azotobacter*. Из них отобраны два штамма (*Azotobacter* sp.5 и *Azotobacter* sp.6) перспективных для дальнейших исследований.

Бактерии рода *Azotobacter*, как правило, имеют комплекс полезных для растений свойств. Штаммы *Azotobacter* sp.5 и *Azotobacter* sp.6 имели слабую фосфатмобилизирующую активность (зона просветления среды не превышала 1 мм). Их антагонизм к фитопатогенным микромицетам рода *Fusarium* проявляется в остановке роста последних при контакте культур.

В лабораторных опытах установлен стимулирующий эффект штаммов на проростках разных сельскохозяйственных культур. Инокуляция семян *Sinapis arvensis* L. штаммами *Azotobacter* sp.5 и *Azotobacter* sp.6 способствовала увеличению длины корней на 3,4 и 1,4% соответственно в сравнении с контролем; длина побегов превышала контроль на 12,5 и 25,0% соответственно. Обработка семян *Hordeum vulgare* L. штаммами *Azotobacter* sp.5 и *Azotobacter* sp.6 способствовала увеличению длины побегов в 2,7 и 3 раза соответственно, корней - в 1,7 раз в сравнении с контролем, при этом повышалась лабораторная всхожесть семян на 3- 5%. Исследуемые штаммы стимулировали развитие проростков *Cucumis sativus* L.: длина побегов в 6 - 7 раз превышала контроль, корня – на 14-42%.

Первичную технологическую оценку *Azotobacter* sp. 5 и *Azotobacter* sp. 6 проводили на плотных и в жидких питательных средах, рекомендованных для культивирования азотфиксирующих бактерий и получения препаратов на их основе. Установлено, что оптимальной для роста исследуемых штаммов является многокомпонентная среда Виноградского.

Таким образом, изучены биотехнологические свойства штаммов *Azotobacter* sp. 5 и *Azotobacter* sp. 6. Установлено, что исследуемые штаммы бактерии рода *Azotobacter* являются технологичными и перспективными для разработки технологии микробных препаратов на их основе.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ, ОПТИМАЛЬНЫХ ДЛЯ НАКОПЛЕНИЯ ФИОЛЕТОВОГО ПИГМЕНТА ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ *JANTHINOBACTERIUM LIVIDUM*, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ Совгир Н.В.<sup>1</sup>, Гетко Е.Ю.<sup>1</sup>, Костюшевская М.А.<sup>1</sup>, Сидоренко А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

*sovgirnv@gmail.com*

Пигменты микроорганизмов, являясь биологически активными веществами, находят широкое практическое применение. Виолацеин – это пигмент фиолетового цвета, который вырабатывается ограниченным числом видов граммотрицательных бактерий и проявляет антибактериальную, противовирусную, антипротозойную и противораковую активности.

Выделенные из почвы возле биологического факультета БГУ 2 штамма бактерий, обозначенных как SoNa-1 и SoNa-2 и синтезирующих внутриклеточный пигмент фиолетового



цвета, предположительно, виолацеин, на основании данных MALDI TOF масс-спектрометрии тотальных клеточных белков и секвенирования гена 16S рРНК отнесены к виду *Janthinobacterium lividum*. В отличие от типового штамма *J. lividum*, описанного в 9-ом издании «Определителя бактерий Берджи», штаммы *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2 являются факультативными анаэробами и имеют ферментативный тип метаболизма глюкозы (F-реакция).

Целью данной работы являлось определение условий культивирования, оптимальных для накопления клетками исследуемых штаммов фиолетового пигмента.

Штаммы *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2 культивировали при температуре 4, 18 и 28 °С на твердых полноценных питательных средах, имеющих нейтральное значение рН: ТВ-среде, модифицированной R2А-среде (без казамино кислот), рыбном агаре и LB-среде. Интенсивность накопления пигмента в клетках оценивали визуально. Эксперименты повторяли 3 раза.

Отмечено, что при одинаковых условиях культивирования штамм *J. lividum* SoNa-1 быстрее накапливает фиолетовый пигмент, чем *J. lividum* SoNa-2. Максимальное количество пигмента оба штамма синтезируют при температуре 18 °С на средах ТВ, LB, рыбном агаре, но не на модифицированной среде R2А. Согласно данным литературы, R2А-среду наиболее часто используют для культивирования бактерий *J. lividum* с целью получения виолацеина. Возможно, низкий уровень накопления пигмента связан с отсутствием в модифицированной R2А-среде казамино кислот. На ТВ-среде, содержащей глицерин (0,5 %), колонии бактерий были окрашены в черно-фиолетовый цвет, что может быть обусловлено стимулирующим действием данного соединения на синтез виолацеина. Выявлено, что присутствие в среде сахарозы (0,2 %) стимулирует синтез пигмента, а глюкозы (0,2 %) – препятствует. При культивировании штаммов *J. lividum* SoNa-1 и *J. lividum* SoNa-2 на рыбном агаре и LB-среде с добавлением 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 % глицерина, сахарозы или глюкозы, установлено, что для синтеза виолацеина оптимальным является содержание в среде 1 и 5 %, глицерина, 1 % сахарозы, в то время как присутствие даже 1 % глюкозы подавляет рост бактерий и синтез пигмента.

## **ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ КУЛЬТУР *YERSINIA PESTIS* ИЗ ФОНДА ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ-ОБОЛЕНСК»**

**Соломенцев В.И.<sup>1</sup>, Кисличкина А. А.<sup>1</sup>, Кадникова Л.А.<sup>1</sup>, Майская Н.В.<sup>1</sup>, Богун А.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ Прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

*solomentsev@obolensk.org*

Возбудитель чумы - *Yersinia pestis* включает в себя два подвида различающихся по уровню эпидемической значимости: основной подвид, вызывающий у людей острую инфекцию с летальным исходом и неосновной подвид, за редким исключением авирулентный для морских свинок и человека. В ходе работ по анимализации штаммов неосновного подвида были отобраны два штамма, пассированные интактные культуры которых принципиально отличаются по вирулентности для морских свинок: культуры-предшественники были авирулентны для морских свинок ( $LD_{50} > 10^6$ ), а пассированные *in vivo* культуры вызывали гибель животных этого вида при заражении несколькими десятками КОЕ, и даже единичными бактериями. Проведенное двукратное полногеномное секвенирование не выявило каких-либо мутаций в вирулентных и авирулентных культурах. Следовательно, основной задачей дальнейших исследований является поиск дифференциально экспрессирующихся генов, а также эпигенетических механизмов их регуляции.

В настоящей работе мы провели сравнительный транскриптомный анализ двух культур *Y. Pestis* subsp. *microti* bv. *ulegeica* штамма SCPM-O-B-6706. РНК выделяли из культур, предварительно культивированных в диализных камерах имплантированных в полость брюшины морских свинок, это позволило создать близкие к пребыванию *Y. pestis* в организме хозяина условия.

На первом этапе работы удаляли фракцию рибосомой РНК с использованием набора Ribo-ZeroKit (Bacteria). Затем с использованием набора ScriptSeq™ v2 RNA-Seq Library Preparation Kit («Illumina», США) готовили библиотеки для секвенирования. В ходе работы получали кДНК исследуемых культур, которую и подвергали анализу.

Биоинформационная обработка данных включала в себя выравнивание прочтений на референсный геном с использованием программного обеспечения SeqManNGen, их



нормализацию, квантификацию и анализ дифференциальной экспрессии генов авирулентных и вирулентных культур в приложении ArrayStar.

Всего проанализировано более 4000 генов, экспрессия в 4 и более раза изменилась в 59 генах. Большая часть отобранных генов кодирует гипотетические белки. Тем не менее, мы обнаружили изменение уровня экспрессии в вирулентных культурах для гена *psaA*, который входит в состав оперона кодирующего рН 6 антиген, и гена *pst*, кодирующего синтез пестицина.

Работа выполнена в рамках проекта РФФ № 14-15-00599 от 26.06.2014 г. “Поиск факторов избирательной вирулентности полевочьих штаммов *Yersinia pestis*”

## **ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ГЕМАГГЛЮТИНИНА РЕАССОРТАНТОВ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ВИРУСА ГРИППА А/Н7N9**

**Степанова Е. А.<sup>1</sup>, Баженова Е. А.<sup>1</sup>, Матюшенко В. А.<sup>1</sup>, Киселева И. В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*fedorova.iem@gmail.com*

Штамм живой гриппозной вакцины (ЖГВ) содержит гемагглютинин (НА) и нейраминидазу (НА) от одного из циркулирующих вирусов, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, остальные 6 генов наследуются от холодоадаптированного донора аттенуации. «Внутренние» гены, кодирующие белки донора аттенуации, обладают генетической стабильностью, что ежегодно подтверждается полным секвенированием генома вакцинных реассортантов. НА и НА, напротив, изменчивы. Наиболее часто изменения возникают в области рецептор-связывающего кармана НА, обеспечивая тонкую подстройку к типу рецептора, преобладающему в системе культивации, но не исключены другие адаптационные замены. Оценка возможного влияния возникающих замен на свойства штамма и его антигенную структуру является отдельной задачей при подготовке вакцины.

Целью работы был анализ изменений в НА и НА вакцинных реассортантов ЖГВ на основе штамма вируса гриппа А/Hong Kong/125/2017 (H7N9) и донора аттенуации ЖГВ А/Ленинград/134/17/57.

7 реассортантов с вакцинной формулой генома были получены в развивающихся куриных эмбрионах. Анализ последовательности генов показал идентичность всех реассортантов: последовательность НА штаммов соответствовала НА исходного вируса (GISAID: EPI977394), в НА все штаммы приобрели нуклеотидную замену в позиции 702, что привело к аминокислотной замене Gly на Glu в позиции 209 HA1 (соответствует позиции 218 в H3-нумерации). Появление замены у всех реассортантов, полученных в параллельных экспериментах, говорит о ее важном адаптационном значении.

В НА вирусов гриппа H7, представленных в базе данных fludb.org, аналогичная замена обнаружена у 16 изолятов (из 1683 последовательностей), выделенных от птиц. Моделирование тримера молекулы НА H7 и анализ пространственного расположения позиции 218 показали, что она расположена вне петель, формирующих рецептор-связывающий карман, и расположена в области, обращенной к другому мономеру. Анализ данных о влиянии замены в позиции 218 на свойства гриппа свидетельствует о том, что замена возникает при адаптации штаммов гриппа к «птичьему» типу рецептора, и не связана с изменением антигенных свойств. Замена в данной позиции характерна для мутантных вариантов разных штаммов гриппа со сдвинутым оптимумом рН, при котором происходит изменение конформации гемагглютинина.

Таким образом, замена G218E в HA1 (H3-нумерация), возникшая при получении штаммов ЖГВ подтипа H7N9, по всей видимости, является адаптационной и повышает способность штамма к репликации в развивающихся куриных эмбрионах. Влияние замены на рН-чувствительность штамма предстоит оценить экспериментально.



## СКВЕНИРОВАНИЕ DE NOVO ГЕНОМОВ *LACTOBACILLUS HELVETICUS* D75 И D76 И ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИХ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ

Торопов В.А.<sup>1</sup>, Шалаева О.Н.<sup>1</sup>, Рощина Е.К.<sup>1</sup>, Вахитов Т.Я.<sup>1</sup>, Ситкин С.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов  
ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

*toropovva@hpb.spb.com*

*L. helveticus* D75 и D76 входят в состав комплексного пробиотического препарата Витафлор<sup>®</sup>, обладающего выраженной пробиотической активностью. Препарат предназначен для лечения и профилактики дисбиотических состояний желудочно-кишечного тракта.

Целью работы было получить аннотированные последовательности геномных ДНК *L. helveticus* D75 и D76 и выявить в их составе генетические элементы, отвечающие за формирование пробиотических свойств.

Секвенирование *L. helveticus* D75 и D76 было проведено на секвенаторе PacBio RS II по технологии SMRT. Сборка геномов *de novo* осуществлена в пакете программ SMRT Analysis 2.3.0.

Получена полная нуклеотидная последовательность замкнутого кольцевого генома *L. helveticus* D75 протяжённостью 2053066 пар оснований (п.о) и генома *L. helveticus* D76 протяжённостью 2058319 п.о. Кратность покрытия прочтениями геномов *L. helveticus* D75 и D76 составила x422 и x375 соответственно. Геномы исследуемых штаммов депонированы в базе данных GenBank под номерами CP020029 (*L. helveticus* D75) и CP016827 (*L. helveticus* D76).

При помощи теста средней нуклеотидной идентичности (ANI), ранее отнесённые к виду *L. acidophilus* штаммы D75 и D76 (по фенотипическим характеристикам и анализу 16S рРНК) были перенесены к виду *L. helveticus* (99,22% идентичности при 76,3% покрытии нуклеотидных последовательностей референсных геномов).

В результате автоматической геномной аннотации в базе данных NCBI (пакет программ PGAP) для *L. helveticus* D75 и D76 обнаружено, соответственно, 2092 и 1986 кодирующих последовательностей, а также 317 и 265 псевдогенов. Помимо этого, в составе геномов *L. helveticus* D75 и D76 выявлено по 3 генетических блока CRISPR.

В ходе анализа *in silico* методами биоинформатики и последующего анализа *in vitro* методом ПЦР в реальном времени в составе геномов *L. helveticus* D75 и D76 обнаружены кластеры экспрессируемых генов, отвечающих за синтез бактериоцина гелветицинов J. Установлена индуцибельная природа экспрессии генов, входящих в состав бактериоцинового кластера. Дальнейший анализ *in silico* геномов *L. helveticus* D75 и D76 выявил в их составе пробиотические гены синтеза экзополисахаридов, гены белков адгезии, гены белков расщепления казеина и лактозы, гены иммуномоделирующих белков и некоторые гены белков антибиотикоустойчивости.

В результате научно-исследовательской работы получены завершённые аннотированные геномы *L. helveticus* D75 и D76, для которых обнаружен ряд пробиотических генов и кластер экспрессируемых генов синтеза бактериоцина гелветицинов J.

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ОКБ И ТКБ МАЛЫХ ВОДОЕМОВ Г. РЯЗАНИ

Трунякова А.С.<sup>1</sup>, Зацаринная Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия

*Sasha\_trunyakova@mail.ru*

Численность микроорганизмов в небольших водоемах (прудах), очевидно, отражает степень антропогенного воздействия.

С целью оценки санитарно-микробиологического состояния водных объектов на территории г. Рязани в течение года производился отбор проб из малых водоемов. Данные водоемы были исследованы на численность общих колиформных бактерий (ОКБ) и термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ).

На водоемах, находящихся внутри микрорайонов и часто посещаемых людьми (кормление диких уток, рыб, отдых на берегу) численность ОКБ в различные сезоны варьирует в очень широких пределах 8-1440 тыс. КОЕ/100 мл, а ТКБ – 500-9400 КОЕ/100 мл. Так, летом 2016 года численность ОКБ и ТКБ в этих водных объектах была, соответственно, на уровне 8600-26300





КОЕ/100 мл и 3300-5400 КОЕ/100 мл, осенью 2016 года - 10-30 тыс. КОЕ/100 мл и 510-1100 КОЕ/100 мл, летом 2017 года - 12-1440 тыс. КОЕ/100 мл и 830-9400 КОЕ/100 мл.

Практически не используемые для рекреации водоемы имеют сравнительно низкую численность бактерий и относительно невысокую амплитуду ее колебания. В различные сезоны численность ОКБ здесь варьирует в пределах 100-920 КОЕ/100 мл, а ТКБ – 30-60 КОЕ/100 мл. Так, летом 2016 года численность ОКБ и ТКБ в этих водных объектах была, соответственно, на уровне 100-380 КОЕ/100 мл и 30-60 КОЕ/100 мл, осенью 2016 года - 100-760 КОЕ/100 мл и 40-50 КОЕ/100 мл, летом 2017 года - 320-920 КОЕ/100 мл и 50-90 КОЕ/100 мл.

Промежуточное положение занимают небольшие водоемы расположенные рядом с хозяйственными объектами (гаражные комплексы, свалки промышленных и бытовых отходов). Здесь численность данной группы микроорганизмов, очевидно, зависит от локальных воздействий на конкретный водный объект в каждый конкретный сезон и имеет широкую амплитуду колебаний. Численность ОКБ в этой группе водотоков в различные сезоны варьирует в пределах 90-3270 КОЕ/100 мл, а ТКБ – 0-510 КОЕ/100 мл. Так, летом 2016 года численность ОКБ и ТКБ в этих водных объектах была, соответственно, на уровне 630-2160 КОЕ/100 мл и 40-430 КОЕ/100 мл, осенью 2016 года - 90-3090 КОЕ/100 мл и 0-510 КОЕ/100 мл, летом 2017 года - 410-3270 КОЕ/100 мл и 10-310 КОЕ/100 мл.

Наибольшее число ОКБ и ТКБ в малых водоемах выявлено летом 2017 года. Это может быть связано со сравнительно более высоким количеством атмосферных осадков, что, в свою очередь, привело к увеличению объема поверхностного стока в водоемы с прилегающих территорий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Рязанской области в рамках научного проекта № 16-44-620157.

## **РОЛЬ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ИНДУКЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛА В АЭРОБНЫХ КУЛЬТУРАХ *ESCHERICHIA COLI***

**Тюленев А.В.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ПФИЦ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*leksey333@yandex.ru*

В естественных местах обитания бактерии постоянно подвергаются различным стрессовым воздействиям, что может приводить к значительным изменениям физико-химических параметров бактериальных культур. Ранее было показано, что в аэробных культурах *Escherichia coli* стресс голода сопровождается резкими изменениями («скачками») окислительно-восстановительного потенциала (Eh). Блокаторы SH-групп ингибировали скачки Eh, что указывает на важную роль тиоловых соединений в этом процессе. Для некоторых стрессовых ситуаций был выявлен вклад глутатиона (GSH) в индукцию скачков Eh. Роль других тиолов остается неясной.

Объект исследования: бактерии *E. coli* BW25113 (wt) и мутантный штамм JW2663 ( $\Delta$ *gshA*), дефицитный по синтезу глутатиона. Бактерии выращивали на минимальной среде M9 с глюкозой при 37°C в колбах на орбитальном шейкере (150 об/мин). Количество глюкозы в среде было достаточным для того, чтобы остановка роста наступала в середине логарифмической фазы роста ( $OD_{600}=0,4$ ). Редокс-потенциал в культурах *E. coli* измеряли платиновым электродом. Уровни внеклеточного сульфида определяли сульфид-специфическим ион-селективным электродом. Все измерения проводились непосредственно в колбах с регистрацией параметров в реальном времени с помощью цифрового рН/ионметра (ИБП, Пушино).

Сразу после исчерпания глюкозы и остановки роста, наблюдалось быстрое снижение Eh в область отрицательных значений и резкое возрастание количества сульфид-ионов ( $S^{2-}$ ) в среде у обоих штаммов. Амплитуда изменений Eh и потенциала сульфидного электрода у мутанта, дефектного по синтезу GSH, была в два раза выше, чем у родительского штамма. Изменения обоих параметров носили двухфазный характер, на второй фазе их значения возвращались к базовым значениям, при этом длительность второй фазы у мутанта была заметно больше, чем у родительского штамма. Таким образом установлено, что остановка роста аэробных культур *E. coli* при стрессе голода, вызванного исчерпанием источника углерода и энергии, сопровождается выделением сульфида в среду, и это событие регистрируется платиновым электродом как скачок Eh. Показана также важная роль GSH в этом процессе.



Исследования поддержаны грантами РФФИ № 16-04-00762 и Президента РФ МК-3376.2018.4.

## МИКРОФЛОРА ОЖОГОВ У КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Урядова Г.Т.<sup>1</sup>, Фокина Н.А.<sup>1</sup>, Шорина Л.Н.<sup>2</sup>, Савина С.В.<sup>1</sup>, Карпунина Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

*eni\_galina@mail.ru*

Важным показателем в заживлении ожогов является течение инфекционного процесса. Известно, что основной причиной осложнений и летальных исходов при тяжелых ожогах служат инфекции - стрептококковая, стафилококковая, псевдомонадная, грибковая [1]. Целью нашей работы явилось изучение влияния экзополисахаридов (ЭПС), обладающих антимикробными свойствами, молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus* на микрофлору в процессе заживления ожогов у самок крыс.

Для проведения эксперимента крысы были поделены на 5 групп (n=6): 1 группа - интактная (без ожога), 2 группа - с ожогом, 3 группа - ожог с нанесением коммерческого препарата 5% декспантенола ("Пантодерм", АО "Акрихин", Россия) (контрольные группы), 4 группа - ожог с нанесением водного раствора ЭПС *L.lactis* В-1662, 5 группа - ожог с нанесением раствора ЭПС *S.thermophilus* (опытные группы). Для установления влияния исследуемых ЭПС на состав микрофлоры ожоговой поверхности у крыс опытных и контрольных групп были взяты смывы на 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28 сутки эксперимента.

При исследовании смывов с поверхности ожоговых ран общая обсемененность (КМАФАнМ) на протяжении всего эксперимента у опытных групп была в несколько раз меньше по сравнению с контрольными. На 21 сутки количество микроорганизмов снизилось и достигло показателей 3 суток во всех группах, при этом КМАФАнМ контрольной группы с ожогом ниже, чем в контрольной группе, где для заживления ожога применяли декспантенол. На 28 сутки число микроорганизмов в опытных группах сопоставимо с группой интактных животных. Также ни в одной из опытных групп не наблюдали нагноения, что, как мы предполагаем, связано с бактерицидным действием ЭПС [2]. При высеве на дифференциально-диагностические среды было отмечено на протяжении всего эксперимента снижение числа *E.coli*, бактерий группы кишечной палочки рода *Klebsiella*, *S.aureus*, которые присутствуют в нормальной микрофлоре кожи.

Таким образом, растворы исследуемых ЭПС способствовали заживлению ожогов у крыс и при этом глубокого инфицирования не наблюдалось, о чем свидетельствовало отсутствие гноя. Обнаруженная способность полисахаридов оказывать положительное влияние на заживление ожоговых ран может найти применение в ветеринарии.

### Список литературы

1. Михин И.В., Кухтенко Ю.В. Ожоги и отморожения // Волгоград. Изд-во ВолгГМУ. - 2012. - 87 с.
2. Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В. Изучение антимикробных свойств экзополисахаридов молочнокислых бактерий // Современные проблемы науки и образования. - 2017. - №2.



## ПРОДУКЦИЯ СЕРОВОДОРОДА БАКТЕРИЯМИ *ESCHERICHIA COLI* ПРИ СТРЕССАХ

Ушаков В.Ю.<sup>1,2</sup>, Смирнова Г.В.<sup>2</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; <sup>2</sup>ПФИЦ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*ushakovvad@yandex.ru*

Проведено измерение продукции сероводорода (H<sub>2</sub>S) в аэробно растущих культурах бактерий *Escherichia coli*, в условиях окислительного стресса, индуцированного перекисью водорода; а так же при обработке клеток валином и рядом антибиотиков (ципрофлоксацин, хлорамфеникол, тетрациклин, стрептомицин, ампициллин, канамицин). В качестве объекта исследований использовали бактерии *E. coli* BW25113 родительского типа и делеционные мутанты по генам, кодирующим первый фермент синтеза глутатиона JW2663 (*gshA*), периплазматическую супероксиддисмутазу JW1638 (*sodC*), каталазу HPI JW3914 (*katG*), белок-регулятор SoxS JW4023(*soxS*), цитохром JW2343 (*cydD*), белок-регулятор OxyR JW3933 (*oxyR*), белок RelA JW2755 (*relA*), мутант NM4861 (*relAgshA*). Исследуемые штаммы получены из *E. coli* Genetic Stock Center (CGSC), за исключением NM4861 (*relAgshA*), который был сконструирован в Лаборатории генетики и физиологии микроорганизмов ПФИЦ УрО РАН. Измерение продукции сероводорода определяли методикой, описанной у Shatalin et al., 2011. Продукция штаммами *E. coli* сероводорода при нормальном росте на среде M9 с добавлением казаминовых кислот зависела от характера мутации: минимальный уровень был обнаружен у мутантов *cydD*, *soxS*, *katG* и *sodC*, максимальный - у бактерий, лишенных глутатиона и белка-регулятора OxyR. Выделение сероводорода отсутствовало у тех же мутантов, при росте на среде M9 без казаминовых кислот. Нами было показано достоверное увеличение уровня H<sub>2</sub>S у бактерий *E. coli* родительского типа и мутантов по синтезу глутатиона, при остановке роста, вызванной истощением глюкозы в среде культивирования. Повышение продукции сероводорода наблюдалось при обработке клеток *gshA*, *relA*, *relAgshA* валином (0.5 мг/мл), но отсутствовало у бактерий wt. Обработка бактерий *gshA*, *relA*, *relAgshA* хлорамфениколом, тетрациклином и ципрофлоксацином приводила к повышению продукции H<sub>2</sub>S, чего не наблюдалось у бактерий wt. Добавление к растущим культурам стрептомицина, канамицина и ампициллина не вызывало выхода H<sub>2</sub>S у всех исследуемых штаммов бактерий. Продукция сероводорода отсутствовала при обработке исследуемых штаммов H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1мМ). Исследование выполнено при поддержке грантами Президента МК-3376.2018.4 и РФФИ №16-04-00762.

## АНАЛИЗ ШТАММОВ ТРЕХ ВИДОВ АСКОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ РЕАКЦИЕЙ НА МИКОЦИНЫ *WICKERHAMOMYCES ANOMALUS* ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Фарофонова В.В.<sup>1,2</sup>, Присяжная Н.В.<sup>2</sup>, Стародумова И.П.<sup>2</sup>, Томашевская М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*CrazyTide@yandex.ru*

Вид *Wickerhamomyces anomalus* характеризуется чрезвычайно широким географическим распространением и встречается в самых разных экосистемах. Представители вида способны синтезировать полиолы и фитазы, встречаются в составе пищевых заквасок, а также образуют специфические белковые молекулы – микоцины (киллер-токсины). Микоцины оказывают фунгицидное или фунгистатическое действие, как правило, на ближайших родственников (уровень вида или рода), реже – в пределах более крупных таксонов. Нами проведено исследование культур аскомицетных дрожжей на чувствительность к микоцинам вида *W. anomalus*. В первую очередь тестировали типовые штаммы типовых видов различных родов, а затем – в случае положительного результата – штаммы других видов соответствующего рода. Для исследования были отобраны 6 микоциногенных штаммов *W. anomalus* (ВКМ Y-1086<sup>T</sup>, ВКМ Y-153, ВКМ Y-154, ВКМ Y-155, ВКМ Y-170 и ВКМ Y-177), видовая принадлежность которых ранее уже была подтверждена нами посредством анализа нуклеотидных



последовательностей регионов ITS1-5.8S-ITS2 и D1/D2 LSU ( ~600 п.н. и ~580 п.н., соответственно).

Среди прочих результатов, нами было обнаружено, что в парах штаммов видов *Diutina rugosa* (ВКМ Y-67<sup>T</sup>, ВКМ Y-1511), *Diutina catenulata* (ВКМ Y-5, ВКМ Y-65) и *Lachancea thermotolerans* (ВКМ Y-894<sup>T</sup>, ВКМ Y-533) один штамм является чувствительным, а другой резистентен к использованным микоциногенным культурам. Данные штаммы были изучены методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с целью проверки принадлежности к одному виду. Этот метод позволяет идентифицировать бактерии и ряд групп дрожжей на видовом уровне. Для определения уровня значений сходства MALDI масс-спектров представителей разных видов, в исследование были включены доступные типовые штаммы других видов тех же родов.

Результаты анализа показали, что штаммы *D. catenulata* (Y-36<sup>T</sup>, ВКМ Y-5, ВКМ Y-65) образуют тесный кластер на дендрограмме MALDI масс-спектров. Нетиповые штаммы видов *L. thermotolerans* (ВКМ Y-533) и *D. rugosa* (ВКМ Y-1511) разительно отличаются по спектрам от типовых штаммов соответствующих видов и, скорее всего, являются представителями других таксонов. Эти и другие результаты работы и предположения требуют дальнейшего подтверждения молекулярно-генетическими методами. В работе также продемонстрировано, что среда культивирования, условия аэрации, pH и солёности, а также возраст культур, не оказывают существенного влияния на топологию дендрограмм изученных штаммов, построенных на основе MALDI масс-спектров.

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ОЖОГОВ У КРЫС

Фокина Н.А.<sup>1</sup>, Урядова Г.Т.<sup>1</sup>, Шорина Л.Н.<sup>2</sup>, Карпунина Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

*fockina.nadejda@yandex.ru*

Использование экзополисахаридов молочнокислых бактерий в лечении ожогов не встречается, но представляет большой научный интерес. Потому изыскание экологически чистых, максимально природных веществ и препаратов на их основе для лечения ожогов является актуальным в науке [1].

Целью работы явилось изучение влияния экзополисахаридов (ЭПС) молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* и *Streptococcus thermophilus* на процесс заживления ожогов у крыс.

В работе использовали ЭПС, выделенные нами ранее [2,3] из культур: *L. lactis* В-1662, полученной из Всероссийской коллекции микроорганизмов (г.Пушино) и *S. thermophilus*, полученной из ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (г.Москва), а также коммерческий препарат- декспантенол в форме крема " Пантодерм" (АО "Акрихин", Россия).

Исследование проводили в условиях вивария на белых беспородных крысах-самках, поделенных на группы. Ожог степени IIIa моделировали под эфирным наркозом на межлопаточном пространстве у крыс [4]. Нанесение декспантенола и растворов ЭПС проводили сразу же после моделирования ожога, а также ежедневно в течение всего эксперимента. Измерение площади ожога и ее зарастания проводили на 1,3,5,7,10,14,21 сутки.

Обнаружено, что растворы ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus* способствуют заживлению ожогов степени IIIa у крыс. Также был полностью восстановлен кожно-волосистой покров. Наилучший результат в заживлении выявлен для раствора ЭПС *S. thermophilus*.

1. Гринь И.В., Миронченко С.И., Гринь В.В. Влияние мази тиотриазолина с наночастицами серебра на заживление термического ожога у крыс // Международный студенческий научный вестник. - 2014.- №2.

2. Урядова Г.Т., Тяпкин А.Ю., Фокина Н.А., Карпунина Л.В. Выделение экзополисахарида *Streptococcus thermophilus* // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: материалы Всероссийской научно-практической конференции. - Саратов, 2015.- С. 109-113.



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.

4. Пономарь Н.С. Влияние препарата ионизированного серебра на репаративную регенерацию кожи и подлежащих тканей при моделировании термических и химических ожогов у крыс./ Н.С. Пономарь //Биомедицина. - 2012. - №1. - С. 143-148.

### **АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА *THYMUS CAPITATUS* В ОТНОШЕНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

**Хассан Г. О. О.<sup>1</sup>, Шарифуллина Э.С.<sup>1</sup>, Ягудина И.Р.<sup>1</sup>, Хабибрахманова В.Р.<sup>2</sup>, Карамова Н.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

*gamal\_micro84@yahoo.com*

Инфекции дыхательных путей (ИДП) представляют собой наиболее распространенные и частые острые инфекционные заболевания у человека. В настоящее время считается, что условно-патогенная микрофлора играет важную роль в развитии респираторных заболеваний. Проблема осложняется все более возрастающей устойчивостью микроорганизмов к применяемым в настоящее время антибиотикам. В связи с этим, представляется актуальным поиск новых антимикробных средств природного происхождения.

Лекарственные растения являются источником разнообразных биологически активных, в том числе и антимикробных веществ. Объектом нашего исследования было выбрано растение *Thymus capitatus*, которое издавна применяется в народной медицине многих стран. Наземные части растений *Thymus capitatus* были собраны на западном побережье Средиземного моря (г. Мерса-Матрух, Египет) в 2014 г. Показано, что этанольный экстракт *Thymus capitatus* вызывает ингибирование роста большинства тестированных микроорганизмов, например, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Candida tropicalis*. Исключение составили *Staphylococcus epidermidis* и *Enterococcus faecalis*. Оценка антимикробного действия отдельных фракций экстракта позволила установить, что наиболее активными являются гексановая и хлороформная фракции. Гексановая фракция вызывала значительное подавление роста исследованных микроорганизмов. Например, для *Staphylococcus aureus* диаметр зоны ингибирования роста составил 27,75 мм, для *Candida tropicalis* - 25,0 мм, *Acinetobacter baumannii* 15,5 мм. В отношении *Staphylococcus epidermidis* и *Enterococcus faecalis* более активной была хлороформная фракция. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований, направленных на всесторонний анализ антимикробного потенциала *Thymus capitatus*.

### **БАКТЕРИИ *PARACOCCLUS YEEI* КАК ОСНОВА МЕДИАТОРНОГО БПК-БИОСЕНСОРА**

**Харькова А.С.<sup>1</sup>, Автух А.Н.<sup>2</sup>, Арляпов В.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*anyuta\_zaytseva@mail.ru*

В последнее время при разработке БПК-биосенсоров активно используют природные штаммы микроорганизмов, выделенные из сточной воды или активного ила. При этом существенным недостатком таких работ является то, что нижняя граница определяемых концентраций разработанных моделей биосенсоров достаточно высока и не позволяет анализировать природные воды, в которых БПК<sub>5</sub> обычно не превышает 2–4 мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>. В данной работе исследовали возможность использования выделенных из активного ила очистных сооружений АО «ТулаГорВодоканала» штаммов бактерий как основы медиаторного амперометрического БПК-биосенсора (модельный медиатор – ферроцен, рабочий потенциал 250 мВ).

Выделение отдельных колоний микроорганизмов проводили по методу Р. Коха. Для создания биорецепторного элемента БПК-биосенсора использовали три бактериальных штамма, которые содержались в активном иле в наибольшем количестве: SPB1, SPB2, SPB3.



Идентификацию осуществляли путем выделения ДНК по методу Уилсона. Амплификация фрагментов генов 16S рНК проводилась с помощью универсальных бактериальных праймеров 27f (5'-AGAGTTTGGATCCTGGCTCAG-3') и 1525r (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3'), нуклеотидная последовательность определялась, используя секвенатор 3730 DNA Analyzer ("Applied Biosystems", США). Анализ генов 16S рНК показал, что штаммы SPB1, SPB2 и SPB3 на 99.79 - 100% близки к видам *Paracoccus yeei* ВАА-599Т, *Pseudomonas veronii* DSM 11331Т, *Bacillus proteolyticus* TD42Т, соответственно.

Установили, что лучшими характеристиками (долговременная стабильность 22 сутки и нижняя граница определяемых концентраций 1,3 мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>) обладает биорецепторный элемент на основе штамма *P. yeei* ВАА-599Т. Анализ проб сточной воды и рек Тульской области показал, что использование ферроцена и клеток штамма *P. yeei* ВАА-599Т позволяет получать данные, имеющие высокую корреляцию ( $R = 0,9934$ ) с результатами стандартного метода.

Полученные нуклеотидные последовательности генов 16S рНК депонированы в международные базы данных DDBJ/ENA/GenBank под номерами MG280783 (*Paracoccus yeei* SPB1), MG280784 (*Pseudomonas veronii* SPB2) и MG280785 (*Bacillus proteolyticus* SPB3).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-74-10078)

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕДИАТОРОВ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА ДЛЯ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ *DEBARYAMYCES HANSENI***

**Харькова А.С.<sup>1</sup>, Туровская А.Д.<sup>1</sup>, Чекмазова Д.С.<sup>1</sup>, Арляпов В.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*anyuta\_zaytseva@mail.ru.*

Медиаторный электронный транспорт широко используется в биоэлектрохимии для разработки биосенсоров, а также биотопливных элементов. Преимущество использования медиаторных биосенсоров заключается в том, что получаемый аналитический сигнал не зависит от парциального давления кислорода в среде. В данной работе исследовали эффективность медиаторов электронного транспорта как акцепторов электронов от дрожжевых клеток *D. hansenii*. Данные эукариоты характеризуются широким спектром окисляемых субстратов и стабильностью ферментативных систем в стрессовых условиях, что делает данные микроорганизмы перспективными биокатализаторами в биотехнологии.

Измерения выполняли с использованием гальванопотенциостата «РС-micro» (ООО «НТФ Вольта», Россия). В качестве медиаторов были использованы такие соединения как: ферроцен, нейтральный красный, метиленовый синий, тионин, 2,6-дихлорфенолиндофенол, гексацианоферрат (III) калия. Для оценки эффективности медиаторов электронного транспорта, процесс формирования ответа биосенсора в результате окисления клетками дрожжей определяемых веществ в пробе рассматривали в рамках модели двухсубстратной ферментативной реакции, протекающая по механизму «пинг-понг»

Путем обработки полученных экспериментально зависимостей генерируемого тока I при варьировании концентрации глюкозы в условиях избытка медиатора и концентрации медиатора в условиях избытка глюкозы были вычислены значения KS и KM. Из всех исследуемых медиаторов электронного транспорта зарегистрировать окисление глюкозы удалось только в присутствии медиаторов ферроцена и нейтрального красного. Оценку эффективности двух медиаторов, способных взаимодействовать с дрожжами *D. hansenii* проводили по величине отношения  $I_{max}/KM$ . Ферроцен как медиатор обладал более высоким значением данного параметра ( $I_{max}/KM = 0,011$  мКА/мкМ), а следовательно биосенсор на его основе способен генерировать больший аналитический сигнал при использовании меньших количеств медиатора.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ и Правительства Тульской области № 16-48-710959 p\_a (договор ДС/44).



## ДЫХАТЕЛЬНЫЕ РЕДУКТАЗЫ *ANAEROMYXOBACTER DEHALOGENANS* 2CP-1

Хохлова Г.В.<sup>1</sup>, Бирюкова Е.Н.<sup>1</sup>, Ашин В.В.<sup>1</sup>, Архипова О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия

*galka889@gmail.com*

Типовой штамм *Anaeromyxobacter dehalogenans* 2CP-1 (класс *Deltaproteobacteria*) был выделен в чистую культуру на рубеже тысячелетий (описан в 2002 г). Он способен к анаэробному дыханию путем сочетания окисления ацетата и восстановления fumarата. В известном геноме *A. dehalogenans* нами были ранее обнаружены ближайшие гомологи метакрилатной редокс системы *Geobacter sulfurreducens* AM-1 (класс *Deltaproteobacteria*). Периплазматическая метакрилатная редокс система у *G. sulfurreducens* катализирует восстановление метакрилата, используя его как терминальный акцептор дыхательной цепи. Метакрилатная редокс система восстанавливает также акрилат. Этот ферментный комплекс состоит из двух хромопротеидов: флавиносодержащей метакрилатредуктазы Mrd (50 кДа) и цитохрома *c* Mcc (30 кДа). Присутствие в геноме *A. dehalogenans* гомологов генов, кодирующих белки Mrd и Mcc позволяет предполагать у этого организма метакрилатредуктазную и акрилатредуктазную активности. К началу исследований экспериментальных подтверждений наличия метакрилатного типа дыхания у каких-либо таксонов, кроме *G. sulfurreducens* AM-1, не было. Целью работы было исследование активностей терминальных дыхательных редуктаз у анаэробной бактерии *A. dehalogenans* 2CP-1 - обладателя генов, кодирующих гомологи Mrd и Mcc, включая обнаружение и определение внутриклеточной локализации активностей терминальных дыхательных редуктаз, восстанавливающих метакрилат, акрилат, fumarат и нитрат у *A. dehalogenans*.

Активности терминальных редуктаз электронтранспортных цепей у *A. dehalogenans* были измерены в суспензиях целых клеток в двух вариантах: в присутствии пермеабилizующего внутренние мембраны детергента ЦТАБ и без него. Для клеток *A. dehalogenans* были показаны процессы восстановления fumarата и метакрилата, при этом добавление ЦТАБ снижало скорость восстановления этих субстратов. Исследование внутриклеточной локализации процессов восстановления fumarата и метакрилата у *A. dehalogenans* с помощью разделения периплазматической и внутриклеточной фракций подтвердило наличие метакрилат- и fumarатвосстанавливающих активностей в периплазме.

Таким образом, *A. dehalogenans* способен восстанавливать метакрилат и fumarат, причём локализованы эти процессы в периплазме. Акрилатредуктазная активность у *A. dehalogenans* используемыми методами обнаружена не была.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01068 «Анаэробная ферментная система, восстанавливающая метакрилат».

## ОПТИМИЗАЦИЯ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФИТАЗЫ В ДРОЖЖАХ *PICHA PASTORIS*

Хузина Р. Р.<sup>1</sup>, Валеева Л. Р.<sup>1</sup>, Трошагина Д. С.<sup>1</sup>, Шарипова М. Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*khuzinaroza@yandex.ru*

Изменения в минеральном питании серьезно сказываются на функционировании всех живых организмов, что ведет к угнетению их роста и развития. Наиболее распространенной формой дефицита минерального питания является недостаток фосфора. Большая часть природных соединений фосфора в почве и в кормах растительного происхождения представлена его органическими формами, труднодоступными для усвоения животными, среди которых основную долю составляет фитат (*мио*-инозитол гексакисфосфат). Однако, многие микроорганизмы способны усваивать фосфор из молекул фитата за счет экспрессии специфических ферментов – фитаз. В связи с этим, перспективным направлением повышения усвоения фосфора является обработка фитат-содержащего сырья микробными фитазами, высвобождающими фосфаты. Однако, получение фитаз из природных штаммов бактерий не эффективно из-за низкого уровня экспрессии и сложности очистки фермента. Таким образом, актуальным является разработка новых систем гетерологичной экспрессии бактериальных фитаз. Наиболее перспективна



экспрессия бактериальных фитаз в рекомбинантных штаммах дрожжей в связи с простотой их культивирования и очистки продукта. Важным этапом гетерологичной экспрессии является оптимизация условий культивирования, позволяющая достичь наибольшего выхода продукта с высокой активностью.

Таким образом, целью работы был подбор оптимальных условий экспрессии фитазы бактерии *Pantoea* sp. в дрожжах *Pichia pastoris*.

Ранее нами были получены рекомбинантные штаммы дрожжей *P. pastoris*, секретирующие гистициновую кислотную фитазу AgpP бактерии *Pantoea* sp. 3.5.1. Мы провели оптимизацию условий культивирования рекомбинантных штаммов по следующим параметрам: pH-оптимум среды, а также концентрация индуктора в среде. Показано, что наибольшие активность и выход белка соответствуют pH среды 4.5 и концентрации индуктора экспрессии (метанола) 0.5%. Таким образом, мы оптимизировали основные параметры условий культивирования рекомбинантных штаммов дрожжей для достижения наибольшего выхода бактериальной фитазы AgpP. В дальнейшем мы предполагаем подобрать оптимальный состав питательных сред для повышения эффективности экспрессии фитазы. Полученные данные позволят в дальнейшем провести масштабирование процесса экспрессии для получения фитазы количествах в условиях биореактора.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ № 16-16-04062.

### **ANCYLOBACTER PLANTIPHILUS SP. NOV-НОВЫЙ МЕТИЛОТРОФНЫЙ ФИТОСИМБИОНТ**

**Чемодурова А.А.<sup>1,2</sup>, Агафонова Н.В.<sup>2</sup>, Доронина Н.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*chemodurova.alina@mail.ru*

Метанол и другие C<sub>1</sub>-соединения являются естественными продуктами метаболизма растений и служат источниками углерода и энергии для метилотрофных бактерий. Метилотрофы постоянно ассоциированы с растениями, реализуют различные механизмы влияния на их рост и перспективны для применения в новых сельскохозяйственных биотехнологиях экологически чистого земледелия.

Цель работы - физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика нового аэробного метилотрофа-штамма Dau2<sup>T</sup>, выделенного ранее из ризосферы моркови дикой (*Daucus carota* L.) на среде с метанолом.

Штамм Dau2<sup>T</sup> - грамотрицательный факультативный метилотроф, реализующий рибулозобисфосфатный путь C<sub>1</sub>-метаболизма. Нейтрофил, мезофил, негалофил, синтезирует фитогормоны-ауксины (8,1 мкг/мл) и сидерофоры, солюбилизирует нерастворимые фосфаты-Ca<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, стимулирует рост колонизированных им растений и перспективен в качестве препарата-стимулятора роста растений.

Секвенирование генов 16S рРНК и большой субъединицы метанолдегидрогеназы *mxhF* выявило высокий уровень сходства штамма Dau2<sup>T</sup> с *Ancylobacter defluvii* SK 15<sup>T</sup> (VKM В-2789<sup>T</sup>)-98,8% и 95,5%, соответственно. Методами полифазной таксономии фитосимбионт штамм Dau2<sup>T</sup> идентифицирован как новый вид *Ancylobacter plantiphilus* sp.nov. (VKM В-3227<sup>T</sup>).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-00381\_а.





## АНАЛИЗ ДЕТЕРМИНАНТ БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS* 5AP, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И СПОСОБНОСТЬ УТИЛИЗИРОВАТЬ УГЛЕВОДОРОДЫ

Чернявская М.И.<sup>1</sup>, Букляревич А.А.<sup>1</sup>, Охремчук А.Э.<sup>1</sup>, Валентович Л.Н.<sup>2</sup>, Делеган Я.А.<sup>3</sup>, Филонов А.Е.<sup>3</sup>, Титок М.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; <sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

*charnymi@bsu.by*

Углеводороды и ионы тяжелых металлов являются опасными поллютантами. Для очистки территорий от этих соединений перспективным является использование бактерий рода *Rhodococcus*, содержащих большое число генетических детерминант, определяющих способность деградировать широкий спектр органических и неорганических субстратов. Для оценки деградативного потенциала микроорганизмов наиболее информативным является анализ результатов полногеномного секвенирования с последующим функциональным анализом отдельных генетических детерминант.

Способность бактерий утилизировать различные субстраты определяли при росте на минеральной среде, устойчивость к ионам тяжелых металлов - на полноценной агаризованной среде с добавлением солей металлов.

Общая протяженность секвенированного генома бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap составила 5881652 п.н. ([bio.bsu.by/microbio/rhodococcus\\_genome.html](http://bio.bsu.by/microbio/rhodococcus_genome.html)); была идентифицирована 5801 открытая рамка считывания. С использованием программы для аннотирования RASTtk в хромосоме выявлены 5053 хромосомные детерминанты, способные определять синтез полипептидов, 53 гена тРНК и 12 – рРНК (4 кластера, кодирующие 5S, 16S, 23S рРНК). Также в хромосоме обнаружены 4 профага, не встречающихся в геномах других представителей рода *Rhodococcus*, и большое количество мобильных генетических элементов. Бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap способны утилизировать нефть, дизельное топливо, керосин; гексан, нонан, гептаметинонан, гексадекан; этилбензол, толуол, о-, м-, п-ксилолы, бензол; нафталин, фенантрен, антрацен, пирен, бифенил, флюорен; фенол, пиридин. В геноме бактерий выявлены гены, определяющие способность деградировать данные соединения, и ряд генетических локусов, детерминирующих деградацию эфиров фталевой кислоты, дибензофурана; хлорированных производных циклогексана, бензола и фенола; бензоата, бисфенола, флюоробензоата; дихлордифенилтрихлорметилметана (ДДТ) и его более токсичного производного 1,1'-дихлор-2,2-бис(п-хлорфенил)этилена (ДДЭ). Исследуемые бактерии способны расти в присутствии ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  в концентрации до 2 ммоль/л,  $\text{Co}^{2+}$  - до 1 ммоль/л,  $\text{Ni}^{2+}$  - более 2 ммоль/л,  $\text{Fe}^{2+}$  - до 5 ммоль/л. Гены, детерминирующие утилизацию различных органических ксенобиотиков и устойчивость к ионам тяжелых металлов, имеют хромосомную и внехромосомную локализацию.

Полученные результаты могут служить основой для направленного функционального анализа и использования бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap при создании экологически безопасных технологий очистки окружающей среды от опасных поллютантов.

## АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ РОСТА КЛОСТРИДИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ У ПАЦИЕНТОВ С АНТИБИОТИКОАССОЦИИРОВАННОЙ ДИАРЕЕЙ

Чистякова Д.А.<sup>1,2</sup>, Сухина М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Государственный научный центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих Минздрава России, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

*mushka1994@list.ru*

Антибактериальные препараты нарушают микробиоценоз толстой кишки, провоцируя развитие антибиотикоассоциированной диареи. *C.difficile*-ассоциированная инфекция является актуальной проблемой в медицине, которой уделяется пристальное внимание ученых и профильных врачей. Известно, что лактобактерии, продуцируя бактериоцины, обладают



антагонистической активностью по отношению к большому числу микроорганизмов. Поэтому является актуальным поиск штаммов лактобактерий для создания новых эффективных антибактериальных препаратов в отношении *C.difficile*(CD).

Целью исследования явилось изучение и оценка степени выраженности антагонистического влияния лактобактерий на рост *C.difficile*.

Материалы и методы исследования. Работа проведена на базе ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» с использованием культур, выделенных из клинического материала пациентов. В качестве материала для исследования были использованы штаммы лактобактерий из кишечного биотопа (19). *Lactobacillus plantarum* 38, («лактобактерин сухой» ФГУП «НПО «Микроген» г. Нижний Новгород) был использован в качестве эталонного антагониста; И штаммы CD (31 шт) изолированные от пациентов с CDI. Штаммы идентифицированы до вида. Для поиска штаммов, синтезирующих бактериоцины, применяли авторскую методику двухэтапного культивирования микроорганизма-антагониста и тестируемой культуры в условиях комбинированной системы (Сухина М.А., 2012). Результат оценивали по зоне задержки роста стафилококка: от 25мм до  $\geq 40$ мм - высокая; 25мм-15мм -средняя; 5мм-15мм -низкая антагонистическая активность; и  $\leq 5$ мм антагонизм отсутствует.

Результаты исследования. При исследовании антагонистической активности лактобактерий по отношению к представителям собственной кишечной микрофлоры, были выделены культуры с высокой (26,3%) и средней (57,9%) антагонистической активностью, а также с ее отсутствием (31,6%). Антагонистически неактивные лактобактерии были не способны подавлять рост CD, в отличие от высокоактивных штаммов. Способность лактобактерий подавлять рост CD была высокой у *Lactobacillus plantarum* 38 лактобактерии изолированные из кишечника в 16,1% не обладали антагонизмом по отношению к CD. Так же как и контрольный штамм LP-K 3 штамма лактобацилл демонстрировали высокий уровень антагонистической активности (71%) в отношении *C.difficile*.

Выводы. На современном этапе создание новых антибактериальных препаратов не приводит к продолжительным успехам в борьбе с CD. В связи с этим, представляется актуальным использование способности лактобактерий к антагонизму.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЛАКТОНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ РОДА *BACILLUS*

Чугунова М. С.<sup>1</sup>, Каримов И. Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФНЦ Биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

maria19-93@mail.ru

Для отдельных групп бактерий характерна коллективная регуляция транскрипции, опосредованная сигнальными молекулами, важную роль среди которых у грамотрицательных бактерий играют производные N-ацил-гомосерин лактона (АГЛ). Эволюция видов привела к формированию у ряда бактерий механизмов инактивации кворум-систем, одним из примеров реализации которых являются лактоназы – группа ферментов, осуществляющих деградацию АГЛ путем разрушения лактонного кольца. Впервые данный фермент был выделен из культуры микроорганизмов рода *Bacillus* и впоследствии идентифицирован кодирующий его ген *aiiA*. Позже подобные гены были найдены во многих подвидах *Bacillus thuringiensis* и тесно связанных с ними видов микроорганизмов рода *Bacillus*, в том числе *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*. Для некоторых других бактериальных штаммов характерны гомологичные лактоназы, например, для *Agrobacterium tumefaciens*, кодируемый геном *aiiB*. Целью работы стало изучение лактоназной активности у пробиотических штаммов *Bacillus sp.*

Были использованы медицинские и ветеринарные пробиотические препараты, содержащие различные штаммы *Bacillus sp.*, из которых были получены культуры клеток, впоследствии выращенные в LB-бульоне (Sigma, США) в течение 24 часов при 37 °С. Для проведения лактоназной активности С6-АГЛ и С6-охо-АГЛ в диапазоне концентраций от 2,510-6 до 9,7310-9 М смешивали с клеточными биомассами исследуемых культур *Bacillus* и инкубировали в течение 120 минут. Для анализа остаточной активности аутоиндукторов в пробы вносили суточную культуру *Chromobacterium violaceum* 026 с последующей инкубацией при 27±1°С в течение 24 часов или *E.coli* JDL274 pAL103 при 37 °С в течение 120 минут. Об активности лактоназы судили по степени подавления пигментации *C. violaceum* 026 или снижения интенсивности свечения



*E.coli* JDL274 pAL103 опытных проб по сравнению с контрольными. Установлено, что наибольшую лактоназную активность проявил *Bacillus cereus*, осуществляющий значительную деградацию молекул аутоиндуктора, что ведет к значительному снижению пигментообразования *S. violaceum* 026 и свечения *E.coli* JDL274 pAL103. С другой стороны, наименьшую активность проявили штаммы *B. licheniformis* и *B. clausii*, для которых зарегистрировано отсутствие инактивирующей способности в отношении молекул АГЛ. Полученные данные определяют задачу более глубокого изучения механизмов действия пробиотических препаратов, а также определяют перспективу создания на данной основе фармакологических препаратов нового принципа действия.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №16-16-10048)

## РОЛЬ ЛЕКТИН-УГЛЕВОДНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В СТАНОВЛЕНИИ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ *PARAMECIUM CAUDATUM* — *HOLOSPORA UNDULATA*

Шайдуллина А.И.<sup>1</sup>, Сабанеева Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*aisyly.shaidullina1906@gmail.com*

Симбиотические отношения часто встречаются в живой природе. Симбиоз — сожительство разноименных организмов — характерен и для инфузорий *Paramecium caudatum*. Подобная предрасположенность обусловлена тем, что инфузории, питаясь бактериями, подвергаются высокому риску инфекции: некоторые микроорганизмы способны покидать пищеварительную вакуоль до начала процессов переваривания и занимать определенную нишу внутри инфузории. Несмотря на то, что модельная симбиотическая система *P. caudatum* — *Holospira undulata* считается наиболее изученной, вопросы о механизме становления симбиоза и взаимном влиянии его участников остаются открытыми.

Бактерии рода *Holospira* демонстрируют диморфный клеточный цикл, в котором вегетативные формы бактерии размножаются внутри ядра и дают начало инфекционным формам (ИФ), которые покидают хозяина и инфицируют новые клетки. До сих пор не ясно, существует ли какая-то специфичность фагоцитирования со стороны инфузории, а если подобное явление существует, то какие структуры на поверхности ИФ *H. undulata* должны узнаваться.

Нами была высказана гипотеза, что в распознавании партнеров участвуют углеводные остатки на концах поверхностных рецепторов инфузорий и лектины на поверхности ИФ.

Целью нашего исследования является поиск определенных углеводных остатков гликокаликса инфузорий, участвующих в распознавании ИФ. Нами показано, что лектин WGA, специфически связывающийся с концевыми остатками N-ацетилглюкозамина, блокирует фагоцитоз у инфузорий. Обработка инфузорий лектином WGA, конъюгированным с флуоресцентной меткой, выявила локализацию рецепторов, несущих концевые N-ацетилглюкозамины, на поверхности клеток. Наиболее интенсивный сигнал наблюдался в районе ротовой впадины и на полюсах клеток. Обработка N-ацетилглюкозаминидазой приводила к задержке образования пищеварительных вакуолей и резко снижала интенсивность заражения бактериями *H. undulata*. Помимо ферментов и лектина для конкурентного ингибирования фагоцитоза также были использованы моносахара.

Полученные данные позволяют предположить, что в первичный контакт с бактериями вступают рецепторы, несущие концевые N-ацетилглюкозамины. Проводится анализ влияния других ферментативных обработок на способность инфузорий захватывать ИФ *H. undulata*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-06410 и 18-04-00562) с использованием оборудования Ресурсных Центров «Микроскопия и микроанализ» и «Культивирование микроорганизмов».



## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОФЛОРЫ ШЛАМОХРАНИЛИЩА ОАО «СОДА» Г. БЕРЕЗНИКИ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Шилова А. В.<sup>1</sup>, Максимов А. Ю.<sup>1</sup>, Максимова Ю. Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ПФИЦ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

*Anechka\_Shilova@mail.ru*

Содовые озера – уникальные водные экосистемы, характеризующиеся высокой концентрацией солей и щелочными значениями рН. Исследование разнообразия микробных сообществ представляет значительный интерес для понимания функционирования содовых озер как экосистем отдельного типа. Однако микроценозы щелочных биотопов антропогенного происхождения мало исследованы, хотя в данном случае интерес представляет микробное сообщество в плане вторичной адаптации к защелачиванию и высокой концентрации солей.

Цель работы – изучение биоразнообразия микрофлоры шламохранилища (ШХ) предприятия ОАО «Сода» г. Березники, а также осушенных территорий старого содового озера (ССО), на которых началось восстановление растительного покрова. Определен элементный состав образцов. Показано, что в образцах ШХ содержание Na и двухвалентных металлов было значительно меньше, чем в почвенном покрове осушенной территории ССО. Так, содержание Mg отличалось более чем в 10 раз. Бактериологическим методом проведен учет микроорганизмов на различных средах, выделены чистые культуры с различной гидролитической активностью. В образцах ССО наблюдалось высокое количество микроорганизмов, обладающих амилолитической, целлюлолитической и протеолитической активностью, максимальное на глубине около 5 см (до  $5,1 \times 10^9$  КОЕ/г). Установлено, что количество микроорганизмов в образцах из ШХ (рН 8-11) на 4-5 порядков меньше по сравнению с территорией ССО (рН 8-8,5). В осадке ШХ (рН 11) обнаружено незначительное количество микроорганизмов, утилизирующих крахмал, целлюлозу и пептон,  $2-4,4 \times 10^4$  КОЕ/г. Однако в образцах ризосферы растений (рН 8) прибрежной зоны количество микроорганизмов, утилизирующих полисахариды и пептон, повышалось до  $8,4 \times 10^8$  КОЕ/г, что связано как с выделением биополимеров корнями растений, так и с менее экстремальными значениями рН. Также наблюдалось высокое количество бактерий, обладающих липолитической активностью (до  $5,7 \times 10^9$  КОЕ/г). Это, вероятно, обусловлено применением поверхностно-активных веществ в технологии содового производства и их присутствием в сточных водах ОАО «Сода». Таким образом, функциональное разнообразие микроорганизмов в исследуемых техногенных микроценозах соответствует сформировавшемуся распределению органических субстратов.

## ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ФОСФОНУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Шкаликова М.В.<sup>1</sup>, Зубаиров М.М.<sup>1</sup>, Малоголовкин А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФИЦ Вирусологии и микробиологии, п. Вольгинский, Россия

*masha67111@mail.ru*

Одной из наиболее актуальных проблем, стоящих перед сельским хозяйством Российской Федерации, является напряженная эпизоотическая ситуация по африканской чуме свиней (АЧС). Более 800 000 свиней подверглись уничтожению в результате возникновения болезни в свиноводческих хозяйствах. Вирус АЧС – единственный ДНК – арбовирус семейства *Asfarviridae*. Эффективных методов лечения этой особо опасной болезни не существует. Это связано с особенностями жизненного цикла вируса и его взаимодействием с иммунной системой хозяина.

Применение химиотерапевтических препаратов находит широкое применение в борьбе с инфекциями сельскохозяйственных животных. Фосфорилированные карбоновые кислоты обладают ярко выраженными вирусстатическими свойствами в отношении ДНК - содержащих вирусов (Huang, E. et al., 1976). Одним из перспективных препаратов против вируса АЧС является фосфонуксусная кислота (ФУК).

Целью работы являлось определение противовирусной активности ФУК и ее производных (УФК-С, УФК-НТ) в отношении вируса АЧС в условиях *in vitro*.

В работе использовали рекомбинантный вирус АЧС Congo ΔCD2v, инфекционную активность которого оценивали по репортерной флюоресценции гена EGFP на культуре клеток



COS-1. Для изучения цитотоксичности ФУК и ее производных использован Cell Counting Kit-8. Противовирусная активность соединений оценивалась по уменьшению титра вируса по сравнению с контролем. Для оценки наличия генома вируса АЧС и зависимости Ct от концентрации препарата в вирусосодержащем материале применяли ПЦР в режиме реального времени («ДТ-96», «ДНК-Технология», Россия).

Испытание вирусстатического действия противовирусных веществ при одновременном заражении перевиваемой культуры клеток COS-1 вирусом АЧС, позволило определить противовирусную активность производных ФУК.

Для характеристики ингибирующего действия определены МПД ФУК 500  $\mu\text{g}/\text{мл}$ , МЭД 25  $\mu\text{g}/\text{мл}$ , ХТИ = 20, а также  $\text{EC}_{50}$  = 12,5  $\mu\text{g}/\text{мл}$  и индекс селективности = 40.

Результаты титрования показали, что ФУК в дозе 12,5  $\mu\text{g}/\text{мл}$  обладает вирусстатическим действием на культуре клеток COS-1 и подавляет репродукцию вируса Congo  $\Delta\text{CD}2\text{v}$  на 2 lg ТЦД50/см<sup>3</sup>, УФК-С на 1,75 lg ТЦД50/см<sup>3</sup>, УФК-НТ на 2,5 lg ТЦД50/см<sup>3</sup>. Результаты ПЦР в режиме реального времени коррелировали с титром инфекционной активности вируса и подтвердили наибольший вирусстатический эффект УФК-НТ.

Применение химиотерапевтических препаратов для воздействия на различные этапы вирусной репродукции, может быть востребовано для понимания механизмов молекулярного патогенеза болезни и разработки новых методов борьбы с инфекциями.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 18-316-00074.

## ОЦЕНКА АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ *MORGANELLA MORGANII*

Юдина Ю.С.<sup>1</sup>, Миннуллина Л.Ф.<sup>1</sup>, Тошева З.С.<sup>1</sup>, Марданова А.М.<sup>1</sup>, Яруллина Д.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

yjane2@bk.ru

Благотворное действие пробиотических лактобацилл на организм человека в значительной степени обусловлено антагонистической активностью против патогенных микроорганизмов. Спектр мишеней антимикробного действия лактобацилл очень широк и включает многие энтеробактерии, однако до сих пор не описаны лактобациллы, эффективно подавляющие бактерии *Morganellamorganii*. Целью данной работы является оценка антагонистической активности лактобацилл в отношении клинических изолятов *Morganellamorganii*.

В работе использовали 12 штаммов лактобацилл, выделенных нами из растительного сырья, образцов кишечника и фекалий людей. С помощью MALDI Biotyper установлена их принадлежность к видам *L. fermentum* (n = 6), *L. plantarum* (n = 2), *L. salivarius* (n = 2) и *L. rhamnosus* (n=2). У трех клинических изолятов *M.morganii* диско-диффузионным методом определили уровень устойчивости к антибиотикам 8 различных классов. Все исследованные штаммы обладали резистентностью к ампициллину, цефазолину, азитромицину, доксициклину и нитрофурантоину, поэтому отнесены нами к мультирезистентным. У *M. morganii* 4 обнаружена также устойчивость к цефтазидиму и цефотаксиму. Для оценки антагонистической активности лактобацилл использовали метод «пятна на агаре». Среди исследованных лактобацилл штамм *L. fermentum* FCa8L из растительного сырья обладал наибольшим антагонистическим действием против *M.morganii*, а два кишечных изолята лактобацилл были не способны подавлять рост тест-микроорганизмов. Подобно другим пробиотическим свойствам лактобацилл, антагонистическая активность в отношении *M. morganii* была штаммоспецифичной. Наибольшую чувствительность к антимикробному действию лактобацилл проявлял штамм *M. Morganii* 190. Все исследованные лактобациллы обладали высокой авто-агрегацией в диапазоне от (30.4±6.5)% до (58.7±7.9)% через 4 часа инкубирования, которая увеличивалась с течением времени инкубирования. Бактерии *M. morganii*190 тоже имели высокую авто-агрегацию – (54.9±1,9)% спустя 4 ч и (82.2±6.6)% спустя 24 ч, что указывает на их высокую колонизирующую активность. Ко-агрегацию с клетками патогенных бактерий рассматривают как один из механизмов реализации лактобациллами своего защитного действия в составе нормальной микрофлоры. Клетки всех исследованных лактобацилл ко-агрегировали с бактериями *M. morganii*190 (от (5.0±0.6)% до (29.2±2.5)% через 4 ч), следовательно, наряду с обнаруженным ранее бактерицидным/бактериостатическим действием в отношении *M. morganii*190, обладают способностью сдерживать распространение этих условно патогенных бактерий в организме.



**GLOBOSPORIDIUM PARAMECII, GEN. NOV., SP. NOV. – МИКРОСПОРОДИЯ  
ИЗ ЦИТОПЛАЗМЫ ИНФУЗОРИИ PARAMECIUM PRIMAURELIA**

**Яковлева Ю.А.<sup>1</sup>, Насонова Е.С.<sup>1,2</sup>, Лебедева Н.А.<sup>3</sup>, Ланцони О.<sup>4</sup>, Сабанеева Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;  
<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Научный парк СПбГУ, ресурсный центр «Культивирование микроорганизмов», Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>Пизанский университет, Тоскана, Италия  
*st041958@student.spbu.ru*

Микроспоридии – это родственная грибам группа протистов, все представители которой являются облигатными внутриклеточными паразитами. Несмотря на наличие у микроспоридий широкого круга хозяев, они редко заражают протистов, а в инфузориях зарегистрировано лишь несколько случаев подобных инфекций.

В цитоплазме клона SPM5-3, выделенного из природной популяции инфузорий *Paramecium aurelia* в Испании в 2015г., обнаружены микроорганизмы характерной сферической формы размером около 4 мкм. Флуоресцентная гибридизация инфицированных инфузорий *in situ* с универсальным эубактериальным зондом дала негативный результат, а окрашивание ДАФИ выявило в цитоплазме ядра этих микроорганизмов, что подтвердило их эукариотическую природу.

Согласно данным трансмиссионной электронной микроскопии, паразит принадлежит к группе *Microsporidia*. Идентифицированы все стадии жизненного цикла. Меронты имеют неправильную форму и недифференцированную цитоплазму с множеством свободных рибосом. Споронты характеризуются развитым шЭПР и наличием участков формирующегося экзоспора на поверхности плазматической мембраны. Спорогонияльный плазмодий претерпевает множественное деление и дает начало споробластам с хорошо развитым шЭПР, формирующимися полярной трубкой, якорным диском и зачатками полярнопласта. Одноядерные сферические споры имеют электронно-плотный экзоспор и электронно-прозрачный эндоспор, якорный диск, короткую изофилярную полярную трубку и состоящий из двух частей гранулярный полярнопласт. Результаты секвенирования рДНК малой субъединицы рибосом подтвердили принадлежность микроорганизма к группе *Microsporidia*, а именно к высшим микроспоридиям (клада 4 по классификации Воссбринка, 2014 г.).

Экспериментальное заражение оказалось успешным только для 3 из 8 протестированных клонов *P. aurelia*. По результатам секвенирования гена COXI определена видовая принадлежность всех протестированных клонов инфузорий и исходного зараженного клона. Установлено, что все подверженные заражению клоны принадлежат к виду *Paramecium primaurelia*, что свидетельствует о строгой хозяйинной специфичности паразита.

На основании полученных морфологических и молекулярных данных приводится описание нового вида микроспоридий *Globosporidium paramecii, gen. nov., sp. nov.*

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 15-04-06410 и № 18-04-00562) с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ: «Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Центр микроскопии и микроанализа» и «Культивирование микроорганизмов».

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ АССОЦИАТИВНОГО ШТАММА  
PHYLLOBACTERIUM IFRIQIYENSE 6 В ПОСЕВАХ РИСА**

**Якубовская А.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия  
*yakubovskaya\_alla@mail.ru*

Рис является уникальной высокопродуктивной культурой, выращиваемой в условиях периодического длительного затопления с применением высоких доз минеральных удобрений и средств химической защиты, что приводит к усугублению экологических проблем. Для снижения антропогенной нагрузки на затопляемые почвы рисовых полей рекомендована предпосевная обработка семян ассоциативными штаммами микроорганизмов, способствующими активизации естественного потенциала у растений за счет продукции фитогормонов и азотфиксации.

Штамм *Phyllobacterium ifriqiyense 6* выделен нами (по принципу селективности) из апикальной части свободных от субстрата корней риса, полученных в условно-стерильном опыте. Выявлен стимулирующий эффект штамма, который проявляется в повышении всхожести семян, ускорении развития проростков тест-культуры пшеницы, увеличении роста корней на 31,5% и побегов пшеницы – 6,4% по сравнению с контролем.



Цель дальнейших исследований: изучение эффективности штамма *Phyllobacterium ifriqiyense* 6 в ассоциации с растениями риса в условиях лугово-каштановой почвы.

Инокуляция семян штаммом ассоциативных бактерий *Phyllobacterium ifriqiyense* 6 способствует увеличению суммы хлорофиллов в листьях риса на 8,6 % в сравнении с контролем.

Численность амилолитиков в ризосфере бактеризованных *Phyllobacterium ifriqiyense* 6 растений увеличивается на 38% и 33% в фазы кушения и цветения; diaзотрофов – на 25% и 85% по сравнению с контролем. Установлено повышение биологической активности почвы ризосферы риса по показателям респирации диоксида углерода (на 122%), потенциальной азотфиксирующей активности (на 135%) и каталазной (на 101%), что свидетельствует об интенсивной деятельности ризосферной микробиоты.

Штамм *Phyllobacterium ifriqiyense* 6 способствует повышению биологической продуктивности риса на 69,6%. За годы исследований (2012-2015 гг.) прибавка урожая зерна риса при бактеризации семян составила в среднем 6,4 т / га к контролю, при этом повышается масса 1000 семян и количество зерен на 7,4% и 61,0% соответственно.

Таким образом, показана эффективность штамма *Phyllobacterium ifriqiyense* 6 в ассоциации с растениями риса в условиях лугово-каштановой почвы. Предпосевная обработка семян обеспечивает улучшение фотосинтезирующего аппарата, повышает биологическую продуктивность риса, способствует увеличению численности полезных групп микроорганизмов и стимулирует биологическую активность в ризосфере растений.

### **ВЫЖИВАНИЕ *STAPHYLOCOCCUS* SPP В ПОЛИМИКРОБНОЙ БИОПЛЕНКЕ В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ**

**Яруллина М.Н.<sup>1</sup>, Гаврилова Е.А.<sup>1</sup>, Тризна Е.Ю.<sup>1</sup>, Чернова Л.С.<sup>1</sup>, Каюмов А.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*mariarimgol@mail.ru*

В настоящее время все более актуальным видится моделирование и исследование полимикробных биопленок, в отличие от мономикробных, в которых не учитывается взаимодействие различных микроорганизмов. Совместное сосуществование способствует устойчивости бактерий к антибиотикам, что, в конечном счете, приводит к низкой эффективности многих антибиотиков, используемых в настоящее время.

Целью работы было смоделировать полимикробную биопленку, и установить возможность выживания патогенных микроорганизмов в условиях антибиотикотерапии.

Совместно культивировались кокковые и палочковидные формы бактерий для упрощения идентификации бактерий в смешанной пленке по форме клеток на микрофотографиях. Путем совместного культивирования были получены полимикробные биопленки: *S.aureus* и *K.pneumoniae*, *S.aureus* и *E.coli*, *S.aureus* и *E.aerogenes*, *S.epidermidis* и *E.coli*, *S.epidermidis* и *E.aerogenes*, *S.epidermidis* и *K.pneumoniae*. Жизнеспособность клеток оценивалась путем подсчета КОЕ. Для идентификации бактерий в смешанных культурах использовались селективные среды.

На вторые сутки ко-культивирования обнаруживаются жизнеспособные клетки обоих видов. Следовательно, можно ожидать комменсальных отношений этих микроорганизмов в условиях антибактериальной терапии и повышенной устойчивости к противомикробным препаратам.

Поэтому далее изучалось влияние противомикробных препаратов (Ванкомицин, Гентамицин, Ципрофлоксацин) на полимикробную биопленку. Анализ показал, что жизнеспособность клеток в составе полимикробной биопленки значительно снижалась, чем в мономикробной культуре. Мы предполагаем что это связано с антагонистической активностью между микроорганизмами. Дальнейшие исследования будут направлены на поиск причин данных взаимоотношений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 17-00-00456 компи.



## СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИОМЕДИЦИНА»

### ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА СЕРТОНИНА В ЯИЧНИКЕ МЫШИ

Алёшина Н. М.<sup>1,2</sup>, Никишин Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

*ninalyoshina@gmail.com*

Серотонин (5НТ) – один из классических нейротрансмиттеров, выполняющий большое число функций вне нервной системы. Он является важным ключевым элементом, вовлеченным в работу яичников и половых путей самки млекопитающих, однако компоненты серотонинергической системы внутри яичника слабо изучены. Особый интерес в рамках данного исследования представляет транспортер серотонина Sert (Slc6a4), осуществляющий захват 5НТ из внеклеточной среды. Целью работы является выявление экспрессии и функциональной активности специфического мембранного транспорта 5НТ в яичнике.

Методом ОТ-ПЦР показано, что мРНК гена Sert экспрессируется в яичнике, в том числе в фолликулярных клетках и ооцитах на разных стадиях фолликулогенеза. Иммуоокрашивание срезов яичника антителами против Sert выявило, что транспортер локализуется в овариальных фолликулах, в частности в ооцитах. Таким образом, в яичнике экспрессируется мембранный транспортер 5НТ.

Для того чтобы выявить активность захвата экзогенного серотонина в яичнике, опытной группе мышей ежедневно производили подкожные инъекции 5НТ (25 мг/кг) в течение пяти дней. Увеличение интенсивности уровня иммуоокрашивания произошло во всех компарментах яичника, в том числе фолликулах и яйцеклетках. Согласно данным, полученным методом ВЭЖХ, концентрация 5НТ в яичниках мышей опытной группы достоверно увеличилась более чем в 4 раза. Результаты, полученные с помощью обоих методов, подтвердили, что в яичнике происходит активный захват экзогенного 5НТ из кровяного русла, по всей вероятности с помощью мембранного транспортера Sert.

Для подтверждения специфичности мембранного транспорта было проведено культивирование изолированных преантральных фолликулов *in vitro* в присутствии 5НТ, а так же селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина. Иммуногистохимический анализ показал, что накопление 5НТ происходит в ооцитах преантральных фолликулов, но не наблюдается в фолликулярных клетках. При культивировании в среде, содержащей серотонин и флуоксетин, накопления 5НТ не происходит, что говорит о специфичности мембранного транспорта.

Таким образом, выявлена экспрессия специфического мембранного транспортера серотонина Sert в яичнике, и его функциональная активность в ооцитах преантральных фолликулов.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФИ 16–34–60250 мол\_а\_дк и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских учёных МК-1304.2017.4.





## ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ТЕЛЯТ

**Андреева И.Н.<sup>1</sup>, Петраков Е.С.<sup>1</sup>, Овчарова А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста, г. Боровск, Россия

*irina.cuzina2010@yandex.ru*

В лаборатории биотехнологии микроорганизмов ВНИИФБиП в 2009 году была составлена ассоциация из 4-х штаммов лактобацилл, обладающих высоким пробиотическим потенциалом, получившая рабочее название тетралактобактерин.

Оценка эффективности использования тетралактобактерина у 1,5 месячных телят была проведена в СПК «Родина» Красногорского района Брянской области. Для опыта были сформированы по методу пар-аналогов две группы телят черно-пестрой породы 5-недельного возраста ( $\pm 2$  суток) со средней живой массой  $49,53 \pm 1,44$  кг. Животные 1-й группы ( $n=5$ ) были контрольными, телята 2-й группы ( $n=10$  голов) получали с молоком один раз в сутки препарат тетралактобактерин с 5-недельного возраста в течение 21 суток в количестве 1 г/гол.

Наблюдение за животными продолжали вести в течение месяца после прекращения выпойки препарата. Контроль живой массы подопытных телят проводили с помощью ленты для измерения живого веса молочных коров и телят. Животные содержались в условиях, соответствующих ветеринарно-зооигиеническим требованиям. Кровь для исследования брали утром до кормления пункцией яремной вены с соблюдением правил асептики и антисептики. Пробы фекалий для анализа микробиоценоза толстого кишечника получали при акте вынужденной дефекации. Количество лейкоцитов и эритроцитов в крови подсчитывали в камере Горяева, гемоглобин определяли гемиглобинцианидным методом, гематокрит - в гематокритной центрифуге. Концентрацию глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом.

На всем протяжении опыта содержание в крови лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, уровень гематокрита и глюкозы соответствовали физиологической норме. Через месяц после выпаивания пробиотика выявлена тенденция к повышению содержания лейкоцитов в крови у телят, получавших пробиотик, по сравнению с предыдущим периодом исследования, и статистически значимое увеличение по отношению к контрольной группе (на 67%,  $P < 0,05$ ), что указывает на активизацию клеточного звена иммунитета под воздействием пробиотика. Существенных изменений в содержании эритроцитов, гемоглобина и гематокрита в этот период не отмечено.

Уровень глюкозы в крови у телят контрольной группы через месяц от начала опытного периода существенно ( $P < 0,05$ ) снизился по сравнению с 5-и 8-недельным возрастом, при отсутствии статистически значимых изменений концентрации этого метаболита у опытных телят, что указывает на более эффективное расщепление углеводов в кишечнике у телят, получавших пробиотик.

При исследовании кишечной микрофлоры отмечено увеличение количества лактобацилл, то есть наблюдалась явная оптимизация микрофлоры по этому показателю. Выпойка препарата позволила полностью элиминировать группу клостридий. Изменения по остальным группам микроорганизмов не отмечены.

На 21 сутки опыта существенной и статистически значимой разницы в интенсивности роста зафиксировано не было. Через месяц после окончания выпаивания пробиотика установлены более высокие показатели среднесуточного прироста живой массы у животных опытной группы по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,05$ ), что указывает на пролонгированное положительное влияние пробиотика на рост телят. Это, видимо, обусловлено оптимизацией микробиоценоза кишечника и активизацией клеточного звена иммунитета.

Таким образом, по результатам проведенного эксперимента можно заключить, что у телят с устоявшейся микрофлорой кишечника эффект от использования пробиотиков может проявляться в более поздние сроки, в сравнении с телятами-молочниками. Вероятно, это обусловлено более продолжительным периодом, необходимым задаваемым пробиотическим лактобациллам на успешную колонизацию кишечника и занятие своей ниши в индигенной микрофлоре.



## ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ НА СТРЕСС РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЫШЕЙ

Арсланова А.Н.<sup>1</sup>, Рудич М.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*alice1998@yandex.ru*

Микрофлора кишечника – это сообщество бактерий, которое может влиять на физиологические, поведенческие и когнитивные функции мозга. Эта двусторонне сообщающаяся система составляет ось «микрофлора-кишечник-мозг». Поэтому изменения в микробиоте кишечника могут влиять на функции пищеварительной системы и ЦНС. Возможным механизмом такого взаимодействия может являться синтез гормонов, факторов иммунитета и метаболитов микробиотой. Изменение микрофлоры в случаях инфекции, болезней и неправильной диеты могут привести к дисбактериозу, вызывающему тревожность, подверженность стрессу.

Целью данного исследования явилось сравнение тревожно-фобического состояния мышей в контроле и при изменённой микробиоте.

Объектом исследования были мыши в возрасте 20-25 дня жизни. Мыши были разделены на 3 группы: 1) контрольная с инъекциями физиологического раствора (К, n=10); 2) АБ, получавшая инъекции антибиотиков (n=10); 3) ЛБ с инъекциями антибиотиков и с добавлением в питьевую воду лактобацилл (n=10). Внутривентрикулярные инъекции антибиотиков (коктейль из неомицина, ванкомицина, амфотерицина Б, ампициллина, метронидазола) и добавление лактобацилл в питьевую воду в концентрации  $4 \times 10^6$  кл/мл проводили в течение 2-х недель, после чего проводились тесты.

Для оценки тревожно-фобического состояния использовали тесты «Открытое поле» (ОП, оценивали количество актов груминга, время выхода из центра и количество болюсов дефекации), «Черно-белая камера» (оценивали время пребывания животного в светлой камере), интегральный показатель тревожности (ИПТ).

У животных контрольной группы не наблюдалось изменений в исследуемых тестах. У АБ группы наблюдалась повышенная эмоциональность: увеличение количества актов груминга и болюсов дефекации, снижение времени выхода животного из центра по сравнению с контрольной и ЛБ группами. Интервал времени, проведенного в тёмном отсеке, коррелирует с уровнем тревожности, тогда как время обследования освещённого отсека – показатель склонности к риску. Введение антибиотиков снижало время, проведенное в светлом отсеке. В группе ЛБ время пребывания в светлом отсеке не изменялось. Мыши АБ группы показали увеличение ИПТ. У животных ЛБ группы не наблюдалось изменений ИПТ за все время исследования.

Таким образом, нарушение нормальной микрофлоры при введении антибиотиков приводит к появлению тревожно-фобического состояния у мышей. Одновременное введение лактобацилл и инъекций антибиотиков предотвращало наблюдаемые изменения, что свидетельствует о положительном эффекте нормальной микрофлоры на стрессоустойчивость.

## ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГИППОКАМПА КРЫС ПРИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Березовская А.С.<sup>1,2</sup>, Тыганов С.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*st041852@student.spbu.ru*

Космический полет вызывает ряд серьезных побочных физиологических изменений. Действие микрогравитации широко изучается на сердечнососудистой, вестибулярной, мышечной системах, но влияние на нервную систему недостаточно изучено.

Одним из методов, имитирующим действие нулевой гравитации на грызунов в земных условиях, является метод двигательной разгрузки задних конечностей или «вывешивания». Для этого используется специально оборудованная клетка, где подвешенная за хвост крыса свободно



может передвигаться передними лапами по дну, при этом задние лапы оказываются без опоры. На грызунах было показано, что сдвиг жидкости, изменения опорно-двигательного аппарата и других систем, при данной методике сходны с изменениями, происходящими в космосе.

Гиппокамп участвует в обучении, формировании памяти и эмоций. Предыдущие исследования показывают, что гиппокамп особенно уязвим к изменениям в окружающей среде. Сообщалось о ряде физиологических реакций гиппокампа как на краткосрочную, так и долгосрочную двигательные разгрузки. Было выявлено увеличение уровня экспрессии апоптотических генов, генов окислительного стресса и других.

Исследование проводили на 3-месячных самцах линии Вистар. Животные были разделены на три группы: группа вывешивания ( $n=12$ ), где крысы в течение трёх дней находились без опоры на задние лапы, группа вывешивания ( $n=12$ ) с механической опорной стимуляцией задних конечностей в течение четырех часов каждый день контрольная группа интактных животных ( $n=12$ ). В работе оценивались изменения ГАБА и глутаматергической систем гиппокампа. Оценка состояния гиппокампа определяли методами вестерн блоттинга и иммуногистохимическим выявлением глутаматдекарбоксилазы GAD67, везикулярных глутаматных транспортеров VGLUT 1 и 2, белка c-fos, p-Akt (Ser308), p-PTEN (Ser380), p-PDK (Ser241) и p-GSK3b (Ser9).

Анализ данных показал, что по сравнению с контрольной группой, количество белка VGLUT1/2 у группы вывешивания значительно снижено ( $p < 0,05$  ANOVA), при этом уровень экспрессии GAD67 и число GAD67 позитивных клеток в гиппокампе не изменялось. Оценка экспрессии c-fos показала повышение числа c-fos позитивных клеток в гиппокампе. Результаты также показали, что «вывешивание» приводит к активации Akt сигнального пути. Эти данные могут свидетельствовать об активации долговременной потенциации и, соответственно, выброса глутамата, что подтверждает снижение уровня VGLUT1/2. С другой стороны, в группе с механической стимуляцией все исследованные показатели не отличались от интактного контроля.

Таким образом мы показали, что 3-х дневная опорная разгрузка стимулирует глутаматергическую систему гиппокампа, при этом опорная стимуляция предотвращает развитие активации этих нейронов, вызванную разгрузкой.

Работа выполнена при поддержке ФАНО (номер темы госзадания АААА-А18-118012290371-3)

## СЕРОВОДОРОД И МУСКАРИНОВЫЕ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ ПРЕДСЕРДИЙ МЫШИ

**Блохина А.С.<sup>1</sup>, Хаертдинов Н.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*lifanova40@gmail.ru*

Введение. Сероводород ( $H_2S$ ) давно известный токсичный газ, в последние годы широко исследуемый в роли газообразного агента играющего немаловажную роль в физиологических и патофизиологических процессах в организме. В сердечно-сосудистой системе  $H_2S$  может оказывать кардиопротекторный эффект, который опосредуется через активацию калиевых АТФ зависимых каналов (К(АТФ)-каналов). Кроме того, мишенями его действия являются  $Ca^{2+}$ -каналы L-типа, ферменты синтеза оксида азота (NO) и фосфодиэстеразы. Имеются данные об усилении сосудорасширяющего действия ацетилхолина (АХ) у теплокровных животных опосредованного  $H_2S$ . Мускариновые АХ рецепторы второго типа ( $m_2$ АХР) являются наиболее распространенными в миокарде, активация которых приводит к ингибированию аденилатциклазы и усилению выходящих  $K^+$ -токов. Интересно, что  $m_2$ АХР вовлечены в механизмы пре- и посткондиционирования АХ через открытие митохондриальных К(АТФ)-каналов. Ранее нами было показано, что предварительная аппликация донора  $H_2S$  усиливает отрицательный инотропный эффект активации  $m$ -АХР.

Цель исследования. Выявить механизмы взаимодействия  $H_2S$  и мускариновых холинорецепторов в регуляции сократимости кардиомиоцитов предсердий мыши.

Материалы и методы. Эксперименты по исследованию сократимости миокарда изолированных предсердий мыши проводились в изометрических условиях на установке Biopac с датчиком силы 0-50 г (Biopac, США). Стимуляция предсердий осуществлялась электрическими импульсами прямоугольной конфигурации через 2 электрода с частотой 0,1 Гц, амплитудой 40 мВ,



длительностью 5 мс. В экспериментах были использованы следующие вещества: гидросульфид натрия (NaHS) 300 мкМ, карбахол (КХ) 1 мкМ, MDL 12.330 3 мкМ, 1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) 10 мкМ, *N*-Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) 200 мкМ, глибенкламид 50 мкМ.

Результаты. Для исследования взаимодействия H<sub>2</sub>S и м-АХР был использован КХ, агонист м-АХР. Аппликация КХ приводила к уменьшению силы сокращения предсердий миокарда на 29±3% (n=13, p<0.05) по отношению к начальным значениям. Предварительная аппликация NaHS приводила к усилению отрицательного инотропного эффекта КХ в предсердиях, уменьшение амплитуды сокращения составило 51±4% (n=12, p<0.05). Один из путей регуляции сократимости сердца при активации м<sub>2</sub>-АХР связан с ингибированием аденилатциклазы. В условиях предварительного блокирования аденилатциклазы с помощью MDL 12.330 усиление отрицательного инотропного эффекта КХ на фоне NaHS сохранялось (49±6% (n=14, p <0.05)). Одним из механизмов действия АХ является синтез NO с последующей активацией гуанилатциклазы. В наших экспериментах как в условиях блокирования гуанилатциклазы с помощью ODQ, так и ингибирования NO синтазы L-NAME не предотвращало влияния NaHS на отрицательный инотропный эффект КХ: 47±5% (n=14, p<0.05) и 49±2% (n=6, p<0.05), соответственно. Однако, более выраженный эффект КХ на фоне NaHS снимался при его аппликации в условиях предварительного ингибирования К(АТФ)-каналов глибенкламидом 40±4% (n=10, p<0.05).

Выводы. Таким образом можно предположить, что в усиление отрицательного инотропного эффекта м-АХР на фоне предаппликации NaHS связано с активацией К(АТФ)-каналов.

## ИНДУЦИРОВАНИЕ АРТРИТА С ПОМОЩЬЮ КУРИНОГО КОЛЛАГЕНА II У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

**Большакова Е.В.<sup>1</sup>, Горшкова Е.Н.<sup>1</sup>, Астраханцева И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*lena16.07.95@mail.ru*

Коллаген-индуцированный артрит (КИА) у мышей широко используется в качестве экспериментальной модели для анализа патофизиологии и гистопатологии воспалительных заболеваний суставов человека. Однако большинство генетически модифицированных мышей, в том числе «гуманизированных» по гену ФНО, получено на линии C57BL/6, которая является резистентной к развитию КИА.

Цель работы — оптимизация протокола КИА для мышей генотипа C57BL/6.

Для эксперимента брали мышей генотипа C57BL/6 в возрасте старше 10 недель, которые были разделены на 3 группы. Коллаген вводили подкожно в область хвоста в дозе 100 мкг/мышь, инъекции повторяли через 21 день. Первой группе (n=2) вместо коллагена вводили фосфатно-солевой буфер. Вторую группу (n=13) иммунизировали куриным коллагеном типа II (Sigma Co., C9301) согласно методике, опубликованной Brand D. et al. (2007). Третью группу (n=15 и n=14) иммунизировали коллагеном II типа, выделенным из грудинных хрящей кур in house, добавив дополнительную инъекцию через 42 дня после начала эксперимента. Для оценки титра антител против коллагена у мышей производили забор крови на 14, 35 и 56 дни после первой инъекции. Клиническую оценку развития КИА проводили визуально по 12-бальной шкале. У мышей с признаками КИА оценивали уровень ФНО, а также супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) на проточном цитометре Cytotflex S.

У мышей второй группы визуальные признаки артрита были зафиксированы на 25 день после бустера, частота развития заболевания составила 23%, но выраженность симптомов была слабой. В третьей группе после первого бустера признаков КИА не наблюдалось, однако на 12 день после второго бустера частота развития КИА составила 36%, что было успешно подтверждено повторным экспериментом. При этом степень развития артрита характеризовалась припухлостью, отеком запястья и голеностопных суставов. У мышей с визуальными признаками артрита в 100% случаев были обнаружены антитела против куриного коллагена. Клиническая картина КИА соответствовала иммунологическим параметрам, в частности, уровень ФНО



коррелировал с выраженностью КИА. Кроме этого, у мышей наблюдалось существенное увеличение клеточной популяции MDSC, что характерно для КИА.

Таким образом, оптимизированный нами протокол КИА позволяет увеличить частоту развития артрита у мышей линии C57BL/6 с более выраженными симптомами артрита при использовании полученного in house куриного коллагена II типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №17-04-01478).

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУСТАВНОГО ХРЯЦА ПРИ ВВЕДЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС**

**Бороздина Н.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*natalia.borozdina2016@yandex.ru*

Суставной хрящ коленного сустава обладает уникальными свойствами, которые обеспечивают движение суставных поверхностей. Матрикс суставного хряща обеспечивает его структурные особенности, в него входят коллаген и протеогликаны, синтезируемые хондроцитами. В настоящее время изучаются процессы разрушения суставного хряща, например, воспалительные процессы в целом организме или локализованные.

Цель работы - изучить морфофункциональные особенности суставного хряща коленного сустава при внутрибрюшинном введении бактериального липополисахарида крысам.

Для исследования были взяты 15 самцов белых крыс линии Wistar массой 250-350г. Животные содержались в стандартных условиях. Было сформировано три группы: первая - интактные животные (5 крыс), другим группам внутрибрюшинно вводился бактериальный липополисахарид в концентрации 1 мг/кг массы животного. Выведение животных из эксперимента проводилось миорелаксантом «Рометар» (1 мл/кг массы животного) через 24 часа (5 крыс) и 72 часа (5 крыс). Прочность суставной поверхности измерялась после иссечения коленного сустава с помощью специализированной иглы, пересчетом единицы массы в МПа. Гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином, на срезах рассчитана радиальная толщина хряща(мкм), численная плотность хондроцитов (1/мм<sup>3</sup>). Для выявления протеогликанов матрикса срезы окрашены сафранином O, и проводился расчет оптической плотности матрикса (усл.ед.). Для иммуногистохимического окрашивания использованы антитела к ММР 9, TIMP 1, агрекану и лубрицину. Результат оценивался по проценту позитивно окрашенных зон как индекс экспрессии (%), измерения проводились в программе ImageJ.

В результате эксперимента прочность суставной поверхности уменьшилась в 1,41 раз к 24 часам, и в 1,5 раза к 72 часам. Радиальная толщина хряща снизилась в 1,4 раза к 72 часам эксперимента. Численная плотность хондроцитов снизилась в 3 раза через 72 часа в сравнении с интактной группой. Оптическая плотность матрикса снизилась на 4% через 24 часа, и на 7% через 72 часа эксперимента по сравнению с интактными животными. Индекс экспрессии ММР 9 вырос в 1,15 раз после 72 часов, а индекс экспрессии TIMP 1 не изменился через 24 и 72 часа. Индекс экспрессии агрекана снизился в 1,89 раз к 72 часам, лубрицина – в 1,26 раз к 24 часам и в 1,45 раз к 72 часам.

Таким образом, введение липополисахарида крысам приводит к снижению прочности суставной поверхности, толщины хряща и индекса экспрессии лубрицина и агрекана, повышению экспрессии ММР 9.



## ВЛИЯНИЕ НИКОТИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ САМЦОВ И САМОК DANIO RERIO В ТЕСТЕ NOVEL TANK

**Борыгина В. Г.<sup>1</sup>, Жданов А. В.<sup>1</sup>, Колесникова Т. О.<sup>1</sup>, Хацко С. Л.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Институт естественных наук и математики, Екатеринбург, Россия

*huzhina.n@mail.ru*

В настоящее время никотин входит в пятерку наиболее опасных веществ, вызывающих зависимость. Модель Данио рерио стала популярной в токсикологических и нейробиологических исследованиях, однако вопрос о межполовых различиях в поведении до сих пор остается открытым.

Цель исследования – изучение межполовых различий поведенческой активности зебраданио под влиянием никотина.

Эксперимент проводился на 169 особях Данио рерио обоего пола в возрасте 4 – 6 месяцев. Исследовался никотин в концентрациях 1, 5, 10 мг/л по стандартной методике «Novel tank». Сравнение групп проводилось с помощью критерия Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни.

В ходе исследования выявлено, что никотин в концентрации 10 мг/л значительно укорачивает латентный период выхода в верхнюю часть, однако, увеличивает число выходов и суммарное время нахождения в верхней части аквариума. Кроме того, отмечено, что никотин значительно снижает количество актов и суммарную длительность фризинга, а также число эрратических движений во всех концентрациях, что в соответствии с научной литературой (Egan et al., 2009), свидетельствует о снижении уровня тревожности. Половых различий в поведенческой активности под влиянием никотина на Данио выявлено не было. Вместе с тем, в концентрации 5 и 10 мг/л наблюдается стереотипное поведение, проявляющееся в заикленном плавании по периметру верхней части аквариума.

Таким образом, никотин обладает анксиолитическими свойствами. Межполовых различий влияния никотина во всех дозах выявлено не было, что говорит об одинаковом профиле его действия на самцов и самок Данио. Исходя из полученных данных, можно предположить, что использование в нейрофизиологии смешанных обоеполюх групп Данио рерио не является лимитирующим фактором в изучении класса холинэргических веществ.

## ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ STREPTOMYCES MASSASPOREUS CNMN -AC-06 И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

**Васильчук А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии и биотехнологии Академии наук Молдовы, Кишинев, Республика Молдова

*vasilchuk2009@mail.ru*

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.

Целью исследований явилось изучение влияния длительного потребления биопрепаратов на основе метаболитов штамма *St. massasporeus CNMN Ac-06*, выращенного на стандартной питательной среде (R) и на среде с добавлением метаболитов цианобактерий, на процесс выработки оборонительных условных рефлексов у белых крыс.

В результате проведенных исследований было обнаружено, что у крыс, получавших в качестве пищевой добавки высушенную биомассу штамма *St. massasporeus CNMN Ac-06*, выращенную на стандартной питательной среде (R) (BM-06) число условно-рефлекторных реакций намного выше, чем у животных контрольной группы. Особенно существенные различия между животными опытной и контрольной групп зафиксированы на 4-й и 5-й дни эксперимента. Следует также отметить тот факт, что применение BM-06 в качестве пищевой добавки



способствует более раннему достижению 100 %-го уровня выработки условных рефлексов. У крыс, получавших в качестве пищевой добавки высушенную биомассу штамма *St. massasporeus CNMN Ac-06*, выращенную на питательной среде (R) с добавлением метаболитов цианобактерий (BM-06-C), на начальном этапе обучения (2 – 4-й дни) количество условно-рефлекторных пробежек заметно выше, чем у животных контрольной группы. Но в то же время, на остальном периоде эксперимента биопрепарат BM-06-C либо не оказал влияние на число условно-рефлекторных реакций, либо способствовал достоверному их снижению.

Таким образом, длительное потребление белыми крысами биопрепарата BM-06 на основе метаболитов штамма *St. massasporeus CNMN Ac-06*, культивированного на стандартной питательной среде (R), привело к заметному облегчению выработки условных оборонительных рефлексов, более раннему достижению максимального уровня выработки условных рефлексов, а также способствовало увеличению скорости целенаправленных двигательных реакций избавления от болевого стимула. В отличие от этого, потребление белыми крысами биопрепарата BM-06-C, культивированного на питательной среде (R) с добавлением метаболитов цианобактерий, в целом, негативно сказалось на процессе обучения белых крыс навыку активного избегания.

Полученные результаты открывают перспективы для изучения метаболитов, продуцируемых штаммом *St. massasporeus CNMN Ac-06*, и их физиологических эффектов с целью выделения и идентификации веществ с нейропротекторными свойствами.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПИГМЕНТАЦИИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

**Васютинская А.А.<sup>1</sup>, Чекунова Е.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-

Петербург, Россия

*Nastanoname@yandex.ru*

Пигментация кожи человека является одним из наиболее заметных примеров фенотипической вариабельности с широким нормальным диапазоном. Признак подвержен существенной географической стратификации, - наблюдается тенденция к осветлению с увеличением расстояния от экватора. Цвет кожи человека определяется количеством, типом и распределением меланосом – клеточных органелл, в которых из тирозина синтезируется пигмент меланин. Разнообразие окрасок кожи обусловлено биохимическими различиями, которые влияют на количество меланосом, тип синтезируемого меланина (эу- или феомеланина), а также на размер и форму меланосом, при этом, о генетической детерминации этих процессов известно недостаточно. Целью настоящей работы стал поиск генетических маркеров, определяющих окраску кожи человека.

Анализ литературных данных позволил выявить гены, продукты которых участвуют в меланогенезе, и их единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNP - single nucleotide polymorphism), которые вносят существенный вклад в формирование окраски кожи человека: SLC24A5 (rs1426654, G>A), SLC45A2 (rs16891982, G>C), MC1R (rs111040, T>C), TYR (rs1126809, G>A), TYR (rs1042604, C>A). Детекцию этих SNP-маркеров осуществляли методом аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени. Система была апробирована на образцах ДНК людей из трех групп, различающихся по окраске кожи: темно-коричневой (африканцы), желтой (монголоиды) и белой (европеиды).

Полученные данные свидетельствуют о положительной взаимосвязи исследуемых SNP (rs1426654, rs16891982, rs111040, rs1126809, rs1042604) с пигментацией кожи человека. Так, во всех образцах ДНК африканцев частоты предковых аллелей генов SLC24A5, SLC45A2, TYR (rs1042604 C>A), определяющих темный цвет кожи, составляли 1. Люди с желтым цветом кожи чаще всего были гетерозиготны - несли обе аллели: предковую и аллель, определяющую ослабление меланиновой окраски. Генотипы белокожих людей демонстрировали большое разнообразие вариаций изучаемых аллелей.

Рассчитанные нами значения PPV (positive predictive value) составили: 0.86; 0.78; 0.63; 0,54 и 0,61 для анализируемых аллелей rs1426654, rs16891982, rs111040, rs1126809, rs1042604 соответственно, что является показателем достоверности зависимости фенотипа от генотипа и позволяет считать выбранные нами SNP ассоциированными с окраской кожи человека. В



дальнейшем, для изучения и более точного прогнозирования окраски кожи человека планируется расширить линейку генетических маркеров и увеличить разнообразие выборки.

### **ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА CD131 РЕЦЕПТОРА НА ДИНАМИКУ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ ЛОКАЛЬНОЙ ТРАНЗИТОРНОЙ ИШЕМИИ**

**Глявина М. М.<sup>1,2</sup>, Логинов П. А.<sup>2</sup>, Наумов М. А.<sup>2</sup>, Дорогин Д. В.<sup>2</sup>, Жученко М. А.<sup>3</sup>, Щелчкова Н. А.<sup>1,2</sup>, Мухина И. В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>ООО «Фармапарк», Москва, Россия

*marjannov@gmail.com*

Изучение механизмов полноценного восстановления функциональной активности головного мозга после острого инсульта является важнейшей задачей медицины и нейробиологии. Перспективной стратегией является активация в постишемическом периоде в клетках головного мозга общей рецепторной субъединицы  $\beta$ -cR (CD131) димерного рецептора к эритропоэтину. Присоединение агониста к рецептору активировать защитные механизмы нейронов при ишемическом повреждении, игнорируя гемопоэз. Цель данной работы: оценка влияния агониста CD131 на восстановление функционального состояния нервной системы после инсульта. Фокальную ишемию с часовой окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА) моделировали с помощью изофлюранового наркоза и микрофиламента 7-0 Dossol Corporation. Агонист CD131 карбамилированный дарбэпоэтин (CdEPO, «Фармапарк») вводили внутривенно через 1,3,6,12,24 и 6,12,24,48,72 часа после ОСМА в дозе 50 мкг/кг. Безусловную рефлекторную деятельность, долговременную память, ассоциативное обучение исследовали на 4 и 20 сутки с помощью теста Open Field LE800S, установки Shuttle Box LE916, теста «распознавание нового объекта». Достоверность различий оценивали по критерию Манна - Уитни.

ОСМА с последующей реперфузией вызывала нарушение функционального состояния головного мозга. Введение CdEPO в первые 6 часов после окклюзии эффективно восстанавливало моторную активность мышей, снижало уровень стресса. Введение CdEPO позднее «терапевтического окна» оказывало менее выраженное действие на восстановление функций мозга на 4 сутки после операции. Выявлено, что независимо от схемы введения CdEPO эффективно сохранял память животных и положительно влиял на ассоциативное обучение. Результаты позволяют рассматривать агонист субъединицы  $\beta$ -cR рецепторов к эритропоэтину CdEPO как перспективный нейропротектор: он положительно влиял на функциональное состояние центральной нервной системы и сохранял когнитивные способности животных в после инсульта.

### **ВЛИЯНИЕ АУДИОГЕННОГО КИНДЛИНГА НА АКТИВНОСТЬ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ**

**Горбачёва Е. Л.<sup>1</sup>, Нургалиев Т. И.<sup>2</sup>, Никитина Л. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

*jengorbacheva@gmail.com*

Аудиогенный киндлинг является одной из моделей парциальной (височной) эпилепсии, заключающаяся в систематическом предъявлении звуковых стимулов крысам, генетически предрасположенных к аудиогенным судорожным припадкам, и приводящим к вовлечению структур переднего мозга в эпилептическую сеть. Особенности работы гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы на модели аудиогенного киндлинга практически не изучались. Целью данной работы являлась оценка влияния многократных звуковых стимуляций по протоколу





киндлинга на функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ).

В исследовании были проанализированы две группы крыс линии КМ: интактные крысы и крысы, подвергшиеся многократным звуковым стимуляциям по протоколу киндлинга (25-26 предъявлений). Оценка содержания кортиколиберина в ткани гипоталамуса, а также содержания ПОМК и АКТГ в ткани гипофиза была проведена с помощью вестерн-блот анализа. Концентрация кортикостерона в сыворотке крови определялась с помощью иммуноферментного анализа. Также была определена масса надпочечников.

Мы не выявили различий в содержании кортиколиберина в гипоталамусе у крыс линии КМ, подвергнутых аудиогенному киндлингу, по сравнению с контролем. Однако анализ содержания ПОМК и АКТГ в ткани гипофиза показал, что после многократных ежедневных звуковых стимуляций у крыс линии КМ уровень ПОМК был понижен по сравнению с интактными животными, а уровень АКТГ в гипофизе у крыс двух групп не отличался. Полученные данные могут косвенно указывать на то, что аудиогенный киндлинг приводит к повышению процессинга ПОМК и повышению секреторной активности кортикотропоцитов аденогипофиза. Действительно киндлинг приводил к повышению концентрации кортикостерона в сыворотке крови, а также к повышению веса надпочечников у крыс линии КМ. Повышенный уровень кортикостерона в крови, а также повышение массы надпочечников на фоне снижения содержания ПОМК в гипофизе указывает на то, что многократные звуковые стимуляции по протоколу киндлинга приводят к повышению активности центрального и периферического звеньев гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы у крыс линии КМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-04-00811) и гос. задания по теме № АААА-А18-118012290371-3.

## **ИЗМЕНЕНИЕ СОЛЕВОГО АППЕТИТА ПРИ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ У МЫШЕЙ**

**Горшкова А. А.<sup>1</sup>, Лагерева Е. А., Андреев-Андриевский А. А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*gorshkova@mail.bio.msu.ru*

Адаптация сердечно-сосудистой системы человека к микрогравитации, как считается, инициируется перераспределением жидкости в верхнюю часть тела из нижней при исчезновении гидростатического градиента. Гидростатический градиент давления у мышей практически не выражен, однако реакции сердечнососудистой системы мышей в космическом полете и в послеполетный период схожи с изменениями у людей, что указывает на важность независящих от размеров тела факторов в адаптации сердечно-сосудистой системы млекопитающих к микрогравитации. Водно-солевой аппетит находится под центральным нейро-гуморальным контролем и может являться одним из таких факторов. В данной работе мы оценивали водно-солевой аппетит у мышей при моделировании эффектов микрогравитации.

Самцов мышей линии BALB/C подвергали антиортостатическому вывешиванию; контрольных мышей 1) «прикрепляли» или 2) содержали изолированно в клетках для вывешивания (N=12 на группу). В условиях свободного выбора регистрировали динамику потребления воды и 0.9% раствора NaCl в течение 14 дней воздействия и 7 дней восстановления, а также ряд морфометрических и гематологических параметров.

Обнаружили, что суммарный объем потребляемой жидкости в первые 4 дня вывешивания снижался на 20-30% и возрастал на 50-60% в период восстановления. Потребление NaCl у контрольных мышей постепенно возрастало, а у вывешенных – оставалось неизменным в период вывешивания и снижалось в период восстановления. Потребление животными корма, второго источника натрия, было неизменным. Изменения массы тела и внутренних органов, а также гематологические показатели были типичны для модели антиортостатической гипокинезии. Следует отметить существенное снижение массы семенников, что указывает на возможное снижение уровня тестостерона и вклад этого стероида в наблюдаемые у вывешенных животных изменения. Различия между прикрепленными и изолированными животными отсутствовали, что



свидетельствует о незначительном влиянии обусловленного прикреплением стресса на регистрируемые показатели.

Снижение солевого аппетита у мышей при воздействии и восстановлении после антиортостатической гипокинезии свидетельствует о существенных изменениях его нейро-гуморальной регуляции и хорошо соотносится с данными, полученными на более крупных животных. Это позволяет предполагать, что иницирующие данную реакцию факторы не зависят от размера тела.

## **РОЛЬ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА IQGAP В ПСОРИАТИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ**

**Гурская А.А.<sup>1</sup>, Чекалин Е.В.<sup>2</sup>, Брускин С.А.<sup>2</sup>, Пирузян Э.С.<sup>2</sup>, Золотаренко А.Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

*zolotarenko@vigg.ru*

Семейство IQGAP представляет собой группу так называемых скэффолд-белков, координирующих передачу сигналов путем облегчения физических взаимодействий между эффекторными белками, и широко экспрессируются в различных тканях. Поскольку скэффолд-белки выступают в качестве матриц для сборки функциональных белковых комплексов, осуществляющих передачу сигнала, активация или ингибирование их экспрессии может быть многообещающей стратегией для регуляции различных сигнальных каскадов.

Белки IQGAP участвуют в регуляции сигнальных каскадов клеточного цикла, активации MAPK-киназ, EGF-индуцируемых каскадов, бета-катенинового сигналинга, перестройки цитоскелета и других каскадов, играющих важную роль в патологическом процессе, развивающемся в коже больных псориазом. В коже IQGAP1 присутствует во всех слоях эпидермиса, IQGAP2 отсутствует, а накопление IQGAP3 в основном наблюдается в пролиферирующих базальных кератиноцитах и практически отсутствует в постмитотических слоях эпидермиса. Таким образом можно предположить важную роль белков IQGAP1 и IQGAP3 в развитии патологий кожи, связанных с нарушениями пролиферации и дифференцировки клеток.

Целью данной работы была оценка профилей экспрессии генов, кодирующих белки семейства IQGAP, в коже больных псориазом. На первом этапе работы мы провели анализ транскриптомных данных, находящихся в свободном доступе в базе GEO (Gene Expression Omnibus). Были проанализированы эксперименты GSE67785 (14 пар биопсий пораженной и визуально непораженной кожи больных псориазом), GSE66511 (12 пар биопсий пораженной и визуально непораженной кожи больных псориазом), и GSE41745 – ранее проведенного нами анализа транскриптома 14 пар биопсий пораженной и визуально непораженной кожи больных псориазом. По результатам анализа мы выяснили, что из трех генов только ген IQGAP3 показал на всех проанализированных выборках достоверные отличия при попарном сравнении образцов поражённой и непоражённой кожи.

Затем мы провели верификацию полученных результатов на независимой выборке из 7 пар биопсий кожи больных псориазом при помощи количественной ПЦР в реальном времени. Повышенная экспрессия при попарном анализе биопсий пораженной псориазом и непораженной кожи также наблюдалась только для гена IQGAP3. Полученные результаты позволяют выдвинуть гипотезу, что белок IQGAP3 может играть важную роль в гиперпролиферации кератиноцитов при псориазе и в образовании псориазных бляшек на коже больных. Планируется экспериментальная проверка данной гипотезы.



## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ ММСК, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ДОНОРОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Данилина Т. И.<sup>1</sup>, Плотников Е.Ю.<sup>2</sup>, Силачев Д.Н.<sup>2</sup>, Зорова Л.Д.<sup>2</sup>, Певзнер И.Б.<sup>2</sup>, Зоров Д.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>НИИ Физико-химической биологии имени А.Н.

Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*danilina.tatyana2010@yandex.ru*

Клеточные технологии находят в последнее время все большее применение в неврологии. Особенно это касается использования стволовых и прогениторных клеток для лечения острых нейропатологий. Зависимость свойств стволовых клеток от возраста донора уже неоднократно предполагалась исследователями и практиками, однако чётких доказательств этого пока не представлено.

Целью данной работы являлось сравнение пролиферативного потенциала, нейропротекторных свойств и биохимических изменений в мезенхимальных мультипотентных стромальных клетках (ММСК), выделенных из костного мозга крыс различных возрастов.

ММСК получали из костного мозга плодов (18-19 сут.), молодых (7-10 сут.) и взрослых крыс (12-18 мес.) и культивировали *in vitro* до 3-го пассажа. ВзрММСК показали заметно более низкую скорость пролиферации по сравнению с молодыми и фетММСК (исследование проводилось на приборе RTCA iCELLigence). Терапевтический потенциал ММСК был проанализирован в модели черепно-мозговой травмы (ЧМТ). ММСК вводились крысам на следующий день после индукции ЧМТ (в/в, 3 млн/кг). Неврологический статус животных оценивали при помощи теста «Постановка конечности на опору» (на 2, 4, 7 и 14 день после ЧМТ) и теста «Цилиндр» (на 14 день после ЧМТ). Результаты у крыс в случае взрММСК не отличались значимо от результатов группы ЧМТ (без лечения). В то же время, введение молММСК и фетММСК приводило к значительному улучшению неврологического статуса животных и снижению объёма повреждения. Различия между этими двумя группами не являются значимыми, однако, имеется тенденция к улучшению состояния крыс при введении фетММСК по сравнению с молММСК. Трансплантация взрММСК приводила к незначительному увеличению частоты использования повреждённой конечности в тесте «Цилиндр», но при этом одновременное использование конечностей увеличивалось до 58% по сравнению с 48% у группы ЧМТ. Введение молММСК и фетММСК приводило к статистически значимому увеличению частоты опоры на повреждённую конечность до 8,7% и 9,7%, соответственно, по сравнению с 1,6% в группе ЧМТ.

Вестерн-блот анализ продемонстрировал снижение уровня TNF $\alpha$  на 30% и GDF на 43% у взрММСК по сравнению с молММСК. Относительное содержание фосфорилированной формы GSK-3 $\beta$  от общего количества фермента в 1,5 раза выше в молММСК, чем во взрММСК.

Таким образом, чем на более раннем этапе онтогенеза животных получают ММСК, тем больше оказывается их пролиферативный потенциал и тем эффективнее их нейропротекторное действие. Анализ причин таких различий поможет приблизиться к пониманию проблемы старения.

Работа поддержана грантом Президента РФ МД-2065.2018.4

## ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ОНТОГЕНЕЗА МУТАНТОВ ПО ГЕНУ "WHITE" ИМАГО DROSOPHILA MELANOGASTER

Емелина Ю.А.<sup>1</sup>, Костенко В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*emelina-yulya@mail.ru*

Открытый в начале XX века ген white дрозофилы и сегодня остается удобной моделью, поскольку он характеризуется сложной аллельной структурой (более 2400 вариантов гена) и проявляет плейотропное действие, которое затрагивает изменение фенотипа (происходит



изменение цвета глаз: от полной депигментации до окрашенных в оттенки коричневого), а также влияет и на ряд важных адаптивных признаков. Поэтому цель данного исследования: изучить в сравнительном аспекте изменчивость признаков приспособленности в онтогенезе имаго *Drosophila*, мутантных по гену *white*. В работе были использованы мутантные линии:  $w^1_{C-S}$ ,  $w^a_{C-S}$ ,  $w^{sat}_{C-S}$  и линия дикого типа C-S ( $w^+$ ). Онтогенетическую изменчивость признаков приспособленности (плодовитость, жизнеспособность и гибель на постэмбриональной стадии развития) оценивали в течение 21 дня жизни имаго. Анализ 3-дневных имаго с мутантным аллелем  $w^1$  показал, что они характеризуется низкими значениями плодовитости и жизнеспособности и высоким уровнем смертности на постэмбриональной стадии развития по сравнению с другими исследуемыми аллелями гена *white*. Угнетение репродуктивной функции у мутантов  $w^1$  произошло на 12 сутки. Для аллелей  $w^a_{C-S}$  и  $w^{sat}_{C-S}$  репродуктивный потенциал сохранялся в течение 12 дней, полученные значения достоверно не отличались от показателей 3-дневных молодых имаго. Данные дисперсионного анализа (FactorialANOVA) позволили сделать вывод о существенном статистически значимом влиянии факторов: аллель и возраст родителей на формирование адаптационных возможностей организма. При этом сила влияния для плодовитости составила 45 % (аллель) и 54 % (возраст), для жизнеспособности – 33% (аллель) и 30% (возраст), а для постэмбриональной гибели – 31% (аллель) и 48% (возраст). Как известно, старение приводит к накоплению ошибок в ДНК, увеличению промежуточных токсичных метаболитов, поэтому изменения репродуктивной функции у мутантов по гену *white* скорее всего связаны с увеличением пула токсичных метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана, а также с изменением активности некоторых ферментов, которые регулируют основные гормоны репродуктивной системы дрозофилы.

## ВЛИЯНИЕ СТРЕСС-СВЯЗАННЫХ ГОРМОНОВ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ У САМОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Еремина М.А.<sup>1</sup>, Карпова Е.К.<sup>1</sup>, Груntenко Н.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный Исследовательский Центр Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*eremina@bionet.nsc.ru*

Исследования на дрозофиле определили эволюционную консервативность сигнального каскада инсулина/инсулиноподобных факторов роста (И/ИФР) и его участие в регуляции метаболического гомеостаза и устойчивости к различным видам стрессоров. Двумя основными формами циркулирующих углеводов у дрозофилы являются глюкоза и трегалоза (дисахарид глюкозы). Глюкозу насекомое получает из внешних источников (с пищей), тогда как трегалоза синтезируется в жировом теле (аналоге печени/жировой ткани млекопитающих), циркулирует в гемолимфе и поглощается мышечными тканями, где метаболизируется до глюкозы. Глюкоза служит первичным источником энергии как у мух, так и у млекопитающих, в то время как трегалоза выполняет физиологическую функцию только у насекомых и служит главным источником энергии для полета. Использование эволюционной консервативности И/ИФР дает возможность анализировать механизмы, лежащие в основе развития сахарного диабета, и позволяет осуществлять экспериментальное изучение действия факторов, которые могут оказывать провоцирующее его воздействие, в тех случаях, когда исследование на человеке невозможно. Одним из таких факторов является стресс – универсальный ответ живых организмов на любые неблагоприятные воздействия. Установлено, что в стресс-реакцию имаго дрозофилы вовлечены различные гормоны, в частности, биогенные амины – дофамин (ДА) и октопамин (ОА), выполняющие нейротрансмиттерную, нейромодуляторную и нейрогормональную функции, ювенильный гормон (ЮГ) и 20-гидроксиэкдизон (20Э), играющие принципиальную роль в контроле репродуктивной функции у имаго насекомых. Цель настоящего исследования – изучение влияния теплового стресса на углеводный обмен самок *D. melanogaster* линии дикого типа Canton S (CS) в сочетании с изменением уровня стресс-связанных гормонов (ДА, ОА, ЮГ, 20Э). Установлено, что у самок *D. melanogaster* линии дикого типа Canton S (CS): 1) ДА и ЮГ оказывают ингибирующий эффект на углеводный обмен в нормальных условиях; 2) ОА и 20Э оказывают стимулирующий эффект на уровень основного углевода насекомых, трегалозы, однако ингибирующий на уровень глюкозы в нормальных условиях; 3) ДА, ЮГ, 20Э оказывают



ингибирующий эффект на уровень обоих углеводов, ОА оказывает ингибирующий эффект на уровень глюкозы и стимулирующий на уровень трегалозы при тепловом стрессе. Полученные данные позволяют заключить, что гормоны, задействованные в нейроэндокринной стресс-реакции *D. melanogaster*, участвуют в регуляции углеводного обмена. Дальнейшая работа будет направлена на гормональное корректирование углеводного обмена у линий *D. melanogaster* с нарушениями И/ИФР.

## **ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ мРНК РЕЦЕПТОРА КОРТИКОЛИБЕРИНА 2-ГО ТИПА (CRF-R2) В МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ**

**Ереско С.О.<sup>1,2</sup>, Айрапетов М.И.<sup>1,3,2</sup>, Сексте Э.А.<sup>1</sup>, Иванищева К.А.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

*erescko.sergei@yandex.ru*

**Введение.** Нейромедиаторные системы мозга подвержены дисрегуляции при алкоголизме в период абстиненции, это может опосредованно способствовать патологическому влечению к алкоголю. Исследования показывают, что рецепторы кортиколиберина вовлечены в механизм развития алкогольной аддикции. В литературе имеются краткие сведения об экспрессии гена CRF-R2 в структурах мозга, ассоциированных с развитием патологического влечения к этанолу, у хронически алкоголизованных крыс в абстинентный период.

**Цель исследования.** Определить уровень мРНК CRF-R2 в структурах мозга крыс (префронтальная кора, гиппокамп, вентральная область покрышки) в период абстиненции в условиях длительной алкоголизации на первые и седьмые сутки.

**Методы исследования.** В экспериментах с хронической алкоголизацией 42 взрослые крысы подвергли полунасильственной алкоголизации 15%-ным раствором этанола в течение 6-ти месяцев. Контрольная группа животных получала воду. Первую группу из 14 алкоголизованных крыс декапитировали через 6 месяцев алкоголизации, остальных на первые и седьмые сутки абстиненции соответственно. Образцы необходимых структур мозга немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -80°C. Уровень мРНК CRF-R2 определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Величину экспрессии гена CRF-R2 нормировали уровню экспрессии гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы.

**Полученные результаты и их обсуждение.** На первые сутки абстиненции отмечается увеличение уровня мРНК CRF-R2 в сравнении с группой хронической алкоголизации на 16% в гиппокампе, на 17% в префронтальной коре, на 52% в вентральной области покрышки. Уровень мРНК CRF-R2 на седьмые сутки отмены алкоголя также в сравнении с группой хронической алкоголизации повышен по-прежнему на 16% в гиппокампе, на 29% в префронтальной коре и в 2,4 раза в вентральной области покрышки. Результаты показывают, что на фоне хронической алкоголизации наблюдается дисрегуляция экспрессии гена CRF-R2 в период абстиненции, что может свидетельствовать об опосредованном участии CRF-R2 в механизмах патологического влечения к этанолу.

**Выводы.** При длительной алкоголизации происходит дисрегуляция экспрессии рецепторов кортиколиберина 2-го типа (CRF-R2) в структурах мозга крыс, наблюдается увеличение уровня мРНК CRF-R2 в условиях отмены алкоголя у хронически алкоголизованных животных на первые и седьмые сутки.



## УЧАСТИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЗАЖИВЛЕНИИ КОЖНОЙ РАНЫ

**Жданова А.В.<sup>1</sup>, Высокова О.А.<sup>1</sup>, Петрова И.М.<sup>1</sup>, Хацко С.Л.<sup>1</sup>, Колесникова Т.О.<sup>1</sup>,  
Глухарева Т.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*alena.zhdanova.1996@mail.ru*

Известно, что тучные клетки могут напрямую влиять на качество и скорость ранозаживления, активируя фибробласты. На модели линейной кожной раны нами были изучены основные аспекты участия мастоцитов в регенерации покровов. В качестве экспериментальных животных использовали 12 лабораторных крыс, самцов, которым моделировали линейную кожную рану, объединенных в 2 группы: контроль, воздействие 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина на кожу по 0,5 г. (ранее это вещество показало себя как активатор фибробластов). Животных выводили из эксперимента на 3, 7 и 14 сутки. Для гистологического исследования кожи использовали стандартные методики с изготовлением срезов 3 мкм и окрашиванием их азуром П. Оценка проводилась с помощью светового микроскопа при увеличении в 400 раз. Подсчет количества мастоцитов проводили в 10 случайных полях зрения на 100 клеток препарата. Статистическую обработку результатов проводили в программах «Microsoft Excel» и «Статистика 6.0» с использованием критерия Манна-Уитни и теста Спирмена с вероятностью ошибки ( $p$ ) < 0,05.

Тучные клетки активно вовлекаются в процессы регенерации. На 3 сутки эксперимента мастоциты в большом количестве локализируются перифокально, в основном вокруг сосудов, повышая их проницаемость для реализации воспалительной реакции. Уровень тучных клеток ещё больше увеличивается к 7 суткам, что коррелирует с развитием грануляционной ткани, причем, мастоциты локализируются не только вокруг сосудов, но появляются и в самом очаге поражения. Здесь они повышают регенераторный потенциал, выделяя различные цитокины и факторы роста. На стадии реорганизации рубца, то есть на 14-е сутки, тучные клетки выполняют регуляторную роль. При высокой степени ранозаживления они регулируют пролиферацию и дифференцировку фибробластов. На 3 и 7 сутки в опытных группах наблюдается односторонний процесс: с увеличением тучных клеток идёт увеличение фибробластов. Однако, на 14 - е сутки эксперимента картина меняется. В группе «триазол», где фибробласты уже стимулированы, корреляционный анализ с использованием критерия Спирмена обнаружил обратную корреляцию ( $R = -0,568$ ,  $p$ - level 0,017): чем больше тучных клеток, тем меньше фибробластов. Таким образом, мастоциты ограничивают пролиферацию фибробластов, чтобы избежать процессов фиброза и формирования грубого рубца.

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ У ЛЯГУШКИ ОЗЕРНОЙ

**Жидоморова Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*ario1522@mail.ru*

Цель исследования – изучить сезонную динамику фагоцитарной активности у лягушки озерной (*Rana ridibunda* Pall.)

Материалы и методы. В работе использовали кровь лягушек вида *Rana ridibunda*, пойманных в р. Везёлка в черте г. Белгорода. В эксперимент отбирали особей в летний период в течение июня и июля ( $n=22$ ), а также в осенний период в течение сентября и октября ( $n=20$ ). Кровь получали путём пункции сердца, предварительно усыпив животных хлороформом. Исследования выполнены с соблюдением всех требований Хельсинкской декларации по гуманному обращению с животными (Хельсинкская декларация этических принципов, 2008) и директивами Совета Европейского Сообщества по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Фагоцитарную активность лейкоцитов изучали согласно способу А.Х. Коган (патент на изобретение РФ №2143693, № заявки 99107424/14, дата приоритета 06.04.1999). Лейкоцитарную массу отделяли путём двукратного центрифугирования при 1500 об/мин. В



качестве объекта фагоцитоза использовали взвесь пекарских дрожжей (ПД), окрашенных 10% раствором трипанового синего. В работе не проводили опсонизацию взвеси ПД плазмой IV группы крови человека. Лейкоцитарную массу и взвесь ПД смешивали в равных пропорциях и инкубировали в термостате при 37°C в течение 1 часа. Мазки готовили на обезжиренных стёклах по стандартной методике, и окрашивали по Романовскому-Гимзе. Подсчет числа клеток, вступивших в фагоцитоз, и общее число фагоцитов осуществляли на микроскопе Микромед 2. Оценивали фагоцитарную активность лейкоцитов на основании фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ). Фагоцитарный индекс рассчитывали как процент клеток, вступивших в фагоцитоз, от общего числа фагоцитов. Фагоцитарное число рассчитывали как среднее количество частиц, поглощённых фагоцитами. Результаты экспериментальных исследований обработаны методами вариационной статистики. Достоверность различий между пробами определяли с использованием U-критерия Манна-Уитни при  $p < 0,05$ .

Результаты. В результате проведенных исследований установлена повышенная фагоцитарная активность лейкоцитов у лягушек в летний период по сравнению с осенним. Так, у особей, пойманных в летний период, ФИ составил  $39,2 \pm 1,8\%$ , ФЧ -  $2,2 \pm 0,1$ . У особей, пойманных в осенний период, ФИ составил  $28,2 \pm 1,6\%$ , ФЧ -  $1,7 \pm 0,1$ . ФИ лейкоцитов у особей в летний период был повышен на 39% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с осенним периодом.

Закключение. В результате проведенных исследований установлено достоверное снижение фагоцитарного индекса лейкоцитов лягушки озерной и выявлена тенденция снижения значений фагоцитарного числа в осенний период, что свидетельствует о снижении активности иммунной системы в связи с сезонным затуханием гемопоэза и подготовкой организма к переходу в состояние анабиоза.

## ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ГИСТОФИЗИОЛОГИИ ПОКРОВОВ ТЕЛА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ КЛАССОВ

Завьялов С.Н.<sup>1,2</sup>, Едоменко Н.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

*chegresssss@mail.ru*

В основе эволюционных преобразований живых организмов, как известно, лежат компенсаторно-приспособительные реакции, протекающие на всех уровнях организации и направленные на адаптацию организма к новым условиям обитания. Одним из органов, обеспечивающих компенсаторно-приспособительные реакции организма, является кожный покров.

В качестве объектов исследования выступили представители животных, относящиеся к семи разным классам: Червь навозный, Африканская улитка ахатина, Гуппи, Шпорцевая лягушка, Испанский тритон, Йеменский хамелеон, Красноухая черепаха, Домашняя индейка, белая беспородная лабораторная крыса.

Прежде всего, нами установлено, что в эволюции происходит постепенное истончение эпидермиса. Так, если у Червя навозного данный показатель составил  $78,99 \pm 0,641$  мкм, то у Гуппи он снизился до  $19,99 \pm 0,491$  мкм и достиг наименьшей величины ( $6,8 \pm 0,326$  мкм) у Домашней индейки. Это явление можно объяснить тем, что у червя кожа представлена только эпидермисом и не имеет других слоёв.

С ходом эволюции происходит изменение типа эпителия. Так, у червя и моллюска эпителий является однослойным, а у рыб впервые появляется многослойный плоский неороговевающий эпителий, который у земноводных преобразуется в многослойный плоский ороговевающий. Кроме того, изменяется и активность клеток, входящих в состав эпидермиса, о чем свидетельствует статистически значимое постепенное возрастание ядерно-цитоплазматического отношения базальных эпителиоцитов с  $0,06$  у червя и до  $2,26$  у лабораторной крысы.

В то же время у разных представителей животного мира, за исключением червей, в коже появляются дополнительные структуры: дерма, гиподерма и др. Максимального развития дерма достигает у Испанского тритона ( $1071,34 \pm 27,612$  мкм) и Красноухой черепахи ( $658,98 \pm 11,333$



мкм), в то время как у рыб исследуемый показатель составляет всего  $13,57 \pm 0,448$  мкм. Наряду с этим у теплокровных животных формируется слой гиподермы, поддерживающий температурный гомеостаз.

Эволюция железистого аппарата кожи шла в направлении преобразования от одноклеточных внутриэпидермальных желез к многоклеточным интрадермальным. Эти изменения сопровождаются повышением активности секреторных эпителиоцитов, о чем свидетельствует увеличение ядерно-цитоплазматического отношения этих клеток.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют сделать заключение о том, что в эволюции происходят существенные преобразования кожных покровов, направленные на приспособление организма к новым условиям обитания.

## **ВЛИЯНИЕ ПРИЕМА САХАРОЗЫ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВООБРАЩЕНИЯ МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ В ПЕРИОД ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА**

**Кальдинова О.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*proriv2015@yandex.ru*

В современном мире возрастает количество и уровень стрессовых ситуаций в жизни человека. В связи с этим возникает необходимость использования в качестве седативного средства вещества с малым количеством побочных эффектов. Одним из таких веществ является сахароза. Прием сахарозы вызывает возбуждение центра удовольствия, выброс серотонина и снижение уровня кортизола, вследствие чего происходит нормализация процессов регуляции жизнедеятельности.

Целью исследования являлось изучение реакции сердечно-сосудистой системы в ответ на прием сахарозы. В эксперименте участвовало 10 человек в возрасте 18-20 лет. Участников были измерены показатели ЧСС и АД в состоянии покоя и стресса (до и через 30 минут после приема сахарозы). Вычислены производные показатели системного артериального давления: АДП, СГД, а также систолический объем крови (СОК, мл), вычисляемый по Старру. В состоянии покоя проведена кардиоритмография для определения показателя ИНРС (стресс-индекс) и определения преобладающего типа ВНС.

Во всех состояниях присутствовала корреляция между показателями АДС-СГД ( $r_{\text{п}}=0,86$ ,  $r_{\text{с}}=0,95$ ,  $r_{\text{г}}=0,84$ ); АДД-СГД ( $r_{\text{п}}=0,92$ ,  $r_{\text{с}}=0,84$ ,  $r_{\text{сак}}=0,92$ ), АДП-СОК ( $r_{\text{п}}=0,79$ ,  $r_{\text{с}}=0,82$ ,  $r_{\text{сак}}=0,82$ ).

В стрессовом состоянии у испытуемых достоверно повышались ЧСС с  $75 \pm 3,5$  до  $90 \pm 6,4$  ударов в минуту и показатели системного давления: АДС с  $110 \pm 3$  мм.рт.ст до  $119 \pm 4,7$  мм.рт.ст., АДД  $68 \pm 2,7$  мм.рт.ст. до  $76 \pm 1,9$  мм.рт.ст и СГД с  $86 \pm 2,5$  мм.рт.ст до  $94 \pm 2,8$  мм.рт.ст. В ходе исследования было выявлено достоверное различие между ЧСС в состоянии стресса и ЧСС после приема глюкозы по критерию Вилкоксона ( $W=49$ ,  $p \leq 0,05$ ).

После приема глюкозы произошло снижение частоты сердцебиения на 13% и 13 уд/мин: в состоянии стресса ЧСС= $90 \pm 6,4$ , после приема сахарозы ЧСС= $77 \pm 4,7$ . Тенденция к снижению ЧСС наблюдалась у всех испытуемых вне зависимости от доминирующего типа ВНС. На показатели артериального давления прием сахарозы влияния не оказал.

Согласно полученным данным, прием сахарозы избирательно влияет на регуляцию хронотропной функции сердца (ритм), вероятно не оказывая воздействия на тонус артерий большого круга кровообращения. Вследствие этого параметры системного АД не имели достоверной динамики в тесте с сахарозой.

Можно предполагать, что снижение ЧСС на завершающем этапе наблюдений может быть связано как с возникшим вследствие приема сахарозы действием парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, так и с наступлением фазы адаптации к стрессу и требует проведения дополнительных исследований.





## ИЗУЧЕНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ 5-АМИНОИМИДАЗОЛ-4-КАРБОКСАМИДРИБОФУРАНОЗИДА (АИКАР) НА МОДЕЛЬНОМ ОРГАНИЗМЕ *CAENORHABDITIS ELEGANS*

**Каткова-Жукоцкая О.А.<sup>1</sup>, Еремина С.Ю.<sup>1</sup>, Миронов А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*citonica@mail.ru*

5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибофуранозид (АИКАР) – природное соединение, аналог и предшественник аденозина. Являясь активатором АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК), АИКАР имеет широкий терапевтический потенциал, так как он нормализует углеводный и липидный обмен и ограничивает пролиферацию опухолевых клеток. Показана эффективность АИКАР в предупреждении сахарного диабета 2 типа. АИКАР индуцирует апоптоз, он эффективен при хронических и острых лейкозах.

В последнее время в мире наблюдается значительный интерес к изучению механизмов старения и поиску новых препаратов и средств, направленных на продление жизни и увеличение активного периода.

Считается общепринятым представление о том, что продолжительность жизни различных организмов увеличивается при умеренном энергетическом стрессе. Известно, что АИКАР в результате фосфорилирования становится природным аналогом АМФ и способен имитировать энергетический стресс.

В данной работе мы изучали влияние АИКАР на продолжительность жизни почвенных нематод *Caenorhabditis elegans*, являющихся традиционным модельным объектом для разнообразных генетических, биохимических и медицинских исследований. Нематоды – удобный модельный объект для поиска новых веществ с геропротекторной активностью (понятие «геропротекторная активность» подразумевает биологически активное действие, замедляющее старение и продлевающее жизнь) из-за легкости культивирования, возможности добавления препаратов непосредственно в среду роста и быстрого анализа изменения продолжительности жизни.

Продолжительность жизни нематод оценивалась путем определения временного интервала, который соответствует выживаемости 50% популяции (СПЖ – средняя продолжительность жизни).

Мы обнаружили, что при выращивании нематод *C. elegans* N2 на среде без добавления АИКАР СПЖ находится в пределах 17,2 дней, а при выращивании на среде с добавлением раствора АИКАР в концентрации 0,05 мМ и 0,1 мМ СПЖ находится в пределах 19,6 дней, что соответствует увеличению СПЖ на 14%. В качестве корма использовался стандартный для культивирования нематод штамм *E. coli* OP50.

Рассматривая возможный молекулярный механизм геропротекторного действия АИКАР, прежде всего, следует принять во внимание способность АИКАР активировать фермент АМФ-зависимую протеинкиназу (АМФК), который является глобальным регулятором энергетического метаболизма в клетках эукариот и заключить, что АИКАР проявляет геропротекторную активность, за счет активации АМФК.

Работа поддержана грантом Министерства образования и науки Российской Федерации №14.Z50.31.0014.

## ВЛИЯНИЕ ТКАНЕВЫХ СТИМУЛЯТОРОВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С БОЛЬНЫХ ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ

**Кахоров Б.А.<sup>1</sup>, Саидова Д.Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт зоологии НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан

*qaxorov@mail.ru*

Проблема загрязнения окружающей среды и связанного с этим нарушения экологического равновесия в природе на сегодня очень актуальна. Многочисленными исследователями установлено, что неблагоприятные экологические условия негативно влияют на живые организмы. Это приводит к увеличению заболеваний, связанных с хронической интоксикацией, снижению



резистентности организма и увеличению доли болезней инфекционной этиологии. Стимуляторами принято считать такие вещества, которые активируют физиологические процессы и мобилизуют его функциональные резервы, имеющиеся в каждом организме.

В соответствии со способами применения тканевых препаратов готовится определенная его форма. По методике В.П. Филатова (1933) нами получен тканевой препарат и по 0,2 мл вводили внутримышечно экспериментальным животным (крысам) страдающими с токсическим гепатитом. Было установлено, что под влиянием  $CCl_4$  происходит снижение способности к иммунному ответу в 3,9 раза, поскольку количество антителообразующих клеток селезенки (АОК/сел) составило  $1290 \pm 170$ , что ниже по сравнению с интактными животными. В селезенке этих животных в среднем  $5043 \pm 671$  (АОК/сел), ( $P < 0,001$ ). В результате чего вызван выраженный иммунодефицит, который проявился в снижении способности образовывать антителообразующие клетки. Введение тканевых препаратов способствовало выраженной стимуляции иммунной реакции антителообразующих клеток. При этом в селезенке у крыс (АОК/сел) составило  $4543 \pm 602$ . Между этими группами различия были достоверными ( $P < 0,05$ ). В результате исследований показали, что после введения препарата количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке у экспериментальных крыс, страдающих с токсическим гепатитом увеличилось на 3,5 раза по сравнению с контрольной группой. Это объясняется тем, что стимулирующий эффект при введении тканевых препаратов улучшает здоровье животных и стимулирует иммунную систему.

Таким образом, при изучении влияния тканевых препаратов наблюдается прирост масса тела животных по сравнению с контролем. Влияние стимулирующего эффекта на иммунную систему тканевых препаратов показывает, что при восстановлении иммунитета у животных повышается прирост и увеличивается количество антителообразующих клеток. Полученные данные по применяемым биологических стимуляторов могут найти практическое применение в животноводстве при нарушении физиологического состояния животных.

## СРАВНЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ЭНДОГЕННЫХ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ $I_{\text{min}}$ И $I_{\text{crac}}$ В КЛЕТКАХ НЕК293

Колесников Д.О.<sup>1</sup>, Перевозникова А.В.<sup>1</sup>, Скопин А.Ю.<sup>1</sup>, Глушанкова Л.Н.<sup>1</sup>,  
Казначеева Е.В.<sup>1</sup>, Шалыгин А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*koledmi3@mail.ru*

Кальций участвует в регуляции жизнедеятельности клетки. Он может поступать в цитоплазму из внутриклеточного депо — эндоплазматического ретикулума и/или из внеклеточного пространства.

Снижение концентрации кальция в ретикулуме активирует депо-управляемые каналы, встроенные в клеточную мембрану. Через них кальций попадает в цитоплазму, откуда закачивается в депо. Нарушение работы этой системы ведет к различным патологиям.

Молекулярный состав и электрофизиологические свойства большинства эндогенных депо-управляемых каналов изучены недостаточно. Полностью расшифрован молекулярный состав только одного канала —  $I_{\text{crac}}$ , образованного белками  $Orai$ . При этом электрофизиологические свойства канала изучены не полностью из-за его малой проводимости.

Напротив, существуют каналы, электрофизиологические характеристики которых изучены лучше, однако их молекулярный состав изучен отчасти или о нем ничего неизвестно, например, эндогенный канал  $I_{\text{min}}$ . Он обладает схожими электрофизиологическими характеристиками с каналом  $I_{\text{crac}}$ , но его проводимость на 2 порядка выше. Что позволяет подробнее изучать его электрофизиологические свойства.

Выделяют два подхода к изучению регуляции ионных каналов: исследование их электрофизиологических характеристик и расшифровка молекулярного состава каналов.

Мы дополнили уже известные электрофизиологические характеристики канала  $I_{\text{min}}$ , показав, что для раствора кальция активность каналов  $I_{\text{min}}$  уменьшается со снижением концентрации кальция в наружном растворе, что коррелирует со свойством канала  $I_{\text{crac}}$ .

Используя метод локальной фиксации потенциала и ратиометрический краситель  $fura2-AM$ , мы сравнили активность каналов  $I_{\text{min}}$  и оценили изменение суммарного входа кальция в



контрольных клетках НЕК293 и в клетках, в которых эндогенные каналы Orai не функционировали. Последние получали при помощи двух методов.

Оверэкспрессировали доминантно-негативные мутанты Orai в клетках НЕК293. Это белки, которые встраиваясь в эндогенные каналы Orai, нарушают их проводимость.

И использовали клетки, полученные при помощи системы модификации клеточного генома CRISPR-Cas9. В них не функционировали гены, кодирующие белки Orai.

Согласно нашим данным, каналы  $I_{min}$  активны только при наличии в клетке функционирующих белков Orai. Т.к. электрофизиологические свойства каналов  $I_{min}$  и  $I_{сrac}$  похожи, как и механизмы их регуляции (белками Orai), мы сделали вывод, что в состав каналов  $I_{min}$  входят белки Orai.

Исследование было поддержано грантами РФФ № 14-14-00720

## ПУРИНЕРГИЧЕСКИЕ P2Y РЕЦЕПТОРЫ В НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

**Котова П.Д.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУНИнститут биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*polinakotova88@gmail.com*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию клеток, включающую недифференцированные мультипотентные клетки, способные дифференцироваться в клетки как минимум костной, хрящевой и жировой тканей. Внеклеточный АТФ и другие нуклеотиды, распознаются множественными ионотропными (P2X) и метаботропными (P2Y) пуринорецепторами, и вовлечены в аутокринные и паракринные регуляции в самых разных клеточных системах. Ранее нами было показано, что МСК экспрессируют гены P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>, P2Y<sub>6</sub>, P2Y<sub>11</sub>, P2Y<sub>13</sub>, P2Y<sub>14</sub> пуринорецепторов. Однако вопрос, являются ли эти рецепторы функциональными, оставался открытым. В данной работе мы попытались ответить на этот вопрос с помощью первичной культуры МСК, выделенных из жировой ткани человека, микрофотометрии, Ca<sup>2+</sup>-зондов и специфических агонистов P2Y рецепторов.

В общей сложности, нами была проанализирована выборка из 1077 МСК, которые последовательно стимулировали АТФ и специфическими агонистами различных P2Y рецепторов, в 25% клеток АТФ инициировал мобилизацию внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. Оказалось, что в сравнении с природными агонистами специфические P2Y агонисты проявляли гораздо меньшую эффективность и мобилизовали Ca<sup>2+</sup> только в 9,2%. На агонист P2Y<sub>1</sub> MRS 2365 ответило 9% клеток, на агонист P2Y<sub>2</sub> MRS 2768 – 3%, агонист P2Y<sub>4</sub> MRS 4062 – 29%, агонист P2Y<sub>6</sub> MRS2693 – 1% (n=268). Агонист же P2Y<sub>11</sub> рецептора NF 546 никогда не стимулировал Ca<sup>2+</sup>-сигналы в МСК, что не согласовывалось с нашими данными об экспрессии гена P2Y<sub>11</sub> рецептора в этих клетках. Для разрешения этого противоречия мы использовали антагонист P2Y<sub>11</sub> рецептора NF 340, который исключительно эффективно (93%) блокировал Ca<sup>2+</sup>-сигнализацию, инициированную АТФ (n=169). Эти данные свидетельствовали о том, что в МСК P2Y<sub>11</sub> рецептор может выполнять роль ключевого АТФ рецептора. В качестве одного из возможных контролей для проверки этой идеи мы проанализировали чувствительность МСК к другим природным агонистам P2Y<sub>11</sub> рецептора – β-NAD<sup>+</sup> и NAADP<sup>+</sup>. Оказалось, что все АТФ-чувствительные МСК генерировали полноценные Ca<sup>2+</sup>-ответы на β-NAD<sup>+</sup> и NAADP<sup>+</sup>, и эти ответы полностью блокировались в присутствии антагониста P2Y<sub>11</sub>, свидетельствуя о том, что именно P2Y<sub>11</sub> рецептор определял чувствительность МСК к β-NAD<sup>+</sup> и NAADP<sup>+</sup>.

Таким образом, по совокупности полученных данных можно заключить, что в МСК из жировой ткани человека функционируют P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>, P2Y<sub>6</sub>, P2Y<sub>11</sub>рецепторы, при этом основным рецептором, определяющим чувствительность МСК к АТФ является P2Y<sub>11</sub> рецептор.

Работа поддержана стипендией Президента РФ молодым ученым и аспирантам СП-924.2018.4.



## МСК ГЕНЕРИРУЮТ $\text{Ca}^{2+}$ -ОТВЕТЫ НА АДЕНОЗИН ПО ПРИНЦИПУ «ВСЁ ИЛИ НИЧЕГО»

**Кочкина Е.Н.<sup>1</sup>, Черкашин А.П.<sup>1</sup>, Котова П.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*kate-kochkina@yandex.ru*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой недифференцированные мультипотентные клетки, способные дифференцироваться в клетки как минимум костной, хрящевой и жировой тканей. В данной работе МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре, и изучали с использованием микрофотометрии,  $\text{Ca}^{2+}$ -зондов и ингибиторного анализа.

Ранее нами было показано, что популяция МСК гетерогенна и содержит субпопуляции клеток специфически чувствительных к различным агонистам, включая аденозин, который оказался способен стимулировать  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализацию в 5-15% клеток. Ранее нами было показано, что для генерации  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов на аденозин МСК используют фосфолипазный путь. В данной работе исследования  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализации, инициируемой в МСК внеклеточным аденозином, были продолжены.

Интересной особенностью ответов МСК на аденозин оказалось то, что генерация аденозин-зависимых  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналов носила пороговый характер. Аденозин никогда не вызывал детектируемых ответов при концентрациях ниже пороговой (0,1–1 мкМ), в то время как при концентрациях, превышающих пороговую, аденозин инициировал  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы, амплитуда которых слабо зависела от его дозы. Иными словами, клетки генерировали  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы на аденозин по принципу «всё или ничего».

Еще одной характерной чертой ответов на аденозин было то, что они заметно отсрочены от момента аппликации агониста; при этом, длительность задержки ответа уменьшалась при повышении концентрации агониста. Так, при средней пороговой концентрации аденозина (0,5 мкМ) задержка  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов в среднем составляла 60с, тогда как при насыщающих концентрациях (2,5–5 мкМ) средняя задержка падала до 25с, причем амплитуды ответов оставались примерно равными (n=5).

Обнаруженные особенности ответов на аденозин - независимость амплитуды ответов от концентрации аденозина и зависимость задержки ответа от его концентрации – трудно объяснить только в рамках фосфоинозитидного сигнального пути. В связи с этим мы полагаем, что трансдукция сигнала протекает в две следующие друг за другом стадии: на первом этапе аденозин вызывает небольшой  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнал, который при достижении некоторого порогового уровня запускает  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый триггерный процесс и тем самым усиливается до насыщающего уровня, независимого от концентрации агониста. Для подтверждения нашего предположения будут проводиться дальнейшие исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00365 мол\_a.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СЕРДЕЧНОГО МИОЗИНА ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ПРЕДСЕРДИЙ С ПОМОЩЬЮ IN VITRO ПОДВИЖНОЙ СИСТЕМЫ

**Кощеева О.И.<sup>1,2</sup>, Ощепкова В.Ю.<sup>1,2</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>, Копылова Г.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*olyakoscheeva@yandex.ru*

На сегодняшний день практически ничего не известно о молекулярных механизмах, лежащих в основе патогенеза предсердий. Мы исследовали функциональные характеристики миозина, выделенного из правого предсердия человека с патологией трикуспидального клапана и фибрилляцией предсердий.

Образцы миокарда правого предсердия человека с нарушением работы клапанов различного генеза, с поражением сосудов желудочка получены из кардиологического отделения ОКБ №1 (Екатеринбург). Исследован миозин из двух образцов. Миозин №1 был выделен из



миокарда правого предсердия с тромбозом протеза митрального клапана. На момент операции пациенту был 41 год, дата постановки диагноза неизвестна. Миозин №2 был получен из миокарда правого предсердия пациента со стенозом митрального и трикуспидального клапанов при ревматизме и фибрилляцией предсердий. Пациенту на момент операции исполнился 61 год, диагноз был поставлен в детстве.

С помощью *invitro* подвижной системы мы измерили скорость скольжения актиновых филаментов по исследуемому миозину, а также проанализировали кальциевую зависимость скорости тонких филаментов, реконструированных из актина, тропонина и тропомиозина, с помощью уравнения Хилла [Matyushenko *et al.*, 2018]. При патологиях сердца в миокарде увеличивается экспрессия скелетного  $\alpha$ -актина [Izumo *et al.*, 1988], поэтому мы использовали скелетный  $\alpha$ -актин, выделенный из *m. psoas* кролика. Тропонин получали из миокарда левого желудочка быка. Сердечный  $\alpha$ -тропомиозин человека был экспрессирован в *E. Coli*, как описано ранее [Matyushenko *et al.*, 2018].

Максимальная скорость скольжения тонких филаментов по миозину №2 была ~ на 30% меньше, чем по миозину №1, значение  $pCa_{50}$  незначительно уменьшилось – с 6.46 до 6.38. Такое изменение скорости тонких филаментов можно объяснить изменением состава изоформ тяжелых цепей миозина (ТЦМ). Обнаружено, что миозин №1 содержал преимущественно  $\alpha$ -ТЦМ, миозин №2 – 50%  $\alpha$ -ТЦМ и 50%  $\beta$ -ТЦМ.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 18-015-00252.

## ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ХЕЛАТОРА ЖЕЛЕЗА (ДЕФЕРОКСАМИНА), НА КЛЕТКИ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА IN VITRO

**Крицкая К.А.<sup>1</sup>, Петренко В.С.<sup>1</sup>, Ларюшкин Д.П.<sup>1</sup>, Наумов А.А.<sup>2</sup>, Поцелуева М.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*kritskaya96@list.ru*

Железо является жизненно важным элементом, который входит в состав гемоглобина, миоглобина, геминных ферментов. В тоже время железо необходимо для роста клеток, в большом количестве его потребляют клетки опухоли. Оно необходимо им для поддержания высокого уровня пролиферативной активности. в связи с чем различные хелаторы железа могут быть использованы для уменьшения скорости роста опухоли. Дефероксамин (ДФО) один из перспективных препаратов в этой области, благодаря своей хорошо задокументированной истории клинической безопасности и эффективности при лечении заболеваний перегрузки железа. ДФО, как показали исследования, ингибирует синтез ДНК и пролиферацию клеток, индуцирует апоптоз в некоторых клеточных популяциях опухоли. Тем не менее, способность ДФО для ингибирования роста опухоли исследована слабо.

В рамках данной работы было проведено исследование препарата дефероксамина «Desferal» на культуре клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). Клетки опухоли, изъятые из брюшной полости опухоленосителя были получены методом центрифугирования в градиенте плотности Percol/NaCl. Клетки культивировались при 37° С в среде DMEM с 10% эмбриональной сыворотки, буфер – 25mM HEPES.

В экспериментах исследовалось действие различных концентраций ДФО от 10<sup>-7</sup> до 10<sup>-3</sup> моль/л. При действии различных концентраций ДФО на рост АКЭ было установлено дозозависимое влияние препарата на рост клеток. Так минимальные концентрации ДФО (10<sup>-7</sup> моль/л) вызывали угнетение роста на ~10%, тогда как максимальные концентрации ДФО (10<sup>-3</sup> моль/л) снижали интенсивность роста опухолевых клеток на ~95%. При этом не наблюдалось увеличения концентрации мертвых клеток, что говорит об отсутствии цитотоксического эффекта.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что препарат дефероксамина «Desferal» обладает цитостатической активностью, подавляя пролиферацию клеток асцитной карциномы Эрлиха.



## **МОРФОЛОГИЯ ТИБИОФЕМОРАЛЬНОГО СУСТАВА КРЫСЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ: 3D-РЕКОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ТЕХНИКИ ВЫСОКОТОЧНОГО СОШЛИФОВЫВАНИЯ**

**Крылов П.А.<sup>1</sup>, Астахов А.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*p.krylov.volsu@yandex.ru*

Остеоартроз занимает лидирующую позицию в списке наиболее распространённых заболеваний опорно-двигательного аппарата. Многообразие методов, применяемых в современной медицине для лечения остеоартроза, является свидетельством достаточной сложности развития этого заболевания. Для оценки морфометрических параметров в настоящее время используются гистологические препараты исследуемых тканей, это позволяет анализировать те или иные морфологические особенности. В течение последних лет развивались технологии позволяющие получать изображения ткани в натуральном цвете и размере, что позволяет более качественно проводить анализ, путем создания RGB-профиля 2D и 3D изображений.

Целью работы стало получение и анализ трехмерной реконструкции тибioфemorального сустава крысы в условиях изменения лубрикативных свойств синовиальной жидкости у крыс при экспериментальном остеоартрозе.

Экспериментальное исследование проводилось на 16 половозрелых белых крысах-самцах линии Wistar массой 250-300 г. Моделирование остеоартроза проводилось путем введения в коленные суставы 10 крыс суспензии стерильного медицинского талька. Животных выводили из эксперимента спустя 6 и 12 недель с помощью передозировки препарата «Bioveta», Чехия (200 мг/кг массы). Контрольную группу составили 6 интактных животных. Объектом 3D-реконструкции стали путем частичной препаровки с каждой стороны единым костно-мышечным блоком в объеме от дистальных эпифизов бедренной кости до проксимальных эпифизов большеберцовой кости.

В результате анализа серийных изображений суставного хряща тибioфemorального сустава сохранялся натуральный цвет и форма всех тканевых структур. Разрешающая способность была достаточна для морфометрической и цветовой оценки суставного хряща. Полученные результаты показали, что снижение лубрикативных свойств синовиальной жидкости привело к истончению суставного хряща по сравнению с интактным суставным хрящом. Фактор суставной поверхности незначительно увеличился. Яркость хрящевой ткани снизилась в 4 раза по сравнению с интактной группой, но к 12 неделям яркость увеличилась по сравнению с 6 неделями в 2 раза. При анализе RGB-профилей, видно, что цветовой компонент суставного хряща усиливается по направлению от суставной поверхности к глубокой зоне, как у интактных животных, так и с экспериментальным остеоартрозом.

Полученные результаты позволили дать оценку морфометрических и цветовых параметров суставного хряща тибioфemorального сустава крысы в условиях снижения лубрикативных свойств синовиальной жидкости с помощью 3D-реконструкции.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6J ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЫ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ**

**Кузьмина Д.М.<sup>1</sup>, Белоусова И.И.<sup>2</sup>, Мухина И.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им.

Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний

Новгород, Россия

*dariak2294@gmail.com*

Целью работы является исследование изменения локализации перинейрональных сетей внеклеточного матрикса в результате моделирования шизофреноподобного состояния у мышей путем длительной блокады NMDA-рецепторов мозга.

Исследование проводилось на мышях линии C57BL/6J (самцы), возраст 8 недель, использовался неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов – (-/-)МК-801. Блокада рецепторов осуществлялась в течение 10 дней. В контрольной группе животным вводили физиологический



раствор. Смоделированное шизофреноподобное состояние контролировалось изменением реакции предстимульного торможения.

Выявлено, что на четвертый день блокады NMDA-рецепторов наблюдаются нарушения реакции предстимульного торможения. К десятому дню при исследовании предстимульного торможения с использованием сигналов различного уровня громкости было показано, что снижение выраженности реакции предстимульного торможения у группы МК-801 по сравнению с контрольной группой наблюдаются, но достоверное различие выявлено лишь при подаче престаимула громкостью 76 Дб. Нарушение реакции предстимульного торможения подтверждает развитие шизофреноподобного состояния у животных.

Исследование парафинных срезов мозга с использованием иммуноцитохимического окрашивания показало, что в результате длительной блокады NMDA рецепторов происходит деградация перинеурональных сетей внеклеточного матрикса мозга, что подтверждается снижением агреган положительных нейронов в области миндалины головного мозга.

Таким образом, предстимульное торможение у мышей линии C57BL/6J в результате длительного введения МК-801 ингибируется, при этом наиболее выраженное изменение достигается при использовании престаимула громкостью 76 Дб, что подтверждает развитие шизофреноподобного состояния; длительное введение антагониста NMDA-рецепторов МК-801 вызывает деградацию перинеурональных сетей внеклеточного матрикса мозга в области миндалины.

## **РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ-КИНАЗ В АДАПТАЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ГИППОКАМПА К ДЕЙСТВИЮ ГИПОКСИИ IN VITRO**

**Логина М.М.<sup>1</sup>, Шишкина Т.В.<sup>1</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1,2</sup>, Ведунова М.В.<sup>1</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия

*marialoginova98@gmail.ru*

В настоящее время гипоксия рассматривается как одно из основных патогенетических звеньев повреждения клеток головного мозга при ишемическом воздействии. Поскольку ишемический инсульт является одной из наиболее распространенных причин смерти и инвалидизации людей во всем мире, одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является поиск веществ, способных защитить клетки головного мозга от повреждающего действия гипоксии как ключевого фактора ишемии.

Одной из возможных терапевтических мишеней являются ферменты киназы. Известно, что сигнальные пути, важнейшими элементами которых являются ферменты-киназы, оказывают своё действие как в норме, так и при различных патологиях. Поэтому очень важно изучить роль ключевых киназ в адаптации нервных клеток к действию неблагоприятных факторов.

Задачи: исследовать влияние селективных и неселективных ингибиторов киназ на жизнеспособность клеток первичных культур гиппокампа в норме и при моделировании гипоксии; оценить роль изучаемых киназ в реализации нейропротекторного действия GDNF.

Методы: получение и культивирование первичных культур клеток гиппокампа мыши; моделирование гипоксии *in vitro*; оценка жизнеспособности первичных культур с помощью окрашивания бис-бензимином и пропидий йодидом.

На первом этапе работы была проведена оценка роли ключевых киназ RET, RAF, MAP2K1/2, ERK2, AKT в устойчивости первичных культур нейронов гиппокампа к действию гипоксии. Показано, что аппликация ингибиторов RET и AKT киназ не вызывает достоверных изменений жизнеспособности в течение 7 дней.

На втором этапе было проведено исследование роли ключевых киназ в реализации действия GDNF. Исследование жизнеспособности клеток первичной культуры гиппокампа в контрольной группе (гипоксия) выявило достоверное увеличение числа мертвых клеток уже на следующие сутки после моделирования гипоксии. Показано, что GDNF (1нг/мл) защищает клетки от негативного действия гипоксии, жизнеспособность данной культуры группы не отличалась от



показателей интактной группы. Ингибирование RET киназы полностью блокирует нейропротекторный эффект GDNF.

Выводы: проведено исследование роли основных киназ, участвующих в реализации метаболических путей, активируемых GDNF, в адаптации клеток первичных культур гиппокампа к действию гипоксии. Показана важная роль RET киназы в поддержании жизнеспособности клеток при гипоксическом воздействии и в реализации нейропротекторного эффекта GDNF.

## **СПОСОБЫ СТАБИЛИЗАЦИИ СЕКРЕТОРНЫХ ГРАНУЛ В СОСТАВЕ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

**Макаров М.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

*mcsimmc@yandex.ru*

Тромбоциты человека содержат большое количество факторов тканевой репарации и регенерации и поэтому могут быть очень ценным материалом для создания раневых покрытий, биотрансплантатов, тканеинженерных конструкций. Однако при контакте со многими субстратами происходит активация тромбоцитов, которая сопровождается массовым выбросом их секреторных везикул (гранул). Это создает риск потери значительной части тромбоцитных компонентов, особенно при перемещении насыщенного тромбоцитами трансплантата из среды в среду. Поэтому при изготовлении сложных, комбинированных биологических конструкций возникает необходимость стабилизации (закрепления) гранул в составе тромбоцитов. На сегодняшний день нами разработаны несколько подходов к стабилизации тромбоцитных гранул. Во-первых, процесс дегрануляции адгезирующих тромбоцитов может быть остановлен путем воздействия антиагреганта тикагрелора в концентрации 0,02%. Показано, что в присутствии 0,02% тикагрелора тромбоциты адгезируют на субстрате без массового выброса гранул. Кроме того, тикагрелор резко снижает степень дегрануляции тромбоцитов в суспензии при воздействии факторов гемостаза, секреторируемых тромбоцитами (АДФ, серотонин, тромбоцитарный фактор IV). Сходным действием обладают наночастицы серебра в концентрации 1-5µМ. Установлено, что предварительная инкубация тромбоцитов с 1-5µМ наносеребра доза-зависимо подавляет рост тромбоцитарной ламеллы при адгезии, а также позволяет сохранить свыше 50% от всего объема гранул в составе адгезирующих тромбоцитов в течение длительного времени. По нашим данным, наносеребро заметно уменьшает контактные свойства тромбоцитов без нарушения их структурной целостности и может быть использовано для стабилизации тромбоцитов как в суспензии, так и в составе трансплантатов. Некоторым стабилизирующим действием также обладают низкие дозы перекиси водорода (40-80µМ): показано, что перекись водорода снижает общую агрегационную и адгезивную активность тромбоцитов, но при этом не препятствует их дегрануляции в процессе адгезии. Тем не менее, в присутствии 40-80µМ перекиси водорода тромбоциты не претерпевают массовой дегрануляции под действием стандартных индукторов активации. Таким образом, уже на сегодняшний день мы можем предложить несколько способов стабилизации гранул в составе тромбоцитов. Изучение тонких механизмов внутриклеточного сигналинга позволит разработать новые подходы к эффективному использованию тромбоцитов в медицине.





## УЧАСТИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА МОЛЕКУЛ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА МОДЕЛИ *IN VITRO* С УЧАСТИЕМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ EA.HY926

Мальцева О.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*movolya@mail.ru*

Адгезия лейкоцитов к эндотелию сосудов и последующая трансэндотелиальная миграция играют существенную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз. Адгезия опосредуется локализованной активацией эндотелия под действием воспалительных факторов. Тучные клетки содержат в большом количестве такие факторы – нейтральные протеазы, гепарин, цитокины (ФНО $\alpha$ , ИФН $\gamma$ , ИЛ-6), гистамин и другие. В сосудах тучные клетки присутствуют в интиме, более заметны в адвентиции атеросклеротических сонных и коронарных артерий.

Одной из главных функций эндотелия является регулирование транспорта жидкости и растворенных веществ через сосудистый эндотелиальный барьер. Медиаторы воспаления, в частности, содержащиеся в тучных клетках неоднозначно влияют на трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ), в некоторых случаях имеют двухфазный характер, заключающийся в первичном повышении проницаемости эндотелия и последующем снижении. В данное время ТЭТ мало изучен и оставляет ряд вопросов. Целью работы было изучение ТЭТ в нормальных условиях и при воздействии на эндотелий тучных клеток в культуре *in vitro* при совместном культивировании этих двух типов клеток.

Методика. Эндотелиальные клетки человека линии EA.hy926 культивировали в среде DMEM в трансвеллах (BDFalcon, № 353104), покрытых коллагеном I типа до образования конфлюэнтного монослоя. Конфлюэнтность оценивали с помощью ФИТЦ-декстрана (70кДа). В верхнюю камеру системы добавляли среду DMEM с содержанием белков плазмы крови и липопротеинов. Инкубацию проводили в течение 24 часов с отбором проб из верхней и нижней камер через разные промежутки времени. После чего пробы анализировали с помощью биохимических методов и иммуноферментного анализа, захват клетками макромолекул оценивали при помощи конфокальной микроскопии. Также клетки проверяли на апоптоз с помощью проточной цитофлуориметрии.

Результаты. В нижней камере системы детектировали ряд белковых молекул, такие как апо В, апо А-1, альбумин, их концентрация нарастала во времени. Из трансвелл без эндотелия (контроль) проникновение веществ в нижнюю камеру было более стремительным с быстрым достижением равновесия концентраций в обеих камерах. При добавлении в верхнюю камеру медиаторов воспаления (С-реактивного белка или ФНО $\alpha$ ) отмечалось изменение скорости ТЭТ. Внесение в нижнюю камеру тучных клеток также приводило к изменениям. Как показали результаты наших исследований, одним из факторов, определяющих влияние тучных клеток на транспорт веществ через эндотелий, является гистамин, выделяемый тучными клетками. Был обнаружен двухфазный характер действия гистамина на ТЭТ.

Таким образом, модель совместного культивирования двух типов клеток позволяет оценивать влияние различных медиаторов воспаления на ТЭТ белков и липопротеинов и даёт возможность выявить звено в нарушении транспорта при атерогенезе.

## МОФРОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУСТАВНОГО ХРЯЦА ПРИ КОРРЕКЦИИ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ СУРФАКТАНТ-АССОЦИИРОВАННЫМИ БЕЛКАМИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ОСТЕОАРТРОЗЕ

Несмеянова Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*elena.nesmeyanova.97@mail.ru*

Остеоартроз - лидирующее заболевание опорно-двигательного аппарата, исследование которого направлено на поиск эффективных способов профилактики и лечения, основанных на контроле метаболических процессов в суставе. Многообразие механизмов повреждения при



остеоартрозе, недостаточность физиологической и репаративной регенерации суставного хряща в условиях повреждения суставной поверхности вызывает разрушение хрящевого матрикса и изменения синтетической активности хондроцитов.

Цель работы - выявить закономерность изменений морфофункциональных особенностей суставного хряща при моделировании остеоартроза в условиях модификации синовиальной жидкости смесью белков сурфактанта, повышающих ее лубрикативные свойства.

Для исследования были использованы коленные суставы 18 белых крыс-самцов линии Wistar массой 250–300 грамм. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с этическими нормами. Были сформированы две экспериментальные группы, в первой группе остеоартроз моделировался путем введения в коленные суставы суспензии стерильного медицинского талька («АГАТ-МЕД», Россия) в соотношении с физиологическим раствором (1:5). Во второй группе после моделирования остеоартроза, на 3-й неделе в сустав вводилось по 0,2 мл смеси сурфактанта (40 мг/мл). При проведении иммуногистохимического окрашивания использовали антитела ММР-9 и TIMP-1 (Sigma-Aldrich, США). Результат реакции оценивали по проценту позитивно окрашенных участков – индекс экспрессии (%). Так же производили измерения средней численной плотности хондроцитов (1/мм<sup>3</sup>). Выведение животных осуществляли на 3, 6 и 12 недели эксперимента.

Результаты. В первой экспериментальной группе на 12-й неделе по сравнению с интактными животными наблюдалось снижение численной плотности хондроцитов в 3,5 раза, индекс экспрессии ММР-9 превышал значение в 5 раз, а TIMP-1 достигал минимального значения. Во второй группе, при введении смеси сурфактанта, к 12-й неделе численная плотность хондроцитов была выше в 2,5 раза, в сравнении с первой. Наблюдался относительный прирост индекса экспрессии ММР-9 (увеличился в 9,5 раз), однако TIMP-1 оказался ниже значения в первой экспериментальной группе в 2,0 раза.

Таким образом, белки сурфактанта способствуют коррекции дисбаланса молекул, осуществляющих хондропротективную (TIMP-1) и резорбционную функции (ММР-9) при моделировании остеоартроза. В дальнейшем, эти данные можно использовать для изучения тканевой инженерии суставного хряща и восстановительной медицины.

## **24S-ГИДРОКСИХОЛИСТЕРИН ЗАВИСИМАЯ МОДУЛЯЦИЯ ИНОТРОПНОГО ЭФФЕКТА АКТИВАЦИИ БЕТА1/2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ**

**Одношивкина Ю.Г.<sup>1</sup>, Старостин О.С.<sup>2</sup>, Петров А.М.<sup>3,1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Казань, Россия; <sup>3</sup>Казанский институт биохимии и биофизики-обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ Казанского научного центра РАН, Казань, Россия

*zjubra@mail.ru*

Основную роль в регуляции инотропной функции сердца играют бета-адренорецепторы (бета-АР), способные взаимодействовать со многими сигнальными путями, разнонаправленно регулировать сократительный ответ. Возможно, один из эндогенных механизмов, влияющих на зависимость от бета-АР регуляцию, связан с окисленными производными холестерина (оксистеринами). При развитии нейродегенеративных заболеваний и сердечно-сосудистых патологий отмечается накопление повышенного уровня оксистерина в мозге. Однако, эффекты оксистерина на деятельность сердца остаются не выясненными. 24S-гидроксихолестерин (24S-ГХС), синтезирующийся в мозге, способен проникать через гематоэнцефалический барьер и попадать в циркуляцию. При повышении активности мозга увеличивается продукция 24S-ГХС, и возрастает его концентрация в кровотоке. Целью исследования было выявить какое влияние оказывает 24S-ГХС на эффекты активации бета-адренорецепторов в изолированных предсердиях мыши.

С помощью тензометрической установки регистрировали силу сокращения изолированных предсердий мыши. Для активации бета1 и бета2-адренорецепторов (бета1 и бета2-АР) применяли изопротеринол (10,50,100нМ). Апликация изопротеринола дозо-зависимо увеличивала силу сокращения предсердий до 148%, 171% и 185% соответственно. При добавлении



0,4мкМ24S-ГХСсократимость предсердий снижалась в ответна изопротеринол, амплитуда сокращения достигала 130%, 151% и 164% соответственно.

При блокировании бета1-АР (СGR)инотропная реакция предсердий на изопротеринол значительно снижалась, и это сниженное значение сохранялось после аппликации24S-ГХС.При блокировании же бета2-АР (200нМІСІ)сила сокращения предсердий после действия изопротеринола возрастала как в контроле, так и после аппликации24S-ГХС.Таким образом,24S-гидроксихолестеринразнонаправленно модулирует сократительный ответ предсердий при активации бета1 и бета2-адренорецепторов.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-00058.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ЗНАЧЕНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНОЙ ЛЕГКОЙ ЦЕПИ МИОЗИНА В МИОКАРДЕ В IN VITRO ПОДВИЖНОЙ СИСТЕМЕ

**Ощепкова В.Ю.<sup>1,2</sup>, Копылова Г.В.<sup>1</sup>, Щепкин Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*valeoupi@gmail.com*

Сократительная функция сердечной мышцы зависят от функциональных характеристик миозина. Одним из модуляторов функции миозина в миокарде является процесс фосфорилирования/дефосфорилирования регуляторной легкой цепи миозина (РЛЦ). В сердце здорового человека миозин фосфорилирован на 30-40% [Morano, 1992]. При сердечной недостаточности степень фосфорилирования РЛЦ уменьшается на 30-40% и ассоциируется с падением сократительной активности миокарда желудочков [Warren *et al.*, 2012]. На данный момент практически ничего не известно о функциональном значении фосфорилирования RLC в предсердиях. Мы исследовали влияние фосфорилирования РЛЦ миозина на актин-миозиновое взаимодействие в миокарде предсердий и сравнили его с эффектами в желудочках.

С помощью *invitro* подвижной системы (ИПС) [Matyushenko *et al.*, 2018] мы исследовали влияние фосфорилирования РЛЦ на  $Ca^{2+}$  регуляцию актин-миозинового взаимодействия и силогенерацию миозина из предсердий и желудочков. Относительная сила миозина была измерена в ИПС с помощью NEM-миозина в качестве нагрузки [Shcherkin *et al.*, 2017]. Регулируемые тонкие филаменты реконструировали из актина, тропонина и тропомиозина. Полученная в ИПС зависимость  $pCa$ -скорость аппроксимировалась уравнением Хилла. Актин выделяли из *m. psoas* кролика. Тропонин получали из миокарда левого желудочка быка. Сердечный  $\alpha$ -тропомиозин человека экспрессировали в *E. coli* [Matyushenko *et al.*, 2014]. Миозин экстрагировали из миокарда левого желудочка и предсердия свиньи. Фосфорилирование РЛЦ проводилось по методике Karabina с соавт. [Karabina *et al.*, 2015] с небольшими модификациями. Степень фосфорилирования РЛЦ определялась с помощью Pro-Q Diamond Phosphoprotein Gel Stain (Thermo Fisher Scientific).

При насыщающей концентрации  $Ca^{2+}$  относительная сила фосфорилированного миозина желудочков была в 1.6 раза выше, чем нефосфорилированного, в то время, как фосфорилирование RLC предсердий не оказывало влияния на силу, развиваемую миозином. Фосфорилирование RLC как миозина предсердий, так и желудочков не влияло на  $Ca^{2+}$  чувствительность зависимости скорости скольжения тонких филаментов, но уменьшало их максимальную скорость.

Таким образом, мы обнаружили отличие влияния фосфорилирования РЛЦ на силогенерирующую способность миозина желудочков и предсердий.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 16-14-10044.



## ПЕПТИД ТРЕ-СЕР-ЛИЗ-ТИР ПОЛИМЕРИЗУЕТ ГЛОБУЛЯРНЫЙ АКТИН В УСЛОВИЯХ IN VITRO

**Пенькова Н.А.<sup>1</sup>, Бобылёва Л.Г.<sup>1</sup>, Михайлова Г.З.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*kokanchik@rambler.ru*

Ранее было показано, что пептид Тре-Сер-Лиз-Тир, выделенный из мозга зимоспящих сусликов, находящихся в состоянии гибернации, проявляет цитолитическую активность в отношении опухолевых клеток. В то же время, как нами установлено, пептид влияет на цитоархитектонику интактных нейронов в условиях *in vivo*, вызывая прунинг нейрональных отростков. Учитывая, что главным цитопатологическим признаком малигнизированных клеток является аномально высокое содержание глобулярного актина в цитозоле, мы предположили, что молекулярной мишенью действия пептида может являться актин. Целью данной работы было провести электронно-микроскопический анализ взаимодействия данного пептида и актина *in vitro* методом негативного контрастирования. Было обнаружено, что пептид взаимодействует с молекулярным актином (в концентрациях  $5 \times 10^{-4}$  М и  $10^{-6}$  М, соответственно), вызывая появление истинных нитей в поле зрения микроскопа. Изучение взаимодействия глобулярного актина с пептидом в среде, содержащей 10 мМ КСl, показало, что через 2-3 часа инкубации в ней формируются протяженные нити. По морфологии они не отличаются от нитей филаментозного актина, сформированных полимеризацией глобулярного актина в присутствии 100 мМ КСl. Предполагается, что пептид Тре-Сер-Лиз-Тир способен взаимодействовать с клеточным актином в условиях *in vivo* и, вследствие этого, влиять на механизмы гомеостатической регуляции нормального клеточного оборота, такие как апоптоз нейрона и цитоархитектурные реорганизации дендритов.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-04-01759а.

## ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОВЕДЕНИИ МЫШЕЙ НА МОДЕЛИ АУТОИММУННОГО ДЕФИЦИТА S100В У БЕРЕМЕННЫХ

**Перепеченова Н.А.<sup>1</sup>, Лобанов А.В.<sup>1</sup>, Давыдов Д.М.<sup>2</sup>, Аникина В.А.<sup>3</sup>, Замятина Е.А.<sup>3</sup>,  
Сидякин А.А.<sup>2</sup>, Захарова И.А.<sup>2</sup>, Морозов С.Г.<sup>2</sup>, Мурашев А.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

*natka\_1511@mail.ru*

S100В – димерный белок из семейства Ca<sup>2+</sup> связывающих белков, наибольшее его количество присутствует в астроцитах, является компонентом множественных сигнальных путей внутри- и внеклеточного характера. Одним из основных рецепторов S100В является RAGE (receptor for advanced glycation end products), с которым он реагирует в дозозависимой манере и может вызвать как рост нервов, так и апоптоз.

Ранняя индикация S100В в онтогенезе дала начало предположениям о критических изменениях в строении мозга при его недостатке или отсутствии. Однако эти предположения были опровергнуты. В то же время у животных отмечались те или иные изменения в поведении.

В качестве модели была принята пришедшая из клинической практики и экстраполированная на животных модель аутоиммунного дефицита S100В при беременности. Тщательному изучению было подвергнуто потомство от самок мышей с смоделированной аутоиммунной реакцией.

В ходе исследования половозрелых мышей, полученных от иммунизированных и нормальных матерей, были обнаружены достоверные изменения в поведении животных экспериментальной группы в отличие от животных контрольной группы в тестах на ориентацию в



пространстве (открытое поле), кратковременную память (Y-образный лабиринт) и тревожность (приподнятый крестообразный лабиринт).

При тестировании животных в открытом поле у самок из экспериментальной группы наблюдалось значимо большая двигательная активность по сравнению с самками контрольной группы. У самцов экспериментальной группы была выявлена тенденция к увеличению двигательной активности в сравнении с контролем. Тестирование в Y-образном лабиринте не показало отличий в работе кратковременной памяти между животными обеих групп любого пола. Однако у самок экспериментальной группы было выявлено значимо большее число заходов в рукава, чем у самок контрольной группы. Схожая тенденция в большей двигательной активности в Y-образном лабиринте наблюдалась также у самцов экспериментальной группы. В приподнятом крестообразном лабиринте у самцов экспериментальной группы наблюдалось значительное увеличение времени пребывания в центре по сравнению с самцами контрольной группы. Сравнение поведения самок обеих групп показало лишь тенденцию к большему пребыванию самок экспериментальной группы в центре по сравнению с самками контрольной группы.

Дальнейшее изучение поведения мышей на модели аутоиммунного дефицита белка S100B у беременных даст более полное представление об изменениях в организме потомства и возможностях их коррекции.

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ НАТИВНОГО ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И ЕГО КОМПЛЕКСА С $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ НА РОСТ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА IN VITRO**

**Петренко В.С.<sup>1</sup>, Крицкая К.А.<sup>1</sup>, Ларюшкин Д.П.<sup>1</sup>, Наумов А.А.<sup>2</sup>, Поцелуева М.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*79182797935@yandex.ru*

В настоящее время одной из задач современной медицинской биологии и фармацевтики является изучение природных и получение новых форм препаратов с заданными свойствами, в том числе биофлавоноидов, которые наряду с кардио-, радио-, гепатопротекторными, а также иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами, были бы способны тормозить и предотвращать рост опухолевых клеток. Одним из таких перспективных биофлавоноидов, обладающих высокими антиоксидантными и цитостатическими свойствами по отношению к асцитным опухолям является дигидрокверцетин (ДГК). Необходимо отметить, что данная нативная форма ДГК плохо растворима в воде (3 г/л), что является ограничивающим фактором для использования в инъекционной форме и невозможность увеличения терапевтических доз. Для решения данной проблемы ДГК был помещен в углеводное кольцо  $\beta$ -циклодекстрина, образуя новое соединение включения – водорастворимого дигидрокверцетино- $\beta$ -циклодекстрина (рДГК). Массовая доля ДГК в полученном комплексе составляет ~21%, а его растворимость в воде заметно увеличилась и составила 53,2 г/л.

В результате исследований необходимо было сравнить диапазон концентраций нативного (липофильного) ДГК и водорастворимого ДГК в комплексе с  $\beta$ -циклодекстрином, влияющих на интенсивность роста опухолевых клеток *in vitro*.

В работе использован нативный дигидрокверцетин, полученный из лиственницы марки «Флавит» и растворимый рДГК, синтезированный в институте биологии и химии Московского педагогического государственного университета. Патент № RU 2396077. Исследования проводились на культуре клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). Клетки опухоли, изъятые из брюшной полости опухоленосителя были получены методом центрифугирования в градиенте плотности Percol/NaCl. Клетки культивировались при 37° С в среде DMEM с 10% эмбриональной сыворотки, буфер – 25mM HEPES.

В результате исследований установлено, что прирост опухолевых клеток в контрольной группе через 24 часа составил 45%. При добавлении нативной формы ДГК в концентрации 10<sup>-5</sup> моль/л уровень прироста жизнеспособных клеток карциномы через 24 часа снижался в среднем на 32%. Такого же уровня замедления роста опухолевых клеток в присутствии растворимого рДГК происходило при концентрации 5\*10<sup>-5</sup> моль/л. При уменьшении концентрации нативного и водорастворимого флавоноида от 10<sup>-4</sup> моль/л до 5\*10<sup>-8</sup> моль/л с интервалом в полпорядка было



установлено, что для достижения одинакового процента угнетения интенсивности роста опухолевых клеток концентрация растворимого ДГК должна пятикратно превышать концентрацию нативного ДГК. Было отмечено, что свободный  $\beta$ -циклодекстрин, наоборот, увеличивает пролиферацию раковых клеток (общий уровень прироста составил 45–50% при всех исследуемых концентрациях).

Исходя из полученных данных, можно заключить, что дигидрохверцетин в нативной форме и в комплексе с  $\beta$ -циклодекстрином способны оказывать цитостатическое действие на рост АКЭ в опытах *invitro*. Сравнительный анализ показал, что максимально эффективной концентрацией для нативного ДГК является  $10^{-5}$  моль/л, а для растворимой формы ДГК –  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

## ВЛИЯНИЕ ЛЕТАЛЬНОЙ МУТАЦИИ ( $A^Y$ ) В ГЕНЕ АГУТИ НА МОЗГ И ПОВЕДЕНИЕ У МЫШЕЙ

**Плюснина А.В.<sup>1</sup>, Хоцкий Н.В.<sup>1</sup>, Куликова Е.А.<sup>1</sup>, Баженова Е.Ю.<sup>1</sup>, Фурсенко Д.В.<sup>1</sup>,  
Сорокин И.Е.<sup>1</sup>, Колотыгин И.<sup>2</sup>, Шевелев О.Б.<sup>1</sup>, Куликов А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Новосибирский государственный  
университет, Новосибирск, Россия

*leksi\_0000@mail.ru*

Известно, что ген *агути* экспрессируется только в клетках волосяного фолликула и стимулирует синтез желтого пигмента (феомеланина) с помощью меланоцитов.<sup>1</sup> Летальная мутация *yellow* ( $A^Y$ ) является результатом большой делеции в промоторе гена *агути* у мышей, который находится под контролем прионного промотора повсеместно экспрессируемого гена *Raly*. Мутация  $A^Y$  вызывает эктопическую экспрессию белка агуты во многих тканях, включая мозг, жировую и другие ткани.<sup>2</sup> Белок агуты является ингибитором рецепторов меланокортина-4, которые вовлечены в обмен веществ и пищевое поведение. Таким образом, летальная мутация *yellow* вызывает ожирение и диабет II типа у мышей. Целью данного исследования было впервые изучить влияние мутации  $A^Y$  на мозг и поведение.

Все эксперименты проводились на взрослых (11-12 недель) самцах  $A^Y/a$  и их однопометников дикого типа *a/a*. В результате поведенческих тестов не было выявлены различия мышей с генотипами  $A^Y/a$  и *a/a* по активности в домашних клетках, сну, потреблению пищи и воды, способности к обучению в водном лабиринте Морриса, тревожности в открытом поле и приподнятом крестообразном лабиринте, а также по уровню моноаминов, метаболитов и некоторых провоспалительных генов, экспрессирующихся в мозге. В то же время, у мышей  $A^Y/a$  наблюдалась повышенная жировая масса ( $F_{1,14}=46.3$ ,  $p<0.0001$ ) и депрессивно-подобное поведение в тесте «принудительное плавание» ( $F_{1,14}=11.85$ ,  $p<0.01$ ) по сравнению с мышами *a/a*. МРТ показала достоверное уменьшение общего объема коры головного мозга ( $F_{1,14}=13.65$ ,  $p<0.01$ ), а также МР спектроскопия показала сдвиг между возбуждающими и тормозящими субстанциями в гиппокампе у мышей  $A^Y/a$  в сторону возбуждающих. Уровень гена *Ptpn5* в мРНК, кодирующего тирозинфосфатазу 5 в коре мышей  $A^Y/a$ , был повышен по сравнению с их однопометниками дикого типа ( $F_{1,13}=10.71$ ,  $p<0.01$ ).

В настоящем исследовании мы впервые изучили влияние мутации  $A^Y$  на поведение и мозг у мышей. Таким образом, мутация  $A^Y$  усилила выраженность депрессивно-подобного поведения и вызвала, соответствующие изменения в головном мозге. Таким образом, мыши  $A^Y/a$  являются перспективной моделью для изучения депрессивных расстройств, вызываемых метаболической дисфункцией и для поиска фармакологических средств их коррекции.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 17-15-01032.

*Список литературы:*

1. Perry WL, Copeland NG, Jenkins NA. The molecular basis for dominant yellow agouti coat color mutations. *BioEssays*. 1994;16(10):705-7.
2. Boston VA, Blyden KM, Varnerin J, Cone RD. Independent and additive effects of central POMC and leptin pathways on murine obesity. *Science*. 1997;278(5343):1641-4.



## РОЛЬ АНИОННОГО ОБМЕННИКА И НКСС В РЕГУЛЯЦИИ GARDOS-КАНАЛОВ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СЕРОВОДОРОДОМ

Бирулина Ю.Г.<sup>1</sup>, Розенбаум Ю.А.<sup>1</sup>, Петрова И.В.<sup>1</sup>, Тесля Е.С.<sup>1</sup>, Трубачева О.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия; <sup>2</sup>НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, Томск, Россия

*birulina20@yandex.ru*

Gardos-каналы эритроцитов –  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые  $\text{K}^+$ -каналы средней проводимости, которые опосредуют изменение объема и деформируемости клеток крови, а также их программируемую гибель. Открывание данных каналов либо при увеличении внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , либо при действии редокс-агентов, вызывает утечку ионов калия из клетки и обеспечивает гиперполяризацию мембраны. Целью настоящей работы было исследовать влияние донора сероводорода ( $\text{H}_2\text{S}$ ) – гидросульфида натрия ( $\text{NaHS}$ ), на амплитуду гиперполяризационного ответа (ГО) мембраны эритроцитов при блокировании анионного обменника и  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспорта (НКСС).

В работе использовалась кровь здоровых доноров обоего пола (25 человек). Получение упакованных эритроцитов проводилось стандартным методом. Для изучения Gardos-каналов использовали метод непрерывной регистрации мембранного потенциала клеток по изменениям pH среды в присутствии протонофора CICCР (20 мкМ). Для получения  $\text{Ca}^{2+}$ - и редокс-стимулированного ГО в среду инкубации клеток добавляли  $\text{Ca}^{2+}$ -ионофор A23187 (0,5 мкМ), либо электронно-донорную систему аскорбат (10 мМ) – феназинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ). В обоих случаях развивался ГО, амплитуда которого отражала активность Gardos-каналов. В качестве блокаторов анионного обменника и НКСС использовали SITS (100 мкМ) и буметанид (5 мкМ), соответственно.

Добавление  $\text{NaHS}$  приводило к снижению амплитуды как  $\text{Ca}^{2+}$ -, так и редокс-стимулированного ГО, но снижение амплитуды редокс-зависимого ГО в присутствии  $\text{NaHS}$  было менее выражено по сравнению с A23187-зависимым ГО. Совместное действие  $\text{NaHS}$  и буметанида приводило к росту амплитуды A23187-зависимого ГО, но к снижению амплитуды редокс-стимулированного ГО эритроцитов. Обработка эритроцитов блокатором анионного обменника SITS вызывала рост амплитуды как A23187-, так и редокс-стимулированного ГО. Добавление  $\text{NaHS}$  на фоне SITS незначительно изменяло амплитуду ГО по сравнению с ответом в отсутствие  $\text{NaHS}$ .

Таким образом, эффекты  $\text{NaHS}$  обусловлены модуляцией активности анионного обменника и НКСС и зависят от способа стимуляции Gardos-каналов эритроцитов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00395.

## ГИПОКСИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НИТРИТА НАТРИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

Рубец Е.Д.<sup>1</sup>, Петенкова А.А.<sup>1</sup>, Юдаева Е.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург,  
Россия

*Rubec.ED@inbox.ru*

Проблема поиска эффективных методов защиты сердца от ишемических и реперфузионных повреждений в настоящее время стоит очень остро. Одним из актуальных способов кардиозащиты является фармакологическая форма preconditionирования с использованием химических агентов. В последние годы активно исследуются кардиопротекторные свойства донора оксида азота - нитрита натрия. Целью данного исследования являлось изучение эффектов, оказываемых нитритом натрия на функционирование изолированного сердца крысы, при индуцированной ишемии-реперфузии. Исследование проводилось на самцах крыс линии Вистар 180-300г (n=20). Контрольным животным подкожно



вводили 1 мл физиологического раствора, опытным – эквивалентный объем нитрита натрия (3 мг/100г). Через 30 мин после введения физиологического раствора/нитрита у наркотизированных животных производилось извлечение сердца с последующей перфузией по Neelley («ADInstruments», Австралия). В качестве перфузата использовали раствор Кребса-Ханселейта (рН=7,4;  $t=37^{\circ}\text{C}$ ), обогащенный карбогеном. Модель тотальной нормотермической ишемии с реперфузией создавалась 30 мин интервалами. В ходе исследования измеряли частоту сердечных сокращений (ЧСС) и коронарный проток. Также был проведен количественный анализ продуктов активных в тесте с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), и анализ активности каталазы в тканях сердца после ишемии-реперфузии. Обнаружено отрицательное хронотропное действие, оказываемое предварительным введением нитрита натрия, на сократительную активность миокарда. Величина ЧСС *in vivo* через 10 минут после начала перфузии уменьшалась в опытной группе относительно контроля на 22% и 16% соответственно ( $p<0,05$ ). Оценка антиоксидантного звена защиты показала, что активность каталазы в тканях прекондиционируемого сердца на момент окончания реперфузии снижалась на 31% по сравнению с активностью фермента в контрольной группе ( $p<0,05$ ). Однако введение нитрита натрия приводило к достоверному уменьшению содержания ТБК-активных веществ почти на 75%. Можно сделать вывод, что снижение перекисного окисления липидов в тканях сердца связано не с активностью каталазы, а с активностью другой антиоксидантной системы. Таким образом, гипоксическое прекондиционирование с использованием нитрита натрия способствует снижению интенсивности окислительных процессов в ишемизированной ткани, которое может предотвращать гибель кардиомиоцитов в период ишемии-реперфузии. Работа выполнена в рамках научного проекта, поддержанного грантом «мол\_а» РФФИ № 16-34-00593.

## **ВАРИАбельНОСТЬ РИТМА СЕРДЦА И ЦЕРЕБРАЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ СТУДЕНЧЕСКОЙ МОЛОДЕЖИ В ДИНАМИКЕ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА**

**Сазонова М.М.<sup>1</sup>, Исупов И.Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*igor.isupov.66@outlook.com*

Одной из актуальных задач физиологии является оценка эффективности регуляции тонуса церебральных артерий человека в различных условиях жизнедеятельности. Целесообразно выполнение исследований взаимосоответствия типов вегетативных регуляций ритма сердца и типов церебральной микроциркуляции. Предполагаемое наличие данного соответствия позволит выполнить прогноз нарушений церебрального кровотока по результатам вариационной пульсометрии.

Целью работы являлось выяснение возможностей прогнозирования риска венозного застоя или выраженной констрикции сосудов головного мозга согласно типам вегетативных регуляций сердечного ритма (ВРСР).

Методами реоэнцефалографии (РЭГ) и кардиоритмографии (КРГ) обследовано 30 студентов  $19,1\pm 0,3$  лет. Наблюдения выполнены во время экзамена в положении сидя на полувыдохе. На основе первичных данных КРГ определены важнейшие показатели вариационной пульсометрии.

По величинам показателя ИНрс все обследуемые были подразделены на 3 типа ВРСР: симпатико- (ИНрс $>120$  у.е.), парасимпатико- (ИНрс $<60$  у.е.) и нормотоников (ИНрс 60-120 у.е.). По величине дикротического индекса (ДИ) определены 3 типа церебральной микроциркуляции: гипотонический (ДИ $<50\%$ ), нормотонический (ДИ в пределах 50-70%), гипертонический (ДИ $>70\%$ ).

Обнаружено, что в нормотоническом типе ВРСР аналогичный тип микроциркуляции мозга составляет 79%, гипертонический тип - 21%. В парасимпатикотоническом типе ВРСР гипертонический тип микроциркуляции составляет 50%, на нормо- и гипотонический типы соответственно приходятся 33% и 17%. В симпатикотоническом типе церебральные нормотоники составляют 60%, соответственно, гипо- и гипертонический типы микроциркуляции - 30% и 10%.

Нормотонический тип ВРСР характеризуется средними в типах величинами ДИ ( $65,4\pm 1,9\%$ ), венозно-артериального отношения - ВА ( $72,0\pm 2,2\%$ ). ДИ и ВА в симпатикотоническом типе составляют соответственно  $55,8\pm 3,1\%$  и  $63,4\pm 3,5\%$ , причем





венозный отток (ВО) равен 45,5%. Различия всех параметров по сравнению с нормотоническим типом ВРСР достоверны ( $p < 0,05$ ). В парасимпатикотоническом типе  $ДИ = 72,9 \pm 10,7$ ,  $ВА = 80,1 \pm 10,8$ , а  $ВО = 30,4 \pm 12,3$ . Различия параметров недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, наличие у конкретного молодого человека симпатикотонического типа ВРСР позволяет предполагать риск ухудшений условий церебрального венозного оттока, при одновременном снижении тонуса мелких артерий головного мозга. Парасимпатикотонический тип ВРСР более устойчив к нарушениям церебрального оттока крови вследствие повышенного тонуса мелких артерий, ограничивающего приток крови в регион.

Полученные результаты могут иметь практическое значение для оценки функционального состояния сердечно-сосудистой системы студенческой молодежи.

## **ЦИТОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТАРНОГО БАЛАНСА В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ ОСТРЫХ ЛИМФО- И МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СИСТЕМЕ КРОВИ**

**Селиверстов Е.С.<sup>1</sup>, Беляева С.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; <sup>2</sup>ОГБУЗ Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, Белгород, Россия

*1074192@bsu.edu.ru*

Цель исследования – изучить цитокинетические показатели эритроцитарного баланса в норме и проанализировать их изменения при развитии острого лимфобластного и острого миелобластного лейкозов.

Материал и методы исследования. В опытную группу отбирали венозную кровь больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) ( $n=40$ ), и острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) ( $n=16$ ) в возрасте от 17 до 46 лет, находящихся на лечении в гематологическом отделении областной клинической больницы им. Св. Иоасафа г. Белгорода. Контроль формировали из крови доноров в возрасте от 25 до 45 лет ( $n=50$ ), проходивших диспансеризацию. Подсчёт ретикулоцитов осуществляли в свежей крови и в инкубированной при  $37^\circ\text{C}$  в течение 4 ч. По стандартной методике готовили мазки и окрашивали суправитально 0,1% раствором бриллиантового крезилового синего, приготовленным на 0,9% р-ре NaCl. Подсчёт ретикулоцитов проводили на микроскопе AxioStar Plus по формуле Гельмейера на 1000 эритроцитов. Цитокинетические показатели эритроцитарного баланса рассчитывали согласно методу, изложенному в работе А.В. Илюхина (1981). Полученные данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики.

Результаты. В физиологических условиях установлен период полувыведения ретикулоцитов, составивший  $7,8 \pm 0,9$  ч., период полувыведения эритроцитов –  $23,9 \pm 3,5$  сут., суточная продукция эритроцитов –  $202,2 \pm 20,4$  тыс./мкл·сут. В группе больных ОМЛ число незрелых форм ретикулоцитов I и II классов увеличилось соответственно на 6566,7% и 2218,7% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. В группе больных ОЛЛ число незрелых форм ретикулоцитов I, II и III классов увеличилось соответственно на 1933,3%, 1650% и 118,9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Достоверных различий параметров эритроцитарного баланса в группах больных по сравнению с контролем не выявлено, однако прослеживалась тенденция усиления суточной продукции эритроцитов и удлинения периода полувыведения ретикулоцитов.

Заключение. В условиях развития острых форм лейкоза система эритрона перестраивается, повышая продукцию ретикулоцитов. Основным компенсаторным механизмом является выход более незрелых ретикулоцитов I и II классов, при этом сохраняется соотношение между созревающими формами, пополняющими пул зрелых эритроцитов, и незрелыми костномозговыми ретикулоцитами, поступающими в русло и созревающими в нём. В обеих группах больных ОЛЛ и ОМЛ отмечена тенденция к увеличению времени созревания ретикулоцитов и усилению суточной продукции эритроцитов. Вместе с тем, для лиц больных ОЛЛ характерно повышение числа эритроцитов и уменьшение периода их полувыведения из кровотока. Для лиц больных ОМЛ выявлена противоположная тенденция – снижение числа эритроцитов и увеличение периода их полувыведения. Примерно в 50% случаев протекания ОЛЛ и ОМЛ установлен неэффективный эритропоэз, при котором эритроидные предшественники разрушаются ещё в костном мозге.



## ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВАЦИИ NF-κB МОНОЦИТОВ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ЭНДОТОКСИНАМИ С РАЗНОЙ СТРУКТУРОЙ, АЛЛЕРГЕНОМ DER P 2 И ИХ КОМБИНАЦИЯМИ

**Серов Д.А.<sup>1</sup>, Прохоренко И.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

[dmitriy\\_serov\\_91@mail.ru](mailto:dmitriy_serov_91@mail.ru)

Одним из наиболее распространенных аллергенов является белок Der p 2 из клеща домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus*, активирующий клетки хозяина за счет структурного сходства с MD-2 — белком рецепторного комплекса TLR4/MD-2, распознающего бактериальные липополисахариды (ЛПС). Настоящая работа посвящена исследованию деталей механизма активации TLR4 аллергеном Der p 2 и поиску ответов на вопросы: Der p 2 активирует иммунные клетки самостоятельно или за счет облегчения доставки ЛПС к TLR4, способен ли Der p 2, подобно MD-2, распознавать химическую структуру ЛПС.

Исследование проводили на цельной крови условно здоровых добровольцев (мужчины и женщины, 21-27 лет), давших предварительное письменное согласие на проведение исследования. В 100 мкл цельной крови вносили 40 нг/мл ЛПС из *Escherichia coli* 055:B5 или ЛПС из *Salmonella enterica typhimurium* (Sigma-Aldrich, США), 5 мкл экстракта из клеща *D. pteronyssinus* (DpE) (АО «Биомед» им И.И. Мечникова) или комбинации DpE и указанных ЛПС. Образцы инкубировали 30 мин в CO<sub>2</sub>-инкубаторе, фиксировали 4% формальдегидом, отмывали в PBS, окрашивали мембранные рецепторы CD14 PE-мечеными антителами клона HCD14 (Biolegend, США) для гейтирования моноцитов. Об активации клеток судили по истощению цитоплазматического пула фактора транскрипции NF-κB по сравнению с контролем. Клеточные мембраны пермеабелизировали коммерческим буфером (R&D Systems, США) и окрашивали цитоплазматический пул ядерного фактора NF-κB (субъединицы p50) с помощью AF488-меченых антител клона 4D1 (Biolegend, США). Анализ уровней NF-κB в цитоплазме проводили на проточном цитофлуориметре EPICS XL-MCL (Beckman Coulter, США). Контроль окрашивания цитоплазматического пула NF-κB проводили на конфокальном микроскопе DMI6000 (Leica, Германия) на базе Лаборатории методов оптико-спектрального анализа Института биофизики клетки РАН. Для анализа данных использовали t-тест Стьюдента.

ЛПС из *E. coli* и *S. enterica* активировали клетки, в равной степени снижая содержание NF-κB в цитоплазме моноцитов по сравнению с контролем (на 26±4 % и 30±1 % соответственно). Экстракт DpE вызывал слабую, но статистически значимую транслокацию NF-κB в ядро моноцитов и усиливал ЛПС-индуцированную транслокацию NF-κB. Комбинация DpE и ЛПС из *E. coli* усиливала транслокацию NF-κB в большей степени, чем комбинация DpE и ЛПС из *S. enterica*. Полученные результаты могут указывать на способность белка Der p 2, подобно функциональному гомологу MD-2, распознавать химическую структуру молекул ЛПС.

## ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ ТИТИНА

**Слядовский Д.А.<sup>1</sup>, Якупова Э.И.<sup>1</sup>, Фадеев Р.С.<sup>1,2</sup>, Вихлянцев И.М.<sup>1,2</sup>,**

**Бобылёв А.Г.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

[novemberblack1242@gmail.com](mailto:novemberblack1242@gmail.com)

Известно, что образование амилоидов ассоциировано с болезнями – амилоидозами, связанных с нарушением сворачивания белка. При амилоидозах происходит накопление агрегированных форм белка в различных органах и тканях. К данным заболеваниям относятся: болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, диабет второго типа, системные амилоидозы и т.д. [1,2]. Представляется вероятным, что нарушение клеточной функции при амилоидозах связано с взаимодействием белковых агрегатов с клеточными компонентами [1]. Амилоидные агрегаты, независимо от белка предшественника, характеризуются наличием кросс-β-структуры [2].



Недавние наблюдения показали, что целый ряд белков, не связанных с амилоидными заболеваниями, способен агрегировать *in vitro* в амилоидные фибриллы. При этом у некоторых из них выявлено токсическое действие на клетки [1]. Нами ранее показана способность гладкомышечного титина (м.м. 500 кДа) формировать амилоидные агрегаты *invitro* [3]. Также было обнаружено цитотоксическое действие агрегатов данного белка на культуру гладкомышечных клеток.

В наших предварительных исследованиях было выявлено цитотоксическое действие более высокомолекулярной изоформы титина (м.м. 1500 кДа). Кроме того, мы наблюдали дезорганизацию актинового цитоскелета у гладкомышечных клеток в присутствии агрегатов данного белка. Мы предполагаем, что цитотоксичность агрегатов титина может быть следствием нарушения адгезии клеток. Подобные эффекты были получены в других исследованиях [4], где показано, что токсичность амилоидных агрегатов может быть связана с реорганизацией актинового цитоскелета. Дальнейшие исследования будут направлены на выяснения механизмов данного явления. Работа выполнена в рамках научного проекта, поддержанного грантом РФФИ № 18-04-00125

[1] M. Bucciantini, E. Giannoni, F. Chiti, F. Baroni, L. Formigli, J. Zurdo, N. Taddei, Giampietro Ramponi, Christopher M. Dobson & Massimo Stefani. Nature, 416; p 507-511, 2002.

[2] Dobson, C.M. Principles of protein folding, misfolding and aggregation, Semin. Cell Dev. Biol., 15; p 3–16, 2004.

[3] Bobylev, A.G., Galzitskaya, O.V., Fadeev, R.S., Bobyleva, L.G., Yurshenas, D.A., Molochkov, N.V., Dovidchenko, N.V., Selivanova, O.M., Penkov, N.V., Podlubnaya, Z.A., Vikhlyantsev, I.M. Smooth muscle titin forms *in vitro* amyloid aggregates, Biosci. Rep., 36; p 3, 2016.

[4] P. Ferrera, A. Zepeda, Cl. Arias Nonsteroidal anti-inflammatory drugs attenuate amyloid- $\beta$  protein-induced actin cytoskeletal reorganization through Rho signaling modulation, Cell Mol. Neurobiol. DOI 10.1007/s10571-017-0467-3

## ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦЕПТОРОВ СОМАТОТРОПИНА В ГРАНУЛЕЗНОМ СЛОЕ ПРЕОУЛЯТОРНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ КУР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И РЕПРОДУКТИВНОГО СТАРЕНИЯ

Смекалова А.А.<sup>1</sup>, Лебедева И. Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста, Подольск, Россия

*araksiya@gmail.com*

С возрастом репродуктивный потенциал самок постепенно снижается, что в первую очередь связано с изменениями, происходящими в овариальных фолликулах. Соматотропный гормон (СТГ) является важным позитивным регулятором функции яичников у позвоночных, но при этом может ускорять процессы старения. У домашней курицы ослабление воспроизводительной способности, связанное с возрастом, происходит уже через 65-70 недель жизни, что делает ее удобной моделью для исследования процесса репродуктивного старения. В настоящей работе были охарактеризованы рецепторы СТГ в гранулезном слое преовуляторных фолликулов в начале и середине овуляторного цикла у кур разного возраста и репродуктивного статуса. В экспериментах были использованы три группы кур породы белый леггорн: 1) в возрасте 29-31 недели с длинными циклами яйцекладки (> 10 яиц на цикл), 2) в возрасте 62-82 недели с длинными циклами яйцекладки и 3) в возрасте 62-82 недели с короткими циклами яйцекладки (3-6 яиц на цикл). Овариоэктомия птиц проводилась через 1.5 или 14.5 ч после овуляции. Для анализа были использованы три преовуляторных фолликула (от F1 до F3, где F1 – самый большой фолликул). Выделение клеток гранулезы (КГ) и радиорецепторный анализ выполняли в соответствии с разработанным ранее методом (Lebedeva et al., 2004). Концентрацию рецепторов в клетках и их аффинность рассчитывали с помощью метода Скэтчарда, используя компьютерную программу MultiCalc. В начале овуляторного цикла во всех исследованных группах содержание гормональных рецепторов в гранулезном слое было сходным в фолликулах F3 и F2, возрастая при достижении фолликулами стадии F1 (группа 1: с  $201 \pm 8$  до  $256 \pm 17$  фмоль/ $10^6$  КГ, группа 2: с  $186 \pm 17$  до  $234 \pm 11$  фмоль/ $10^6$  КГ, группа 3: с  $200 \pm 15$  до  $260 \pm 22$  фмоль/ $10^6$  КГ,  $P < 0.05$ ). Аналогичное изменение концентрации рецепторов СТГ в клетках при созревании фолликулов



происходило и в середине овуляторного цикла. При этом у старых кур, сохранивших высокую интенсивность яйцекладки (группа 2), содержание рецепторов СТГ в гранулезном слое было выше в середине, чем в начале овуляторного цикла (F1:  $296 \pm 17$  против  $234 \pm 11$  фмоль/ $10^6$  КГ, F3:  $235 \pm 14$  против  $176 \pm 12$  фмоль/ $10^6$  КГ,  $P < 0.01$ ). Полученные данные показывают, что чувствительность гранулезных клеток к СТГ определяется степенью созревания преовуляторных фолликулов независимо от биологического возраста курицы. В то же время повышение этой чувствительности в середине овуляторного цикла может быть связано с поддержанием репродуктивной функции в зрелом возрасте. Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО (тема № 0600-2018-0016).

## **ЯДРЫШКОВЫЙ ОРГАНИЗАТОР ТИРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ**

**Сметанина М.В.<sup>1</sup>, Тукмачева К.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Ижевск, Россия

*lisenok0910@rambler.ru*

Взаимосвязь атерогенеза и функционального состояния щитовидной железы показана в клинических и экспериментальных условиях. В настоящее время инициацию атерогенеза связывают с гипергомоцистеинемией (гиперГЦЕ). Для оценки белоксинтезирующей функции тироцитов при гиперГЦЕ нами был использован метод серебрения негистоновых белков ядрышковых организаторов (ЯО) хромосом. Изменение морфотипа ядрышка, количества и распределения аргирофильных включений является маркером активности ядра и клетки в целом.

Работа выполнена на 200 беспородных крысах-самцах *Rattus norvegicus* Berk двухмесячного возраста. Модель гиперГЦЕ формировалась внутрибрюшинным введением DL-гомоцистеина в дозе 13,4 мг/кг массы животного в течение 20 дней. Для оценки, белков афинных к серебру в области ЯО, использовалась AgNOR-окраска (БиоВитрум). Оценивали фенотип ЯО, количество интра- и экстрануклеолярных гранул. Результаты обрабатывались статистически с помощью стандартного пакета Excel-программ Statistica-6.

В условиях гиперГЦЕ в тироцитах преобладают одно- и двуядрышковые ядра. У интактных животных количество клеток с 1-2 ядрышками по отношению к полинуклеолярным (3 и более ядрышка на ядро) составляет в среднем 50:50%, тогда как при гиперГЦЕ - 70:30%. Пониженное количество многоядрышковых клеток, указывает на угнетение синтетической функции клеток в фолликулах всех размеров. Ядрышки с активным фенотипом (нуклеолонемные, компактные формы) в норме преобладают, составляя в ядрах тироцитов, формирующих малые фолликулы (МФ), 89,4±5,2%. При гиперГЦЕ число активных форм ЯО снижается в среднем на 10%, а в фолликулах крупных размеров малоактивные и неактивные ЯО (кольцевидные, микроядрышки) составляют большую популяции (61,1±6,3%). Количество выявляемых в ядрах гранул AgNO<sub>3</sub> соответствует количеству функционирующих в клетке РНК-полимераз. Число интрануклеолярных гранул в ядрышках тироцитов МФ снижается с 0,32±0,02 (контроль) до 0,18±0,1 (опыт), в средних фолликулах с 0,87±0,15 до 0,42±0,10,  $p \leq 0,05$ . Количество экстрануклеолярных гранул, отражающих активность идущих в ядре транспортных процессов, резко падает, особенно в ядрах тироцитов крупных фолликулов (с 2,51±0,21 vs 0,42±0,02). Последнее свидетельствует о задержке вывода транскрипционных продуктов из ядра в цитоплазму. Таким образом, гипергомоцистеинемия сопровождается снижением активности функционирования аппарата биосинтеза белка на ядерном этапе, что усугубляется замедленным выведением РНК-полимера в цитоплазму.



## **РОЛЬ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА НА ВЫЗВАННЫЕ КАРБАХОЛИНОМ СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ**

**Сорокина Д.М.<sup>1</sup>, Шайдуллов И.Ф.<sup>1</sup>, Шарафиева Ч.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*dinagabita@mail.ru*

В настоящее время к газообразным посредникам относят оксид азота (NO), оксид углерода (CO) и сероводород (H<sub>2</sub>S). H<sub>2</sub>S синтезируется эндогенно во многих системах организма, в том числе и в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Механизмы действия H<sub>2</sub>S в ЖКТ изучены недостаточно. В нашем исследовании мы изучали роль внутриклеточного кальция в механизмах действия H<sub>2</sub>S на вызванные карбахолом сокращения тощей кишки крысы.

В экспериментах регистрировали силу сокращений сегментов тощей кишки крысы длиной 5 мм на установке фирмы BiopacSystems, Inc. (США). В течение всего эксперимента препарат омывался раствором Кребса при 37° С в условиях постоянной подачи карбогена. Мы использовали донор H<sub>2</sub>S – NaHS (200 мкМ), карбахолин (1 мкМ), нифедипин (1 мкМ) и дантролен (25 мкМ). Протокол эксперимента состоял из начальной аппликации карбахолина, вызывающего значительное повышение тонуса; после отмывки, апплицировали NaHS в течение 10 мин, после чего снова добавляли карбахолин. Анализировали площадь под кривой (ППК) в течение 2 минут аппликации карбахолина. Сравнивали ППК индуцированного карбахолом сокращения в контроле и на фоне NaHS.

На фоне действия NaHS ППК вызванного карбахолом сокращения понизилась и составила 37±2% (n=14; p<0.05) от действия карбахолина в контроле. Для изучения роли входящего Ca-тока в эффектах NaHS использовали блокатор потенциал-зависимых кальциевых каналов нифедипин, который в концентрации 1 мкМ приводил к полному блокированию сокращений. Поэтому далее использовали бескальциевый раствор Кребса. Замещение нормального раствора бескальциевым вызывало процесс расслабления гладкомышечных клеток кишечника, который сопровождался изменением параметров сокращений. Добавление карбахолина в бескальциевый раствор приводило к снижению ППК, который составил 62.2±4.6% (n=12; p<0.05) по отношению к контролю. Площадь под кривой вызванного сокращения на фоне NaHS в бескальциевый раствор составила 44.3±2.6% (n=12; p<0.05) от контрольного эффекта карбахолина.

Для анализа роли внутриклеточных Ca<sup>2+</sup> депо в эффектах NaHS использовали дантролен, который снижает высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулума через рианодиновые рецепторы. На фоне предварительной аппликации дантролена эффект карбахолина не отличался от контроля, и ППК составила 94±3% (n=8, p>0.05). В условиях одновременной аппликации дантролена и NaHS площадь под кривой вызванного карбахолом сокращения составила 68±7% (n=8; p<0.05) от контрольного уровня. Таким образом, можно предположить, что изменение внутриклеточной концентрации ионов кальция является одним из ключевых факторов, определяющих ингибирующее влияние NaHS на сократительную активность гладкомышечных клеток тощей кишки крысы.

## **КАЛЬПАИН И L-ТИП КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ ВЫЗВАННОЙ СЕКРЕЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ**

**Тарасова Е.О.<sup>1</sup>, Гайдуков А.Е.<sup>1</sup>, Балезина О.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,  
Москва, Россия

*cate1990@list.ru*

В связи с хорошо известной зависимостью секреции нейромедиатора от кальциевых волн в пресинаптическом нервном окончании, роль кальций-зависимых ферментов в регуляции работы синапсов уже давно находится в центре внимания научных исследований. Однако, участие кальций-зависимой протеазы кальпаина ранее рассматривалось, в основном, в контексте запуска апоптоза клеток и лишь недавно стали накапливаться сведения об её участии в регуляции клеточных функций при физиологических условиях их работы. Целью данной работы было



исследование роли и возможных механизмов действия кальпаина в нервно-мышечных синапсах мышцы.

Работа проводилась на «рассечённом» нервно-мышечном препарате диафрагмы мышцы с использованием стандартной микроэлектродной техники. Одновременно регистрировали спонтанную активность синапсов в виде миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и вызванную короткой ритмической стимуляцией нерва активность в виде многоквантовых потенциалов концевой пластинки (ПКП).

Ранее нами было установлено, что ингибитор кальпаина PD150606 в концентрации 100 мкМ вызывал существенный прирост амплитуды и квантового состава (КС) ПКП. При этом параметры МПКП оставались неизменными по сравнению с контролем, что свидетельствует об усилении нервно-мышечной передачи за счёт увеличения количества выбрасываемых одновременно квантов нейромедиатора.

Мы показали, что блокирование L-типа кальциевых каналов нитрендипином (1 мкМ) способно полностью предотвращать увеличение амплитуды и КС ПКП при ингибировании кальпаина. Таким образом, усиление выброса АХ при ингибировании кальпаина связано с подключением входа кальция по L-типу кальциевых каналов, который в норме не вносит вклад в регуляцию вызванного выброса медиатора.

При этом, на фоне предварительного усиления секреции ацетилхолина за счёт растормаживания входа кальция по каналам L-типа на фоне ингибирования фосфатазы кальциейрина циклоспорином А (1 мкМ), аппликация PD 150606 приводила к возвращению КС ПКП к уровню контрольных значений. Это может свидетельствовать о том, что при усиленном входе кальция в терминаль меняется статус активности кальпаина и, возможно, протеолитическому расщеплению с его стороны начинают подвергаться новые мишени.

Выявление данных мишеней и выяснение деталей взаимодействия кальпаина и L-типа кальциевых каналов является задачей дальнейших исследований.

## **ОСОБЕННОСТИ ПОТЕНЦИАЛА ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ В НОРМЕ И ПРИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНОМ ПРОЦЕССЕ В УСЛОВИЯХ МЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА**

**Тищенко А.Ю.<sup>1</sup>, Сладкова Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*sacha10-05@mail.ru*

Эритроциты человека чувствительны к действию механического стресса, что в большей степени проявляется в изменении функциональных свойств их мембран. В связи с этим, целью работы являлось изучение особенностей потенциала поверхности эритроцитов в норме и при лимфопролиферативном процессе в условиях механического стресса.

Объектом исследования являлись эритроциты здоровых людей и больных ОЛЛ, подвергшиеся механическому стрессу. В каждой группе было исследовано по 10 проб крови. Контролем служили эритроциты здоровых и эритроциты больных людей без выполнения механического стресса.

Забор периферической крови проводился из локтевой вены медперсоналом лаборатории Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа. Клетки крови опытных групп подвергались механическому стрессу согласно методике Oonishi T. (1997). Подготовку эритроцитов для измерения потенциала поверхности проводили согласно «Способу регистрации изменения поверхностного заряда» (Патент № 2027188). Исследование поверхностного потенциала (ПП) эритроцитов осуществляли в режиме зонда Кельвина на атомно-силовом микроскопе ИНТЕГРА Вита (NT-MDT, Зеленоград, 2009). Статистический анализ полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента для 5%-го уровня значимости.

ПП эритроцитов после механического стресса у здоровых людей снизился на 53% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с ПП клеток контрольной группы и составил  $-28,49 \pm 1,2$  мВ, у больных ОЛЛ ПП напротив увеличился на 205% ( $P < 0,05$ ) и составил  $-9,10 \pm 1,1$  мВ. При этом ПП эритроцитов здоровых людей после механического стресса был выше на 132% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с ПП клеток больных ОЛЛ после аналогичной нагрузки.



Разнонаправленное изменение ПП мембран эритроцитов, вероятно, указывает на нарушения в метаболизме АТФ и работе пуринергической сигнальной системы при развитии пролиферативных процессов в системе крови. При развитии лейкоза происходит снижение выхода АТФ при механическом стрессе, что совместно с возрастанием продукции активных форм кислорода, по-видимому, приводит к выключению ионных насосов и поступлению кальция из межклеточной среды, что вызывает существенные нарушения в ионном гомеостазе эритроцитов.

Таким образом, установлено, что под влиянием механического стресса потенциал поверхности эритроцитов здоровых людей снижается, а больных ОЛЛ значительно повышается.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00032/18

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ**

**Тукмачева К.А.<sup>1</sup>, Пазиненко О.А.<sup>1</sup>, Пантелеев К.Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ижевск, Россия

*KseniyaTukmasheva@rambler.ru*

Повышение гомоцистеина в крови (гипергомоцистеинемия) – состояние, обусловленное нарушением метаболизма аминокислоты, зависит от разнообразных факторов, в число которых входит изменение его поступления в организм. Белым беспородным крысам в течение 3-х недель в корм добавляли DL-метионин (Бельгия) в дозе 1,5 мг/кг. Исследовали кровь на содержание гомоцистеина, АСТ, АЛТ, ЩФ, билирубина, проводили цитологический анализ. На срезах печени после парафиновой заливки и окраски гематоксилином и эозином оценивали гистоструктуру органа, площади цитоплазмы и ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), при окраске AgNOR (БиоВитрум) оценивалась активность ядрышкообразующих районов хромосом. В эксперименте достоверно повышены уровни гомоцистеина ( $22,6 \pm 0,6$  мкмоль/л), АЛТ (с  $42,5 \pm 4,2$  Е/л до  $73,04 \pm 10,3$  Е/л), АСТ (с  $160,3 \pm 15,5$  до  $245,3 \pm 19,8$  Е/л), щелочной фосфатазы (с  $238,0 \pm 12,4$  до  $309,3 \pm 30,6$  Е/л), количество билирубина снижено. Коэффициент де Ритиса падает с 3,8 до 3,3 (опыт), что подтверждает активно идущий воспалительный процесс. В крови в 1,56 раз повышается количество лейкоцитов ( $2,15 \pm 0,2$  vs  $3,35 \pm 0,2 \times 10^3$  uL), в 1,4 раза нейтрофилов (с 22,5% до 31,5%). Лейкоцитарный индекс интоксикации для оценки системной воспалительной реакции (частное от деления суммы гранулоцитов на сумму лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов), повышается с  $0,31 \pm 0,05$  до  $0,49 \pm 0,1$ . Печень экспериментальных животных сохраняет гистоструктуру, отмечается расширение центральных вен, очаговая перипортальная лимфоцитарная инфильтрация, в сосудах – явления сладжа и венозного застоя. Популяция гепатоцитов представлена мелкими клетками, площадь цитоплазмы снижается с  $326,03 \pm 99,69$  до  $210,19 \pm 37,2$  мкм<sup>2</sup> ( $p \leq 0,05$ ), размеры ядра не меняются ( $52,54 \pm 5,81$  vs  $56,63 \pm 5,58$  мкм<sup>2</sup>), плотность расположения клеток на единицу поля зрения падает. ЯЦО гепатоцитов повышено в 1,65 раз: с  $0,17 \pm 0,04$  до  $0,28 \pm 0,06$  ( $p \leq 0,05$ ). Отмечено появление клеток, размер ядра которых превосходит среднепопуляционные параметры на 40% ( $78,57 \pm 2,71$  мкм<sup>2</sup>), а ЯЦО увеличено в 2,25 раз ( $0,63 \pm 0,15$ ). Подобные мегакариоциты могут являться результатом эндомитоза, отражающего возросшие потребности в регенерации. Количество ядрышек, приходящихся на ядро повышается в 1,43 раза ( $1,92 \pm 0,10$  vs  $2,74 \pm 0,15$ ). Количество ядерных гранул AgNO<sub>3</sub>, соответствующих количеству функционирующих в клетке РНК-полимераз, снижается ( $2,62 \pm 0,78$  vs  $1,99 \pm 0,63$ ). Таким образом, хроническая метиониновая нагрузка приводит к повышению уровня гомоцистеина в крови, нарушению метаболизма ферментов печени, изменению цитологических характеристик, свидетельствующих о развивающемся гепатите.



## ЭКСПРЕССИЯ И ДОСТАВКА ГЕНА GDNF В ПОМОЩЬЮ ВИРУСНОГО КОНСТРУКТА

**Турбанова В.Д.<sup>1</sup>, Гавриш М.С.<sup>1</sup>, Бабаев А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
Нижний Новгород, Россия

*vikaturu@mail.ru*

С глиальным нейротрофическим фактором (GDNF) связывают перспективы лечения неврологических расстройств, так как его применения способствует спраутингу поврежденных нейронов. Для доставки гена GDNF в клетки головного мозга в настоящее время используются аденоассоциированные вирусные векторы (AAV), основным преимуществом которых является способность инфицировать как делящиеся, так и неделящиеся клетки.

Целью работы явилось получение вирусного конструкта, содержащего в себе ген GDNF.

Разработана стратегия создания плазмидного вектора pAAV-Syn-GDNF-kid2 под управлением синапсного промотера, позволяющего экспрессировать ген интереса в нейрональных клетках. Опробованы методы выделения из клеток головного мозга взрослой мыши суммарной РНК, определен протокол с наибольшим титром РНК. Проведена обратная транскрипция при помощи MMLV-ревертазы, в ходе которой получена кодирующая ДНК. Далее была подобрана система праймеров, необходимых для амплификации гена GDNF с кДНК, и произведена наработка нуклеотидной последовательности GDNF с использованием Phusion полимеразы методом PCR.

Полученная последовательность GDNF будет подвергаться рестрикции и затем лигированию с плазмидой AAV-Syn-kid2. Планируется трансформация плазмидой компетентных клеток *E.coli* с дальнейшим клонированием.

Дальнейшая упаковка рекомбинантного аденоассоциированного вектора будет производиться в культурах НЕК 293 FT при помощи вспомогательных плазмид.

## ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ТИТИНА И ПАССИВНАЯ ЖЕСТКОСТЬ МЫШЦЫ ПРИ МОДЕЛИРУЕМОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ

**Уланова А.Д.<sup>1,2</sup>, Вихлянцев И.М.<sup>1,2</sup>, Салмов Н.Н.<sup>1</sup>, Тыганов С.А.<sup>3</sup>, Шарло К.А.<sup>3</sup>,  
Шенкман Б.С.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*a-okuneva@yandex.ru*

Развитие атрофических изменений в мышцах в условиях реальной и моделируемой микрогравитации сопровождается уменьшением силы мышечных сокращений и снижением пассивной жесткости мышечных волокон. Эти изменения обусловлены повышенным кальций-зависимым протеолизом кальпаинами ряда белков саркомерного цитоскелета, в частности гигантского белка титина, простирающегося в саркомере от М-линии до Z-диска и формирующего третий тип миофиламентов – эластичные нити.

Цель данной работы заключалась в выяснении вклада титина в изменение пассивной жесткости *m. soleus* крысы после 7-суточной моделируемой гравитационной разгрузки. Эксперименты проводили на трёх группах животных: «Контроль» (n=7); «Вывешивание» (антиортостатическое вывешивание проводилось согласно модели Ильина-Новикова, n=6); «Вывешивание + PD» – группа вывешенных животных, которым внутримышечно вводился ингибитор кальпаина-1 PD150606 (n=6).

После 7-суточной моделируемой гравитационной разгрузки выявлено снижение содержания титина (на 35%,  $p \leq 0.01$ ), увеличение содержания его протеолитических фрагментов (T2, на 40%,  $p \leq 0.01$ ), что свидетельствует о повышенном протеолизе этого белка в разгруженной мышце *soleus*. Измерения пассивной жесткости *m. soleus* вывешенных крыс также выявили ее снижение (на 20%,  $p \leq 0.01$ ), что согласуется с данными об уменьшении содержания титина,





молекулы которого образуют эластичное соединение между концами миозиновых нитей и Z-диском саркомера.

Статистически значимых различий уровня пассивной жесткости *m. soleus* крыс группы «Контроль» и группы «Вывешивание + PD» не зарегистрировано, что могло быть следствием нормального содержания титина в этой мышце. Однако содержание этого белка в *m. soleus* крыс группы «Вывешивание + PD» статистически значимо не отличалось от его пониженного содержания в *m. soleus* крыс группы «Вывешивание». Поскольку общий уровень фосфорилирования титина, оцененный с помощью окраски флуоресцентным красителем фосфатных групп белков Phos-Tag PhosphoproteinGel Stain (GeneCopoeia), был снижен на 30% ( $p \leq 0.01$ ), было сделано следующее предположение: гипофосфорилирование титина увеличивает жесткость молекул этого белка, что, в свою очередь, приводит к увеличению пассивной жесткости мышцы.

Работа поддержана грантами РФФИ № 16-04-00529, 17-04-01838.

## **ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГОЛОВНОГО МОЗГА НА УСТОЙЧИВОСТЬ МЫШЕЙ ЛИНИИ SHK К ХРОНИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ IN VIVO**

**Уразов М.Д.<sup>1</sup>, Астраханова Т.А.<sup>1</sup>, Усенко А.В.<sup>1</sup>, Мищенко Т.А.<sup>1,2</sup>,**

**Ведунова М.В.<sup>1</sup>, Митрошина Е.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия

*urazov@neuro.nnov.ru*

Внутриутробная гипоксия является одним из самых распространенных факторов, приводящих к различным неврологическим расстройствам у детей во всем мире. Чувствительность центральной нервной системы к гипоксическому воздействию и недостатку кислорода является причиной, вызывающей интерес к изучению метаболических изменений в ткани мозга и поиску эффективных способов коррекции этих изменений. Нейротрофический фактор головного мозга BDNF представляет собой эндогенный белок, стимулирующий и поддерживающий развитие нейронов, а также способный повышать жизнеспособность зрелых клеток и уровень их метаболизма на фоне воздействия различных стресс-факторов. Следовательно, BDNF можно рассматривать как потенциальный нейропротектор, способный поддерживать жизнеспособность клетки на фоне негативного воздействия гипоксии. В соответствии с этим, целью работы является исследование действия эндогенного BDNF на устойчивость мышечной линии SHK к хронической пренатальной гипоксии *in vivo* и на функциональную активность митохондрий тканей мозга.

В исследовании использовались новорожденные мышата линии SHK. Разработана методика моделирования хронической пренатальной гипоксии. Беременные самки ежедневно начиная с 14х-суток гестации до родов помещались в гипобарическую барокамеру, в которой в течение 2 часов поддерживали давление 350-370 мм рт. ст., что соответствует высоте 6500 м над уровнем моря. Подъем на «высоту» длился 1 мин. Определение параметров дыхания митохондрий мозга проводили по оценке скорости поглощения ими кислорода. Скорость потребления кислорода митохондриями регистрировали при помощи респирометра высокого разрешения Oxgraph-2k (Oroboros, Австрия). Установлено, что базальная скорость потребления кислорода, при окислении субстратов глутамата и малата, в контрольной группе у мышат P1 (первые сутки постнатального развития) достоверно увеличивается по сравнению с интактной группой в 1,4 раза и составляет  $2486,65 \pm 155,1$  пмоль/(с\*мл), 1 мг белка. Также отмечена активация альтернативного сукцинатзависимого пути дыхания, при которой показатели в контрольной группе составили  $7565,27 \pm 548,7$  пмоль/(с\*мл), 1 мг белка, что в 1,4 раза выше чем в интактной группе.

Таким образом, увеличение окислительного фосфорилирования митохондрий и активация альтернативного пути дыхания, связанные с механизмами долговременной адаптации формируются постепенно в процессе хронической гипоксии. Вероятно, в эти процессы вносит вклад активация



синтеза эндогенного BDNF, что требует дальнейшего изучения. Исследование выполнено в рамках гранта Российского Научного Фонда 17-04-01128

## СПОНТАННАЯ СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА И ЭКЗОЦИТОЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ ПРИ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ СЕПТИНОВ

Хисамиева Г.А.<sup>1</sup>, Григорьев П.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия

*guzell3g96@mail.ru*

Септины представляют собой относительно недавно открытый элемент цитоскелета. Несмотря на обнаруженную дисфункцию септинов в ряде неврологических заболеваний, роль септинов в функции нейронов изучена недостаточно. Эксперименты проведены на нервно-мышечных препаратах диафрагмы мыши. Был использован стандартный раствор Кребса для теплокровных, в некоторых экспериментах для увеличения интенсивности секреции медиатора был использован гиперкалиевый раствор (содержание ионов  $K^+$  увеличено до 40мМ, содержание ионов  $Na^+$  изотонически уменьшено). Регистрация миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) осуществлялась внутриклеточными стеклянными электродами, заполненными 2,5 М KCl, подведение которых производилось под контролем интерференционно-поляризационного микроскопа. Для оценки процессов экзо-эндоцитоза синаптических везикул использовался флуоресцентный краситель FM 1-43, оптика для анализа свечения флуоресцентного красителя включала микроскоп Olympus BX51WI, оснащенный конфокальным сканирующим диском DSU и комплектом светофильтров U-MNB2. В качестве препарата, стимулирующего полимеризацию септинов, был использован форхлорфенурон, который добавлялся в перфузионный раствор за 40 мин до начала регистрации. Обнаружено, что экспозиция форхлорфенурина приводила к снижению интенсивности спонтанной секреции в стандартном растворе. В то же время, экспозиция форхлорфенурина снижала частоту индуцированной гиперкалиевым раствором частоты МПКП. Также форхлорфенурон приводил к замедлению динамики выгрузки флуоресцентного красителя FM 1-43. Полученные данные свидетельствуют, что избыточная полимеризация септинов приводит к нарушению процессов экзоцитоза синаптических везикул и секреции медиатора в двигательных нервных окончаниях мыши. Исследование поддержано грантом РФФИ 17-04-01870-а.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОДИСПЕРСНОГО ДИОКСИДА ТИТАНА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕЗЕНКИ

Цайзель В.Ю.<sup>1</sup>, Романова А.Р.<sup>1</sup>, Шарафутдинова Л.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

*viktoriyatsaizel@mail.ru*

Оксид титана существует в виде нескольких модификаций: анатаз, рутил, брукит, отличающихся сингонией [Gratzel M., 1999]. Изучение токсических свойств нанодисперсных частиц  $TiO_2$  в последние годы проводится как *in vitro* с использованием культур клеток различных органов, так и *in vivo* на моделях различных животных при остром и хроническом воздействии наночастиц. Результаты исследований Li N et al показали накопление  $TiO_2$  НЧ в селезенке мыши, что приводило к перегрузке лимфатических узлов и распространению клубеньковой ткани в селезенке и апоптозу спленоцита.  $TiO_2$  снижал уровень bcl-2 и увеличивал уровень Вах, и гены системы цитохрома С, способствовал накоплению активных форм кислорода [Li N et al., 2010, p. 195].

Целью настоящего исследования стало выявление морфо-функциональных изменений селезенки у самцов крыс линии Wistar (n=40) при пероральном введении нанодисперсного  $TiO_2$ . У контрольной группы крыс селезенка имеет хорошо выраженную соединительнотканную капсулу



из плотной соединительной ткани и трабекулы, содержащие кровеносные сосуды. Паренхима селезенки была образована лимфоидной тканью в виде лимфатических узелков и периартериальными лимфоидными муфтами, составляющими белую пульпу. Между ними находилась красная пульпа. Соотношение белой и красной пульпы было 1:1. Изучение селезенки крыс через 14 дней после перорального введения нанодисперсного  $TiO_2$  было обнаружено, что доля белой пульпы статистически значимо уменьшилась, что также связано, по-видимому, с развитием отека органа. Было отмечено увеличение объемной доли периартериальных лимфоидных муфт и снижение доли лимфатических узелков. В селезенке крыс, которым перорально вводили наночастицы  $TiO_2$  в дозе 50 мг/кг/сут в течение 30 суток сохраняется тенденция к уменьшению доли белой пульпы и увеличению площади красной пульпы. Площадь, занимаемая периартериальными лимфоидными муфтами существенно увеличивается. В выявленных структурных изменениях селезенки крыс, которым вводили перорально нанодисперсный  $TiO_2$  в дозе 50 мг/кг/сут в течение 50 дней наблюдалось, что соотношение красной и белой пульпы не отличалось от контроля. При этом доля периартериальных лимфоидных муфт резко увеличилась.

Таким образом, ежедневное пероральное введение наночастиц  $TiO_2$  в дозе 50 мг/кг приводит к увеличению площади функциональных зон селезенки, отвечающих за гуморальный иммунитет и снижению относительной площади зон, отвечающих за клеточный иммунитет, что свидетельствует об активации гуморального звена иммунитета.

### **ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК- КАК МЕДИАТОР КЛЕТОЧНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ АУТИЗМОМ**

**Чудакова Ю.М.<sup>1</sup>, Канонирова С.А.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Никитина С.Г.<sup>2</sup>, Вейко Р.В.<sup>1</sup>, Симашкова Н.В.<sup>1,2</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Научный центр психического здоровья, Москва, Россия

В крови детей, страдающих расстройствами аутистического спектра, выявляются маркеры воспалительной реакции, таких как концентрация С-реактивного белка, активность  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора, повышение уровня провоспалительных цитокинов, изменения в калликреин-кининовой системе, системе комплимента. Была обнаружена корреляция между уровнем повышения маркеров воспаления и тяжестью клинической симптоматики. Мы предположили, что внеклеточная ДНК может быть медиатором воспалительной реакции у детей, страдающих аутизмом.

Целью работы было выявить разницу в концентрации внеклеточной ДНК и активностью NF- $\kappa$ B сигнального пути у детей, больных аутизмом, и контрольной группы.

Результаты: было показано, что в плазме крови детей-аутистов (N=32) в 2-4 раза повышена концентрация внеклеточной ДНК (вкДНК) по сравнению с нормой ( $p < 0,001$ ). При исследовании уровня экспрессии транскрипционного фактора NF $\kappa$ B1 и провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и ИЛ-8 в лимфоцитах периферической крови пациентов с аутизмом и здорового контроля (N=18). Лимфоциты периферической крови больных аутизмом характеризуются повышенной экспрессией гена NF $\kappa$ B1 (в 2 раза выше, чем в контрольной группе) и генов провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL8 (в 4 и 4,5 раза выше, чем в контрольной группе). Кроме того, уровень экспрессии гена ИФ $\gamma$  лимфоцитами детей с аутизмом в 3,4 раза превосходил соответствующий показатель в контрольной группе. Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01587\_А



## ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА ВЫЗВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ ГЛАДКИХ МЫШЦ ТРАХЕИ КРЫС

**Шайдуллов И.Ф.<sup>1</sup>, Шафигуллин М.У.<sup>1</sup>, Сорокина Д.М.<sup>1</sup>, Ситдикова Г.Ф.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Казань, Россия

*ilnarshaidullov@gmail.com*

Сероводород ( $H_2S$ ) – представляет собой газотрансмиттер, используемый для регуляции различных физиологических и патофизиологических процессов во всех органах млекопитающих. Так, в дыхательной системе  $H_2S$  оказывает важное регуляторное влияние на ремоделирование легочного коллагена и вызывает гипотензию путем прямого ингибирования ангиотензинпревращающего фермента и вазорелаксации. С другой стороны, сообщается, что сероводород может вызывать как сокращение бронхов и трахеи, увеличивая сопротивление дыхательных путей, так и расслаблять гладкомышечные клетки. Если увеличение тонуса гладких мышц авторы связывают с активацией сенсорных нейронов и освобождением нейропептидов, то механизмы расслабляющего эффекта  $H_2S$  на гладкие мышцы дыхательных путей неизвестны.

Целью нашего исследования была оценка влияния  $H_2S$  на базовый тонус и на вызванные карбахолином сокращения трахеи крысы. Для этого использовали сегменты трахеи длиной 4-5 мм. Изометрические сокращения кольцевых мышц регистрировали на установке фирмы BiopacSystems, Inc. В качестве донора сероводорода использовали гидросульфид натрия (NaHS).

Для оценки вызванной сократительной способности гладких мышц использовали KCl и карбахолин в концентрациях 70 мМ и 5 мкМ, что приводило к значительному повышению базового тонуса препарата относительно контроля. При этом амплитуда сокращений, вызванных карбахолином было достоверно выше чем при добавлении KCl. Кумулятивное добавление NaHS в концентрациях 50-800 мкМ приводило к дозозависимому снижению KCl и карбахолин вызванного тонуса препарата. Однако, достоверные изменения наблюдались только после добавления 200 мкМ NaHS. Дальнейшее повышение концентрации NaHS до 800 мкМ приводило к снижению карбахолин вызванного тонуса сокращения на  $13.47 \pm 3.12\%$  ( $n=5$ ,  $p<0.05$ ) соответственно, что достоверно ниже базового уровня тонуса. Стоит отметить, что эффект релаксации препарата на карбахолин-вызванное сокращение является более сильным, относительно базового уровня тонуса, чем при KCl индуцированном сокращении ( $-18.71 \pm 7.22\%$ ,  $n=5$ ,  $p<0.05$ ).

На фоне предварительной аппликации NaHS в концентрации 200 мкМ, который приводил к снижению тонуса препарата на  $8.51 \pm 2.47\%$  ( $n=5$ ,  $p<0.05$ ), добавление карбахолина вызвало повышение тонуса на  $72.34 \pm 10.29\%$ , что достоверно ниже контрольных показателей ( $n=5$ ,  $p<0.05$ ).

Таким образом, донор  $H_2S$  оказывает угнетающее действие как на вызванные сокращения, так и на базовый тонус гладких мышц препарата трахеи крысы. В основе действия NaHS может лежать блокада притока ионов Ca и инактивация холинергических рецепторов, однако, детальные механизмы эффектов  $H_2S$  требуют дальнейших исследований.

## МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАЗВИТИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В СИСТЕМЕ КРОВИ

**Шамрай Е.А.<sup>1</sup>, Тикунова Т.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; <sup>2</sup>ОГБУЗ Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, Белгород, Россия

*elenashamray@yandex.ru*

Цель исследования: изучить изменение упруго-эластических и адгезивных свойств лимфоцитов во время миграции клеток в норме и при развитии злокачественной пролиферации лимфоидного и миелоидного ростка кроветворения.

Материалы и методы исследования. Исследовали венозную кровь больных острым лимфобластным (ОЛЛ) ( $n = 30$ ) и миелобластным (ОМЛ) ( $n = 20$ ) лейкозом, находящихся на лечении в стационаре областной клинической больницы им. Св. Иоасафа г. Белгорода. В качестве контроля использовали кровь здоровых людей ( $n = 30$ ). Лейкоцитарную суспензию получали путем центрифугирования при 1500 об./мин 5 мин. В эксперимент отбирали пробы с



жизнеспособностью клеток не менее 95%. Миграционную активность лейкоцитов изучали с помощью прямого капиллярного теста. Механические свойства поверхности клеток исследовали на атомно-силовом микроскопе ИНТЕГРА Вита (NTMDT, Зеленоград, 2009) в режиме силовой спектроскопии. Измерение силы адгезии в системе «лимфоцит-лейкоцит» и «лимфоцит-эритроцит» осуществляли с использованием биосенсорного чипа (патент РФ № 2627455). Из каждой пробы сканировали не менее 15 клеток (лимфоцитов, лейкоцитов и эритроцитов) до и после миграции как в норме и в группе пациентов с ОЛЛ и ОМЛ.

Результаты. В норме миграционная активность лейкоцитов составила  $19,3 \pm 0,6\%$ . Модуль Юнга до миграции в контроле составил  $3,16 \pm 0,02$  мПа, после миграции  $-6,01 \pm 0,02$  мПа. Сила адгезии в системе «лимфоцит-лейкоцит» и «лимфоцит-эритроцит» в норме до миграции составила соответственно  $73,6 \pm 0,6$  нН и  $45,7 \pm 0,5$  нН, после миграции –  $60,5 \pm 0,6$  нН и  $38,4 \pm 0,7$  нН. В группе больных ОЛЛ миграционная активность лейкоцитов снизилась на 29% ( $p < 0,05$ ), при этом модуль Юнга до миграции снижен на 30% ( $p < 0,05$ ), а после миграции – увеличился на 109% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Сила адгезии в системе «лимфоцит-лейкоцит» повышена до миграции на 25% ( $p < 0,05$ ), а после миграции – на 8% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. У пациентов, больных ОЛЛ, в системе «лимфоцит-эритроцит» до и после миграции адгезия снизилась соответственно на 2% и 10% ( $p < 0,05$ ) относительно контроля. При развитии ОМЛ миграционная активность лейкоцитов снизилась на 20% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с нормой. Модуль Юнга лейкоцитов у больных ОМЛ повышен как до миграции (на 129%;  $p < 0,05$ ), так и после (на 95%;  $p < 0,05$ ) относительно контроля. Сила адгезии в системе «лимфоцит-лейкоцит» и «лимфоцит-эритроцит» при ОМЛ снизилась до миграции соответственно на 29% и 36% ( $p < 0,05$ ), после миграции – на 24% и 33% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с нормой.

Заключение. Таким образом, при развитии злокачественных типов пролиферации в системе крови миграционная активность лейкоцитов снижается, жесткость клеточной поверхности повышается. Сила адгезии между клетками у больных ОЛЛ и ОМЛ снижены по сравнению с нормой до и после миграции клеток. Полученные результаты могут быть использованы в области диагностики патологических состояний в системе крови.

## ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНОЙ АГРЕГАЦИИ МИОЗИНСВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА С IN VITRO

Шумейко С.А.<sup>1</sup>, Бобылёва Л.Г.<sup>1</sup>, Бобылёв А.Г.<sup>1</sup>, Якупова Э.И.<sup>1</sup>, Уланова А.Д.<sup>1</sup>, Салмов Н.Н.<sup>1</sup>, Вихлянцев И.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

*Shumik92@gmail.com*

Амилоидные агрегаты являются основным признаком амилоидозов – конформационных болезней человека и животных, наступающих в результате наследственного или приобретенного нарушения сворачивания белка. К таким болезням относятся, например, болезнь Альцгеймера, Паркинсона, диабет второго типа и др. Показано, что многие амилоидные агрегаты обладают токсическими свойствами. Показано, что амилоидные агрегаты имеют кросс-бета структуру.

Ранее в наших исследованиях обнаружена способность мышечного белка титина, состоящего из иммуноглобулин-подобных и фибронектин III-подобных доменов с бета-складчатой структурой, образовывать амилоидные агрегаты *in vitro*. Миозинсвязывающий белок С (МуВР-С), локализующийся на толстых нитях в А-зоне саркомера и участвующий в регуляции мышечного сокращения, также как и титин, состоит из доменов подобного типа.

Цель нашего исследования заключалась в выяснении способности МуВР-С формировать амилоидные агрегаты *in vitro*.

По данным атомно-силовой и электронной микроскопии была обнаружена способность МуВР-С скелетных мышц кролика формировать пучки линейных фибрилл длиной 2 мкм и шириной до 500 нм в растворах, содержащих 0,03 М CaCl<sub>2</sub>, 10 мМ имидазола, рН 7,0 и 0,01 М К-фосфат, рН 7,0. Метод рентгеновской дифракции проведены исследования структуры агрегатов МуВР-С. Получены рефлексы 9,3Å и 4,58Å, которые свидетельствуют о кросс-бета структуре, присущей амилоидам.

Учитывая сравнительно короткие временные интервалы, в течение которых формируются агрегаты МуВР-С *in vitro* по данным динамического светорассеяния, нельзя исключить их



формирования *in vivo*. В этом случае, принимая во внимание данные о цитотоксичности амилоидных агрегатов титина (Bobylev et al., 2016), можно ожидать токсическое действие и амилоидов МуВР-С. Проверка этого предположения является задачей наших дальнейших исследований.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00268

## **ОСОБЕННОСТИ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И СТРУКТУРЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ ЛИМФОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

**Щетинина Е.Н.<sup>1</sup>, Сладкова Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

*schetinina.katia2016@yandex.ru*

Окислительный стресс – составная часть патогенеза многих заболеваний. Активные формы кислорода способны нарушать передачу клеточных сигналов, непосредственно воздействуя на рецепторные комплексы плазмалеммы, что может сопровождаться изменением морфологии клеток. Ввиду чего, цель нашей работы - изучить особенности геометрических параметров клеток и структуры плазмалеммы лимфоцитов в условиях окислительного стресса.

Объект исследования – лимфоциты здоровых людей, подвергшиеся окислительному стрессу, контроль – нативные лимфоциты (по 10 проб крови в каждой группе). Клетки крови опытной группы подвергались механическому стрессу согласно методике Рязановой Н.В. (2013). Исследование морфофункциональных свойств лимфоцитов проводили на атомно-силовом микроскопе (АСМ) ИНТЕГРА Вита (NT-MDT, Зеленоград, 2009). Структуру клеточной поверхности изучали в полуконтактном режиме АСМ, морфологию – в режиме силовой спектроскопии АСМ. Статистический анализ полученных данных проведен с использованием критерия Стьюдента для 5%-го уровня значимости.

Объем и площадь поверхности лимфоцитов в условиях окислительного стресса увеличились соответственно на 5% ( $p < 0,05$ ) и 15% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Высота лимфоцитов опытной группы возросла на 8% ( $p < 0,05$ ), при этом диаметр уменьшился на 9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с клетками контрольной группы. В условиях окислительного стресса на поверхности лимфоцитов идентифицированы глобулярные образования, высота и ширина которых уменьшились соответственно на 25% ( $p < 0,05$ ) и 23% ( $p < 0,05$ ), при этом их количество увеличилось на 20% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Глубина и ширина инвагинаций плазмалеммы лимфоцитов после окислительного стресса уменьшились соответственно на 10% ( $p < 0,05$ ) и 13% ( $p < 0,05$ ) на фоне увеличения их количества на 25% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, окислительный стресс приводит к увеличению площади поверхности и объема лимфоцитов. Изменение рельефа поверхности клеток имело неоднозначный характер, на фоне уменьшения размеров морфологических образований, происходило увеличение их количества. Не исключено, что изменение морфологии лимфоцитов может сопровождаться изменением рецепторного комплекса на их поверхности, и, как следствие, нарушениями в процессах передачи клеточных сигналов.

## **РЕГУЛЯЦИЯ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА Р-ГЛИКОПРОТЕИНА ПОЛОВЫМИ ГОРМОНАМИ**

**Щулькин А.В.<sup>1</sup>, Черных И.В.<sup>1</sup>, Мыльников П.Ю.<sup>1</sup>, Есенина А.С.<sup>1</sup>, Якушева Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Рязань, Россия

*alekseyshulkin@rambler.ru*

Р-гликопротеин (Pgp) – белок-транспортер, использующий энергию АТФ для выведения ксенобиотиков и биобиотиков из клеток. Активность Pgp может изменяться (повышаться или снижаться) под влиянием различных веществ.



Цель исследования – изучить влияние половых гормонов на активность Pgp.

Работа выполнена на половозрелых кроликах породы шиншилла массой 3500-4000 г, которые были разделены на 4 группы. 1-ая группа – кролики-самцы, которым выполнялась орхиэктомия, а на 21 сут после операции однократно внутримышечно вводили тестостерона ундеcanoат в дозе 6 мг/кг. 2-ая группа – кролики-самки, которым выполнялась овариоэктомия и животные наблюдались в течение 42 сут. 3-я группа – кролики-самки, которым выполнялась овариоэктомия, а с 14 сут начинали вводить эстрадиол per os один раз в день в дозе 2 мг/кролик на протяжении 28 дней. 4-ая группа – кролики-самки, которым выполнялась овариоэктомия, а с 14 сут начинали вводить прогестерон per os один раз в день в дозе 2 мг/кролик на протяжении 28 суток. До начала исследования, а затем каждую неделю после начала у животных определяли концентрации эстрадиола, прогестерона, тестостерона в сыворотке крови и активность Pgp. Активность Pgp оценивали по фармакокинетике его маркерного субстрата фексофенадина после однократного введения per os в дозе 67,5 мг/кг. Накопление фексофенадина в организме кроликов (повышение  $C_{max}$  и  $AUC_{0-t}$ ), и снижение его выведения (уменьшение клиренса-Cl), свидетельствуют о снижении активности Pgp и наоборот.

Орхиэктомия, начиная с 7 сут приводила к снижению концентрации тестостерона в сыворотке крови и повышению активности Pgp на уровне целостного организма, что проявлялось изменением фармакокинетики его маркерного субстрата – фексофенадина: снижением  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  и увеличением Cl. Введение тестостерона восстанавливало фармакокинетические параметры фексофенадина.

Овариоэктомия приводила к снижению концентрации прогестерона (с 7 сут) и эстрадиола (к 42 сут) и уменьшению активности Pgp (с 7 сут), что проявлялось изменением фармакокинетики фексофенадина: повышением  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  и снижением Cl.

Применение эстрадиола при овариоэктомии повышало активность Pgp по сравнению с показателями кроликов, подвергнутых овариоэктомии, и нормализовало (отсутствовали достоверные отличия) активность по сравнению с исходными показателями.

Введение прогестерона при овариоэктомии повышало активность Pgp по сравнению с показателями кроликов, подвергнутых овариоэктомии, но не влияло на активность белка-транспортера (оставалась сниженной) по сравнению с исходными показателями.

Работа поддержана грантами РФФИ 16-04-00320 а, 18-015-00259 а.

## СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГИГАНТСКИХ БЕЛКОВ САРКОМЕРНОГО ЦИТОСКЕЛЕТА И УРОВНЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТИТИНА В ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТЫХ МЫШЦАХ ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА SPERMOPHILUS UNULATUS

Юцкевич Я.А.<sup>1</sup>, Попова С.С.<sup>1,2</sup>, Вихлянцев И.М.<sup>2,3</sup>, Рогачевский В.В.<sup>4</sup>,

Захарова Н.М.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия; <sup>4</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*yana.yutskevich@gmail.com, ivanvikhlyantsev@gmail.com*

Исследованы сезонные изменения содержания гигантских белков саркомерного цитоскелета титина и небулина, а также уровня фосфорилирования титина в миокарде и скелетной мышце (*m. longissimus dorsi*) длиннохвостого суслика *Spermophilus undulatus*. В экспериментах использовали животных следующих экспериментальных групп: «летняя активность»; «гипотермия» (спячка); «зимняя активность» (периодически повторяющиеся временные промежутки бодрствования (не более суток) между периодами гипотермии). Проводилось сравнение исследуемых параметров (содержания белков и уровня фосфорилирования титина в мышцах) у сусликов группы «гипотермия» и группы «зимняя активность» с таковыми у сусликов группы «летняя активность».

С помощью разработанного нами метода ДСН-ПААГ-электрофореза для белков с огромной молекулярной массой [Vikhlyantsev, Podlubnaya, Biophys Rev., 2017] обнаружено



снижение (на ~13%,  $p \leq 0.01$ ) содержания титина (гигантского белка толстых нитей поперечно-полосатых мышц) в миокарде и скелетной мышце сусликов группы «гипотермия». Различий в содержании небулина (гигантского белка тонких нитей скелетных мышц) в *m. longissimus dorsi* сусликов трёх исследуемых групп не обнаружено. Известно, что снижение в 1.5–2 раза содержания титина и небулина в скелетных мышцах млекопитающих при развитии патологических процессов или вследствие развития атрофии в условиях гравитационной разгрузки сопровождается нарушением саркомерной структуры, что приводит к ухудшению сократительных свойств мышцы. Проведенные нами электронно-микроскопические исследования ультраструктуры кардиомиоцитов не выявили нарушений их саркомерной структуры в миокарде сусликов группы «гипотермия». В *m. longissimus dorsi* сусликов группы «гипотермия» наблюдались саркомеры с увеличенным расстоянием между толстыми нитями в А-диске. Вклад в эти изменения могло внести гиперфосфорилирование титина (увеличение в 1.5 раза,  $p \leq 0.01$ ), обнаруженное нами в этой мышце с помощью флуоресцентного красителя фосфатных групп белков Pro-Q Diamond. Обнаруженные изменения будут вносить вклад в ингибирование сократительной способности *m. longissimus dorsi* в период сна.

Зарегистрировано восстановление нормального содержания титина в исследованных мышцах сусликов группы «зимняя активность». Роль этих изменений заключается в сохранении высокоупорядоченной структуры миофибрилярного аппарата и необходимого уровня сократительной активности мышц в разные периоды физиологической активности животного.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00326.

## ОКРАСКА КОНГО КРАСНЫМ КАК МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ АМИЛОИДОВ

**Якупова Э.И.<sup>1</sup>, Вихлянец И.М.<sup>1,2</sup>, Бобылёв А.Г.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

*yakupova.mira@mail.ru*

Окраска Конго красным (КК), ставшая уже классическим методом исследования амилоидов, сыграла большую роль в истории их изучения [1]. Принято считать, что при измерении спектральных характеристик раствора КК в присутствии амилоидных агрегатов/фибрилл наблюдается сдвиг спектра поглощения красителя в длинноволновую область от ~490 нм к ~510 нм. Кроме того, амилоиды в присутствии КК при поляризационной микроскопии (ПМ) должны иметь «желто-зеленое свечение».

Однако существуют данные, указывающие на низкую специфичность данных методов идентификации амилоидов [2]. Например, есть ряд работ, где показано, что КК способен связываться с неамилоидными объектами или не связываться с некоторыми амилоидами [2-6]. Также мы обнаружили, что аморфные агрегаты белка титина, сформированные в разных условиях, не проявляли сродства к КК, что показано спектрофотометрическим методом [6]. При этом, по данным ПМ одна часть препаратов титина с КК, проявляла свечение, а другая нет, хотя по данным X-гау дифракции все они имели кросс- $\beta$ -структуру, свойственную амилоидам [6].

Анализ научной литературы, проведенный в поисках ответов на вопрос о причинах вышеуказанных нами противоречий, указывает на то, что специфическая амилоидная  $\beta$ -кросс структура не является обязательной для связывания с КК, и сам механизм связывания зависит от целого ряда условий, включая тип растворителя, состав раствора, pH и др. [1-3]. С помощью ПМ мы обнаружили, что буферы, в которых титин формирует амилоиды, при добавлении КК имеют свечение даже в отсутствие белковых компонентов.

Т.о., с развитием науки и методологической базы, необходимо обращать внимание на новые качественные методы изучения амилоидов, в частности, такие как иммуногистохимия, иммуноблоттинг, X-гау дифракция и др. Что необходимо для исключения возможных ложных результатов, получаемых при окраске КК.

Список литературы:

1) Howie A.J., Brewer D.B. (2009) Optical properties of amyloid stained by Congo red: History and mechanisms. *Micron*, 40(3), 285-301; 2) Khurana R., et al. (2001) Is Congo red an amyloid-specific dye? *J Biol Chem*, 276(25), 22715-21; 3) Howie A.J. (2015) "Green (or apple-green) birefringence" of Congo red-stained amyloid. *Amyloid*, 22(3), 205-6; 4) Davidson B., et al. (1966) The optical rotatory





dispersion of the beta-structure of poly-L-lysine and poly-L-serine. *Biochem Biophys Res Commun*, 23, 156; 5) Small E.W., et al. (1970) Raman spectra and photon dispersion of polyglycine. *J Chem Phys*, 52, 4369; 6) Yakupova E.I., et al. (2017) Different amyloid aggregation of smooth muscles titin in vitro. *J Biomol Struct Dyn*, 10, 1-12.



## СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ»

### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ИНВАЗИВНОГО ВИДА *HARMOZICA RAVERGIENSIS* (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA)

Адамова В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет,  
Белгород, Россия

*vla3140@yandex.ru*

Распространение кавказского наземного моллюска *Harmozica ravergiensis* (Férussac, 1835) за пределы нативного ареала влечет за собой формирование устойчивых многочисленных колоний, приуроченных к урбанизированным ландшафтам.

Целью данной работы являлось исследование генетической структуры популяций *H. ravergiensis* на основе анализа межмикросателлитных локусов (ISSR). В качестве объекта исследования были отобраны восемь выборок из колоний, локализованных на территории юга Среднерусской возвышенности, в пределах г. Белгород и г. Новый Оскол (Белгородская обл.). Для сопоставления использовались две выборки из естественного ареала (Кавказ, Армения), а также одна инвазивная группа из г. Тверь, наиболее удаленная от первичного ареала. Анализ проводили с использованием метода ПЦР-ISSR. Были подобраны три праймера: UBC-826 (5'-(AC)<sub>8</sub>C-3'), IT1 (5'-(CA)<sub>8</sub>GT-3'), IT2 (5'-(CA)<sub>8</sub>AC-3'). У изучаемого вида было обнаружено 27 локусов.

Показатели генетического разнообразия неодинаковы в различных инвазивных группах. Результат анализа молекулярной дисперсии (AMOVA,  $p=0,001$ ) в популяциях *H. ravergiensis* показывает преобладание внутривидовой изменчивости над межвидовой (SS=866,425 и 327,177).

Новооскольская колония и три белгородские группы, приуроченные к промышленной зоне, отличаются низким процентом полиморфных локусов ( $P=62,96\%$ ;  $66,67\%$ ;  $70,37\%$ ;  $51,85\%$ ) и низкими значениями ожидаемой гетерозиготности ( $H_e$ ), в частности, в популяции из Нового Оскола этот показатель минимален ( $0,175\pm 0,040$ ). Наиболее высокий показатель  $H_e$  отмечен в трех белгородских колониях, локализованных вдоль течения рек Северский Донец и Везелка ( $0,229\pm 0,040$ ;  $0,207\pm 0,037$ ;  $0,219\pm 0,035$ ), что сопоставимо с таковыми показателями для популяций из нативного ареала. В кавказских группах выявлен наиболее высокий уровень полиморфизма. В популяции из окрестностей оз. Севан процент полиморфных локусов составил  $81,48\%$ . Здесь же отмечено высокое значение индекса Шеннона ( $I=0,368\pm 0,050$ ), к которому приближаются некоторые белгородские группы, в частности, колонии, обитающие вдоль Северского Донца и Везелки ( $I=0,340\pm 0,049$  и  $0,339\pm 0,057$ ). По всем показателям генетического разнообразия наименее полиморфной оказалась адвентивная популяция из Твери ( $H_e=0,135\pm 0,032$ ;  $I=0,211\pm 0,049$ ;  $P=44,44\%$ ), что может быть проявлением «эффекта основателя».

Кластерный анализ, проведенный с помощью невзвешенного парно-группового метода (UPGMA) на основе матрицы генетических расстояний по Неи, позволяет выделить два крупных кластера. При этом, популяция из Твери оказалась обособленной от остальных групп. Нативные популяции демонстрируют низкую идентичность и располагаются в разных кластерах. Стоит отметить, что новооскольская колония, не смотря на достаточно низкий полиморфизм и географическую изолированность, оказалась приближена к кавказской популяции из п. Норатус.

Таким образом, часть инвазивных популяций *H. ravergiensis* имеют высокий уровень генетического разнообразия, сопоставимый с популяциями из естественного ареала. Полученные данные во многом подтверждают результаты предыдущих исследований генетической структуры инвазивных популяций кавказской улитки на территории г. Белгород. В то же время, географически изолированные колонии кавказской улитки (Тверь, Новый Оскол) на данный момент отличаются генетической мономорфностью. Можно предположить, что генетическая разнородность белгородских колоний обеспечивает достаточную пластичность, что увеличивает их жизнеспособность.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00010.



## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ТОПОЛЯ (*POPULUS SP.*) IN VITRO КАК НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП СОЗДАНИЯ БИОТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ИСХОДНЫХ РАСТЕНИЙ

**Аминева Е.Ю.<sup>1</sup>, Табацкая Т.М.<sup>1</sup>, Машкина О.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*elena.pardaeva@mail.ru*

Непрерывно увеличивается спрос на древесину высокого качества. Использование быстрорастущих и хозяйственно-ценных видов – один из путей решения этой проблемы. Тополям (*Populus sp.*) среди этих видов по праву принадлежит одно из первых мест. Однако не все они устойчивы к действию негативных факторов окружающей среды.

Моделирование стрессовой нагрузки в условиях *in vitro* – один из подходов к изучению ответных реакций растительных объектов на заданный стресс с последующим их разделением по способности адаптироваться к нему. Часто для создания растительных биотест-систем используют каллусные культуры.

Цель исследования – подбор оптимальных условий культивирования каллусных культур тополя.

К настоящему времени существует множество методик и рекомендаций к получению каллусных культур *in vitro* тополя, однако обязательным для разработки биотест-системы является создание максимально одинаковых условий культивирования.

В качестве объектов исследования использовали 4 генотипа тополей, произрастающих на территории Семилукского лесного селекционного питомника Воронежской области.

Оценку каллусогенезов вели по признакам: частота каллусогенезов (ЧК, %), интенсивность (ИК, балл), жизнеспособность каллусной ткани (ЖК, сутки). Культивирование каллусных культур осуществляли в условиях культуральной комнаты (2000 люкс, 16 часовой фотопериод, 25-26<sup>0</sup>С температура).

Для получения каллусных культур тополя испытывали питательную среду Мурасиге и Скуга, а также её модификацию с половинным составом макросолей (1/2MS), гормоны: БАП (0,5 мг/л) и НУК (2 мг/л). Средние значения показателя ЧК на обоих вариантах питательных сред приближалось к 100%: 95,3±1,5 и 98,6±1,6%. Однако ИК на среде 1/2MS заметно ниже: 1,5±0,7 балла против 2,8±0,4 балла – на MS, разница достоверна. Стоит отметить, что по ЖК в зависимости от питательных сред различий выявлено не было.

При подборе оптимального типа экспланта использовали молодой зеленый побег, листовую черешок, листовую пластину. Лучшие результаты были получены на сегментах листового черешка и побега. Выбор определен наиболее яркой и быстрой реакцией, визуально легко фиксируемой.

Таким образом, на основе проведенных исследований, для создания биотест-системы с целью оценки стрессоустойчивости исходных растений тополя на основе каллусных культур рекомендуем использовать питательную среду MS (БАП (0,5 мг/л), НУК (2 мг/л)), в качестве экспланта брать черешок листа либо модой зеленый побег.

## ЭКОЛОГИЯ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ-АЛАНИЯ

**Багаева У.В.<sup>1</sup>, Багаури Л.Ш.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова, Владикавказ, Россия

*lor.bagauri2016@yandex.ru*

Как к одному из наиболее распространенных эктопаразитов и природному резервуару значительного количества возбудителей природно-очаговых заболеваний, интерес к исследованию иксодовых клещей имеет фундаментальное и практическое значение.

В основу работы положены материалы, полученные при исследовании пораженности крупного рогатого скота иксодовыми клещами в различных природно-климатических зонах республики, проводимые в период с 2013 по 2017 гг. Для анализа эколого-фаунистических данных



использовали показатели экстенсивности и интенсивности инвазии, индекс обилия и доминирования. Выделено и проанализировано 1025 экз. иксодид.

На территории Республики Северная Осетия-Алания, образовалась система сопряженных природных очагов, в которых крупный рогатый скот является основным прокормителем пяти видов клещей – *Ixodes ricinus*, *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor reticulatus*, *Boophilus annulatus*, *Hyalomma marginatum*. Фауна иксодид разнообразна для каждой природно-климатической зоны. Предгорная зона характеризуется умеренно-теплым климатом. По количеству выпадаемых осадков эта зона умеренного увлажнения, ближе к горам переходит в зону избыточного увлажнения. Доминантными для данной зоны оказались – *B. annulatus* (46,0±2,87%) и *I. ricinus* (39,0±2,82%), реже выявлены *D. marginatus* (8,67±1,62%) и *D. reticulatus* (6,33±1,40%). Горнолесная зона занимает полосу равнинной части предгорий. Климат характеризуется прохладным летом, более продолжительной и холодной зимой. По мере возрастания высоты над уровнем моря, температура понижается, что оказывает влияние на продолжительность жизненного цикла иксодовых клещей. Инвазионное начало во время пастбищного сезона сокращается. Для данной зоны выявлено 3 вида с доминированием *B. annulatus* (45,93±2,78%) и *I. ricinus* (38,43±2,72%), в меньшей степени выявлен *D. marginatus* (15,62±2,03%). Степная зона, представляет собой сухую степь с пониженной влажностью и равнинным рельефом. Среднесуточная температура летом составляет +20°C и выше; максимальная температура воздуха достигает +42°C. Зима умеренно теплая. Среднемесячная температура воздуха в январе – от +3,5°C до +4°C. Доминантный вид для данной зоны – *H. marginatum* (52,8±4,46%), субдоминантный – *D. marginatus* (39,2±4,36%), малочисленные *D. marginatus* (3,2±1,54%) и *B. annulatus* (4,8±1,91%). Результаты исследований показали, что на территории РСО-Алания, с наличием выраженной вертикальной поясности, географическими и природно-климатическими особенностями, сформировались изолированные биотопы, условия в которых благоприятны для развития и распространения отдельных видов иксодовых клещей.

## ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ ПЧЕЛ ЮГО-ВОСТОКА НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ (HYMENOPTERA: APOIDEA, APIFORMES)

Белова К.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
Новосибирск, Россия

*belovak2@yandex.ru*

Пчелы (секция Apiformes) вместе с роющими осами (секция Spheciformes) составляют надсемейство Apoidea – одно из крупнейших в отряде Hymenoptera. Пчелы являются одной из наиболее разнообразных и процветающих современных групп насекомых. В настоящее время известно более 21 тысячи видов (Michener, 2007). Опыляя покрытосеменные растения, они в значительной мере обеспечивают генетическое разнообразие их популяций и устойчивость наземных экосистем в целом.

В настоящее время повсеместно наблюдается снижение численности и разнообразия пчел, поэтому необходимо подробное изучение особенностей населения этих насекомых и разработка комплекса мер по их охране (Nieto et al., 2014). Данная группа насекомых изучена хорошо, но очень неравномерно географически и в отношении отдельных таксонов. Для Новосибирской области существуют данные по некоторым группам пчел, например, шмелям (род *Bombus*) и пчелам семейства Megachilidae (Бывальцев и др., 2013; Прошалькин, 2013).

Сборы проведены на двух площадках: в окрестностях станции Евсино (Искитимский район НСО) еженедельно в период с мая по август 2016 и 2017 года, а также в окрестностях Академгородка (г. Новосибирск) в период с мая по август 2017 года.

Приведены первые данные о динамике численности и закономерностях смены населения пчел на юго-востоке Новосибирской области. Общая численность пчел в окр. ст. Евсино в 2016 году меньше (12,3±1,9 особей/час), чем в 2017 году там же (18,6±2,2 особей/час) и в окр. Академгородка (20,6±4,4 особей/час). Пчелы рода *Andrena* Fabg. встречаются с начала мая до второй половины июля, их обилие достигает наибольшего значения в первой половине июня (4,5 особей/час в окр. ст. Евсино, 12,9 особей/час в окр. Академгородка). Пчелы рода *Halictus* Latr. встречаются в период май-июль: в окр. Академгородка их обилие почти постоянно (1,0-4,0 особей/час), в то время как в окр. ст. Евсино зарегистрированы два пика численности – в середине



июня (10,5 особей/час) и в середине июля (5,6 особей/час). Наибольшая активность пчел рода *Evyllaеus* Rob. замечена в середине мая (окр. ст. Евсино – 18,3 особи/час, окр. Академгородка – 7,8 особей/час), к началу июля они исчезают из сборов. Интересно, что почти все пчелы рода *Evyllaеus* собраны с *Taraxacum officinale* L. Две непересекающиеся группы видов – «майскую» и «июньскую» образуют пчелы рода *Seladonia* Rob. «Майские» *Seladonia* встречаются с 1-ой по 3-ю неделю мая, а «июньские» - в течение всего месяца. Лет самок пчел рода *Osmia* Panz., которые были встречены только в окрестностях Академгородка, продолжается с мая по середину июня.

## СОСТАВ И ЧИСЛЕННОСТЬ НОЧНОГО МИГРАЦИОННОГО СООБЩЕСТВА В ЗИМНИЙ ПЕРИОД НА ЛИТОРАЛЬНОЙ ТОЧКЕ В ОЗ. БАЙКАЛ

**Бирицкая С.А.<sup>1</sup>, Карнаузов Д.Ю.<sup>1</sup>, Долинская Е.М.<sup>1</sup>, Зилов Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*biritskaya.sofya@mail.ru*

Ночные миграционные сообщества представляют собой группы гидробионтов, которые совершают вертикальные и горизонтальные миграции в ночное время. Такие сообщества встречаются во многих водоемах. В озере Байкал в состав ночного миграционного сообщества входят такие обитатели озера как низшие и высшие ракообразные (амфиподы), коттоидные рыбы. Одним из интереснейших элементов сообщества является пелагическая амфипода – *Macrohectopus branickii* (Dyb.).

Исследования состава и численности ночного миграционного сообщества проводились в зимний период (декабрь 2017, январь 2018) в поселке Листвянка. Были использованы как классические методы - планктонная сеть Джели (три повторности), так и подводное видеонаблюдение. Видеосистема опускалась ко дну на 15 минут, затем поднималась к поверхности и еще пять минут вела съемку. Результаты видеосъемки обрабатывали, останавливая видео через каждые 5 секунд, подсчитывая количество организмов на стоп-кадр и занося результаты в таблицу. Спуск видеосистемы и лов сетью были произведены недалеко от незамерзающего истока реки Ангара, с пирса. Глубина в данном месте составляет 2 м. Пробы, собранные сетью Джели, обрабатывались по общепринятой методике.

В результате исследований удалось выяснить, что, несмотря на то что точка находится на незамерзающем участке озера Байкал, с понижением температуры (в декабре 3,5<sup>0</sup>С, в январе 0,5<sup>0</sup>С) сообщество амфипод мигрирует на большую глубину и на данной точке их количество значительно уменьшается. Максимальная численность амфипод в декабре достигала 27 экз. на стоп-кадр, а в январе составила всего 3 экз. на стоп-кадр. Ни один из методов не выявил присутствие макрогектопуса, хотя в ноябре его количество достигало 5 особей на стоп-кадр. Облов сетью Джели показал, что доминирующей группой из числа низших ракообразных являются представители отряда гарпактициды. Также можно отметить, что в декабре наибольшее количество амфипод было зафиксировано у дна (27 особей на стоп-кадр у дна, 8 особей на стоп-кадр у поверхности), а в январе наоборот, максимальное количество зафиксировано у поверхности (3 особи на стоп-кадр у дна, 5 особей на стоп-кадр у поверхности). Совокупность использованных методов позволяет увидеть наиболее полную картину исследования, выявить состав миграционного сообщества и произвести точный подсчет численности.

Работа выполнена при поддержке проекта Минобрнауки РФ 6.1387.2017/ПЧ и гранта Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований "Озеро Байкал".



## ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ НЕФТЕПРОДУКТАМИ НА ФИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ В УСЛОВИЯХ УЖГОРОДСКОГО РАЙОНА ЗАКАРПАТЬЯ (УКРАИНА)

**Боднярук Р.Н.<sup>1</sup>, Вакерич М.М.<sup>1</sup>, Николайчук В.И.<sup>1</sup>, Гасинец Я.С.<sup>1</sup>, Король М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГВУЗ Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина

*mykhailo.vakerich@uzhnu.edu.ua*

В западном регионе Украины проблема загрязнения верхнего плодородного слоя почвы особенно ощутима в районах добывания, переработки и транспортировки нефти и нефтепродуктов.

Поэтому целью нашего исследования было определение фитотоксического эффекта загрязненных нефтепродуктами почв, на примере почв с. Дубровка Ужгородского района Закарпатской области (Украина).

Исследование фитотоксического влияния почв загрязненных нефтепродуктами проводили методом Красильникова и Гродзинского. В качестве тестовых культур использовали редис (*Raphanus sativus* L.). Учет результатов проводили на 7-й день проращивания семян. В качестве контроля, проращивание семян осуществляли также и на смоченной фильтровальной бумаге. Определяли такие параметры: всхожесть семян, длина корня, высота побега, количество листов и фитотоксический эффект (за корнем).

Результаты исследований показали, что нефтяное загрязнение имеет значительное фитотоксическое влияние как на всхожесть семян *Raphanus sativus* L., так и на ростовые показатели данной культуры. Всхожесть семян, высеванных в пробе почвы с эпицентра загрязнения, была ниже контрольного показателя (76%) на 36% и составляла 40%. Всхожесть семян высеванной в пробе почвы отобранной на расстоянии 50 м от эпицентра загрязнения была выше и составляла 70%. Аналогичное фитотоксическое влияние наблюдалось также и на ростовых показателях *Raphanus sativus* L. Позитивный фитотоксический эффект наблюдался в обоих вариантах проб почвы отобранных как в эпицентре загрязнения, так и на расстоянии 50 м и составлял 42,86 и 28,58% соответственно. Результатом проращивания *Raphanus sativus* L. на пробе почвы отобранной из незагрязненной территории стал негативный фитотоксический эффект, который составлял -8,0%.

Определенные показатели фитотоксичности могут быть использованными для определения уровня содержания нефтепродуктов в почве, и даст возможность применять их для оценки загрязнения почв, а также подбора методов последующей рекультивации территорий.

## ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ И ТЕПЛОЙ АККЛИМАЦИИ

**Верещагина К.П.<sup>1</sup>, Кондратьева Е.С.<sup>1</sup>, Аксенов-Грибанов Д.В.<sup>1</sup>, Емшанова В.Н.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИИ биологии ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*k.p.vereshagina@gmail.com*

Целью данного исследования являлась оценка активности ферментов антиоксидантной системы байкальских эндемичных амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* Gerstf. и *Eulimnogammarus cyaneus* Dyb. после длительной холодной и тепловой акклимации.

Были проведены эксперименты по холодной акклимации амфипод при температуре, близкой к точке замерзания - 1,5°C в течение месяца. Также, проведены эксперименты по акклимации каждого из исследуемых видов при температурах их оптимумов: 6°C - для *E. verrucosus* и 12°C для *E. cyaneus* (Тимофеев, 2010). Температуры оптимумов видов были приняты за контроль. Для оценки влияния длительной температурной акклимации на антиоксидантную систему байкальских эндемичных амфипод, определяли изменение активности таких ферментов, как пероксидаза, каталаза и глутатион S-трансфераза.

По результатам исследования показано, что длительная холодная акклимация приводит к изменению активности ферментов антиоксидантной системы у байкальских эндемичных амфипод *E. cyaneus*. Так, происходило значимое снижение активности пероксидазы в условиях длительной



акклимации при температурах 6 и 1,5°C, и глутатион S-трансферазы при акклимации к температуре 1,5°C. Это может указывать на снижение скорости протекания реакций на фоне общего угнетения метаболизма в условиях низких температур, так как оптимальной для данного вида является температура 12°C. Напротив, у *E. verrucosus* изменений активности пероксидазы и каталазы не наблюдали. *E. verrucosus* является холодолюбивым видом, который мигрирует на глубину при повышении температуры среды. Таким образом, отсутствие изменений в антиоксидантной системе в условиях акклимации к низкой температуре показывает, что данная температура не является стрессовой для данного вида.

Результаты проведенного исследования указывают на то, что длительная холодовая акклимация не приводила к изменению активности глутатион S-трансферазы у *E. cyaneus*. У *E. verrucosus* при акклимации к температуре 12°C происходило понижение активности данного фермента, по сравнению с контролем. Глутатион S-трансфераза играет главную роль в обезвреживании вторичных продуктов пероксидации, предположительно, ее истощение может указывать на серьезные поражения организма в условиях стресса.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Госзадание 6.9654.2017/8.9, совместной программы Минобрнауки РФ и ДААД «Михаил Ломоносов» 6.12735.2018/12.2, РНФ 17-14-01063 и РФФИ 16-34-60060.

### **ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *HALIMIONE VERRUCIFERA* (M.BIEB.) AELLEN. НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОМАССЫ ПРОРОСТКОВ *SUAEDA PROSTRATA* PALL.**

**Ганусяк А.П.<sup>1</sup>, Кузьмина В.С.<sup>1</sup>, Симагина Н.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»

*greench12@yandex.ru*

Биомасса является одним из наиболее важных показателей жизнедеятельности растительного организма, который отражает влияние факторов среды. Объект исследования – многолетнее растение *Halimione verrucifera* (M.Bieb.) Aellen. Материал для исследования отбирался в вегетационный сезон 2016 г., между солеными озерами Ярылгач и Джарылгач (с. Межводное, Черноморский район, С-3 Крым). В качестве тест-объекта использованы семена однолетнего растения *Suaeda prostrata* Pall. Определение влияния аллелопатически активных веществ на формирование биомассы проростков проводили с помощью серии биотестов. Анализ результатов проводили стандартными методами математической статистики.

Семена тест-объекта *S. prostrate* проращивали в чашках Петри при  $t=23^{\circ}\text{C}$  в количестве 10 штук (в трехкратной повторности), на фильтровальной бумаге, при увлажнении водными экстрактами из листьев, корней и соцветий *H. verrucifera*, в контрольных условиях – при увлажнении дистиллированной водой. Биомассу проростков *S. prostrata* определяли на 10 день эксперимента.

Установлено, что при увлажнении 1% водным экстрактом из корней *H. verrucifera* показатели биомассы проростков тест-объекта *S. prostrata* составляют  $4,8\pm 0,2$  мг, что на 17% меньше чем в контроле ( $5,8\pm 0,2$  мг). С увеличением концентрации до 5% происходит снижение биомассы проростков тест-объекта на 41% ( $3,4\pm 0,1$  мг) по сравнению с контролем. При влиянии высокой концентрации 10% водного экстракта *H. verrucifera* биомасса проростков на 44% ( $3,2\pm 0,1$  мг) меньше, чем в контроле.

Аналогичная тенденция уменьшения биомассы наблюдается и при увлажнении экстрактами из листьев, при 1% концентрации на 17% ( $4,8\pm 0,3$ ), при 5% концентрации на 48% ( $3,0\pm 0,2$ ) ниже по сравнению с контролем соответственно, а при 10% концентрации- всхожесть семян отсутствует.

Под воздействием экстракта 1% концентрации из соцветий *H. verrucifera* биомасса проростков тест-объекта *S. prostrata* на 31% ( $4,0\pm 0,2$  мг) ниже, чем в контроле, при 5% ( $3,8\pm 0,2$ ) – на 34%, а при 10% ( $3,5\pm 0,1$ ) – на 39% соответственно, по сравнению с контрольными данными.

Следовательно, аллелопатически активные вещества, содержащиеся в водных экстрактах *H. verrucifera*, оказывают ингибирующее влияние на формирование биомассы проростков тест-объекта *S. prostrata*. Аллелопатическая активность экстрактов *H. verrucifera* снижается в ряду –



экстракты из листьев, корней, соцветий. Снижение показателей биомассы проростков тест-объекта отмечено при увеличении концентрации водных экстрактов из *H. verrucifera*.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБИОМА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ГРУППЕ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ ЛИТОРАЛЬНЫХ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ РОДА *LITTORINA*

**Гафарова Е.Р.<sup>1</sup>, Мальцева А.Л.<sup>1</sup>, Михайлова Н.А.<sup>2</sup>, Гранович А.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Кафедра зоологии беспозвоночных, ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Центр клеточных технологий, ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*orhidea-palma@yandex.ru*

Симбиотические микроорганизмы - неотъемлемая составляющая экологии и физиологии животных. Наиболее детально в этом отношении изучены млекопитающие и насекомые. Микробиота кишечника млекопитающих формируется в раннем постнатальном развитии и остается относительно стабильной в течение жизни. При бактериальной колонизации изменяется структура тканей кишечника, состав микрофлоры также регулирует иммуногенез. У *Drosophila melanogaster* состав кишечных сообществ может изменяться в зависимости от стадии онтогенеза или диеты. И у насекомых, и у млекопитающих присутствие нормальной микробиоты необходимо для осуществления пищеварения, влияет на развитие и функционирование не только органов ЖКТ, но также половой и иммунной систем. Значимость микробиты для физиологии представителей других типов беспозвоночных до сих пор малоизучена.

Литоральные гастроподы рода *Littorina* за последние 30 лет стали модельным объектом для экологических, эволюционных, физиологических, паразитологических исследований. На побережьях морей Северной Атлантики встречаются представители 6 видов данного рода, в том числе филогенетически близкие виды подрода *Neritrema* (*L. saxatilis*, *L. arcana*, *L. compressa*, *L. obtusata*, *L. fabalis*). Мы предполагаем, что качественный состав сообществ кишечных микроорганизмов может отражать экологические различия филогенетически близких видов. Исследование предполагает анализ влияния на микробиом таких факторов, как вид хозяина, географический регион, уровень литорали в точке сбора материала, пол, возраст, наличие паразитарной инвазии. Для первичного анализа были приготовлены спиртовые фиксации кишечника самцов и самок *L. obtusata*, собранных в октябре 2016 г. вблизи ББС Картеш, Белое море. С использованием консервативных праймеров к V3-региону гена 16S рРНК были получены ампликоны, секвенированные по Сэнгеру индивидуально после процедуры молекулярного клонирования. Полученные последовательности анализировались по алгоритму MOLE-BLAST по базе данных NCBI для установления таксономического положения бактерий. На настоящий момент установлено систематическое положение для 7 штаммов бактерий. Это представители родов: *Ensifer* (азотофиксаторы), *Hafnia* (энтеробактерии-комменсалы человека), *Sphingomonas* (разнообразные наземные и водные аэробы) и *Methylobacterium* (водные и почвенные организмы, часто вовлеченные в симбиотические отношения). В дальнейшем исследования будут включать в себя накопление метагеномных данных, анализ связей между факторами внешней среды и составом микробных сообществ, поиск микробиотических различий среди криптических видов рода *Littorina*.

## ВЛИЯНИЕ СТРЕССИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОРМОВЫХ ТРАВАХ ПАСТБИЩНЫХ УГОДИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

**Григорьева А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Якутск, Россия

*Nastiagrigoryeva@gmail.com*

Значение пастбищ в Якутии и пастбищного корма в развитии животноводства и повышении его продуктивности исключительно велико. Пастбищный период для крупного рогатого скота длится 120-140 дней в году. Основным преимуществом пастбищного корма является его низкая





себестоимость, что в свою очередь снижает и стоимость животноводческой продукции. Химический состав кормовых трав пастбищных угодий мало изучен.

В немногочисленных работах якутских исследователей показано, что в некоторых видах лекарственных растений произрастающих в Якутии, концентрация биологически активных веществ, обладающих регуляторными и защитными свойствами в 1,5-2,5 раза выше, чем в аналогичных видах, произрастающих в условиях умеренного климата.

Материалом исследования служили образцы кормовых трав пастбищных лугов Хангаласского района. (п. Техтюр), собранные в начале лета в фазе цветения. Надземная часть растений была отобрана с 10 площадок. Для того, чтобы оценить влияние выбросов автомобильного транспорта на содержание БАВ в кормовых травах, пробы отбирались в 5 м, 200-250 м с обеих сторон от автотрассы.

Суммарное содержание НМАО в кормовых травах пастбищных угодий п. Техтюр колебалось от  $10,69 \pm 0,41$  мг-экв/г до  $23,37 \pm 0,15$  мг-экв/г.

Содержание АК в травах пастбищ п. Техтюр колебалась от  $25,85 \pm 0,71$  мг/% до  $45,65 \pm 0,32$  мг/%. Так, в растениях, произрастающих на левой стороне в 5 м от автотрассы содержание витамина С было 1,8 раз выше, чем в растениях собранных с правой стороны с 200-250 м от автотрассы.

Наибольшее содержание витамина В1 также как и НМАО и АК отмечено в травах произрастающих в 5 м от автотрассы.

В растениях собранных в 5 м от автотрассы концентрация рибофлавина была в 1,5 раза выше, чем в травах собранных с 200-250 м.

Таким образом, на содержание БАВ в кормовых травах пастбищных лугах Хангаласского района, влияют климато-географические и антропогенные факторы. По мере удаленности от автотрассы уровень БАВ в надземной части растений снижается (почти в 2 раза).

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА "А" В ВОДЕ

Ермакова Я.С.<sup>1</sup>, Экилик В.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону, Россия

*ynyla@mail.ru*

При оценке экологического состояния водных объектов информация о концентрации хлорофилла "а" и ее изменчивости служит не только критерием запасов биомассы фитопланктона и его продукции, но и индикатором загрязнения воды. Количество хлорофилла "а" чаще всего определяют спектрофотометрическим методом в соответствии с ГОСТ 17.1.04.02-90. При анализе природных вод с низким содержанием хлорофилла "а" этот метод допускает большие ошибки. Поэтому для определения хлорофилла "а" в водоемах с низкой продуктивностью целесообразно использовать более чувствительный люминесцентный метод.

Для сравнения определения хлорофилла "а" классическим (спектрофотометрическим) и экстракционно-люминесцентными методами использованы 6 проб воды, отобранных на 3-х станциях в р. Дон и в Таганрогском заливе в осенний период 2017 г. Пробы отбирали батометром из поверхностного слоя воды, каждая проба воды делилась на две части. На месте отбора одна часть (500 мл) фильтровалась через мембранный фильтр, фильтры помещались в колбы и фиксировались 90 % ацетоном «ос.ч». Другая часть (1000 мл) - сразу после отбора фиксировалась 10-ю мл хлороформа «ос.ч». Далее все отобранные образцы предоставлялись в стационарную лабораторию для проведения анализа.

Оптическая плотность ацетоновых экстрактов из фильтров измерялась на спектрофотометре UV-2450 (фирма Shimadzu) до подкисления при 750, 664, 647, 630 нм, после подкисления – при 750, 664 нм. Интенсивность люминесценции экстрактов проб, зафиксированных хлороформом, измеряли на спектрофлуориметре RF-5301 PC (фирма Shimadzu) при  $\lambda_{\text{возб}} = 418$  нм и  $\lambda_{\text{люм}} = 675$  нм.

Согласно результатам проведенных экспериментов расхождения между концентрациями хлорофилла "а" в воде Таганрогского залива, полученными спектрофотометрическим и люминесцентными методами составили 9-14 %, в воде р. Дон около 33 %.



## БИОГЕОХИМИЯ РАДИОЦЕЗИЯ В ПОДТАЕЖНЫХ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ДАЛЬНОЙ ЗОНЫ ВЫПАДЕНИЙ СПУСТЯ 30 ЛЕТ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧАЭС

Железнова О.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФРАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

*zheleznova\_rzn@mail.ru*

Современный этап радиоактивного загрязнения лесных экосистем дальней зоны чернобыльских выпадений может быть охарактеризован как период квазиравновесного состояния. Для него типичны медленные изменения в биологической доступности <sup>137</sup>Cs и относительно стабильное распределение данного радионуклида в фитомассе. При этом степень загрязнения растений полностью определяется корневым поглощением <sup>137</sup>Cs и, следовательно, почвенными уровнями данного радионуклида.

Цель настоящей работы – изучить закономерности аккумуляции и миграции <sup>137</sup>Cs и <sup>40</sup>K – принципиально различных по биофильности элементов - геохимических аналогов – в подтаежных экосистемах дальней зоны выпадений.

Объект исследований – хвойно-широколиственные лесные сообщества юго-запада Мещерской низины. Почвенно-геохимическое опробование осуществлялось в 2013-2017 гг. На основе определения удельной активности <sup>137</sup>Cs и <sup>40</sup>K в образцах фитомассы и почв рассчитывались коэффициенты дискриминации и баланс элементов.

Согласно полученным результатам, удельная активность <sup>137</sup>Cs в почвах района исследований варьирует в пределах 6,6-138,6 Бк/кг для дерново-подзолистых почв и 23,1-225,0 Бк/кг для торфяных почв. Впервые предложено объяснение механизма гипераккумуляции (повышенного накопления в надземной биомассе) <sup>137</sup>Cs растениями. Гипераккумуляторы <sup>137</sup>Cs интенсивно питаются нитратным азотом и восстанавливают его в надземных органах. Такое питание характерно как для ариданитных видов – дуба (*Quercus robur*), представителей семейств амарантовые (*Amaranthaceae*), маревые (*Chenopodioideae*), сложноцветные (*Asteraceae*), активно поглощающих аниогенные элементы (в том числе NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), так и для гумидокатных пионерных видов (осины (*Populus tremula*) и березы (*Betula pendula*)), характеризующихся быстрыми темпами роста и высокой нитратредуктазной активностью в листьях.

На примере ключевого участка установлено, что долговременная иммобилизация <sup>137</sup>Cs и <sup>40</sup>K в ежегодном приросте древесины и коры ствола – важнейший источник буферности экосистем к загрязнению – составляет лишь 1,3-2,3% от их суммарной ежегодной фиксации в приросте всех компонентов фитоценоза. Циклические потоки элементов, связанные с обновлением листвы, хвои, тонких корней древесного яруса и биомассы нижних ярусов, в 39 (<sup>137</sup>Cs) - 67 (<sup>40</sup>K) раз масштабнее. Активная рециклическая миграция <sup>137</sup>Cs в совокупности с его низкой иммобилизацией в тканях ствола обеспечивает низкий потенциал биогеохимической устойчивости лесных экосистем в отношении данного техногенного радионуклида.

## РЕДКИЕ ВИДЫ ПТИЦ ЗОНЫ БЕРЕЗОВЫХ ЛЕСОВ И РЕДКОЛЕСИЙ СЕВЕРО- ЗАПАДА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Зацаринный И.В.<sup>1,2</sup>, Варюхин В.С.<sup>1</sup>, Собчук И.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, Рязань, Россия;

<sup>2</sup>ФГКВООУ ВО Рязанское высшее воздушно-десантное командное училище имени генерала армии В.Ф. Маргелова, Рязань, Россия

*zatsarinny@mail.ru*

В северо-западной части Мурманской области зона березовых лесов и редколесий простирается практически до побережья Баренцева моря и является одним из самых северных участков этой зоны в Европе. Территория, занятая зоной березовых лесов и редколесий включает в себя не только сами лесные участки, но и заболоченные и обводненные территории, а также трансформированные деятельностью людей участки. Фауна и население птиц этого района достаточно хорошо описана. Цель работы – обобщить накопленные ранее материалы и описать видовой состав редких видов птиц этой территории. Исследования выполнялись в 2006 – 2017 гг. в гнездовой и осенний периоды. К «редким видам», помимо включенных в Красную книгу региона,



были отнесены: (1) местные виды, свойственные природным экосистемам, которые в настоящее время редки, поскольку условия в их среде обитания не позволяют им нарастить свою численность и широко распространиться; (2) местные виды, редкие в свойственных им природных экосистемах, которые наращивают численность и распространяются за счет новых, в том числе созданных людьми, территорий; (3) виды, нехарактерные для местных природных экосистем, которые пока редки, но постепенно ее заселяют; (4) редкие виды, которые встретились случайно и пока неспособны освоить эту зону.

Результаты, показывают, что зону березовых лесов и редколесий могут населять не менее 38 редких видов птиц, в том числе 11, включенных в Красную Книгу Мурманской области (серый гусь, лебедь-кликун, луток, скопа, беркут, орлан-белохвост, сапсан, обыкновенная пустельга, серый журавль, серый сорокопут, оляпка). Из 27 других редких для этого района видов, 8 можно отнести к редким «местным» видам (морянка, турпан, шилохвость, галстучник, малый веретенник, гаршнеп, таловка, овсянка-крошка). Остальные – это либо птицы, постепенно заселяющие новые территории, либо случайные залетные виды, нехарактерные для местных экосистем (чирок-трескунок, широконоска, черный коршун, полевой лунь, малая чайка, клинтух, сойка, пеночка-теньковка, садовая славка, желтоголовый королек, зарянка, синехвостка, луговой чекан, черный дрозд, деряба, ополовник, зяблик, обыкновенная зеленушка, обыкновенная овсянка).

Работы выполнены при поддержке РГУ имени С.А. Есенина, ГПЗ «Пасвик», АО «Кольская ГМК», РФФИ и Правительства Мурманской области в рамках научного проекта № 17-44-510841 «р\_а».

## ПРИРОДНАЯ РАДИОАКТИВНОСТЬ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ (*MOLLUSCA BIVALVIA UNIONIDAE*) (НА ПРИМЕРЕ ВИДА РОДА *SINANODONTA*)

Иззатуллаев З.И.<sup>1</sup>, Боймуродов Х.Т.<sup>1</sup>, Отакулов Б.Н.<sup>1</sup>, Эгамкулов А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Самаркандский государственный университет, Самарканд, Узбекистан

[boymurodov1971@mail.ru](mailto:boymurodov1971@mail.ru)

В настоящей работе приведены результаты радиационных исследований широкораспространенного в каналах Зарафшанской долины адвентивного вида рода *Sinanodonta* Modell, 1944 – *S.gibba* (Benson, 1855)

Установлено, что в каналах и рыбоводческих хозяйствах наблюдается самый высокий уровень естественных радионуклидов 40K, 226Ra, 232Th. При этом, в подводном иле, количество 40K составляет 287-525 Бк/кг, 232Th 35-47 Бк/кг, а 226Ra 25-30 Бк/кг. Самое большое количество радиоактивных элементов обнаруженных в моллюсках обитающих во всех водоемах также принадлежит 40K (30-33 Бк/кг).

Количество 226Ra и 232Th близки друг к другу и практически не различаются, то есть, они равны: 226Ra – 5,0-6,1 Бк/кг, 232Th – 5,0-6,9 Бк/кг. Основываясь на это можно сказать, что в моллюсках радиоактивный калий накапливается в 5-6 раз больше, чем радий и торий.

Следует отметить, что взаимосвязанность между концентрацией радионуклидов в водах водоемов и моллюсках менее выражено, но по мере увеличения концентрации 40K, 226Ra и 232Th в составе ила водоемов, свойственно увеличению концентрации этого элемента в составе моллюсков. В особенности, это проявляется на примере 226Ra. Здесь следует отметить, что при изменении количества 226Ra в иле между показателями 25-30 Бк/кг, его количество в составе моллюсков не превышает 5-6 Бк/кг. Количество 232Th в составе вод водоемов не превышает промежутка – 4,8-5,0 Бк/кг. При этом в исследованных водоемах установлено, что изменение элемента 232Th в составе моллюсков непосредственно связано с радиоактивностью в составе ила водоема.

Количество радионуклида в иле водоемов составляет ≈35-47 Бк/кг, при этом его количество в моллюсках колеблется между показателями ≈5-7 Бк/кг. Количество 40K по сравнению с другими элементами выше, однако, его количество в составе ила колеблется между – 525-587 Бк/кг, то есть по сравнению с водами водоемов количество 40K в иле имеет широкую изменчивость. Этот показатель в составе вод колеблется между 36-38 Бк/кг, а в составе моллюсков 30-33 Бк/кг. Несмотря на то, что этот элемент практически количественно не изменяется в составе моллюсков, линейное увеличение его количества в составе ила соответствует количеству 40K. Изменение в исследовании количества 40K в составе ила между большим значением – 525-587 Бк/кг и в составе



моллюсков между – 30-33 Бк/кг означает наличие коэффициента насыщения ионами в гидробионтных организмах или накопление радионуклидов в известном ограниченном количестве.

Если учесть, что образ жизни двустворчатых моллюсков, в большинстве случаев происходит в условиях погружения в подводные грунты, то можно утверждать, что поглощение раковинами непосредственной радиоактивности происходит за счет пассивной – адсорбции. В особенности линейный рост, в теле моллюска и водного ила активного радионуклида  $^{226}\text{Ra}$  доказывает пассивное поглощение радионуклидов в тело моллюска.

## **СОСУЩЕСТВОВАНИЕ ПОЛНЫХ КОНКУРЕНТОВ С НЕРАВЕНСТВОМ ПО ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ, КОНКУРЕНТНОЕ ИСКЛЮЧЕНИЕ И НЕЙТРАЛЬНОСТЬ В ОДНОЙ МОДЕЛИ**

**Калмыков Л.В.<sup>1</sup>, Калмыков В.Л.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*lev.kalmykov@gmail.com*

Длительное противоречие между формулировками принципа конкурентного исключения и наблюдаемым богатством видов известно как парадокс биоразнообразия. Решение парадокса биоразнообразия стало центральной проблемой теоретической экологии. Строгая проверка принципа конкурентного исключения на базе практических экспериментов оказалась невозможной, и проверка данного принципа стала вызовом математическому моделированию. Ранее мы обнаружили, что сосуществование полных конкурентов со 100%-ной разницей в приспособленности возможно только при определенных начальных условиях. Здесь мы проверяем гипотезу о том, что виды, являющиеся полными конкурентами и различающимися по приспособленности менее 100%, могут сосуществовать независимо от случайного начального местоположения конкурирующих индивидов в экосистеме. Мы обнаружили, что два полностью конкурирующих вида могут стабильно сосуществовать в одной ограниченной, стабильной и однородной среде обитания, когда один вид обладает некоторым преимуществом в приспособленности над другим видом, а по всем другим характеристикам виды одинаковы. Этот факт теоретически установлен нами на строгой модели. Найденное конкурентное сосуществование не зависит от начального случайного расположения индивидов в экосистеме. Когда колонизация свободной среды обитания начиналась с одного индивида каждого вида, полные конкуренты сосуществовали до 31% от их разницы в приспособленности. Когда в начале половина территории заселялась случайно, то полные конкуренты сосуществовали до 22% от их отличий по приспособленности. Выявленное сосуществование полных конкурентов, различающихся по приспособленности, дополнительно поддерживает формулировку принципа конкурентного исключения, предложенную нами ранее. Переформулирование принципа явилось решением парадокса биоразнообразия. Кроме того, на представленной модели мы обнаружили, что, когда различие видов по приспособленности равно 100%, наблюдается классический случай конкурентного исключения. Если полные конкуренты имеют одинаковую приспособленность, то на поле, состоящем из как минимум 8x8 ячеек, они устойчиво сосуществуют с близким числом индивидов, демонстрируя «нейтральность». Представленный подход унифицирует случаи конкурентного сосуществования, конкурентного исключения (ниши) и нейтральности в рамках одной модели, что устраняет принципиальные противоречия между концепциями ниши и нейтральности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-31-00516 мол\_а).



## **ДИНАМИКА МИГРАЦИОННОГО СООБЩЕСТВА В ТЕЧЕНИИ НОЧИ В Б. БОЛЬШИЕ КОТЫ (ОЗ. БАЙКАЛ) В ОСЕННИЙ ПЕРИОД**

**Карнаухов Д.Ю.<sup>1</sup>, Долинская Е.М.<sup>1</sup>, Бирицкая С.А.<sup>1</sup>, Зилов Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*karnauhovdmitrii@gmail.com*

Многим гидробионтам, как крупных континентальных водоемов, так и населяющим моря и океаны, свойственно явление суточных вертикальных миграций (СВМ). Это явление характеризуется тем, что в ночное время суток организмы, живущие на дне и в толще, устремляются в верхние слои воды. СВМ исследуются на протяжении многих лет, и в настоящее время существуют несколько гипотез, объясняющих их причины. Однако точная причина миграций пока не установлена. Экосистема озера Байкал схожа с океанической и здесь также наблюдается данное явление. К организмам, участвующим в подобных миграциях, чаще всего относят представителей ракообразных. В Байкале можно выделить, следующих мигрантов: донные амфиподы, коттоидные рыбы, пелагическая амфипода – макрогектопус, а также представители низших ракообразных.

В ходе исследования нами было проведено ночное видеонаблюдение на литоральной точке в осенний период через каждые два часа (с 22:00 до 06:00). Наблюдение производилось у действующего пирса в б. Большие Коты (глубина 3 м.). Нами использовалась дистанционная подводная видеосистема. Дистанционный метод исследования за короткий промежуток времени дает большой объем информации, который в дальнейшем можно легко и быстро обработать. Система опускается на дно на 15 минут. Полученное в результате исследования видео обрабатывается, а данные о числе гидробионтов на экране каждые 5 с записываются. В заключение подводится среднее количество мигрантов, строятся таблицы и графики численности.

В процессе обработки видео было выделено три миграционные группы: донные амфиподы, пелагическая амфипода – макрогектопус и коттоидные рыбы. Проанализировав 5 графиков динамики численности всех групп по каждому промежутку времени, мы выявили, что максимальное количество мигрирующих особей донных амфипод приходится на 22:00 (29 экз./стоп-кадр). Со временем этот показатель снижается, и в 06:00 были замечены лишь единичные особи. Численность рыб напротив постепенно возрастала. Если в 22:00 их максимальное количество не превышало 2 экз./стоп-кадр, то в 02:00 оно составило 4 экз./стоп-кадр. Что касается особей макрогектопуса, то они периодически появлялись во всех временных промежутках (макс. 2 экз./стоп-кадр). Подводя итоги, обнаруживаем следующую закономерность: с увеличением числа рыб, число амфипод резко понижается, что может быть одним из доказательств защитно-пищевой гипотезы природы СВМ в озере Байкал.

Работа выполнена при поддержке проекта Минобрнауки РФ 6.1387.2017/ПЧ и гранта Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований "Озеро Байкал".

## **ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ C/N ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ТРАНСФОРМАЦИЮ ПОЧВЕННЫХ МИНЕРАЛОВ**

**Квиткина А.К.<sup>1</sup>, Дударева Д.М..<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия, <sup>2</sup>Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

*aqvia@mail.ru*

Экологическая стехиометрия рассматривает как соотношение элементов в природе влияет на взаимодействия в экосистеме, а также функционирование отдельных компонентов экосистемы. Биологические циклы углерода и азота переплетаются в почве в процессе минерализации и гумификации органического вещества. Высокое соотношение углерода к азоту в опаде растений (C/N 10-200), древесине (100-500) после разложения снижается в почве до C/N 12-20. Изменениям подвергается не только мёртвое органическое вещество, но и минеральная часть почвы.

Трансформация глинистых минералов продемонстрировала зависимость от состава органического вещества и величины C/N. В модельном эксперименте имитировали поступление в почву легкодоступного (глюкоза), среднедоступного (целлюлоза) и труднодоступного (лигнин)



для микроорганизмов субстрата. Отношение C/N в модельных субстратах изменяли от C/N 6 до 12; 25; 50; 100; 150; 300 внесением раствора  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

C/N оказался решающим фактором для трансформации глюкозы. Разложение глюкозы при C/N 300 приводит к небольшому накоплению алкилов, а снижение C/N до 6 увеличивает накопление алкилов (до 25%), ароматических фрагментов (до 14%) и карбоксильных групп (до 11% от общего содержания органического углерода в пробе). Присутствие иллита увеличивало накопление данных групп до 35, 19 и 12%, соответственно.

Было обнаружено, что соотношение C/N противоположно влияет на трансформацию органического и минерального вещества. Дефицит азота и присутствие органического субстрата приводили к активному выветриванию минеральной составляющей и преобразованию иллита в каолинит и хлорит. Избыток азота и снижение C/N до 6 приводило к усилению трансформации лабильного органического вещества (глюкозы) до алифатических и ароматических фрагментов, при этом преобразование иллита минимально.

Скорость преобразования иллита в процессе инкубации определялась лабильностью органического вещества и содержанием азота. Легкоминерализуемый углеродный субстрат ускорял трансформацию иллита, тогда как доступный азот замедлял этот процесс. Преобразование иллита до каолинита и хлорита происходили в глюкозе уже при C/N 6, в лигнине при C/N 50, в целлюлозе при C/N 300. Выветривание протекало с наибольшей интенсивностью при разложении глюкозы. Таким образом, соотношение элементов может учитываться при моделировании сопряженной трансформации органических веществ и минеральных субстратов. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00987 мол\_а.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЙМЕННЫХ ОЗЁР РЕКИ ВЯТКИ В ДИНАМИКЕ ЗА 2015-2017 ГГ.

Козвонин Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>КОГОАУ Лицей естественных наук, Киров, Россия

*den.kozvonin@gmail.com*

Мониторинг экологического состояния водоемов, находящихся в городской черте, можно использовать для оценки экологического риска. Цель работы: определить экологическое состояние пойменных озёр р. Вятка в черте города Кирова. Объект: пойменные водоемы р. Вятки (старицы Курья и Ежово озеро). Предмет: экологическое состояние перечисленных водоёмов. Методы: метод биоиндикации по макрозообентосу (методика Вудивисса); микробиологический анализ. Период: экологическое состояние протоки Курья наблюдалось в 2015 - 2017 гг.; Ежова озера - в 2016, 2017 гг.

Экологическое состояние озёр в 2017 г. характеризуется как чистое (БИ – 9, общее количество групп Ежово озеро – 21, старица Курья – 26, ключевая группа – личинки поденок 2-х видов), что, возможно, связано с погодно-климатическими явлениями (невысокие температуры воздуха и многоводность в весенне-летний период 2017 г). В 2016 г. состояние пойменных озёр – слабозагрязненное (БИ-6; высокое весеннее половодье).

Оценка качества воды по микробиологическим показателям подтверждает состояние загрязненности водоемов в 2016 г. В 2017 г. санитарно-гигиеническое состояние водоемов улучшилось фактически по всем показателям. Однако, купаться и использовать воду для пищевых целей запрещено. Сохраняется высокий уровень микробиологического загрязнения на участке оз. Курья (коллектор), в данном образце воды выявлен редкий вид бактерии *Rhodotorula* spp.

Сравнительные данные экологического состояния старицы Курья (методика Вудивисса) за 3-х летний период: в 2016 г. сократилось количество групп макрозообентоса с 18 (2015) до 13, а в 2017 г. увеличилось до 26. Ключевая группа в 2015-16 гг. – личинки ручейников, в 2017 г. – личинки подёнок. Состояние водоема изменялось от относительно чистого в 2015 г. (БИ Вудивисса – 8) к слабозагрязненному в 2016 г. (БИ-6) и чистому в 2017 г. (БИ-9). Возможно, ухудшение экологического состояния в 2016 г. связано: с просачиванием сточных вод (вдоль Курья проходит коллектор); с занесением загрязнений с прилегающей территории во время высокого весеннего половодья.

В 2015 г. при проведении исследований на старице Курья впервые для Кировской области обнаружено, а в 2016-17 гг. подтверждено обитание самого маленького в мире сосудистого растения – вольфии (*Wolffia*) из семейства Рясковых (Lemnaceae). На территории Кировской



области обитания растений рода *Wolffia* в природе не регистрировалось. Органическое загрязнение воды Куры, возможно, служит фактором, способствующим размножению данного растения.

## ОЦЕНКА АНАЭРОБНОГО МЕТАБОЛИЗМА АМФИПОД ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ АККЛИМАЦИИ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУР

**Кондратьева Е.С.<sup>1</sup>, Верещагина К.П.<sup>1</sup>, Аксенов-Грибанов Д.В.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИИ биологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*lizzarium@gmail.com*

Целью данного исследования являлась оценка анаэробного метаболизма у байкальских эндемичных амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* Gerstf. и *Eulimnogammarus cyaneus* Dyb., а также голарктического *Gammarus lacustris* Sars после длительной акклимации при температурах, отличных от оптимальных (Тимофеев, 2010).

Были проведены эксперименты по акклимации каждого из исследуемых видов в течение месяца при следующих температурах: 6°C (температура оптимума для *E. verrucosus*), 12°C (температура оптимума для *E. cyaneus*) и 15°C (температура оптимума для *G. lacustris*). Также, проведены эксперименты по холодной акклимации при температуре, близкой к точке замерзания - 1,5°C. Температуры оптимумов видов были приняты за контроль. Для оценки влияния длительной акклимации на амфипод, при температурах, отличных от оптимальных, на показатели анаэробного метаболизма, определяли изменение содержания лактата и активности лактатдегидрогеназы.

По результатам исследования показано, что у видов *G. lacustris* и *E. cyaneus* происходило двукратное снижение содержания лактата после акклимации при температуре 1,5°C. У *E. verrucosus* наблюдали обратную реакцию – повышение содержания лактата при температуре акклимации 12°C. При длительной акклимации голарктического вида *G. lacustris* при температурах 12°C и 1,5°C наблюдали трехкратное и пятикратное снижение активности лактатдегидрогеназы соответственно. У байкальских же видов амфипод, напротив, отмечали повышение активности данного фермента. У *E. verrucosus* активность повышалась при температуре 15°C, а у *E. cyaneus* - при 6°C.

Таким образом в ходе проведенного исследования с представителями байкальской эндемичной и голарктической фауны амфипод выявлены как сходства, так и различия в изменениях анаэробного метаболизма в ответ на долговременную акклимацию при температурах, отличных от оптимальных. Понижение содержания лактата и активности лактатдегидрогеназы при температурах ниже оптимума, вероятно связано с общим угнетением метаболизма, нехваткой энергии, и как следствие, снижением скорости протекания реакций в условиях низких температур. Повышение же уровня лактата и активности лактатдегидрогеназы может быть обусловлено усилением роли анаэробного метаболизма в связи с развитием гипоксии на фоне общего угнетения организма.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Госзадание 6.9654.2017/8.9, совместной программы Минобрнауки РФ и ДААД «Михаил Ломоносов» 6.12735.2018/12.2, РНФ 17-14-01063 и РФФИ (16-34-60060).

## ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ЮЖНОГО БАЙКАЛА НА ПРИМЕРЕ МАЛОЙ МОНИТОРИНГОВОЙ ТОЧКИ «МАНГУТАЙ»

**Кондратьева Е. М.<sup>1</sup>, Зилов Е. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИИ биологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*katherinekondratyeva@gmail.com*

Для осуществления регулярных наблюдений за состоянием фитопланктона на озере Байкал в настоящее время используется несколько стационарных пунктов. Кроме того, с определенной регулярностью проводятся экспедиции, охватывающие Байкал в целом или его часть. Однако важным дополнением к этой работе, на наш взгляд, могла бы стать предлагаемая система малых мониторинговых точек, сеть охватывающая Байкал. Информация о состоянии поверхностных



вод разных районов озера позволила бы дополнить и уточнить данные, полученные ранее, а также получить инструмент, чутко реагирующий на небольшие, часто кажущиеся незначительными изменения. Примером может служить основанная нами в начале осени 2015 года мониторинговая точка в районе пос. Мангутай, откуда с тех пор регулярно доставляются пробы фитопланктона. Поселок выбран как точка, ярко иллюстрирующая район незначительной антропогенной нагрузки, поэтому мы имеем возможность получить некую усредненную картину происходящих изменений.

В период наблюдений нами обнаружено 15 видов фитопланктонных организмов, ряд которых (*Ceratoneis arcus*, *Synedra acus*, *Nitzschia acicularis*) встречаются круглогодично, остальные делятся на два комплекса – зимний и летний. Внутри зимнего четко прослеживается наличие подледного комплекса видов. Хорошо заметно наличие зимнего комплекса видов, представленного динофитовыми водорослями (*Elakatothrix lacustris*, *Gymnodinium coeruleum*, *Ceratium hirundinella*). Кроме того, после ледостава появляется *Anabaena sheremetievi* – представитель синезеленых. В марте фиксируется ее активное подледное цветение, к апрелю этот вид исчезает. Летний комплекс видов включает, помимо разнообразных диатомовых, еще и представителей зеленых (*Koliella longiseta*) и золотистых (*Dynobryon divergens*, *Mallomonas vannigera*) водорослей. Эти виды присутствуют в пробах с апреля по сентябрь. Что касается *Spyrogira sp.*, то этот представитель харофитовых водорослей обнаруживается в пробах с марта по ноябрь, но никогда не доминирует.

Таким образом, результаты, полученные на первом этапе работы проекта, хорошо отражают состояние фитопланктона поверхностных вод Южного Байкала. Проект доказал свою целесообразность, и сеть малых мониторинговых точек будет расширена.

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ CU НА МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МИКРОБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА КРЫС W1STAR

**Короткова А. М.<sup>1,2</sup>, Лебедев С. В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ  
Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН

В исследовании были использованы наночастицы (НЧ) Cu («Plasmotherm», диаметр 50-110 нм). Препараты НЧ готовили в физиологическом растворе, обрабатывая в течение 30 мин на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т («НПП Академприбор», Россия) (5 кГц, 300 Вт, 10 мкА). Препараты НЧ вносили единоразово в корм. Применяли дозы из расчета 3 мг в сутки как физиологическая норма для человека в пересчете на вес крыс (1 группа), во 2 группе медь применяли из расчета 1,7 мг/кг корма. По принципу аналогов были отобраны 3 крысы-самца (для каждой группы) линии Wistar в возрасте 4-х месяцев, идентичных по массе (от 180 г до 250 г). Забор крови на морфологический и биохимический анализ и отбор кала проводили на 14 сутки. Бактериологическое исследование кала проводилось при их высева на агар МПА, агар Эндо-ГРМ, среду Сабуро (все – ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), желточно-солевой агар (агар МПА+10% NaCl); висмут-сульфит агар, агар для бифидобактерий и агар Рогоза (все – Himedia Laboratories Pvt. Ltd, Индия) при 37 оС в течении 48 ч.

Введение в рацион крыс меди в разведениях 3 мг и 1,7 мг/кг корма приводило к резкому увеличению глюкозы в крови (до 73 и 78%), АЛТ (до 89% и 84%), мочевины (до 81% и 78%), ЛДГ (87%). В меньшей степени увеличивалось количество АСТ (65%), хлоридов (до 63% и 66%) и фосфора (62%) с одновременным снижением содержания железа в 2,8-5,7 раз. Морфологическая картина крови отличалась уменьшением количества клеток. Так, снизилось число лейкоцитов (до 80%), лимфоцитов (58-123%), моноцитов (90%), эритроцитов (более 95%) и концентрации в нем гемоглобина (57-94%), общего гематокрита (более 100%). Небольшое увеличение числа клеток отмечалось в случае моноцитов (13%) и гранулоцитов (до 23%). В ходе эксперимента на 14 сутки общее микробное число было ниже контроля. Число энтеробактерий на 14 день уменьшилось на 6,4%-49,4%, лактобактерий увеличилось на 66,2-36,5 %, бифидобактерий – на 18,1 %-136 %. Сальмонеллы на 14 сутки уменьшилось на 4,8-36 %. Грибы не высевались.

Таким образом, более обосновано введение препаратов наночастиц Cu в дозе 1,7 мг/кг корма, что выражалось преимущественно в стимулировании роста лакто- и бифидобактерий, являющихся полезными представителями кишечной микрофлоры и элиминации потенциально-патогенных бактерий.





Исследования выполнены в рамках базовой части Государственного задания № 6.6811.2017/БЧ.

## ЛЕТНЕЕ НАСЕЛЕНИЕ ПТИЦ ПРИПОЙМЕННЫХ СОСНЯКОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «МЕЩЁРСКИЙ»

**Косякова А.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Национальный парк "Мещера", Гусь-Хрустальный, Россия

*Ainsel@list.ru*

Материал был собран в 2010-2016 годы в ходе обследования сосняков, расположенных на правом берегу реки Пры в южной части национального парка «Мещёрский». Исследования осуществлялись ежегодно по методике маршрутных учётов без ограничения полосы обнаружения птиц (Равкин, Челинцев, 1999). Всего за семь лет было отмечено 86 видов, принадлежащих к 31 семейству. В разные годы количество учитываемых видов варьировало от 35 до 47.

Число видов-доминантов (с долей более 10% по обилию) изменялось от 1 до 4. Во все годы максимальная доля участия была у зяблика (*Fringilla coelebs*). Дважды в число доминантов входили мухоловка-пеструшка (*Ficedula hypoleuca*) и пеночка-трещотка (*Phylloscopus sibilatrix*), однократно лесной конёк (*Anthus trivialis*). Число видов-субдоминантов (с долей 5-10% по обилию) в различные годы колебалось в пределах 2-4. Наиболее часто в их число входили пеночка-трещотка (*Phylloscopus sibilatrix*) и лесной конек (*Anthus trivialis*). В отдельные годы к ним присоединялись пеночка-теньковка (*Phylloscopus collybita*) и большая синица (*Parus major*). Однократно в группу субдоминантов входили зарянка (*Erithacus rubecula*), мухоловка-пеструшка (*Ficedula hypoleuca*) и серая мухоловка (*Muscicapa striata*).

Близость поймы реки обусловила регистрацию на учётах таких видов как кряква (*Anas platyrhynchos*), чирок-трескунок (*Anas querquedula*), большая выпь (*Botaurus stellaris*), бекас (*Gallinago gallinago*), большой веретенник (*Limosa limosa*), травник (*Tringa totanus*), поручейник (*Tringa stagnatilis*), большой улит (*Tringa nebularia*), фифи (*Tringa glareola*), перевозчик (*Actitis hypoleucos*), озёрная чайка (*Larus ridibundus*), сизая чайка (*Larus canus*), речная крачка (*Sterna hirundo*), зимородок (*Alcedo atthis*), ласточка-береговушка (*Riparia riparia*).

Общее число видов-доминантов и субдоминантов изменялось по годам от 4 до 6. Доля участия видов-доминантов и субдоминантов в разные годы менялась от 56% до 71%. Увеличение видового богатства связано с регистрацией редких, а также водоплавающих и околоводных видов птиц.

## РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МАТЕРИАЛА ОТ АТЛАНТИЧЕСКОГО МОРЖА (*ODOBENUS ROSMARUS*)

**Ерещенко М.И.<sup>1</sup>, Денисенко Т.Е.<sup>1</sup>, Болтунов А.Н.<sup>2</sup>, Семёнова В.С.<sup>2</sup>, Болтунов Н.А.<sup>2</sup>,  
Никифоров В.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>РОО Совет по Морским Млекопитающим, Москва, Россия; <sup>3</sup>WWF, Всемирный фонд дикой природы, Россия

*mary.kay97@mail.ru*

Для оценки статуса здоровья свободноживущих морских млекопитающих используют различные ветеринарные методы исследований: клинические, лабораторные, аппаратные и другие. Микробиологические исследования в составе комплексной оценки здоровья животных позволяют выявить патогенные микроорганизмы и определить их этиологическую роль при наличии патологий. А так же позволяют провести санитарную и экологическую оценку ареала обитания моржа.

Цель нашего исследования: изучение видового состава и биологических свойств микроорганизмов в биологическом материале от Атлантического моржа.

Материал для исследования был отобран в 2015-2016гг силами сотрудников Совета по морским млекопитающим. Мы изучили следующие пробы: смывы со слизистой оболочки ротовой, носовой полостей, конъюнктивы и ануса. Наши исследования проводились культуральными методами с обязательным изучением факторов патогенности выделенных микроорганизмов.



В результате нашей работы мы выделили и изучили 131 культуру микроорганизмов, полученную от 16 особей моржа. Рост микроорганизмов наблюдался в 100% проб. Наибольшее количество изолятов было представлено грамположительными кокками. При этом более 89% приходилось на бактерии рода *Staphylococcus*. Выделенные стафилококки относились к различным видам и показывали различную степень патогенности. Количество и свойства выделенной микрофлоры могут указывать на неблагополучный статус здоровья исследованных особей моржа.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ ЛИПЫ МЕЛКОЛИСТНОЙ (*T. CORDATA*) ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ МЕТОДОМ ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ

Неокина М.А.<sup>1</sup>, Ломсков М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина, Москва, Россия

*neokina@yandex.ru*

Флуктуирующая асимметрия (ФА) — небольшие или частичные отклонения от определенной двусторонней симметрии, которые могут проявляться при нарушении стабильности развития организма и выражаются тем ярче, чем сильнее внешние воздействия со стороны факторов среды. ФА является репрезентативным и достоверным показателем состояния отдельных видов в конкретной фитосреде.

Цель работы состояла в определении изменчивости показателей ФА листьев липы мелколистной (*Tilia cordata*) в условиях древесных насаждений на территории ЮВАО Москвы.

Всего было проанализировано 450 листьев *T. cordata*, собранных с 15 деревьев на 3 контрольных точках, по 5 признакам. Места сбора выбраны исходя из количества автотранспорта, проходящего по проезжей части, вблизи которой высажены деревья исследуемого модельного вида. 1 точка-Кузьминский лесопарк, где нет автомобильного движения, контрольная группа; 2 точка-Ветеринарный проезд, есть автомобильное движение, но малая загруженность, первая опытная группа; 3 точка-Волгоградский проспект, загруженность автомобильного движения 5-7 баллов, вторая опытная группа.

Для каждого обмеренного листа вычисляли относительные величины асимметрии каждого признака. Для этого разность между параметрами слева L и справа R делили на сумму этих же параметров:  $L-R/L+R$ . Величину ФА оценивали при помощи интегрального показателя—величины среднего относительного различия между сторонами на признак. Средние величины ФА по точкам: Кузьминский лесопарк = -0,000075; Ветеринарный пр-д = -0,002245 ; Волгоградский пр-т = -0,00241.

Значения индекса стабильности отрицательные, можно сказать, что большинство исследуемых листьев оказалось с левой асимметрией. Разница в асимметрии листьев, собранных возле дорог на Ветеринарном проезде и Волгоградском проспекте небольшая, что означает малое различие в загрязненности воздуха возле этих дорог. Данные подвергали статистической обработке с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность различия данных оценивали на основании расчета t-критерия Стьюдента.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что существует прямая зависимость величины ФА от наличия автомобильного движения и, следовательно, загрязнения окружающей среды выхлопными газами и продуктами сгорания.

В результате анализа выявлено, что стабильность развития, которую мы оценивали по уровню ФА - чувствительный индикатор состояния окружающей среды, а листья липы мелколистной (*T. cordata*) восприимчивы к внешнему воздействию со стороны окружающей среды.



## МЕТОДЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОКЛИМАТИЧЕСКИХ ПЕРЕМЕННЫХ И ДАННЫХ О РАСПРОСТРАНЕНИИ РАСТЕНИЙ

Гаврилова Т. М.<sup>1</sup>, Орлов М. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

*orlovmikhailanat@gmail.com*

Моделирование пространственного распространения позволяет установить связь между местонахождениями особей вида и факторами природной среды. Для обработки подобных данных необходимо применение методов машинного обучения. В настоящей работе проведен анализ биоклиматических переменных и данных о распространении нескольких видов растений на территории полуострова Крым. При этом использованы как методы машинного обучения без учителя (кластеризация, анализ главных компонент PCA), так и обучение с учителем (бинарные классификаторы).

Географические координаты мест сбора растений получены на основе этикеток образцов из трех гербариев: Московского университета (MW), Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН (МНА), Ботанического института имени В.Л. Комарова РАН (LE). Значения 19 климатических переменных из базы данных WorldClim версии 2.0 были извлечены для точек в узлах решетки разрешением 0.125° и для всех точек сбора образцов. Статистический анализ, машинное обучение и визуализация результатов выполнены в свободной программной среде R.

Кластерный анализ выделил 5 устойчивых кластеров, сопоставимых с существующими схемами физико-географического районирования Крыма. Корреляционный анализ и PCA биоклиматических переменных позволили установить, что некоторые из них сильно скоррелированы между собой и вносят небольшой вклад в дисперсию данных. Использование таких переменных нецелесообразно, поскольку снижает показатели алгоритмов машинного обучения. Помимо этого, для выявления малоинформативных переменных проведен анализ вклада предикторов в работу классификаторов.

В результате работы выделены переменные, вносящие наибольший вклад в работу классификаторов, проведена оценка результатов кластеризации и показателей классификаторов при использовании наиболее информативных переменных. Показано, что точность, чувствительность и специфичность классификаторов при удалении малоинформативных переменных в большинстве случаев возрастают.

## РАЗРУШЕНИЕ БИОПЛЕНКИ ПОСРЕДСТВОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЫ

Погорелова М.А.<sup>1</sup>, Панайт А.И.<sup>1</sup>, Суворов О.А.<sup>1</sup>, Кузнецов А.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*panait-artem@rambler.ru*

Образование биопленки приводит к значительным потерям ресурсов и снижению эффективности производства, что заставляет искать способы ее удаления. По сравнению с планктонной формой, биопленка, формируя собственный гомеостаз, обеспечивает микроорганизмам защиту от антибиотиков. Такая ситуация требует значительное увеличение концентрации антимикробных препаратов, что оказывает дополнительную экологическую нагрузку на окружающую среду. Поэтому актуальной является разработка принципиально новых способов удаления биопленки, которые были бы одновременно экономичны, эффективны и экологически безопасны. Альтернативу традиционной очистке представляет обработка поверхности электрохимически активированными водными растворами, обладающими широким бактерицидным диапазоном действия. Такой раствор находится в метастабильном состоянии, для которого характерно изменение окислительно-восстановительного потенциала и кислотности. Со временем свойства воды восстанавливаются до исходного состояния. Цель настоящей работы состояла в том, чтобы исследовать эффект, который оказывает электрохимически активированный водный раствор на клеточную компоненту и матрикс бактериальной плёнки, сформированной в проточном реакторе в условиях лабораторного эксперимента.



Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 17-76-20014).

## СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ВОЛОСАХ ЖИТЕЛЕЙ ЗАПАДНЫХ И ВОСТОЧНЫХ РАЙОНОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Румянцева О. Ю.<sup>1</sup>, Иванова Е.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия

*olgamaks1995@gmail.com*

Ртуть и ее соединения относятся к числу наиболее опасных для живых организмов токсических веществ, которые способны вызывать широкий спектр негативных воздействий. Одной из самых опасных форм Hg является органическая ртуть (метилртуть). Люди, которые регулярно питаются рыбной продукцией из местных водоемов, оказываются в зоне риска воздействия повышенных концентраций метилртути.

Цель работы состоит в определении содержания ртути в волосах жителей Вологодской области в зависимости от географических и социальных факторов.

С 2014-2017 г. у 992 жителей Вологодской области, с их согласия, были отобраны пробы волос с затыльной части головы в виде пучка толщиной несколько мм. При сборе проб волос у людей в ходе предварительного опроса устанавливали место проживания и частоту употребления рыбы.

Данные измерялись в прикорневой области (2 см от корней). Количество металла в пробах определяли атомно-абсорбционным методом на ртутном анализаторе РА-915М.

В волосах жителей Вологодской области содержание ртути варьирует в широких пределах: от менее 0,001 до 6,559 мг/кг, при этом среднее значение количества металла в пробах составляет 0,412 мг/кг.

В разных населенных пунктах Вологодской области отмечены разные средние показатели ртути в волосах. Максимальные значения обнаружены у жителей, проживающих в районах западной части области. Минимальные значения определены у населения восточных районов. Среднее содержание ртути в волосах у жителей г. Череповца составляет 0,29 мг/кг.

Исходя из этого, степень развития промышленности в районе проживания людей не является основным фактором накопления данного металла.

Обнаружены статистически значимые различия содержания ртути в волосах жителей Вологодской области в зависимости от частоты употребления рыбы. Чем чаще люди употребляют рыбу в пищу, тем большее содержание ртути обнаружено в их волосах.

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АМФИБИЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННЫХ СИСТЕМ

Рябинина Е.С.<sup>1</sup>, Романова Е.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*Ryabinina.E.S@yandex.ru*

Сравнительный цитогенетический мониторинг природных популяций включает оценку стабильности онтогенеза живых организмов и способствует получению углубленной экологической характеристики среды обитания. Отслеживание мутагенных факторов среды проводится с использованием организмов-биоиндикаторов (в том числе, амфибий) и микроядерного анализа, позволяющего тестировать химические, физические и биологические агенты. Актуальность работы обусловлена необходимостью выявления цитогенетических (эколого-генетических) нарушений живых организмов в условиях антропогенного загрязнения окружающей среды.

**Цель работы** являлось выявление частоты хромосомных нарушений, в период 2016 – 2017, в эритроцитах крови озерных (*Pelophylax ridibundus*, Pallas, 1771) и прудовых лягушек (*Pelophylax lessonae*, 1882), обитающих в трех водоемах Нижегородской области разного гидрхимического состава.



В динамике двухлетних исследований выявлено увеличение комплексного загрязнения исследованных водоемов. Взаимосвязано происходило и изменение цитогематологических показателей амфибий. Выявлено статистически значимое снижение эритроцитов в крови выборок из популяций оз. Силикатного ( $Z = 3.41$ ;  $p=0.0006$ ), торфокарьера ( $Z = 2.59$ ;  $p = 0.009$ ), оз. Вторчермет ( $Z = 3.4$ ;  $p = 0.0006$ ). Пониженное содержание в крови лейкоцитов, свидетельствовало о лейкопении и развитии в условиях высоких концентраций загрязняющих веществ иммунодефицитного состояния организма амфибий.

Суммарное содержание микроядер в эритроцитах амфибий возрастало и коррелировало с увеличением концентрации загрязняющих веществ техногенного происхождения (медь, хром). Отметим уменьшение доли оформленных микроядер и возрастание доли прикрепленных и разрыхленных типов микроядер в крови амфибий. Измерение линейных размеров микроядер окуляр-микрометром позволило нам рассчитать площадь каждого микроядра и получить усредненные значения всех видов микроядер для каждой выборки озерных и прудовых лягушек с последующим статистическим анализом. Показано, что средняя площадь прикрепленных микроядер, обнаруженных в эритроцитах озерных лягушек, больше (в 1,2 раза) площади прикрепленных микроядер прудовых лягушек.

Динамика исследования популяций зеленых лягушек Нижегородской области выявила ухудшение состояния качества их среды обитания, что спровоцировало возрастание частоты встречаемости хромосомных нарушений в эритроцитах периферической крови. Можно полагать, что комплексное воздействие химических загрязнителей изменяет иммунологическую реактивность и нарушает цитогенетическую стабильность живых организмов.

## ПРИМЕНЕНИЕ РОГОЛИСТНИКА В КАЧЕСТВЕ КАТАЛИЗАТОРА ПРОЦЕССОВ НИТРИФИКАЦИИ В АКВАРИУМИСТИКЕ

**Рябчикова Е.В.<sup>1</sup>, Ломсков М.А.<sup>1</sup>, Суханова К.Д.<sup>1</sup>, Денисенко Т.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина, Москва, Россия

*genya.ryabchik@bk.ru*

Азотный цикл – это основной процесс в аквариуме, который существенно влияет на качество жизни его обитателей. В случае нарушений в цикле, повышается концентрация аммиака, что влечет за собой отравление и смерть рыб. Своевременное снижение концентрации поможет избежать неприятных последствий.

Целью работы является создание метода восстановления биологического равновесия в водных экосистемах с нарушенным азотным циклом, с использованием роголистника (*Ceratophyllum L.*).

В качестве модели была выбрана система из 6 аквариумов объемом 50 литров каждый. Первая группа включала три аквариума с «живым» песком (2 кг в каждом аквариуме), который был изъят из систем с установившимся стабильным азотным циклом. Для второй группы аквариумов песок не использовали. В первые аквариумы из обеих групп был добавлен препарат BiodigestStartUp фирмы Prodigio в объеме, указанном в инструкции (по одной ампуле на аквариум); во вторые аквариумы было добавлено 100 г перегнившего роголистника (*Ceratophyllum L.*); третий аквариум в первой группе был пуст, а в третий аквариум второй группы добавили загрузку для биофильтров в объеме 10 л. В качестве биологической нагрузки в каждый аквариум было добавлено по 5 г мяса креветок.

Наблюдение проводили в течение месяца, температуру установили на уровне 23°C, при этом периодически производили отбор проб для гидрохимических тестов фирмы JBL. Опираясь на результаты проведенных экспериментов можно сделать вывод, что в системах с перегнившим роголистником стабилизация азотного цикла и установление нормальной микрофлоры проходило быстрее, чем в пустых системах, а разница концентраций токсичных соединений в аквариумах с роголистником не были слишком велики и даже в некоторых случаях достигали меньших значений, по сравнению с системами с препаратом.



## РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕМАТОД ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ НА РАВНИННЫХ И ПРЕДГОРНО-ГОРНЫХ ЗОНАХ УЗБЕКИСТАНА

**Саидова Д.Э.<sup>1</sup>, Амиров О.О.<sup>1</sup>, Кучбоев А.Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт Зоологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

*dilfuza\_saidova92@mail.ru*

Исследования гельминтов жвачных в Узбекистане, в свете учения о гельминтогеографии, констатируются отдельными ландшафтно-географическими поясами и имеют свои особенности. Значительная часть территории Узбекистана представляет равнинную зону, которая издавна служит ценным пастбищем для отгонного животноводства. Это позволяет нам выделить два гельминтогеографических комплекса: равнинный и предгорно-горный.

Сбор материала проводился на равнинных и предгорно-горных зонах Сырдарьинской, Джизакской, Кашкадарьинской, Сурхандаринской, Навоийской и Бухарской областей с 2015 по 2017 гг. Степень инвазированности жвачных гельминтами устанавливалась полными и неполными гельминтологическими вскрытиями животных, а также отдельных органов по методу В.М.Ивашкина (1971) и др.

В результате исследований в равнинной зоне нами были обнаружены следующие виды: *Trichocephalus ovis*, *T. skrjabini*, *Skrabinema ovis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *B. phlebotomum*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum venulosum*, *Trichostrongylus axei*, *Tr. vitrinus*, *Tr.skrjabini*, *Haemonchus contortus*, *H. placei*, *Marshallagia marshalli*, *M. occidentalis*, *M. mongolica*, *M. schumakovitschi*, *Or. orloffi*, *O. buriatica*, *Nematodirus abnormalis*, *N. helvetianus*, *N. oiratianus*, *N. spathiger*, *Ostertagia ostertagi*, *O. lyrata*, *O. aegagri*, *Teladorsagia circumcincta*, *Parabronema skrjabini*, *Gongylonema pulchrum* и *Setaria labiato-papillosa*, а в предгорно-горной: *Tr. ovis*, *T. skrjabini*, *Sk. ovis*, *B.trigonocephalum*, *B. phlebotomum*, *Ch. ovina*, *O. venulosum*, *Tr. axei*, *Tr. colubriformis*, *Tr. probolurus*, *Tr. vitrinus*, *Tr. caricola*, *Tr. skrjabini*, *H. contortus*, *H. placei*, *M. marshalli*, *M. occidentalis*, *M. mongolica*, *M. dentispicularis*, *M. schumakovitschi*, *M. belockani*, *M. sogdiana*, *M. trifida*, *O. orloffi*, *O. dahurica*, *O. kazakhstanica*, *O. buriatica*, *N. abnormalis*, *N. helvetianus*, *N. oiratianus*, *N. spathiger*, *O. ostertagi*, *O. lyrata*, *O. aegagri*, *T. trifurcata*, *T. circumcincta*, *T. davtiani* и *S. labiato-papillosa*.

Как показывают данные, нематоды жвачных животных равнинной зоны Узбекистана представлены 29 видами. На равнинах, в основном, распространены нематоды, у которых инвазионные личинки ведут свободный образ жизни и обычно находятся на растениях в подстилке и могут мигрировать в почву. А в предгорно-горный включают 38 видов. По продуктивности пастбищ она значительно превышает равнинную. Природно-хозяйственные условия и система ведения животноводства в предгорно-горных зонах специфична, что безусловно, отражается на формировании и распространении как фауны животного мира, так и её гельминтов.

## СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ОРГАНАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ОТРЯДА КОПЫТНЫЕ ООПТ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК "РУССКИЙ СЕВЕР"

**Селезнева А. П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия

*ya.alina-selezneva99@yandex.ru*

Ртуть (Hg), в отличие от других тяжелых металлов, благодаря своим уникальным физико – химическим свойствам, мигрирует в атмосфере и гидросфере на сотни и тысячи километров от источников эмиссии, в первую очередь предприятий, сжигающих природные углеводороды в больших количествах, и накапливается в биотических компонентах водных экосистем [Arctic Pollution, 2002]. Ртуть относится к классу наиболее токсических веществ для животных [Wiener et al, 2002]. Содержание металла в живых организмах возрастает по мере приближения к вершинам трофических сетей и достигает максимальных значений у представителей высших трофических уровней (хищных рыб, рыбадных птиц и млекопитающих) [Scheuhamer et al., 2007]. Высокие концентрации Hg в органах представляют угрозу для здоровья животных [Wiener et al., 2002]. Именно поэтому актуальна оценка содержания ртути в млекопитающих разных



таксономических и трофических групп из районов с различными природно-климатическими параметрами.

Цель исследования: установить закономерности распределения и накопления ртути в органах хищных млекопитающих разных таксономических групп, обитающих в районах с разными природно-климатическими параметрами и разной степенью развития промышленности.

За период исследования: 2014 - 2017 г.г. было собраны и проанализированы пробы от 12 видов млекопитающих отряда хищные (Carnivora), принадлежащих к 2 семействам: куньи и псовые. Содержание ртути в определялась атомно-абсорбционным методом холодного пара без предварительной пробоподготовки на ртутном анализаторе РА-915М с приставкой ПИРО (чувствительность прибора 0,001 мг/кг). Точность измерения контролировалась с помощью использования сертифицированного биологического материала DORM-4 и DOLT-5 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада). Результаты обрабатывались с помощью пакета программ STATGRAPHICS Plus 2.1.

Содержание ртути в органах млекопитающих отряда хищные варьируется в пределах от 0,001 до 8,04 мг/кг сырой массы. Максимальные средние значения отмечены в печени и почках, минимальные в мозге и мышцах. Статистически значимых различий количества ртути в организмах исследованных видов семейства собачьи не было обнаружено. Во всех исследованных органах для видов отряда хищные статистически достоверно превышающие значения отмечены у типичных ихтиофагов – норки и выдры, при этом между собой по количеству металла в мышцах и почках эти виды не отличаются.

## ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ РОДА *VIPERA* СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Романова Е. Б.<sup>1</sup>, Соломайкин Е.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e7v4gen5iy@yandex.ru*

Существует большое количество исследований по морфологическим характеристикам, систематике, сезонной и суточной активности, распространению и питанию ядовитых змей рода *Vipera* Волжского бассейна (Бакиев и др., 2015). Менее изученными являются иммуногематологические показатели рептилий. Процесс иммунологической перестройки в организме, отражает динамика лейкоцитарных индексов, расчет которых позволяет не только оценить физиологическое состояние организма, но и его адаптивный потенциал, а также получить сравнительные иммуногематологические популяционные характеристики в условиях антропогенного стресса.

Цель работы: дифференцированная оценка форменных элементов и расчет интегральных лейкоцитарных индексов крови обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) (63 особи) из Самарской области (г. Самара) и восточной степной гадюки *Vipera renardi* (Christoph, 1861) (29 особей) из Саратовской области (Хвалынский район).

Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав крови гадюки обыкновенной из Самарской области характеризовался преобладанием мононуклеарных клеток (70 – 80%). Большую долю в крови степной гадюки составляли агранулоциты (60 – 70%), на долю гранулоцитов приходилось 30–35%. Лейкоцитарный состав крови степной гадюки Саратовской области статистически значимо отличался от лейкограмм гадюки обыкновенной по всем показателям, кроме незрелых клеток агранулоцитарного ряда (азурофилов). При сравнении обобщенных лейкоцитарных формул двух видов гадюк установлено перераспределение долей мононуклеарных клеток, выражающее в возрастании числа моноцитов и снижении в крови степной гадюки доли лимфоцитов. Для клеток гранулоцитарного ряда степных гадюк показано снижение доли гетерофилов и возрастание числа эозинофилов и базофилов.

У гадюки обыкновенной установлено повышение значения индексов соотношения: гранулоцитов/агранулоцитов, ИСЛ ( $u = 2.48$ ,  $a = 0.01$ ); гетерофилов/эозинофилов, ИСГЭ ( $u = 2.52$ ,  $a = 0.01$ ) и гетерофилов/лимфоцитов, ИСГЛ ( $u = 2.72$ ,  $a = 0.007$ ), за счет увеличения в крови процентной доли гетерофилов, базофилов и доли лимфоцитов.

Особенности лейкоцитарного состава проявлялись в преобладании специфической составляющей в иммунных реакциях, активация иммунных процессов и повышение защитной



функции крови обыкновенной гадюки по сравнению с восточной степной гадюкой и определялись как онтогенетическими особенностями, так и спецификой среды обитания, накладывающей отпечаток на иммунный статус змей.

## ФАУНА МАЛЫХ РЕК И РУЧЬЕВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИЭЛЬБРУСЬЕ»

Таманова Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова, Владикавказ, Россия

*dianatamanova@mail.ru*

Материалом для данной работы послужили сборы гидробионтов из малых рек и речек – притоков ледниковых рек Малка и Баксан, проведенные нами в 2016-2017 гг., а также был привлечен коллекционный материал, собранный на территории Национального парка «Приэльбрусье» за период 1990 по 2016 гг. Всего было обследовано 158 малых рек и речек. Основная масса этих водотоков имеет родниковое питание, к речкам с ледниковым питанием относится всего 9 – Кызылкол (бассейн реки Малка), Адылсу, Адырсу, Гарабаши, Донгузорун, Ирик, Кыртык (Субаши), Терскол и Юсенги (бассейн реки Баксан). Всего из малых рек верховой Малка и Баксан в пределах Национального парка «Приэльбрусье» было отобрано более 1250 качественных и количественных проб. В результате таксономического анализа собранного материала нами было установлено обитание 66 видов гидробионтов: 57 вида беспозвоночных животных, 7 видов рыб и 2 вида земноводных. Из беспозвоночных отмечены малая ложноконская пиявка *Herpobdella octoculata*, бокоплав *Gammarus pulex*, клещ *Piona* sp., поденки *Baetis baksan*, *Epeorus (Caucasiron) sp.*, *Ecdyonurus (Ecdyonurus) sp.*, *Rhithrogena (Rhithrogena) sp.* и *Heptagenia samochai*, веснянки *Perla caucasica*, *Isoperla bithynica*, *Taeniopteryx caucasica*, *Amphinemura* sp. и *Protonemura* sp, клоп *Saldula* sp., ручейники *Rhyacophila forcipulata*, *Rh. torrentium* и *Drusus causicus*, жуки *Hydroporus gyllenhalii*, *Ilybius chalconotus*, *Dryops auriculatus*, *Oreodytes davisii*, *Platambus lunulatus* и *Hydroporus discretus*, двукрылые: мошки *Prosimulium pronevitshae*, *Metacnephia nigra*, *Schoenbaueria subpussila*, *Montisimulium montium*, *Simulium variegatum* и *S. monticola*, муха-львинка *Oxycera pardalina*, земноводный комарик *Dixa frizzii*, кровососущий комар *Aedes leucomelas*, комары-звонцы *Boreoheptagyia sp.*, *Diamesa insignipes*, *Eukiefferiella sp.*, *Orthocladus rivicola*, *O. rivulorum*, *Crycotopus sp.*, *Sindiamesa nivosa*, *Micropsectra recurvata*, *Macropelopia nebulosa* и *Chironomus* sp., мокрец *Dasyhelea* sp., сетчатокрылые комары *Liponeura decipiens*, *Liponeura cinerascens* и *Aspistomyia elegans*, болотницы *Dicranota bimaculata*, *Hexatoma bicolor* и *Hexatoma fuscipennis*. Таким образом, установлено, что наиболее многочисленной группой водных животных в условиях малых и сверхмалых водотоков Национального парка «Приэльбрусье» следует считать представителей отряда Diptera – 34 вида. Основная же масса видов гидробионтов является типичной для рек и ручьев высокогорий Северного Кавказа, входящей в литореофильный комплекс.

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА БИОМОДИФИКАЦИИ БУРОГО УГЛЯ

Жубанова А.А.<sup>1</sup>, Акимбеков Н.Ш.<sup>1</sup>, Тастамбек К.Т.<sup>1</sup>, Цяо С.<sup>1</sup>, Токен А.<sup>1</sup>, Бекдикулов Б.Т.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби МОН РК, Алматы, Казахстан

*tastambeku@gmail.com*

Современная экологическая обстановка в отдельных странах и регионах диктует необходимость ужесточения требований к качеству сжигаемого коммунально-бытового и промышленного топлива. Кроме того, сжигаемое топливо должно обладать низким содержанием серы, малой дымностью, зольностью и необходимым гранулометрическим составом. Поэтому поиск и реализация наиболее современных экологических и экономичных путей увеличения ресурсов обогащенного сортового топлива имеет принципиально важное значение.

Роль угля в промышленности, народном и сельском хозяйстве Казахстана достаточно высока. Однако, бурый уголь имеет низкую энергетическую ценность и, кроме того, его традиционное сжигание приводит к загрязнению окружающей среды оксидами азота и серы и





другими веществами. В связи с этим, актуальной является проблема поиска альтернативных способов его использования.

В результате релевантной задачей становится разработка такой стратегии развития, которая позволила бы значительно повысить рентабельность добычи и переработки бурых углей. Один из путей реализации такой стратегии - биотрансформация добываемого сырья в эффективную товарную продукцию, так называемого «топливного брикета», необходимого народному хозяйству и имеющего более высокую доходность.

Следующая направления изучение бурых углей целенаправленно получение биогумуса. Мировой спрос на технологии восстановления плодородия почв, повышения урожайности растений вытекают, прежде всего, из происходящего на наших глазах активного перехода к новой парадигме в сфере агротехнологий. В связи с этим многие страны мира – потенциальные рынки для новых технологий производства гумуса и создания эчочерноземов. Для производства гумуса предполагается использовать бурый уголь, как наиболее богатое на гуминовые кислоты сырье. Исследования, направленные на разработку методов по повышению урожайности картофеля и восстановления плодородия почв, актуальны для любой страны.

В результате будет апробирован новый комплексный препарат на основе зоомикробного микс-консорциума, обладающий целевой метаболической, энтомопатогенной и плодородие-улучшающей активностями на основе бурых окисленных углей, клеток микроорганизмов с целевой метаболической и энтомопатогенной активностями и дождевых червей и дана агроэкологическая оценка влияния этого препарата на плодородие почв, урожайность картофеля и его качество.

По перечисленным причинам, создание новых эффективных технологий для использования бурых углей, в том числе, бездымного, является своевременным решением актуальной проблемы.

## **СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В ТКАНЯХ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Хабарова Л.С.<sup>1</sup>, Иванова Е.С.<sup>1</sup>, Кузнецова Л.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия;

<sup>2</sup>Национальный парк «Русский Север», Кириллов, Россия

*khbarovals@yandex.ru*

Ртуть, обладая особыми физико-химическими свойствами, повсеместно распространена в окружающей среде и имеет высокую степень биомагнификации. На территории Вологодской области расположены крупные промышленные предприятия, сжигающие в технологическом процессе большое количество природных углеводородов, которые являются источниками поступления ртути в окружающую среду. Представители отряда хищные имеют широкий спектр питания, в который входит растительная пища, мелкие млекопитающие и водные организмы. Компоненты питания у разных видов в рационе представлены в разной степени.

Цель исследования: изучить накопление и распределения ртути в тканях хищных млекопитающих разных таксономических групп, различающихся спектром питания, обитающих на территории Вологодской области

За период исследования (2014 - 2017 г.г.) было собрано и проанализировано 137 особей. Ртуть была измерена в печени, почках, мышцах, мозге, стенке кишечника и химусе представителей 7 видов млекопитающих отряда хищные (Carnivora), принадлежащих к 2 семействам: куньи и псовые. Содержание ртути в биоиндикаторах определялась атомно-абсорбционным методом холодного пара без предварительной пробоподготовки на ртутном анализаторе РА-915М.

Содержание ртути в тканях млекопитающих отряда хищные варьируют в широких пределах (от 0,001 до 6,490 мг/кг сырой массы). Максимальные средние значения отмечены в печени (0,065 - 2,400 мг/кг), почках (0,065 - 1,600 мг/кг), минимальные - в мышцах (0,011 – 0,980 мг/кг) и мозге (0,034 – 0,530 мг/кг).

Содержание ртути в отдельных тканях (почки, мышцы, мозг) представителей семейства куньи значимо выше, чем у представителей семейства псовые. Концентрация ртути в тканях хищных млекопитающих семейства псовые (лисица, енотовидная собака) варьирует в пределах от 0,001 до 0,960 мг/кг. Установлены значимые различия количества ртути в печени исследованных видов семейства собачьи: концентрация металла в печени енотовидной собаки достоверно выше,



чем в печени обыкновенной лисицы. У представителей семейства куницы уровень ртути в органах – от 0,001 до 6,490 мг/кг сырой массы. Во всех исследованных органах для видов семейства куницы статистически достоверно превышающие значения отмечены у преимущественного ихтиофага – норки, при этом остальные виды (лесная куница, обыкновенная ласка, лесной хорь, горностаи) между собой по количеству металла в тканях не различаются.

В зависимости от объектов питания представленных выборке видов отряда хищные во всех исследованных тканях для ихтиофагов были отмечены достоверно более высокие концентрации, чем для миофагов.

## **ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПЕРТЕРМИИ НА НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТИ У *LYMNAEA STAGNALIS***

**Хомич А.С.<sup>1</sup>, Широкова Ю.А.<sup>2</sup>, Лубяга Ю.А.<sup>2</sup>, Краснова М.А.<sup>2</sup>, Бодилова О.А.<sup>1</sup>, Голубев А.П.<sup>1</sup>, Аксенов-Грибанов Д.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>УО Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь; <sup>2</sup>НИИ биологии ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*andy3331@mail.ru*

Повышение температуры воды в водоеме часто приводит к изменению в системе сложных биотических связей, в результате чего водные организмы подвергаются стрессу. Это вынуждает гидробионтов вырабатывать адаптивные механизмы, необходимые для преодоления стрессовых состояний. Одним из распространенных организмов для оценки стрессового воздействия различной природы является легочной моллюск *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758).

Целью эксперимента являлось, оценить влияние острой гипертермии на содержание общего белка и гемоцианина в гемолимфе у *L. stagnalis*.

В нашем исследовании половозрелые особи *L. stagnalis*, отловленные в заводи реки Ангара, акклиматизировались в течение 10 суток в аэрируемых аквариумах при температуре вылова (6,5 °С). После акклиматизации моллюсков экспонировали в экстремально-стрессовых для них условиях (30 °С).

Согласно полученным данным, содержание общего белка у особей контрольной группы составило 24±0,21 мг/мл. Через 4 часа температурного воздействия количество белка в два раза превышало значение в контрольной группе и составляло 2,70±0,8 мг/мл (P = 0,007). При дальнейшем температурном воздействии содержание белка не превышало контрольных величин.

При оценке содержания гемоцианина установлено, что экспозиция в условиях острой гипертермии вела к полуторакратному повышению его концентрации (P=0,018) после 4 ч экспозиции. Затем содержание гемоцианина возвращалось к контрольному значению. При достижении 28 ч эксперимента отмечали пятикратное снижение дыхательного пигмента (P = 0,035).

В условиях острой гипертермии у *L. stagnalis* происходило быстрое повышение содержания общего белка и гемоцианина в гемолимфе уже через 4 ч экспозиции, в свою очередь, концентрация гемоцианина снижалась после 28 ч экспозиции. Установлено, что общее содержание белка сильно коррелировало с содержанием гемоцианина ( $r=0,84$  P<0,05).

Учитывая, что у моллюсков на долю гемоцианина приходится 90-98% от всей массы белков в гемолимфе, это указывает на интенсификацию физиологических механизмов стресс-адаптации, направленных на преодоление последствий недостатка кислорода и развития тканевой гипоксии.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов РНФ (17-14-01053), РФФИ (17-34-50012), проектов Минобрнауки РФ 6.9654.2017/8.9, 6.12738.2018/12.2, а также Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований «Озеро Байкал».



## ENRICHMENT CULTURING AND BACTERIAL COMMUNITY STRUCTURE ANALYSIS OF SOLUBILIZING-BROWN COAL MICROFLORA THROUGH ILLUMINA MISEQ HIGH-THROUGHPUT SEQUENCING TECHNOLOGY

**Цяо Сяохуэй<sup>1</sup>, Тастамбек К.Т.<sup>1</sup>, Акимбеков Н. Ш.<sup>1</sup>, Жубанова А. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби МОН РК, Алматы, Казахстан

*qiaoxiaohui1988@126.com*

Soil bacteria play a major role in ecological and biodegradable function processes in coal-contaminated soils. To investigate the diversity of the coal-contaminated soil bacteria communities in Karaganda city (Kazakhstan) and selection of solubilizing brown coal communities, Illumina Miseq high-throughput sequencing technique was used to measure the sequence of 16S rDNA-V4 variable region of bacteria diversity in soil and enrichment method for the cultivation of bacteria communities that has lignite as a single carbon source. QIIME and Mothur software programs were employed to sort and calculate the number of sequences and operational taxonomic units (OTUs) for two samples, with each samples in three replications. Thereafter, the OTU cluster and Species annotation, abundance, distribution, and alpha diversity index of species and the differences of species abundance among the samples were analyzed. The number of effective sequences and OTUs for each sample was 72840/1416; the rarefaction curves showed a sufficient sequencing depth, and the number of OTUs was close to saturation. The Chao1 and Shannon indices of sample were 1412 and 5.599, respectively. The bacteria in soil and enrichment method for the cultivation of bacteria communities that has lignite as a single carbon source belonged to the following five Phyla: Proteobacteria (68.44%), Verrucomicrobia (19.12%), Bacteroidetes (10.90%), Actinobacteria(1.33%) and Firmicutes(0.21%). The dominant species were Proteobacteria and Verrucomicrobia, and accounted for 68.44% and 19.12%, six bacterias are not identified, respectively. Illumina MiSeq high-throughput sequencing system provides a more accurate and scientific data resource for the study of degradative bacteria in coal-contaminated soil bacteria communities in Karaganda city (Kazakhstan) and these results provide some useful information for degradation of coal contaminated soil in the future.

## СОСТОЯНИЕ МУЖСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ СОСНЫ РУМЕЛИЙСКОЙ (*PINUS PEUCE* GRISEB.) В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

**Чугреев М. Ю.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*michael.yurievich@yandex.ru*

Интродуцированные растения подвергаются большему стрессовому воздействию, так как произрастают за пределами своего ареала. Помимо падения общей биологической продуктивности и формирования различных аномалий происходит снижение их репродуктивного потенциала. Определение качества пыльцы позволяет судить о состоянии репродуктивной сферы и степени адаптации к условиям интродукции.

Объектом изучения является сосна румелийская (*Pinus peuce* Griseb.). Образцы пыльцы отбирались с двух деревьев, произрастающих (в группе и одиночно) на территории Коллекционно-маточного дендрария (КМД, Семилукский район, Воронежская область), а также с одиночного из Экспериментально-показательного дендрария (ЭПД, г. Воронеж).

Метеорологические условия весны 2017 года были сложными. Наблюдались резкие перепады температур и быстрая смена продолжительных теплых периодов (выше 5°C) заморозками. Отклонения от среднемесячной температуры составили +4,7°C в марте, +0,2°C в апреле и -0,9°C в мае.

Сосна румелийская характеризуется довольно поздними сроками пыления (середина третьей декады мая), поэтому период созревания и вылета пыльцы происходил в довольно благоприятных погодных условиях. Проращивание пыльцы при стандартной (27°C) температуре показало высокое качество пыльцы у всех анализируемых деревьев. У одиночной сосны из ЭПД жизнеспособность пыльцы составила 92,4±0,7%, одиночной из КМД – 81,7±5,6%, произрастающей в группе в КМД – 95,3±1,3%. При повышенной температуре проращивания



(35°C) у дерева из ЭПД, а также растущего в группе в КМД не наблюдается статистически достоверных изменений по уровню жизнеспособности пыльцы. Она составила  $89,6 \pm 3,5$  и  $94,3 \pm 1,6\%$ , соответственно. У одиночного дерева из КМД наблюдается уменьшение количества проросшей пыльцы в 1,24 раза. Это снижение качества пыльцы можно объяснить падением адаптационного потенциала из-за повышенной инсоляции одиночного дерева из КМД. Помимо внешне нормальных непроросших пыльцевых зёрен, встречались единичные аномалии: оптически пустые зёрна или имеющие редуцированное тело; двусторонне прорастающие зёрна; пыльцевые трубки, образующие искривления, ветвления, вздутия на конце. Количество вздутий возрастает при более высокой температуре проращивания, ветвящиеся трубки встречаются чаще у дерева из ЭПД. Полученные данные подтверждают, что условия Воронежской области являются благоприятными для развития генеративной сферы сосны румелийской. Они позволяют нормально протекать процессам формирования жизнеспособной пыльцы, и способствуют образованию качественных семян.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ НА ОРГАНИЗМ ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД

Шапова Е.П.<sup>1</sup>, Гурков А.Н.<sup>1</sup>, Дмитриев И.А.<sup>1</sup>, Назарова А.А.<sup>1</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*shchapova.katerina@gmail.com*

Одним из перспективных направлений в биотестировании и экофизиологических исследованиях является использование оптических микросенсоров, имплантируемых в организм небольших водных животных для прямой оценки внутренних физиологических параметров *in vivo*. Многообещающим типом имплантируемых сенсоров являются микроинкапсулированные флуоресцентные сенсоры (МФС).

МФС представляют собой полимерные микрокапсулы диаметром порядка нескольких микрон с сетчатой полупроницаемой стенкой, содержащие краситель, чей спектр флуоресценции реагирует на изменение выбранного физиологического параметра организма. Ранее была показана применимость МФС для повторных измерений рН непосредственно в кровеносной системе амфипод и рыб и оценки его изменений в различных стрессовых условиях (Gurkov et. al., 2016; Vorvinskaya et. al., 2017). Дальнейшее развитие методик длительного отслеживания физиологических параметров гидробионтов с использованием МФС требует детального изучения ответной реакции организма на имплантируемый микросенсор. С этой целью в качестве объекта данного исследования был выбран эндемичный вид амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858). Данный вид в массе обитает в литоральной зоне озера Байкал и является потенциальным модельным объектом для оценки состояния эндемичных сообществ озера.

В течение 6 недель после инъекции МФС смертность амфипод оказалась на уровне контрольной группы. Распространение МФС наблюдали по центральным сосудам во всех сегментах животного, однако наибольшая концентрация микрокапсул сохранялась в головном отделе и уросоме. К окончанию шестинедельного эксперимента зафиксировали снижение количества видимых МФС в организме амфипод.

Для определения возможного развития стрессовой реакции амфипод на введённые МФС оценивали такие неспецифические биохимические стресс-маркеры как содержание лактата и БТШ70. Показано, что в течение недели анализируемые параметры оказались стабильны относительно контрольной группы, что говорит об отсутствии выраженной стресс-реакции.

В целом, полученные результаты демонстрируют высокую биосовместимость МФС при использовании в кровеносной системе амфипод *E. verrucosus* в течение длительного времени.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта РФФИ №15-29-01003. Выражаем благодарность фонду М. Прохорова за помощь в финансировании очного участия в конференции.



## АДАПТАЦИЯ *DROSOPHILA MELANOGASTER* К ПРОСТРАНСТВЕННО ГЕТЕРОГЕННОЙ СРЕДЕ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМИ КОРМОВЫМИ СУБСТРАТАМИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭВОЛЮЦИОННОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

**Яковлева Е. Ю.<sup>1</sup>, Горшкова А. А.<sup>1</sup>, Фетисова Е. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e.u.yakovleva@gmail.com*

Экспериментальное изучение эволюции – быстро развивающееся направление, помогающее понять закономерности эволюции различных признаков, включая параметры жизненного цикла, такие как продолжительность жизни, плодовитость, смертность.

С 2014 г. на кафедре биологической эволюции биологического факультета МГУ ведется эволюционный эксперимент на плодовых мушках *Drosophila melanogaster*. Одна из задач эксперимента – изучение адаптации мух к гетерогенной среде: корму с повышенным содержанием поваренной соли (С) и обедненному корму на основе крахмала (К). В ходе эксперимента две опытные линии имеют доступ только к одному из двух неблагоприятных кормов (гомогенная среда), а третья – к обоим, имея возможность выбирать между ними (гетерогенная среда). Контрольные линии культивируются на нормальном лабораторном корме (Н), стандартном для данного вида. Мухи, помещенные в гетерогенную среду, представляют собой частично подразделенную популяцию, содержащуюся в двойном боксе, в одном из отсеков которого находится соленый корм (линия Мсс), а в другом – корм на основе крахмала (линия Мкс). В стенке, разделяющей отсеки, имеется небольшое отверстие, допускающее миграцию мух между отсеками.

После 21 месяца адаптации, соответствующих 40 поколениям, мы оценили приспособленность изучаемых линий к кормам С, К и Н. Нами показано, что мухи, культивируемые в гетерогенной среде, на всех трех кормах по большинству показателей приспособленности опережают мух, культивируемых в гомогенной среде. Мухи из линий Мсс и Мкс опередили мух из контрольных линий по эффективности размножения (количеству потомков) на кормах Н и К. Это говорит о том, что расширение экологической ниши линии повело за собой увеличение общей приспособленности, что дает линии эволюционное преимущество в естественном отборе. Также у самок из линии Мсс увеличилась продолжительность жизни, и замедлился темп репродуктивного старения на кормах Н и С по сравнению с самками из линий, живущих в гомогенных условиях.

Результаты согласуются с гипотезой о том, что пространственная гетерогенность среды может способствовать генерализации (выработке адаптаций широкого профиля) и более эффективной адаптации к неблагоприятным условиям. Полученные данные не подтверждают теорию антагонистической плейотропии, ведущей к «эволюционным компромиссам» и пониженной конкурентоспособности генералистов в стабильных условиях по сравнению со специалистами.

Мы благодарим сотрудников кафедры биологической эволюции МГУ за предоставленный биологический материал и помощь в проведении исследования.



## СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА»

### ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РЕПАРАЦИЮ ДНК И УРОВЕНЬ ГЕТЕРОПЛАЗМИИ МТДНК В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

**Абдуллаев С.А.<sup>1</sup>, Губина Н.Е.<sup>1</sup>, Евдокимовский Э.В.<sup>1</sup>, Митрошина И.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

[saabdullaev@gmail.com](mailto:saabdullaev@gmail.com)

Накопленные за последние годы результаты исследований указывают на то, что важнейшей мишенью радиационного поражения, наряду с ядром, являются митохондрии. Результаты наших экспериментов показали, что в структурах мозга крыс, облученных рентгеновскими лучами, происходят разнонаправленные и зависимые от пострадиационного времени изменения экспрессии анализируемых генов, контролирующей функциональную активность митохондрий. К ним относятся гены ND2, CytB в составе митохондриальной ДНК (мтДНК), кодирующие субъединицы I и III комплексов дыхательной цепи и ядерный ген (АТР50), кодирующий субъединицу АТФ-синтазы. Изменение уровня экспрессии происходит и у генов в составе ядерной ДНК (ядДНК), кодирующих транскрипционный митохондриальный фактор TFAM и фактор ко-активатор биогенеза митохондрий PGC-1 $\alpha$ , участвующих в биогенезе митохондрий, а также белков-регуляторов слияния (Fis1) и деления (Mfn1) митохондрий, регулирующих процесс динамики этих органелл. Следует заметить, что в гиппокампе мозга крыс к 6 часам после их облучения, наблюдается повышение уровня транскриптов генов ND2 и CytB, которые функционируют в составе первого и третьего комплексов цепи переноса электронов в процессе окислительного фосфорилирования и способствуют повышенной генерации активных форм кислорода (АФК) и азота. Результаты исследований также показывают максимальное увеличение количества копий мтДНК относительно яДНК к 6 часам после радиационного воздействия. Поскольку, митохондриальные функции тесно связаны с целостностью и количеством молекул мтДНК, данное увеличение количества копий мтДНК можно рассматривать как результат компенсаторной реакции поврежденных клеток на возникновение повышенных энергетических потребностей и активации биогенеза митохондрий для восстановления энергетического гомеостаза. Однако увеличение общего количества копий мтДНК относительно яДНК сопряжено также с повышением доли мутантных копий мтДНК в структурах мозга крыс, после облучения. Мы регистрируем также функционирование систем репарации повреждений мтДНК и яДНК в структурах мозга облученных крыс. В данном случае имеется в виду репарация всех видов повреждений ДНК, индуцируемых облучением. Известно, что в митохондриях, в основном, эффективно функционирует система эксцизионной репарации оснований ДНК (ЭРО). Другие системы не функционируют или неэффективны. Поэтому, в данном случае, более активное увеличение мтДНК, по сравнению с яДНК (по данным ПЦР-ПФ анализов), можно полагать, является результатом вклада пострадиационной репликации мтДНК. Известно, что мтДНК, в отличие от яДНК, постоянно реплицируется независимо от клеточного цикла, в том числе в постмитотических клетках мозга. В процессе репликации, поврежденной мтДНК могут закрепляться точечные мутации и делеции во вновь синтезированных копиях мтДНК. Митохондрии, несущие мутантные копии мтДНК, становятся источником повышенной генерации АФК, которые создают усиленный окислительный стресс, индуцирующий повреждения яДНК и других клеточных макромолекул.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 оф<sub>и</sub>\_м.



## АНАЛИЗ ОДНОРОДНОСТИ БОЛЬШИХ МАССИВОВ ДАННЫХ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ НА ОСНОВЕ ТЕСТА СТЬЮДЕНТА

**Алиев Р.О.<sup>1</sup>, Борисов Н.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия.

[big\\_ruslik@mail.ru](mailto:big_ruslik@mail.ru)

На протяжении ряда лет во всём мире возрастал интерес к тому, чтобы результаты молекулярно-биологических экспериментов по профилированию генной экспрессии были доступны сообществу учёных после публикации результатов исследования. Ещё в 2003 была осознана необходимость создания общедоступного хранилища таких наборов данных [1]. За несколько лет был создан каталог с минимальным набором информации, необходимым для того, чтобы результаты гибридизации мРНК на основе микрочипов (молекулярный анализ при помощи чувствительной матрицы зондов) можно было правильно интерпретировать и сопоставлять друг с другом [1].

Несмотря на это, данные, депонированные в таких хранилищах, могут быть неоднородными, даже, если они относятся к одинаковому типу нормальных или патологически изменённых органов и тканей, и были исследованы на одинаковой платформе. Вопрос неоднородности данных, депонированных в разных хранилищах, существует до сих пор [2]. Он вынуждает проводить дополнительный анализ входных данных, что оказывается трудоёмкой работой.

Нами был предложен новый метод анализа однородности экспрессионных данных. Он применим как для анализа микрочиповых исследований, так и для анализа результатов, полученных при помощи методов секвенирования нового поколения. Были проведены вычислительные эксперименты на реальных и искусственно сгенерированных данных, также проведено сравнение авторского метода с методом иерархической кластеризации. Выигрыш по времени при обработке больших массивов данных, определение наличия неоднородности с возможностью качественной её оценки, а также дополнительная визуализация отклонений экспрессии генов - всё это позволяет сделать авторский метод хорошим дополнением к инструментарию учёного-исследователя.

1) Brazma A. et al. ArrayExpress—a public repository for microarray gene expression data at the EBI //Nucleic acids research. – 2003. – Т. 31. – №. – С. 68-71.

2) Sweeney T. E. et al. Methods to increase reproducibility in differential gene expression via meta-analysis //Nucleic acids research. – 2017. – Т. 45. – №. 1. – С. e1-e1.

## ДВИЖЕНИЕ КИНКА ДНК ПРИ СИНХРОННОМ И АСИНХРОННОМ ВКЛЮЧЕНИИ/ВЫКЛЮЧЕНИИ ВНЕШНЕГО ПОЛЯ

**Балашова В.Н.<sup>1</sup>, Якушевич Л. В.<sup>2</sup>, Закирьянов Ф. К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[Felizija2010@mail.ru](mailto:Felizija2010@mail.ru)

Изучение механизмов управления динамикой «открытых состояний» молекулы ДНК является одним из наиболее интересных вопросов, связанных с процессами жизнедеятельности клеток и клеточных систем. Для описания динамики «открытых состояний» ДНК предложено множество различных моделей, учитывающих поперечные смещения нуклеотидов в направлении, перпендикулярном оси молекулы, продольные смещения нуклеотидов вдоль оси молекулы, вращение нуклеотидов вокруг сахаро-фосфатного остова. В последнем случае динамика молекулы ДНК описывается уравнениями *sin*-Гордона и его модификациями, а «открытые состояния» - одно-солитонными решениями (кинками) модифицированного уравнения *sin*-Гордона, которое учитывает влияние диссипации и внешнего воздействия.

Ранние наши исследования показали, что как постоянное, так и периодическое внешнее воздействие оказывают существенное влияние на динамику кинков ДНК. Следующим шагом нашего исследования стала проверка влияния синхронного «включения-выключения» постоянного и периодического полей на движение кинков ДНК. В настоящей работе мы исследуем влияние асинхронного «включения-выключения» постоянного и периодического полей.



Мы рассмотрели несколько вариантов асинхронного включения и выключения:

- включение-выключение периодического поля на фоне постоянного поля;
- включение-выключение постоянного воздействия на фоне периодического поля;
- перекрывающиеся интервалы включения-выключения постоянного и периодического внешних воздействий.

Анализ полученных зависимостей координат и скоростей кинков ДНК от параметров внешних полей приводит к выводу о том, что, используя различные комбинации внешнего воздействия, мы можем управлять движением открытых состояний ДНК.

## **РАЗРАБОТКА БИОМЕХАНИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИНАКТИВИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ УКОРОЧЕНИЯ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ**

**Бутова К.А.<sup>1</sup>, Лукин О.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской Академии наук, г. Екатеринбург, Россия

*butchini@mail.ru*

При укорочении сердечной мышцы в фазу активного развития силы экспериментально описан отрицательный инотропный эффект (инактивация укорочением), когда сила мышцы становится меньше, чем, если бы она сокращалась изометрически при постоянной длине. Нашей задачей являлась разработка биомеханических тестов для адекватной оценки влияния механических условий на сократимость сердечной мышцы с возможностью определения инактивирующего эффекта динамического изменения длины мышцы.

Работа проведена с использованием экспериментальной системы для изучения механической активности полосок миокардиальной ткани. Изолированные препараты сердечной мышцы крысы фиксировались к датчику силы (для регистрации развиваемого мышцей усилия) и к линейному сервомотору (для задания растяжения и профиля укорочения). Профиль навязанного укорочения мышцы формировался с помощью самостоятельно разработанного программного обеспечения, имел вид полусинусоидального сигнала с различной амплитудой и длительностью, и через ЦАП/АЦП задавался на сервомотор. Одновременную регистрацию текущей длины и развиваемой силы мышцы проводили при перфузии раствором Кребса-Хенселейта, при частоте электрической стимуляции 1 Гц и температуре 30<sup>o</sup>C.

Для оценки степени инактивирующего эффекта укорочения сердечной мышцы на ее силогенерирующую способность были разработаны биомеханические тесты, в которых варьировали характеристики профиля навязанного укорочения (скорость, длительность, амплитуда), а также количество последовательно задаваемых таких профилей. Сравнивая величину силы сокращения мышцы, подвергшейся серии укорочений, с таковой без изменения длины, мы имели возможность количественно оценить индуцируемый укорочением дефицит силы. При сопоставлении величин изометрической силы мышцы непосредственно до задания вызванного укорочения и непосредственно после его прекращения оценивали влияние деактивации сократительного ответа миокарда на ее сократительный потенциал. Эффекты укорочения на силогенерацию мышцы были изучены при задании разной степени исходного растяжения мышцы (преднагрузки).

Разработанные биомеханические тесты могут быть использованы для оценки инактивирующего эффекта укорочения и сократительного потенциала сердечной мышцы в условиях *in vivo*, когда ее длина и нагрузка на нее динамически изменяются в ходе сократительного ответа.

Работа поддержана РФФИ (грант №18-04-00572) и программой ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 годы в ИИФ УрО РАН (НИОКТР №01201352047).





## ПРОГРАММИРОВАНИЕ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ CRISPR/dCAS9

**Велегжанинов И.О.<sup>1,2</sup>, Рыбак А.В.<sup>1</sup>, Пылина Я.И.<sup>1</sup>, Иевлев В.А.<sup>3</sup>, Шадрин Д.М.<sup>1</sup>, Белых Е.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; <sup>2</sup>Вятский государственный университет, Киров, Россия; <sup>3</sup>Колледж Св. Олафа, Нортфилд, США

[vellio@yandex.ru](mailto:vellio@yandex.ru)

Развитие технологий управления радиоустойчивостью клеток млекопитающих является одной из приоритетных задач современной радиационной биологии. Владение такими технологиями позволит увеличить эффективность радиотерапии онкологических заболеваний и снизить побочные эффекты лечения. В отдалённой перспективе повышение устойчивости к ионизирующим излучениям путём генотерапии может быть необходимым для длительных космических экспедиций. Развитие технологий редактирования геномов и транскрипционного программирования в совокупности с накоплением знаний о функциях генов и построением сетей генных взаимодействий открывает все больше возможностей для управления свойствами клеток и организмов. В частности, для управления устойчивостью к ионизирующим излучениям и другим генотоксическим агентам.

В настоящей работе путём транскрипционного программирования с использованием CRISPR/dCas9 мы впервые показали, что сверхэкспрессия элементов систем распознавания повреждений ДНК в некоторых комбинациях приводит к увеличению радиоустойчивости клеток человека. В частности, сверхэкспрессия гена *RPA1*, а также одновременная сверхэкспрессия генов *HR23B+XPC* и *HR23B+XPC+RPA1+XPA* в человеческих клетках HEK293FT, приводит к повышению устойчивости к гамма-излучению. В то же время, сверхэкспрессия *XPC*, *HR23B* и *XPA* по отдельности не приводит к увеличению устойчивости, либо немного снижает её. Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что одновременная сверхактивация функционально связанных элементов систем стресс-ответа эффективнее, чем сверхактивация тех же элементов по отдельности.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук (МК- 2929.2017.4)

## ВЛИЯНИЕ ЭМИ КВЧ 42,2 ГГц НА РОСТ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР МСК, HaCaT и HeLa

**Великанов А.Н.<sup>1</sup>, Тамбиев А.Х.<sup>1</sup>, Голиченков В.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

[av-bioem@mail.ru](mailto:av-bioem@mail.ru)

Электромагнитное излучение крайне высокой частоты (КВЧ 30-300 ГГц, или миллиметрового диапазона 1-10 мм) впервые было воспроизведено в искусственных условиях в 1965 году. В процессе изучения действия КВЧ на биологические объекты был обнаружен ряд интересных эффектов. Сравнительно недавно были получены данные по воздействию миллиметрового излучения на клеточные культуры млекопитающих. Представляет интерес разница в действии непрерывного и импульсного режимов КВЧ излучения, а также специфическая реакция клеточных культур на излучение данного диапазона. В настоящей работе произведено изучение действия излучения КВЧ диапазона на рост трёх клеточных культур HeLa (карцинома шейки матки человека), HaCaT (иммортиализованные кератиноциты человека), МСК (мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани крысы). Применяли излучение с длиной волны 7,1 мм в непрерывном режиме (плотность мощности 4 мВт/см<sup>2</sup>) и импульсном режиме (плотность мощности 2 мВт/см<sup>2</sup>, частота следования импульсов 8 Гц), использовали экспозиции 30, 150 и 300 с. Через 24 часа после облучения производился подсчёт клеток и цитохимическое окрашивание DAPI. В клеточные культуры МСК, облучённой в непрерывном режиме при экспозиции 30 секунд, обнаружено статистически достоверное увеличение (на 20%) числа клеток в облучённых образцах по сравнению с контрольной группой. После облучения клеточной



культуры NaCaT в импульсном режиме ЭМИ с экспозициями 30, 150 и 300 секунд наблюдалось статистически достоверное увеличение числа клеток. Наибольшее отличие наблюдалось при экспозиции 30 секунд, и составляло 154% по сравнению с контрольной группой. После облучения клеточной культуры HeLa как в непрерывном, так и в импульсном режиме ЭМИ с длиной волны 7,1 мм наблюдалось уменьшение числа клеток (до 59%) в облучённых образцах по сравнению с контрольной группой. Согласно полученным данным, можно утверждать, что, во-первых, непрерывное и импульсное излучение КВЧ диапазона по-разному действует на клеточные культуры. Во-вторых, реакции изученных клеточных культур на один и тот же режим облучения также существенно различаются. Используемые клеточные культуры можно выстроить в ряд как по степени трансформации, так и по степени дифференцировки. Однако, механизмы, лежащие в основе наблюдаемых изменений роста клеточных культур в ответ на облучение КВЧ до сих пор не вполне ясны и требуют изучения.

### **ДИНАМИЧЕСКАЯ МОРФОМЕТРИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ – ДИСТАНЦИОННЫЕ МЕТОДЫ РЕГИСТРАЦИИ МОРФОГЕНЕЗА**

**Воробьева У.М.<sup>1,2</sup>, Тирас Х.П.<sup>1,2</sup>, Новиков К.Н.<sup>3</sup>, Емельяненко В.И.<sup>3</sup>, Местецкий Л.М.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия.;

<sup>3</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

[vorobevaum@gmail.com](mailto:vorobevaum@gmail.com)

Неинвазивные (дистанционные) наблюдения за живым объектом являются основой любого морфологического исследования. Такие подходы позволяют наблюдать биологический процесс, не нарушая его естественного течения. На сегодняшний день эта задача решается методами цифровой (компьютерной) биологии.

Целью данной работы является развитие системы неинвазивного контроля биологических процессов на примере морфогенеза при пищеварении и регенерации планарий *Girardia tigrina*.

Различные функциональные процессы в живых системах сопровождаются собственной хемилюминесценцией (сверхслабым излучением – ССИ). В основе процессов пищеварения и регенерации плоских червей планарий лежат феномены морфогенеза, включая фагоцитоз, некроз, апоптоз, пролиферацию и дифференцировку клеток. При разных видах морфогенеза происходит генерация активных форм кислорода, которые метаболизируются с продукцией ССИ, позволяя регистрировать и оценивать уровень ССИ на данном модельном объекте.

На первом этапе настоящего исследования изучали ССИ при пищеварении планарий. Для этого группу из 30 планарий, голодавших в течение 7 дней, помещали в люминометр Биотокс-7А на 20 мин, после этого кормили личинками *Chironomidae* и вновь помещали в люминометр на 96 часов с последующей регистрацией сигнала ССИ. Процесс пищеварения включает в себя распад кишечника планарии после поглощения пищи, с последующей его сборкой по окончании цикла пищеварения. В ходе пищеварения клетки паренхимы тела планарий фагоцитируют красные кровяные клетки гемолимфы *Chironomidae*. При видеосъемке поверхности тела планарий после кормления наблюдали общее покраснение тела животного, а затем потерю красного цвета по мере фагоцитоза красных кровяных телец.

Регенерацию планарий вызывали путём декапитирования головного конца тела планарии, сразу после перерезки оба перерезанных образца тела планарий помещали в люминометр на 24 часа. Кинетика изменения сигнала показала всплеск хемилюминесценции через 10-12 часов после операции декапитирования, что совпадает по времени с пиком пролиферации необластов. Далее, на этой же группе планарий изучали собственно регенерацию через 72 часа после перерезки с помощью метода прижизненной компьютерной морфометрии. Таким образом, в ходе одного эксперимента впервые было зарегистрировано ССИ и, собственно, регенерация головного конца тела планарий.

Полученные результаты позволяют расширить спектр неинвазивных биофизических подходов, которые используются в биотестировании живых биологических объектов на примере плоских червей планарий *Girardia tigrina*.



## ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОГЕННОГО АМИНА, СЕРОТОНИНА У PLATYHELMINTHES

**Гребенщикова Е.В.<sup>1</sup>, Крещенко Н.Д.<sup>1</sup>, Мочалова Н.В.<sup>2</sup>, Теренина Н.Б.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ ВНИИП им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

*elenagrebensh@rambler.ru*

С помощью иммуноцитохимического метода и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии серотонин идентифицировали в нервной системе у плоских червей. У планарий *Schmidia mediterranea* серотонин выявлен в нейронах головного ганглия, нервных стволах и комиссурах, в периферическом нервном плексусе. Головной ганглий образован серотонин-иммуноположительными (-ип) волокнами («нейропиль»). Большинство тел серотониновых нейронов округлой формы размером 18-26 мкм располагалось по внутренней дуге головного ганглия, от которого к переднему краю простирались тонкие серотонин-ип отростки. Серотонин-ип окраска обнаружена в волокнах двух брюшных нервных стволов и поперечных комиссур. Тела нейронов имели здесь овальную или удлинённую форму. Субэпителиальный плексус сформирован тонкими серотонин-ип нервными отростками. У трематод *Opisthioglyphe ranae* обнаружено наличие серотонина в центральных и периферических отделах нервной системы. Серотонин-ип нейроны и волокна наблюдали в головных ганглиях, нервных стволах, поперечных комиссурах. С каждой стороны тела выявлено 8 парных нейронов. Серотонин-ип волокна иннервировали глотку, а также пищевод. Позитивное окрашивание можно было видеть в двух нейронах вблизи репродуктивного отверстия. Размер нервных клеток у разных особей *O. ranae* варьировал от 7 до 15 мкм, что может быть связано с размерами исследуемых трематод или естественной вариабельностью нейронов. У личинок (метацеркарий) трематод *Opisthorchis felineus* серотонин-ип окраска идентифицирована в нервных клетках в области головных ганглиев, по бокам глотки, вдоль нервных стволов. С каждой стороны тела выявлено восемь нервных клеток размером около 5x7 мкм. Две серотонин-ип клетки обнаружены вблизи репродуктивного отверстия. У личинок цестоды *Hymenolepis diminuta* серотонин-ип нейроны присутствовали в каждом из двух латеральных ганглиев, в центральной комиссуре. Позитивная окраска наблюдалась в волокнах продольных нервных стволов, два из которых являлись наиболее крупными, а также в поперечных комиссурах. Вдоль нервных стволов располагались по три серотонинергических клетки. Сеть нервных волокон наблюдали в толще брюшной и ротовой присосок. Итак, серотониновые нейроны выявлены у взрослых особей свободноживущих планарий и паразитических плоских червей. Серотонин обнаружен также на ранних стадиях их онтогенетического развития (у личинок трематод и цестод). Данные свидетельствуют о важной нейротрансмиттерной роли серотонина в организме Platyhelminthes.

Работа поддержана грантами РФФИ №17-04-05948а и 18-04-00349а.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

**Гринберг М.А.<sup>1</sup>, Ладейнова М.М.<sup>1</sup>, Громова Е.Н.<sup>1</sup>, Гудков С.В.<sup>1,2</sup>, Воденев В.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород;

<sup>2</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

*mag1355@yandex.ru*

Растения не способны активно избегать действия неблагоприятных факторов окружающей среды, однако в процессе эволюции у них выработались крайне эффективные механизмы, позволяющие им приспосабливаться к различным окружающим условиям, в том числе к повышенному радиационному фону. Поскольку одной из основных мишеней ионизирующего излучения (ИИ) низкой мощности являются биологические мембраны, особый интерес представляет влияние ИИ на электрогенез. Потенциал на мембране выполняет ряд ключевых для растения функций: регуляторную, энергетическую, информационную. В частности, распространяющиеся электрические сигналы способствуют формированию ответа физиологических процессов, в том числе фотосинтеза, к различным стресс-факторам.



Исследования проводились на 15-дневных проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.). В качестве источника ИИ использовался  $^{90}\text{Sr}$  с активностью 0,1 и 1 МБк, мощность дозы 31,3 и 313 мкЗв/час. Максимальная накопленная доза 11,3 и 113 мГр. Измерение величины мембранного потенциала производилось при помощи микроэлектродной техники. Для определения метаболической компоненты мембранного потенциала применялся специфический ингибитор АТФаз Р-типа ортованадат натрия ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ). Параметры индуцированного нагревом электрического сигнала регистрировались посредством макроэлектродов. Активность фотосинтеза измерялась при помощи инфракрасного газоанализатора и РАМ-флуориметра.

Достоверные различия в морфометрических параметрах в изученном дозовом диапазоне выявлены не были. Полученные данные показывают, что малые дозы ИИ могут увеличивать электрический потенциал клеток как побега, так и корня. При этом ингибиторный анализ не выявил возрастания метаболической компоненты. Показанные изменения могут лежать в основе различий в параметрах распространяющихся электрических сигналов у облучённых растений, а также в их способности выполнять присущую им регуляторную функцию. Несмотря на то, что в пределах исследованного дозового диапазона не происходит значимых изменений в характеристиках световой и темновой стадий фотосинтеза, у облучённых растений обнаружено существенное возрастание интенсивности ответов фотосинтетических параметров на индуцированный нагревом электрический сигнал. Наибольшей модификации подверглись амплитуды ассимиляции,  $Y(I)$  и  $Y(II)$ . Для амплитуды NPQ показана устойчивая тенденция к возрастанию. Характер изменений зависит от дозы не линейно: растения, выращенные на источнике 0,1 МБк показывают большие различия с контролем, чем растения с источника 1 МБк.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, проект № 6.3199.2017/ПЧ.

## ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ТРАДИЦИОННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ РАКА НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ПРОЕКТА TCGA

Краснов Г.С.<sup>1</sup>, Новаковский Р.О.<sup>1</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>, Дмитриев А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*Alex\_245@mail.ru*

Количественная ПЦР остается наиболее широко используемым методом оценки экспрессии генов. Для получения достоверных данных с применением этого метода необходимы надежные контрольные гены. Такой ген должен обладать стабильной экспрессией в экспериментальных и контрольных условиях. При исследовании профилей экспрессии генов при онкологических заболеваниях вопрос выбора контрольных генов стоит особенно остро, так как каждая опухоль обладает уникальным молекулярно-генетическим портретом и, более того, является гетерогенной. В настоящей работе мы провели оценку стабильности экспрессии традиционно используемых контрольных генов на основе данных проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA).

TCGA является крупнейшим проектом в области молекулярной онкологии и предоставляет для свободного использования данные, в том числе транскриптомные, для тысяч образцов десятков видов рака. В исследование мы включили те виды рака, для которых в TCGA представлены репрезентативные выборки образцов первичных опухолей и парных к ним гистологически нормальных тканей: рак легкого, молочной железы, предстательной железы, почки, толстой кишки и другие. Набор традиционно используемых контрольных генов составили из соответствующих панелей компаний Roche, TATAA и BioRad, а также добавили перспективный контрольный ген *RPNI*, выявленный нами ранее: *ACTB*, *ALAS1*, *B2M*, *CDKN1A*, *G6PD*, *GAPDH*, *GUSB*, *HBB*, *HMBS*, *HPRT1*, *HSP90AB1*, *IPO8*, *LDHA*, *NONO*, *PGK1*, *POP4*, *PPIA*, *PPIH*, *PSMC4*, *PUM1*, *RPL13A*, *RPL30*, *RPLP0*, *RPS17*, *RPS18*, *SDHA*, *TBP*, *TFRC*, *UBC*, *YWHAZ*, *TUBB*, *RPNI*. Для оценки стабильности экспрессии генов нами разработан скоринг, с помощью которого для каждого из исследованных генов и видов рака получено значение, характеризующее стабильность его экспрессии – рейтинг. Ген *PUM1* оказался одним из наиболее стабильных при большинстве исследованных видов рака. Ген *GAPDH*, широко используемый как контрольный, был высоко вариабелен и непригоден для оценки экспрессии методом количественной ПЦР более чем в половине исследованных видов рака. Ген *RPNI*, предложенный нами ранее в качестве контрольного, показал высокий рейтинг при раке легкого, почки, толстой кишки, печени, щитовидной железы и предстательной железы. Для каждого исследованного вида рака



предложены пары генов наиболее пригодные для использования в качестве контрольных. Они характеризуются высокими значениями рейтинга и отсутствием корреляции между их уровнями экспрессии. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 17-74-20064.

## РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРЕДКОВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ БЕЛКА OxyR.

Драненко Н.О.<sup>1</sup>, Бочкарёва О.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им.А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

*Dranenko@phystech.edu*

Растущее число белковых последовательностей, доступных в открытых базах данных вместе с развитием методов филогенетического анализа позволяют восстанавливать предковые последовательности белков.

Окислительный стресс, вызванный реакционноспособными формами кислорода, является одним из неизбежных кризисных состояний для подавляющего большинства аэробных организмов, так как реакционноспособные кислородные формы являются метаболическими побочными продуктами клеточного дыхания. Большинство бактерий контролирует окислительный стресс с помощью белка *OxyR*, чувствительного к  $H_2O_2$ . Этот белок активирует экспрессию защитных генов [1].

В данной работе были использованы 653 последовательности белка *OxyR* из различных бактериальных таксонов, доступные в базе ортологов ОМА (<https://omabrowser.org>). На основе множественного выравнивания белковых последовательностей было сконструировано филогенетическое дерево, по топологии которого была предсказана предковая последовательность белка.

Впоследствии ген, имеющий предсказанную аминокислотную последовательность, будет синтезирован *in vitro* и экспрессирован в организме-хозяине. После этого полученный предковый белок будет выделен и охарактеризован экспериментально.

1) Qing Wei Phu Nguyen Le Minh, Andreas Dötsch, Falk Hildebrand, Warunya Panmanee, Ameer Elfarash, Sebastian Schulz, Stéphane Plaisance, Daniel Charlier, Daniel Hassett, Susanne Häussler, and Pierre Cornelis. Global regulation of gene expression by *OxyR* in an important human opportunistic pathogen. *Nucleic Acids Res.* 2012 May; 40(10): 4320–4333.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ТЕТРА(4-(БЕНЗИЛОКСИ)ФЕНИЛ) ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА В СВОБОДНОЙ ФОРМЕ И В СОСТАВЕ ЛИПОСОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO

Дьякова Д.В.<sup>1</sup>, Шилягина Н.Ю.<sup>1</sup>, Лермонтова С.А.<sup>1,2</sup>, Клапшина Л.Г.<sup>1,2</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>, Юдинцев А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>Институт металлоорганической химии имени Г. А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

*daryadyakova@mail.ru*

Несмотря на прогресс в лечении онкологических заболеваний, по-прежнему существует потребность в разработке новых подходов к высокочувствительной диагностике и эффективной терапии. Среди современных терапевтических методов особый интерес представляет фотодинамическая терапия (ФДТ). Этот метод основан на селективном накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в опухолевой ткани. Под воздействием света ФС генерирует цитотоксические агенты, такие как синглетный кислород, вызывающие гибель опухолевых клеток. Для достижения направленной доставки ФС применяется создание их липосомальных форм.

Целью данного исследования являлось сравнение накопления и фотодинамической активности ФС (тетра(4-(бензилокси)фенил) тетрацианопорфиразина) в свободной форме и в составе липосом в эксперименте *in vitro*.



Однослойные липосомы получали из яичного фосфатидилхолина (ФХ) и его смесей с холестерином (ФХ:Хол, 3:2) и фосфатидилглицеролом (ФХ:Хол:ФГ, 6:3:1) методом экструзии. Исследование динамики накопления и внутриклеточной локализации ФС проводилось на клетках эпидермоидной карциномы человека А-431 с использованием системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Фотодинамическую активность ФС *in vitro* оценивали с помощью микротитрационного теста для анализа метаболической активности (МТТ-тест). Инкубация клеток с липосомами, загруженными ФС, в течение 3 ч приводила к интенсивному окрашиванию клеток, краситель накапливался в везикулярных образованиях, плазматической и внутриклеточных мембранах клеток. Внутриклеточная локализация свободного и загруженного в липосомы порфиразина практически не отличалась, что свидетельствует о том, что липосомы не влияют на внутриклеточное перераспределение красителя. Было показано, что ФС в свободном состоянии и в составе липосом интенсивно накапливался опухолевыми клетками в культуре уже через 30 мин после добавления его в среду инкубации.

ФС в составе ФХ:Хол:ФГ-липосом, характеризуется, низкой темновой токсичностью ( $>10$  мкМ), и высокой фотодинамической активностью –  $IC_{50}$  составила 0.84 мкМ и 1.17 мкМ для порфиразина в составе ФХ:Хол:ФГ-липосом и свободного порфиразина соответственно. Липосомальная инкапсуляция не оказывала существенного влияния на скорость поглощения порфиразина опухолевыми клетками *in vitro*. Независимо от формы порфиразина, свободной или липосомальной, ФС накапливался во внутриклеточных мембранах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации проект № 6.7083.2017/9.10 и №14.Z50.31.0022.

## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА: ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ

**Ермакова А.В.<sup>1</sup>, Велегжанинов И.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми Нц УрО РАН, Сыктывкар, Россия

[ermakova\\_a.v@ib.komisc.ru](mailto:ermakova_a.v@ib.komisc.ru)

Радиационно-индуцированная ионизация вещества приводит к повреждению макромолекул, нарушению их функции, и как следствие к нарушению функции систем на вышестоящих уровнях организации живой материи. Проанализировав первичный молекулярный ответ клеток, можно утверждать, что реакция живых систем на воздействие ионизирующего излучения (ИИ) в малых и высоких дозах имеет качественные различия. Одним из хорошо изученных эффектов ИИ в высоких дозах является остановка клеточного цикла, которая приводит к переходу клетки в состояние преждевременного, стресс-индуцированного клеточного старения. Одним из наиболее воспроизводимых проявлений нелинейной зависимости доза-реакция в ответ на острое или хроническое воздействие ИИ в малых дозах является усиление пролиферации клеток. Данный эффект ранее показан в первые несколько суток после облучения различных типов клеток как *in vitro* так и *in vivo*.

В настоящей работе впервые показано, что однократное воздействие  $\gamma$ -излучения в дозе 3 сГр на эмбриональные фибробласты лёгких человека приводит к ускорению пролиферации клеток, проявляющемуся до полного исчерпания пролиферативного потенциала. В первые сутки после воздействия наблюдалось замедление клеточного деления, тогда как потомки облучённых клеток пролиферировали значительно быстрее на 30-37 сутки, а также перед полной остановкой роста культуры на 77-84 сутки. Известно, что человеческие фибробласты характеризуются крайне низкой вероятностью малигнизации *in vitro* даже под действием облучения. Кроме того, в проведенных нами экспериментах клетки культивировались до полной остановки роста, и случаев полной трансформации не наблюдалось. В связи с этим, мы не можем говорить о том, что облучение в дозе 3 сГр приводило к повышению риска малигнизации фибробластов, и о том, что данный феномен может вносить вклад в повышение риска канцерогенеза *in vivo*.

Известно, что индукция пролиферации малыми дозами ИИ отменяется при воздействии на клетки ингибиторов сигнальных каскадов MAPK/ERK1/2 и PI3K/AKT/mTOR. Мы проанализировали будет ли ингибирование указанных сигнальных каскадов отменять обнаруженные нами отдалённые эффекты. Однако, из полученных нами данных видно, что само



по себе действие ингибиторов драматически меняет динамику пролиферации фибробластов, и на фоне этих изменений, радиационно-индуцированной стимуляции пролиферации не наблюдается.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии Коми НЦ УрО РАН и поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 16-34-00367.

## **ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ В ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ**

**Ефимова С.С.<sup>1</sup>, Захарова А.А.<sup>1</sup>, Шагина Л.В.<sup>1</sup>, Остроумова О.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*ssefimova@mail.ru*

Работа посвящена изучению молекулярных механизмов действия на мембраны растительных полифенолов, обладающих фармакологической активностью. В ходе выполнения проекта исследовали 4'-гидроксиалкон, бутеин, кардамонин, ликуритигенин, нарингенин и ликохалкон А. Установление молекулярных механизмов их действия на мембраны клеток-мишеней является важным этапом на пути понимания всего спектра биологической активности полифенолов. В работе использовали электрофизиологические и спектрофлуориметрические методы измерения граничного и дипольного ( $V_d$ ) потенциала мембран, дифференциальную сканирующую микрокалориметрию суспензии везикул и метод реконструирования ионных каналов в плоские липидные мембраны. Показано, что бутеин и нарингенин значительно уменьшают дипольный потенциал ДОФХ- и ДОФХ/холестерин- мембран (максимальное уменьшение составляет около 110 мВ и 60 мВ, соответственно). Кардамонин, 4'-гидроксиалкон, ликохалкон А и ликуритигенин демонстрируют среднюю эффективность в отношении способности изменять электрические характеристики бислоев (максимальное уменьшение  $V_d$  около 50 мВ). В то же время, показано, что тестируемые полифенолы влияют на фазовый переход ДПФХ, снижая температуру плавления и кооперативность перехода (падение в случае ликохалкона составляет 4 градуса С при соотношении липид:алкон 9:1). Сделано заключение о связи наблюдаемых эффектов с разупорядочением липидов в мембране и ростом положительной кривизны липидных монослоев. Показано, что полифенолы, бутеин и нарингенин, вызывают снижение проводимости одиночных ионных каналов, образованных противогрибковым циклическим липопептидом сирингомицином Е, в результате уменьшения ими  $V_d$  липидных бислоев. Потенцирование ликохалконом А стационарного нистатин-индуцированного трансмембранного тока обусловлено его способностью индуцировать локальную положительную кривизну липидных монослоев. Обнаружено, что в результате связывания бутеина и нарингенина с сенсором напряжения одиночной поры, образованной альфа-гемолизинем *Staphylococcus aureus*, увеличивается ее потенциал-чувствительность. Сравнительный анализ полученных результатов позволил построить обобщенную модель действия полифенолов на физико-химические параметры мембран и свойства реконструированных в них ионных каналов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 16-04-00806). С.С. Ефимова отмечена Стипендией Президента РФ (СП-484-2018.4).

## **АНАЛИТИЧЕСКОЕ УСЛОВИЕ СПАЙКОВОГО ОТКЛИКА LIF-НЕЙРОНА НА ВХОДЯЩИЙ ИМПУЛЬС ТОКА С ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНЫМ ЗАТУХАНИЕМ**

**Земскова Т.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (ГУ), Долгопрудный, Россия

*zema-tania@yandex.ru*

При моделировании биологических нейронных сетей, где каждый нейрон имеет множество входящих связей, критически важным является адекватный выбор значений амплитуды и длительности импульсов синаптического тока, обмениваясь которыми нейроны взаимодействуют между собой как информационные системы. В частности, требуется знание реакции модельного нейрона на входящий импульс тока заданной формы. Простейшей практически используемой моделью спайкового нейрона является LIF (Leaky Integrate-and-Fire)-нейрон, т.е. релаксационный





пороговый интегратор, подпороговая динамика которого описывается линейным дифференциальным уравнением на трансмембранный потенциал нейрона. С другой стороны, в численных симуляциях сетей спайковых нейронов часто используется модель мгновенно возрастающего и экспоненциально затухающего импульса синаптического тока («*exp*-импульс»), поскольку динамика последовательности таких импульсов также может быть описана только одним линейным дифференциальным уравнением. В данной работе выведена точная аналитическая формула для пограничной зависимости (т.н. strength-duration curve, SDC) амплитуды от длительности единичного *exp*-импульса входящего тока, при которых достигается пороговое значение потенциала LIF-нейрона. Не смотря на типичную для SDC гиперболическую зависимость, полученная формула функционально существенно отличается от случая прямоугольного импульса тока, хотя при больших длительностях импульса асимптотика SDC функционально идентична в обоих случаях.

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ НЕЙРОНЫ ИЗ ГИППОКАМПА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС**

**Знобищева А.В.<sup>1</sup>, Ермаков А.М.<sup>1</sup>, Фахранурова Л.И.<sup>1</sup>, Ермакова О.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия

*ao\_ermakovy@rambler.ru*

В отличие высокоамплитудных магнитных полей, как было показано нами ранее, слабые комбинированные магнитные поля (КМП) в режиме параметрического резонанса, могут воспроизводимо влиять на различные биологические процессы. Между тем исследований влияния разных режимов КМП на уровне культивируемых нейронов ранее не проводилось. Целью данной работы являлось исследование воздействия слабых комбинированных магнитных полей на рост нейрональных отростков в культуре нейронов гиппокампа новорожденных крыс.

В эксперименте использовали первичные нейрональные культуры, полученной их гиппокампа новорожденных крысят. Клетки в пластиковых чашках Петри, в центре которых было окно из покровного стекла экспонировали в термостатируемых камерах в фокусе переменного магнитного поля, создаваемого генератором и катушками Гельмгольца. Амплитуду и частоту переменного магнитного поля настраивали в соответствии с теорией В.В. Леднева. Эффекты воздействия магнитных полей оценивали по изменению скорости роста нейритов и жизнеспособности клеток. Полученные данные усреднялись по результатам трех экспериментов.

Было показано, что скорость роста нейритов существенно возрастала при экспонировании культуры в комбинированном магнитном поле, настроенном на ионы кальция и спины ядер водорода, в то время как поле, настроенное на ионы калия, не выявило существенных изменений скорости роста нейритов. Исследование типов КМП не оказывали воздействия на жизнеспособность культивируемых нейронов. Таким образом, нами показана способность слабых комбинированных магнитных полей, настроенных в режиме магнитного параметрического резонанса модулировать скорость роста нейритов в культуре нейронов гиппокампа новорожденных крысят.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-015-00447, гранта правительства Московской области в рамках научного проекта № 17-44-500740 и при поддержке гранта Президента МК-1880.2017.7.





## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОТОЛАБИЛЬНОГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА IP<sub>3</sub> ДЛЯ АНАЛИЗА CA<sup>2+</sup>-СИГНАЛИЗАЦИИ В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

**Ивашин Д.С.<sup>1</sup>, Котова П.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[ifden@mail.ru](mailto:ifden@mail.ru)

Ранее в нашей лаборатории было показано, что внеклеточный АТР стимулируют Ca<sup>2+</sup>-сигнализацию в мезенхимных стромальных клетках (МСК) человека за счет активации пуринорецепторов P2Y типа, сопряженных с фосфоинозитидным каскадом. Также показано, что пуринергическая трансдукция протекает в две стадии. Первоначально агонисты инициируют локальный Ca<sup>2+</sup>-сигнал, который затем запускает Ca<sup>2+</sup>-индуцированный Ca<sup>2+</sup>-выброс (CICR), обеспечивающий генерацию универсального глобального Ca<sup>2+</sup>-сигнала. Оба локальный и глобальный Ca<sup>2+</sup>-сигналы генерируются за счет выброса, депонированного Ca<sup>2+</sup> при участии IP<sub>3</sub> рецепторов.

Обычно на АТР отвечала небольшая (20%) субпопуляция МСК, которая согласно данным ингибиторного анализа использовала для мониторинга внеклеточного АТР в основном P2Y<sub>11</sub> рецептор. Иммуноцитохимические данные показали, что P2Y<sub>11</sub> экспрессируется в большинстве (76%) МСК, что плохо согласовывалось с тем, что физиологические ответы на АТР наблюдались лишь в небольшой клеточной фракции. Возможным объяснением этого факта могло служить то, что в большинстве пуринергических МСК эндоплазматический ретикулум имел уровень депонированного Ca<sup>2+</sup> недостаточный для генерации CICR. Для проверки этой идеи мы использовали метод фотолиза химических групп (uncaging) и фотолабильный предшественник IP<sub>3</sub> – caged-Ins(145) P<sub>3</sub>/PM. При загрузке клеток этим соединением импульс UV света (380 – 400 нм) обеспечивал его фотолиз, приводящий к высвобождению IP<sub>3</sub> внутри клетки. Это позволяло имитировать внутриклеточные события, запускаемые в клетке агонистами рецепторов (P2Y<sub>11</sub>), сопряженных с фосфоинозитидным каскадом.

Оказалось, что в большинстве (56%) МСК фотоиндуцированный выброс IP<sub>3</sub> инициировал CICR и Ca<sup>2+</sup>-сигналы, сопоставимые с ответами на агонисты. Т.е. неспособность МСК отвечать на АТР мобилизацией Ca<sup>2+</sup> не была обусловлена низким уровнем Ca<sup>2+</sup> в Ca<sup>2+</sup>-депо. В то же время, после фотовыброса IP<sub>3</sub>, количество клеток, отвечавших на АТР увеличилось в 1,5 раза. Этот факт можно объяснить тем, что в большинстве МСК уровень IP<sub>3</sub> в покое был недостаточно высок, чтобы поддерживать IP<sub>3</sub>-рецепторы, ответственные за CICR, в активном состоянии. По этой причине локальный агонист-зависимый Ca<sup>2+</sup>-сигнал был неспособен инициировать CICR и глобальный Ca<sup>2+</sup>-ответ. В поддержку этой идеи было показано, что в присутствии активатора фосфолипазы C m-3M3FBS, который также поднимал уровень IP<sub>3</sub> в покое, также возрастало количество МСК, способных отвечать на АТР. Таким образом, уровень IP<sub>3</sub> в покое может быть ключевым параметром, определяющим агонист-зависимую Ca<sup>2+</sup>-сигнализацию в клетках.

Работа поддержана СП-924.2018.4.

## ПЛАНАРИИ КАК МОДЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ РАДИОПРОТЕКТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ

**Каменских К.А.<sup>1</sup>, Ермаков А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

[kristina.kamensk@mail.ru](mailto:kristina.kamensk@mail.ru)

Пресноводные плоские черви планарии – уникальные организмы, способные к неограниченной регенерации за счет наличия в теле стволовых клеток – необластов. Воздействие ионизирующей радиации приводит к гибели необластов и потери способности животного к регенерации. Цель работы - создание на основе планарий модели для изучения радиопротекторных свойств различных веществ.

Исследование выполнено на культивируемой клональной расе планарий *Schmidtea mediterranea*. Животных облучали рентгеном, методом прижизненной компьютерной морфометрии оценивали скорость роста бластымы, иммуногистохимически оценивали изменения количества



стволовых клеток, методом RAPD PCR оценивали стабильность геномной ДНК планарий. В качестве радиозащитного средства использовали N-ацетилцистеин (НАС) в концентрации 10 мМ.

В результате исследования нами были выявлены дозозависимые эффекты воздействия рентгеновского облучения. Максимальные эффекты ингибирования роста бластемы планарий наблюдали после облучения в дозах 10 и 15 Гр. Также при этих дозах наблюдали значительную гибель необластов в теле планарий (полную гибель при 15 Гр), и повреждения геномной ДНК. Эти дозы облучения и использовали при изучении радипротекторных свойств НАС. Уже на третьи сутки регенерации на фоне препарата наблюдалась тенденция к проявлению эффекта радиопротекции - размер бластемы животных после обработки НАС и облучения рентгеном больше, чем без радиопротектора. Статистически значимые эффекты радиопротекции наблюдали на 6-7 сутки. Таким образом, НАС заметно улучшает динамику регенерации и оказывает радиопротекторное действие. При применении радиопротектора после облучения в дозе 15 Гр у планарий сохраняются единичные необласты. Отрицательное воздействие радиации на геномную ДНК наименее выражено отличается от контроля после обработки животных НАС, который снижает степень изменений и повышает устойчивость геномной стабильности.

Таким образом, планарии могут служить удобной моделью для исследования радиозащитных свойств различных веществ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00447

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА НАТРИЙ ЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NaPi2b

**Козлова А. С.<sup>1</sup>, Акберова Н. И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*kozlovaas.93@gmail.com*

Пространственная структура натрий зависимого фосфатного транспортера 2b (NaPi2b) важна 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[1] и является мишенью для терапевтических антител MX35 при раке яичников[2]. Ранее структура транспортера была предсказана по его аминокислотной последовательности с применением серверов QUARK[3,5] и Robetta [4,6].

Предсказанная модель была помещена в стандартную мембрану POPS размером 120\*120. Подготовка системы была проведена при помощи программы VMD[7], ячейка размером 120\*120\*140 Å содержала 338840 атомов. Равновесная динамика проводилась с использованием силового поля CHARMM36 в программе NAMD[8].

Анализ траектории 20нс-симуляции молекулярной динамики показал, что исследуемая структура достаточно стабильна для проведения дальнейших исследований.

- 1) **Bobeck E.A.** [и др.]. Oral peptide specific egg antibody to intestinal sodium-dependent phosphate co-transporter-2b is effective at altering phosphate transport in vitro and in vivo // *Poultry Science*. 2015. № 6 (94). С. 1128–1137.
- 2) **Lindgren S.** [и др.]. Binding Affinity, Specificity and Comparative Biodistribution of the Parental Murine Monoclonal Antibody MX35 (Anti-NaPi2b) and Its Humanized Version Rebmab200 // *PLOS ONE*. 2015. № 5 (10). С. e0126298.
- 3) **Kim D.E., Chivian D., Baker D.** Protein structure prediction and analysis using the Robetta server // *Nucleic Acids Research*. 2004. № Web Server (32). С. W526–W531.
- 4) **Xu D., Zhang Y.** Ab initio protein structure assembly using continuous structure fragments and optimized knowledge-based force field // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2012.
- 5) **Humphrey W., Dalke A., Schulten K.** VMD: Visual molecular dynamics // *Journal of Molecular Graphics*. 1996. № 1 (14). С. 33–38.
- 6) **Phillips J.C.** [и др.]. Scalable molecular dynamics with NAMD // *Journal of Computational Chemistry*. 2005. № 16 (26). С. 1781–1802.
- 7) **Kim D.E., Chivian D., Baker D.** Protein structure prediction and analysis using the Robetta server // *Nucleic Acids Research*. 2004. № Web Server (32). С. W526–W531.
- 8) **Xu D., Zhang Y.** Ab initio protein structure assembly using continuous structure fragments and optimized knowledge-based force field // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2012.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРФИРАЗИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛЬНОЙ ВЯЗКОСТИ

**Коньгин К.А.<sup>1</sup>, Шилягина Н.Ю.<sup>1</sup>, Лермонтова С.А.<sup>1,2</sup>, Клапшина Л.Г.<sup>1,2</sup>, Воловецкий А.Б.<sup>1</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

*final2345678909@yandex.ru*

Фотодинамическая терапия является современным минимально инвазивным терапевтическим методом, базирующимся на принципе селективного цитотоксического повреждения опухолей. Несмотря на то, что фотодинамическая терапия активно развивается и область применения данного вида терапии все время расширяется, нерешенной остается задача раннего контроля эффективности данной терапии. В качестве одного из подходов, направленных на контроль протекания фотодинамической терапии, в настоящее время предлагается использование флуорофоров, сочетающих свойства фотосенсибилизаторов и молекулярных роторов. Отличительной особенностью данных соединений является выраженная корреляция между их флуоресцентными свойствами и вязкостью среды, что позволяет их использовать также в качестве зондов локальной вязкости в клетках живых организмов.

Целью нашей работы стало исследование возможности использования тетра(4-бензилоксифенил) тетрацианопорфиразина в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии и флуоресцентного зонда внутриклеточной локальной вязкости в системе *in vitro*.

В ходе работы было показано, что порфиразин поглощает и флуоресцирует в области «окна прозрачности» биологических тканей и демонстрирует свойства флуоресцентных молекулярных роторов, то есть характеризуется сильной зависимостью времени жизни возбужденного состояния и квантового выхода флуоресценции от вязкости среды. Кроме того, было показано, что в присутствии альбумина квантовый выход флуоресценции порфиразина значительно возрастает.

Основными местами внутриклеточной локализации порфиразина являются везикулярные образования и плазматическая мембрана. В экспериментах *in vitro* продемонстрирована низкая темновая и высокая фотодинамическая активность порфиразина в отношении клеток A431 эпидермоидной карциномы кожи человека. С помощью время разрешенного-имиджинга *in vitro* и *in vivo* нами было зарегистрировано увеличение времени жизни возбужденного состояния порфиразина в опухолевых клетках, подвергавшихся фотодинамическому воздействию.

Таким образом, тетра(4-бензилоксифенил) тетрацианопорфиразин является потенциальным фотосенсибилизатором для фотодинамической терапии онкологических заболеваний и может быть использован в качестве флуоресцентного зонда внутриклеточной локальной вязкости в системе *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект МК 980.2017.4, проект №14.Z50.31.0022).

## БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАЛЫХ ЯДРЫШКОВЫХ РНК КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ЗАРАЖЁННЫХ ВИРУСОМ ГРИППА

**Летова И. А.<sup>1</sup>, Сысоева М. А.<sup>1</sup>, Шах Махмуд Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*letovairal995@mail.ru*

Малые ядрышковые РНК (мякРНК) – класс коротких некодирующих РНК (нкРНК) размером 60-300 нуклеотидов. МякРНК по строению подразделяются на 2 семейства: C/D – семейство, участвуют в метилировании рибозы, и H/ACA – семейство, которые изомеризуют уридин в процессе созревания рРНК и малых ядерных РНК. Помимо этих функций малые ядрышковые РНК участвуют в других процессах, например, в альтернативном сплайсинге, являются



предшественниками других коротких нкРНК, в регуляции экспрессии мРНК и участвуют в различных нарушениях, возникающих в организме человека. При вирусной инфекции клетки-хозяева меняют профиль собственных малых нкРНК, как механизм защиты от воздействия вируса. Вирусы обходят механизмы защиты хозяев для активации собственной репликации, влияя на экспрессию ряда мякРНК хозяина. Поэтому, определение профилей малых нкРНК в ответ на вирусную инфекцию является одним из важных инструментов для понимания взаимодействия вирус-хозяин и разработки антивирусной стратегии. В связи с этим, целью работы явилось описание профилей малых ядрышковых РНК клеток человека, зараженных вирусом гриппа и обработанных противовирусным препаратом, с помощью биоинформатических методов.

В работе были использованы эпителиальные клетки легких человека клеточной линии A549, инкубированные с пандемическим вирусом гриппа (H1N1pdm) и клетки линии A549, инкубированные с тем же вирусом гриппа, обработанные противовирусным препаратом. Для выделения всех РНК исследуемых клеток применен коммерческий реагент TRIzol Reagent (Thermo Fisher, США). Малые нкРНК выделили с помощью магнитных частиц AgencourtAMPure (BeckmanCoulter, США). Для этого проводили предварительную 2-х минутную инкубацию РНК при 70°C, добавили 0,5 объема магнитных частиц к 1 объему РНК и выполнили последовательную очистку РНК от примесей после магнитной обработки с помощью 100% изопропанола и 75% этанола по стандартному методу выделения РНК. Секвенирование выполняли на секвенаторе «SOLiD 5500xl wildfire» (Thermo Fisher Scientific, США). Для биоинформатического анализа использовали базы данных «Ensemble», «snoRNAbase», «snoDB» и «snoRNAAtlas». В качестве референсного генома выбрали полный геном человека (GCA\_000789425.2).

Обнаружено 222 вида мякРНК из них 32,4% относятся к H/ACA-семейству и 67,5% относятся к C/D-семейству. Из 222 видов мякРНК 57 встречаются и в контрольных и опытных образцах. Установлено, что экспрессия SNORD 104 у вирус зараженных клеток увеличена более чем в 3 раза, экспрессия SNORD 18 у вирус зараженных клеток увеличена более чем в 2 раза, что свидетельствует об изменении профиля мякРНК при заражении вирусом.

## ОСТАТОЧНАЯ ДЫХАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БЛОКИРОВКЕ ЯДАМИ

**Львов А.М.<sup>1</sup>, Фролова М.С.<sup>1</sup>, Векшин Н.Л.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*delinor0@gmail.com*

При окислении НАДН в дыхательной цепи митохондрий в нормальных физиологических условиях потребление кислорода осуществляется практически только на цитохромоксидазе. Тем не менее, по разным данным, от 0,1 до 1% кислорода всё же может потребляться не на цитохромоксидазе, а на НАДН-оксидазе. При обратном переносе электронов в дыхательной цепи на НАДН-оксидазе может потребляться до 5% кислорода. Однако, многие клетки организма при патологиях попадают в весьма экстремальные условия. Интересно понять, каковым может быть вклад НАДН-оксидазы в дыхание митохондрий в особых экстремальных условиях. При блокировке дыхательной цепи антимицином в присутствии НАДН наблюдается повышенная продукция супероксида.

В данной работе полярографическим методом было проведено сравнительное изучение дыхания суспензии печеночных митохондрий при добавлении НАДН или сукцината натрия в экстремальных условиях: в гипотонической среде и при блокировке ядами - ротеноном, антимицином и азидом.

Показано, что заметное потребление кислорода при окислении добавленного НАДН идёт не только на цитохромоксидазе, но и на НАДН-дегидрогеназе дыхательной цепи. Именно поэтому НАДН-оксидазная активность подавляется ядами не полностью, а на 80-90%. Нечувствительная к ядам дыхательная активность является результатом шунтирования электронов с НАДН на кислород на НАДН-дегидрогеназе. При этом образуется опасный супероксид или перекись водорода.

Также мы показали, что в гипотонии азид или антимицин ингибируют НАДН-зависимое дыхание МХ одинаково сильно, но не полностью, а ротенон ингибирует значительно сильнее. Обращает внимание на себя тот факт, что даже сочетание всех трёх ядов не ингибирует процесс



дыхания полностью. Казалось бы, два других яда (антимидин и азид) должны тут делать то же самое – блокировать цепочку, полностью устраняя дыхание. Однако оказалось, что они подавляют НАДН-зависимое дыхание только частично, причем, даже при применении обоих ядов одновременно. Это означает, что последовательность переноса электронов с НАДН на кислород тут несколько иная, чем с сукцината. Иными словами, остаточное дыхание, не ингибируемое антимидином и азидом, имеет место не на цитохромоксидазе, а на НАДН-оксидазе. Его величина достигает 10-20%. Это автоматически означает образование большого количества супероксида на НАДН-оксидазе, что может давать значительный вклад при полярографическом методе измерения митохондриального дыхания.

## **КОНЕЧНО-ЭЛЕМЕНТНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАХЕОБРОНХИАЛЬНОГО ДЕРЕВА ДЛЯ ВСЕХ 23-х ГЕНЕРАЦИЙ**

**Макевнина В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*Makevnina.VV@gmail.com*

Биомеханика – раздел биофизики, ставший самостоятельной научной дисциплиной. В биомеханике дыхания применяются трехмерные модели трахеобронхиального дерева (ТБД), позволяющие проследить за изменениями движения воздуха в различных участках легких во время дыхательного процесса. В легких человека насчитывается 23 генерации дыхательных путей (ДП), представленных в виде системы дихотомически ветвящихся трубок [1]. Всего насчитывается 8388608 пары ДП [1], поэтому построение твердотельной и конечно-элементной моделей, проведение численных расчетов требуют огромных вычислительных ресурсов, значительно превышающих возможности, доступные на мощных персональных компьютерах. Цель данной работы – предложить способ для проведения численных расчетов на конечно-элементной модели ТБД человека для всех 23-х генераций ДП, для достижения которой были поставлены задачи: построить твердотельную модель ТБД для 23-х генераций ДП в том объеме, насколько это будет возможным; предложить способ для проведения численных расчетов на построенной модели. Максимально возможная твердотельная модель ТБД для 23-х генераций ДП была построена с помощью программного пакета SolidWorks. При моделировании геометрического образа были использованы данные количественных характеристик, приведенные в работе Вейбеля [1], угол бифуркации принят равным 65° [2]. Конечно-элементное моделирование и численные расчеты на построенной модели оказались невозможны в виду недостатка вычислительных ресурсов компьютера. В связи с этим, были получены две твердотельные модели: от трахеи до конца 10-го поколения ДП и от конца 10-го до конца 23-го поколения ДП. Учитывая, что при правильной дихотомии в построенных моделях наблюдалось пересечение элементов ДП, были выполнены их разветвления в местах бифуркаций. Конечно-элементное моделирование было проведено в программном пакете ANSYS. В работе показано, полученные конечно-элементные модели могут быть использованы для проведения численных расчетов.

- 1) Ewald R.Weibel, M.D. Morphometry of the Human Lung. New York, Academic Press Inc., 1963, p. 151 with 109 figures.
- 2) Пастухов А.Д. Рентгеноанатомия трахеи и главных бронхов в норме и при деформациях грудной клетки. Диссертация. Пермь, 2017 г., 205 с.

## **СОДЕРЖАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В МОЧЕ КРЫС РЕЗКО УВЕЛИЧИВАЕТСЯ ПОСЛЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ВВЕДЕНИЯ БЛЕОМИЦИНА**

**Минкабирова Г.М.<sup>1</sup>, Абдуллаев С.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*gulchachak.mink@gmail.com*

Клеточная гибель в тканях человека и животных представляет собой активный процесс, поддерживающий обновление клеточных популяций, функциональную целостность и гомеостаз тканей. С активностью клеточной гибели сопряжены уровни содержания фрагментов внеклеточной ДНК (вк-ДНК) в биологических жидкостях млекопитающих. Ранее в нашей



лаборатории было показано значительное повышение содержания вк-ядерной ДНК (вк-яДНК) и митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) в плазме/сыворотке мышей, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации (ИР). В настоящее время качественные и количественные изменения вк-ДНК в кровотоке человека рассматриваются как биомаркер для быстрой оценки лучевой реакции и как диагностическая и прогностическая «жидкая биопсия» в процессе радио-, химиотерапии опухолей. Учитывая интерес к данной проблеме, мы исследовали возможность повышения экскреций вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой крыс, облученных ИР, а также после введения цитостатического препарата – блеомицина. Анализ трансрентальной вк-ДНК был интересен не только для тестирования ее содержания неинвазивным методом, но и для выяснения возможностей вк-ДНК преодолевать почечный барьер у облученных ИР животных. В экспериментах были использованы 3-х месячные самцы крыс линии Wistar. Облучение крыс проводили на рентгеновской установке в дозах 1, 3, 5 и 8 Гр. Блеомицин вводили внутривентриально в концентрациях 3, 7, и 10 мг/кг. Методом ПЦР-РВ было исследовано количественное содержание внеклеточной яДНК и мтДНК в образцах мочи, изучена динамика изменения общего количества копий мтДНК относительно яДНК в разные сроки (от 6 часов до 30 дней) и дозы после облучения. Результаты анализов показали, что уровень общего количества мтДНК и яДНК в моче облученных крыс зависит как от пострентационного времени, так и от дозы облучения. Показано, что содержание вк-яДНК и вк-мтДНК имеет линейную зависимость от дозы рентгеновского излучения. Так, максимальное количество копий мтДНК и яДНК регистрировалось на 6-12-24-е часы после их облучения. Количество продуктов ПЦР-амплификации вк-мтДНК в 2-3 раза выше, по сравнению таковым вк-яДНК. Данные анализов содержания вк-яДНК и вк-мтДНК в моче у крыс после введения блеомицина также показали повышенные их уровни по сравнению с контрольными животными. Показано, что содержание вк-яДНК и вк-мтДНК имеет линейную зависимость от дозы введения препарата. Таким образом, результаты проведенного исследования показали возможность преодоления у животных вк-мтДНК и вк-яДНК трансрентального (почечного) барьера и их перехода в мочу после рентгеновского облучения, а также после введения блеомицина. Удалось выяснить дозовую зависимость этого процесса. Таким образом, повышенное содержание циркулирующей внеклеточной ДНК в моче можно рассматривать как потенциальный биомаркер для оценки уровня генотоксического груза при радиационном поражении организма, а также при воздействии других генотоксических агентов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 16-34-00832.

## РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА МЕТФОРМИНА

**Митрошина И.Ю.<sup>1</sup>, Минкабирова Г.М.<sup>1</sup>, Карманова Е.Е.<sup>1,2</sup>, Абдуллаев С.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Пущинский государственный Естественнонаучный Институт, Пущино, Россия

*xf2@rambler.ru*

Метформин (МФ) используется во всем мире в терапии сахарного диабета 2-типа и находит применение при лучевой терапии опухолей. Известно также, что МФ блокирует индукцию канцерогенеза у животных, снижает частоту возникновения онкогенеза у пациентов, принимающих этот препарат, а также увеличивает продолжительность жизни у грызунов. Механизмы действия МФ остаются непонятными. Ранее мы продемонстрировали, что у 24-месячных крыс наблюдается повышенная экскреция с мочой внеклеточной ядерной ДНК (вк-яДНК) и митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) при введении им МФ, по сравнению с таковым у молодых крыс. Эти результаты позволили предполагать, что МФ способствует выводу из тканей клеток и органелл со структурными и функциональными нарушениями. В настоящей работе мы исследовали влияние МФ на выживаемость облученных мышей и на образование микроядер в клетках их костного мозга, а также на уровень экскреции вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой у облученных крыс, который отражает активацию клеточной гибели в тканях животных. Результаты исследований показали, что МФ не оказывает радиозащитного эффекта при его введении перед облучением животных. Однако МФ способствует повышению выживаемости мышей только при введении им после облучения. Так, на 11-е сутки после облучения мы наблюдали 100%



летальность в контрольной группе, а при введении МФ 78% мышей оставались живыми. 20% мышей этой группы выжили в течение 30 дней после облучения 8 Гр. Аналогично действует МФ на образование микроядер, их существенное снижение регистрируется только при введении МФ после облучения животных. Эти результаты указывают, что МФ действует как пострадиационный митигаторный эффектор. Введение МФ необлученным крысам через 6 часов приводит к увеличению содержания вк-яДНК и вк-мтДНК в моче на 25% и 55% соответственно. При введении МФ животным сразу после их облучения экскреция вк-яДНК в моче через 6 и 12 часов повышается на 290-300%, а вк-мтДНК на 430-530%, относительно данных необлученных крыс. К этим же срокам, после облучения крыс без введения МФ в моче, происходит менее выраженное увеличение вк-яДНК 180-200% и вк-мтДНК на 350-400% соответственно. При введении МФ крысам через 24 часа после их облучения, экскреция вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой этих крыс существенно снижается, хотя их уровни остаются выше, относительно данных необлученных животных, которым вводили МФ. Результаты анализов указывают, что радиомитигаторный эффект МФ на облученных животных, возможно, проявляется посредством митохондриально-направленного механизма. Данные по анализу экскреции вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой облученных животных позволяют предполагать, что МФ также способствует ускоренному удалению поврежденных клеток и дисфункциональных митохондрий из тканей облученных животных посредством активации аутофагии (митофагии). Возможно, МФ действует в тканях как “уборщик” поврежденных клеток, не давая им накопиться и трансформироваться в злокачественные клетки и, тем самым, обеспечивая им повышение выживаемости и снижение канцерогенеза после радиационного воздействия.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00832.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ТКАНЯХ ПАЗАРИТИЧЕСКИХ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ

**Мочалова Н.В.<sup>1</sup>, Теренина Н.Б.<sup>2</sup>, Крещенко Н.Д.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ВНИИП им. К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

[nkreshch@rambler.ru](mailto:nkreshch@rambler.ru)

Паразитические плоские черви представляют собой многообразную и широко распространенную группу организмов, изучение которых важно не только с практической, но и с общебиологической точки зрения. В эволюции нервной системы они занимают ключевую позицию, являясь самыми простыми организмами с билатеральной симметрией, у которых впервые появляется централизация и цефализация нервных элементов. Исследование нейрохимических основ жизнедеятельности паразитических червей необходимо как при разработке новых антипаразитарных препаратов направленного действия, так и при решении фундаментальных проблем эволюционного развития нейрональных сигнальных систем. Данные биохимических, иммуногистохимических, фармакологических исследований свидетельствуют о наличии и важной функциональной роли серотонина у личинок и взрослых форм паразитических плоских червей.

Целью работы явилось исследование наличия и распределения серотониновых рецепторов, которые могут быть задействованы в осуществлении физиологических эффектов биогенного амина, серотонина у цестод. В работе использовали личинок (цистицеркоидов) *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Platyhelminthes). Рецепторы к серотонину подтипа 5-HT<sub>7</sub> выявляли иммуноцитохимическим методом. Цистицеркоидов после фиксации параформальдегидом инкубировали в антисыворотке к рецепторам серотонина. Контроль на специфичность включал инкубацию образцов в растворе без первичных антител или использование не иммунной сыворотки. Препараты исследовались с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM 6000 и конфокального сканирующего лазерного микроскопа Leica TCS SP5.

Иммуноцитохимическое исследование показало присутствие специфической иммуноокраски в пламенных клетках экскреторной системы, разбросанных по всему телу личинки *H. diminuta*, где наблюдали наиболее выраженное окрашивание. Более слабая иммунореактивность к рецепторам



серотонина отмечена в продольных и кольцевых мышечных волокнах стенки тела, в мускулатуре присосок, продольных нервных стволах и поперечных комиссурах. Сведения о серотониновых рецепторах у паразитических червей ограничены. Имеются некоторые молекулярные данные о наличии серотониновых рецепторов у планарий. Полученные в настоящей работе сведения о присутствии серотониновых рецепторов в тканях личинок *H. diminuta* дают основание предположить, что, в механизме, с помощью которого серотонин осуществляет свое действие у плоских червей, могут принимать участие серотониновые рецепторы 5HT<sub>7</sub> типа.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-04-00349а.

## МЕТОД ОЦЕНКИ СООТВЕТСТВИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ДЛИНЫ ИЗОЛИРОВАННОГО КАРДИОМИОЦИТА И ЕГО САРКОМЕРОВ В МЕТОДЕ КАРБОНОВЫХ ВОЛОКОН

Мячина Т.А.<sup>1</sup>, Лукин О.Н.<sup>1,2</sup>, Хохлова А.Д.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

*myachina.93@mail.ru*

Для изучения (пато)физиологии сердца целесообразно исследовать сократительную функцию миокарда на клеточном уровне. Однако методики для анализа механической функции кардиомиоцитов крайне ограничены [1]. В данной работе был использован метод карбоновых волокон (КВ), позволяющий напрямую задавать растяжение (преднагрузку) кардиомиоцита [1, 2]. Длина клетки определялась оптическим методом как расстояние между КВ. Длина среднего саркомера оценивалась по сигналу исчерченности профиля интенсивности между КВ с помощью метода дискретного преобразования Фурье.

В отдельных случаях крепление КВ к поверхности клетки может быть недостаточно хорошим, так что при растяжении клетки происходит их соскальзывание. Это даёт завышенную степень растяжения клетки и несоответствие с измеряемой длиной ее саркомеров. В данной работе были оценены несоответствия между измеряемой длиной клетки и средней длиной саркомеров в ней.

Был выполнен анализ зависимостей «конечно-диастолическая длина клетки – средняя конечно-диастолическая длина саркомера» (в процентах от величины длины при отсутствии растяжения), полученных при задании последовательного растяжения. Каждая зависимость была приближена линейной функцией  $y=kx+b$  ( $R^2>0.9$ ). Далее было построено распределение значений линейных коэффициентов ( $k$ ), которое имело максимум при  $k\approx 0.5$ . Таким образом, при задании диастолического растяжения кардиомиоцита выявлен дефицит растяжения саркомеров в нем, вызванный постепенным соскальзыванием КВ.

Далее были проанализированы зависимости «амплитуда укорочения клетки – средняя амплитуда укорочения саркомера». Установлено, что несоответствие между этими изменениями в ходе цикла укорочения не превышает 5%. Таким образом, эффект соскальзывания КВ непосредственно в фазу активного укорочения клетки выражен значительно слабее, чем это происходит при задании диастолического растяжения.

Разработанный подход по оценке соответствия между степенью растяжения клетки и саркомера при применении метода КВ позволяет улучшить качество анализа данных и исключить из рассмотрения те измерения, в которых наблюдалось значительное соскальзывание КВ.

Работа поддержана грантом РФФИ (№18-04-00572), Постановлением Правительства РФ № 211 от 16.03.2013 и программой ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 годы в ИИФ УрО РАН (№01201352047).

1) Myachina T et al. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (2018). In press.

2) Iribe G et al. Prog. Biophys. Mol. Biol., 15(2), 103-114 (2014)





## ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ПРОЦЕССЫ АТРОФИИ И ТРАНСФОРМАЦИИ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ПРЕБЫВАВШИХ В УСЛОВИЯХ ГИПОКИНЕЗИИ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ВОССТАНОВЛЕНИЕМ

**Нигметзянов И. Р.<sup>1</sup>, Газизова Г. Р.<sup>1</sup>, Тяпкина О. В.<sup>2</sup>, Девятияров Р. М.<sup>1</sup>, Гусев О. А.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Институт Фундаментальной Медицины и биологии, Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия; <sup>2</sup>Казанский Институт Биохимии и Биофизики, Казанский Научный Центр РАН, Казань, Россия; <sup>3</sup>Центр Трансляционной Геномики КФУ-RIKEN, RIKEN, Иокогама, Япония

*islamka32@gmail.com*

Человеческая жизнь часто сопровождается различными видами гиподинамии: малоактивный образ жизни, постельный режим больного, иммобилизация конечности или пребывание в условиях невесомости для космонавтов. Результатом воздействия этих факторов является атрофия и трансформация мышечных волокон. Для выявления механизмов, лежащих в основе патологических изменений в миофибриллах, мы изучили транскрипционные изменения в мышцах крыс, находящихся в условиях индуцированной невесомости с последующим восстановлением.

Были исследовали мышцы оксидативного (*m. soleus*) и гликолитического (*m. EDL*) типов у различных групп крыс, находящихся в контрольных условиях вивария, после 1, 3 и 7 дней антиортостатического вывешивания и после последующих 1, 3 и 7 дней нахождения в нормальных условиях. Из мышц была извлечена тотальная РНК, после чего следовало приготовление CAGE-библиотек и запуск секвенирования на Illumina HiSeq 2500. После проверки качества и фильтрации CAGE-риды были картированы на сборку генома крысы (Rnor\_6.0) с использованием bwa, а затем кластеризованы с помощью RIKEN promoter pipeline (python). Дальнейшая аннотация пиков CAGE и анализ дифференциальной экспрессии проводились через среду R.

Мы получили последовательность глубиной больше 10М ридов и с процентом картирования ~80%. В двух исследуемых типах мышц были определены 9971 кластеров CAGE и 5766 ассоциированных генов. Дифференциальная экспрессия генов и их промоторная активность сильно различалась у *m. EDL* и *m. soleus* во время проведения эксперимента: *m. soleus* не имела существенных изменений в транскрипционной активности до седьмого дня антиортостатической разгрузки, проявляя резкий сдвиг с начала фазы восстановления, в то время как *m. EDL* показывает быстрый и стабильный ответ на стресс и быстрое восстановление после размещения в нормальных условиях.

Была дана первая систематическая аннотация ландшафта промоторов и генов, активированных в различных типах мышц крыс при индуцированной атрофии и последующем восстановлении. Наши первые результаты согласуются с известными физиологическими данными о мышечной иммобилизации и могут быть использованы в дальнейших исследованиях мышечной атрофии.

Данная работа выполнялась в рамках программы фундаментальных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» в лаборатории «Биофизика синаптических процессов» Казанского института биохимии и биофизики (КазНЦ РАН КИББ).

## ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ ДУПЛЕКСА ДНК УЧАСТВУЮЩИХ В РЕПЛИКАЦИИ ПРОМОТОРОВ БАКТЕРИОФАГОВ

**Орлов М.А.<sup>1</sup>, Рясик А.А.<sup>1</sup>, Зыкова Е.А.<sup>1</sup>, Сорокин А.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*orlovmikhailanat@gmail.com*

Несмотря на то, что связь процессов транскрипции и репликации ДНК исследуется несколько десятилетий, ее точные механизмы не установлены. Важным объектом исследований в этой области служат прокариотические промоторы (бактерий и бактериофагов), главной функцией которых является инициация транскрипции. Установлено, что ряд промоторов прокариот также прямо или опосредованно участвуют в инициации репликации.



Взаимодействие ДНК с белками при транскрипции, репликации и ряде других регуляторных процессах определяется прежде всего не традиционно рассматриваемой в данной контексте нуклеотидной последовательностью, а физико-химическими свойствами дуплекса ДНК, такими как электростатический потенциал, термодинамическая стабильность и т.д. Нами рассмотрены профили SIDD (Stress-induced Duplex Destabilization, вызванная суперспирализацией дестабилизация дуплекса [1]) для промоторных областей и первичной точки начала репликации (ТНР) бактериофага Т7. Удалось показать, что среди нативных промоторов Т7-ДНК наибольшую вероятность плавления имеют те, которые выполняют дополнительную функцию вторичных ТНР.

Далее рассмотрены геномы ряда других бактериофагов группы Т7. Первая выборка содержит расположенные в обеих фланкирующих областях промоторы *phiOL* и *phiOR*. В случае Т7-ДНК они, по-видимому, не участвуют в транскрипции и функционируют как вторичные ТНР [2]. Установлено, что соответствующие этим промоторам области ДНК ассоциированы с максимумами профилей SIDD. При рассмотрении некоторых геномов выборки Т7-подобных фагов без описанных *phiOL* и *phiOR* во фланкирующих областях обнаружены сходные пики SIDD. Это может свидетельствовать о наличии сходных с *phiOL* и/или *phiOR* промоторов.

- 1) Wang, H.Q., Benham, C.J. Promoter prediction and annotation of microbial genomes based on DNA sequence and structural responses to superhelical stress // BMC Bioinformatics Vol. 7, 2006, pp. 248-262.
- 2) Dunn J. J., Studier F. W., Gottesman M. Complete nucleotide sequence of bacteriophage T7 DNA and the locations of T7 genetic elements. *J. Mol. Biol.* 1983, 166, 477–535.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ГИПОКСИИ, ПЕРЕНЕСЕННОЙ IN VIVO НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОРГАННОЙ КУЛЬТУРЫ

Пахомова В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ "Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН", Красноярск, Россия

[vgpakhomova@mail.ru](mailto:vgpakhomova@mail.ru)

Оценивая влияние гипоксии зачастую используют разные способы ее имитации. Так гипоксию вызывают или химическими агентами (имитаторами гипоксии), или изменением парциального давления кислорода (нормобарическая, гипобарическая гипоксия), или уменьшением количества переносчиков кислорода (геморагическая гипоксия). Сравнение всех этих типов гипоксий проходит в прямую, но одинаково ли влияют эти типы гипоксии на органы и правомочно ли их сравнение? Попробуем в этом разобраться с помощью сравнения влияния двух типов гипоксии нормобарической и гистотоксической на органы лабораторных животных.

Проведены эксперименты по воздействию хлоридом кобальта (гистотоксическая гипоксия) и газовой смесью, содержащей 14 % кислорода (нормобарическая гипоксия) на целостный организм самцов крыс Wistar, с последующим выделением печени и помещением ее в биолого-техническую систему поддержания искусственного гомеостаза.

Далее проведен анализ влияния двух разных типов гипоксии in vivo на метаболизм изолированной перфузируемой печени крысы. Исследовали гидростатическое давление в портальной вене, потребление кислорода, выделение углекислого газа, мочевины и ионов калия, содержание глюкозы и лактата в оттекающем перфузате. Обнаружено, что в условиях биотехнической системы параметры перфузии изолированного органа отражают действие механизмов развития гипоксии, инициированных в условиях целостного организма животного. Действие этих механизмов сохраняется на протяжении всего времени нахождения органа в биотехнической системе, в отсутствие регулирующих воздействий со стороны организма. Следовательно, данные механизмы имеют внутриклеточную локализацию и их функционирование определяется действием внутриклеточных механизмов регуляции. Таким образом, действие хлорида кобальта приводит к нарушению механизмов аэробного энергетического обмена гепатоцитов, причем действие механизмов, обусловивших эти нарушения, сохраняется и после выделения органа из организма, при условии обеспечения его искусственного гомеостаза с использованием биолого-технической системы.

Работы выполнены на Уникальной научной установке «Комплекс оборудования для управляемого культивирования изолированных органов» ФИЦ КНЦ СО РАН»



## ВЫЯВЛЕНИЕ КЛЮЧЕВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ГЕНОВ, ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ В КЛЕТКАХ ГИППОКАМПА ПРИ РАЗРУШЕНИИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МОЗГА

**Першин В. И.<sup>1,2</sup>, Гайнуллин М. Р.<sup>1,3</sup>, Гурьев Е. Л.<sup>1,2</sup>, Курбатов Л. К.<sup>4</sup>, Мухина И. В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>Университетский госпиталь Осло, Осло, Норвегия; <sup>4</sup>Научно исследовательский институт биомедицинской химии им.В.Н. Ореховича, Москва, Россия

*bp1995@yandex.ru*

Нарушение структуры внеклеточного матрикса (ВКМ) при травмах мозга, нейроинфекционных, нейрососудистых и нейродегенеративных заболеваниях вызывает изменение пластических свойств нейронных сетей, что сказывается на высших функциях ЦНС, таких как: память, обучение, внимание и многие другие. Транскриптомный анализ позволяет проводить скрининг изменения экспрессии всех генов одновременно и выявлять возможные сигнальные пути, обуславливающие изменение метаболизма и функции клеток в ответ на разрушение внеклеточного матрикса мозга.

Целью данной работы было выявления ключевых функциональных изменений в первичной культуре клеток гиппокампа эмбрионов мышей при моделировании эпилептиформной активности методом энзиматического разрушения внеклеточного матрикса. Для этого дифференциальная экспрессия генов была исследована методом двухцветной конкурентной гибридизации флуоресцентно меченой кРНК на микрочипах фирмы Agilent, включающих гены полного генома мыши. Проведенный транскриптомный анализ выявил 1494 генов, уровень экспрессии которых был подвержен наиболее выраженным изменениям ( $\log_2$  fold-change  $\geq 2.0$ ). Из них активация показана для 811 генов, а для 683 установлено снижение уровня мРНК. Затем, на основании функциональной аннотации была проведена кластеризация дифференциально-экспрессирующихся генов. В результате были выявлены 3 кластера с высоким значением «показателя концентрации», объединяющие гены, структурно и функционально связанные 1) с синаптической передачей; 2) с функцией рибосом и биосинтезом белка; 3) с процессами энергетического метаболизма, локализованные в митохондриях. Таким образом, белки, структурно и функционально связанные с синаптической передачей, и гены, их кодирующие, в наибольшей степени подвержены регуляторному воздействию в условиях моделирования эпилептогенеза *in vitro*. Исходя из полученных данных можно сделать вывод о специфической адаптивной реакции клеток гиппокампа в ответ на изменение структуры внеклеточного матрикса при моделировании изменения активности нейронных сетей гиппокампа *in vitro*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-04-01763

## ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ 400 И 460 НМ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO И IN VIVO

**Плеханова Е.С.<sup>1</sup>, Чернигина И.А.<sup>1</sup>, Чернов В.В.<sup>2</sup>, Щербатюк Т.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия

*evgenya\_plekhanova@mail.ru*

Цель работы - оценить действие СИД 400 и 460 нм на гемоглобин эритроцитов и на рост экспериментальной опухоли и окислительный гомеостаз организма при онкогенезе.

Эксперименты выполнены на 65 аутбредных крысах-самцах. Модель неоплазии - карцинома РС-1, создавали подкожной перевивкой на бедро. Воздействию СИД *in vitro* подвергались эритроциты крови от здоровых животных и крыс-опухоленосителей.  $D_{400}=D_{460}=0,2$  Дж/см<sup>2</sup>;  $T_{400}=42$  сек,  $T_{460}=60$  сек. *In vivo* было проведено две серии экспериментов. В 1 серии в опытной группе воздействию СИД осуществляли на 13-е сут после перевивки транскутанно на кровь ( $\lambda=400$  нм) и опухоль ( $\lambda=460$  нм) ( $T=15$  мин;  $D_{400}=4,6$  Дж/см<sup>2</sup> и  $D_{460}=3,2$  Дж/см<sup>2</sup>). Во 2 серии в опытных группах



облучение осуществлялось со 150-х сут после перевивки в область растущей неоплазии транскутанно на кровь по 1 мин в несколько полей, при этом разовая  $D_{400}=0,3$  или  $D_{460}=0,2$  Дж/см<sup>2</sup>. Курс 10 дней. Источниками излучения служили экспериментальные генераторы (ИПФ РАН, г.Н.Новгород). Концентрацию гемоглобина определяли набором Гемоглобин Агат (ООО «Агат-Мед»). Исходное функциональное состояние животных оценивали в тесте «открытое поле» (Буреш Я. и др., 1991). Противоопухолевый эффект оценивали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли. Оценку состояния свободнорадикального окисления проводили методом индуцированной хемилюминисценции ( $I_{\max}$ ,  $AOA=1/S$ ) (Кузьмина Е.И. и др., 1983), по содержанию малонового диальдегида (МДА) (Fletcher D.L. et al., 1973) и активности супероксиддисмутазы (СОД) (Nishirimi M., 1972). Использовали методы непараметрической статистики.

После воздействия СИД *in vitro* на эритроциты животных с РС-1 поздних стадий роста было зарегистрировано повышение концентрации гемоглобина. В 1 серии *in vivo* опытов был показан различный характер роста неоплазии в зависимости от общей исследовательской активности крыс и его изменение в результате однократного воздействия СИД. Во 2 серии курсовое воздействие СИД на опухоль поздних сроков развития показало, что излучение с длиной волны 400 нм не влияет на рост опухоли, а с 460 нм приводит к торможению роста неоплазии на 69% ( $p=0,008$ ). При этом наблюдалось снижение активности СОД до уровня интактных животных ( $p<0,05$ ), но только облучение излучением с длиной волны 460 нм привело к снижению  $I_{\max}$  плазмы на 10% ( $p=0,042$ ) и содержания МДА на 19% ( $p=0,018$ ).

Таким образом, действие низкоинтенсивного СИД 400 и 460 нм зависит как от функционального состояния организма животного-опухоленосителя, так и от стадии развития неоплазии.

## РОЛЬ ПЛОИДНОСТИ КЛЕТОК В ПРОЯВЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ПОСЛЕ УФ ИЗЛУЧЕНИЯ

Подобед М.Ю.<sup>1</sup>, Евстратова Е.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия; <sup>2</sup>МРНЦ им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

*ekevs7240@mail.ru*

Процессам формирования опухолевого фенотипа в клетках предшествует нарастание генетической нестабильности. Одной из причин генетической нестабильности, проявляющейся в виде отсроченной репродуктивной гибели клеток, можно считать потери теломерной ДНК.

В работе использовали гаплоидные и диплоидные штаммы *Saccharomyces cerevisiae* дикого типа и радиочувствительные мутанты. Источником неионизирующего излучения являлся ультрафиолетовый свет с длиной волны 254 нм и интенсивностью 1,5 Вт/м<sup>2</sup>.

С точки зрения классических представлений принципа попадания и мишени, сигмоидная форма кривых выживаемости диплоидных клеток означает, что для их инактивации необходимо формирование нескольких эффективных повреждений и сопровождающих их суб-повреждений, а для инактивации гаплоидной клетки достаточно одного эффективного попадания кванта энергии. Для клеток, поврежденных УФ светом, сохраняются закономерности, характерные для клеток, поврежденных ионизирующим излучением.

Путем сравнения кривых выживаемости гаплоидного штамма после воздействия ионизирующего излучения с кривыми после воздействия УФ света, обнаружено, что, независимо от наличия плеча репарации, количество колоний, сформированных гаплоидными клетками позже контроля, остается намного меньше, чем у диплоидных клеток. Эффект позднего формирования колоний может быть связан не с формой кривой зависимости выживаемости от дозы, а детерминируется плоидностью клеток. Для проверки этого предположения был изучен эффект позднего появления колоний радиочувствительными клетками, неспособными к пострадиационному восстановлению и характеризующихся экспоненциальными формами кривых выживаемости независимо от плоидности. Способность клеток к восстановлению не является главным детерминантом позднего формирования колоний облученными клетками. Мы подтвердили это для клеток, подвергавшихся ультрафиолетовому облучению. Наши данные показали, что УФ-индуцированная генетическая нестабильность тоже детерминируется



плоидностью клеток, а не формой кривой выживаемости, поскольку все штаммы характеризовались сигмовидной формой кривой выживаемости, однако эффект позднего формирования колоний был больше выражен для диплоидных, а не гаплоидных клеток.

## **РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТКАНЕЙ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ОСНОВАННЫХ НА АНАЛИЗЕ МАСС- СПЕКТРОМЕТРОВ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ**

**Поляков Д.В.<sup>1</sup>, Сорокин А.А.<sup>2</sup>, Жванский Е.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*daniil.polyakov@phystech.edu*

В современной нейрохирургии остро стоит следующий вопрос – как удалить опухоль, не вырезав слишком много или слишком мало. Если вырезать ткань с запасом, то велика вероятность потери важной функциональной части мозга. Наоборот, если удалить не всю опухоль, то многократно увеличивается вероятность рецидива. Поэтому требует решения задача определения границы опухоли.

На данный момент есть несколько подходов к решению поставленной задачи. Один из них – позиционирование опухоли до операции по МРТ. Другой подход – помечать раковые маркеры флюоресцентными метками, но флюоресцентная метка быстро выгорает, что затрудняет использование этого метода в длительных операциях и уменьшает удобство использования этого метода. Окончательная же экспертиза на данный момент проводится с использованием гистологических методов. Экспресс анализ образца ткани требует около 20 минут, полный анализ среза, выполняемый для определения типа пограничной ткани, может занимать несколько дней.

Задача нашей лаборатории состоит в том, чтобы используя данные о тканях, полученные с помощью масс-спектрометрии, сократить время анализа образца и вынесения вердикта о типе ткани до 5-7 минут.

Формальная задача следующая: необходимо построить программное обеспечение, представляющее единый пайплайн, который принимает на вход данные о ткани с масс-спектрометра, а на выходе предсказывает ее тип - здоровая/опухолевая, и в случае опухолевой ткани определяет подтип опухоли.

В лаборатории разработана библиотека для автоматической обработки и классификации тканей мозга на основе анализа их масс-спектров. В настоящее время робастный алгоритм, основанный на методах машинного обучения, достигает точности классификации более 80%. При написании пакета использовался язык программирования R и Python 3.

Работа поддержана грантом РФФИ (16-15-10431).

## **ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ТКАНЯХ ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ**

**Пьянков В. Ф.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Сибирский Федеральный Университет, Красноярск, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ КНЦ СО РАН МНЦИЭСО, Красноярск, Россия

*Shymer@bk.ru*

Благодаря развитию технологий, увеличивается число источников электромагнитного излучения, способных воздействовать на живые организмы. Подобный антропогенный фактор может оказывать непредсказуемое влияние на биологические объекты, выходя за пределы эволюционной приспособленности. Потому возникает необходимость его изучения на различных уровнях организации живой природы, и при различных характеристиках воздействующего электромагнитного излучения.

В настоящей работе было проведено исследование скорости образования АФК в тканях здоровых животных при воздействии электромагнитного излучения сверхвысокой частоты, как наиболее распространенного вследствие развития средств беспроводной коммуникации. В работе



была задействована оригинальная установка для облучения, работающая на частоте 915 МГц (сигнал — немодулированный), состоящая из генератора ЭМИ СВЧ, тракта с направленными ответвителями, и трехсекционного волновода, оборудованного стойками с метаболическими камерами, куда и помещались животные. Животные экспериментальной группы облучались ежедневно, по 1 часу, в течение 10 дней. Плотность потока энергии СВЧ-излучения составляла 20 мкВт/см<sup>2</sup>. Забор крови у контрольной и опытной групп производили ежедневно, после облучения.

После анализа полученных экспериментальных данных, было выяснено, что электромагнитное излучение сверхвысокой частоты с указанными параметрами оказывает значимое, достоверное влияние на организм здоровых мышей. С увеличением времени воздействия наблюдали возрастание генерации АФК, регистрируемое хемилюминесцентным методом в периферической крови, суспензии клеток костного мозга и печени. Хемилюминесцентная кривая отражает интегральную характеристику продукции АФК при участии клеточных про- и антиоксидантных ферментативных структур, активирующихся в процессе фагоцитоза, а также про- и антиоксидантных факторов, функционирование которых напрямую не связано с фагоцитозом.

В нашем случае возрастание концентрации АФК в периферической крови животных, подвергшихся воздействию ЭМИ СВЧ в установке связано со сдвигом в формуле крови, проявляющийся в увеличении относительного числа полиморфноядерных гранулоцитов (нейтрофилов, эозинофилов). Таким образом, можно предположить, с увеличением времени воздействия ЭМИ СВЧ в организме развиваются адаптационные процессы, направленные на поддержание гомеостаза.

## ВЛИЯНИЕ ТРИПСИНА НА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ТОЛУИДИНОВОГО СИНЕГО В СРЕДЕ ЖЕЛАТИНОВОГО ГЕЛЯ

**Раевских К.С.<sup>1,2</sup>, Камашева Е.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия, Ижевск, Россия

[raevskikh.kristina@yandex.ru](mailto:raevskikh.kristina@yandex.ru)

Для задач конструирования биоэлектрохимических устройств большой интерес представляет исследование электрохимического поведения окислительно-восстановительных медиаторов в среде гидрогелей.

Целью настоящей работы стало изучение электрохимических превращений толуидинового синего (ТС) в среде гидрогеля желатина в присутствии трипсина.

Использовали планарные электроды: рабочий электрод и вспомогательный электрод - графитовые, электрод сравнения - хлорсеребряный. Электрохимические измерения производили в режиме циклической вольтамперометрии (ЦВА), использовался диапазон потенциалов от 0 до +500 мВ при температуре 20-25°C. Измерения проводились в течение 40-55 минут через каждые 5 минут. Точность измерений силы тока составляла  $\pm 1$  нА. В качестве фонового электролита во всех измерениях использовали фосфатно-солевой буфер pH=7,25. Конечная концентрация ТС в ячейке для всех экспериментов была постоянной ( $10^{-3}$  М).

При анализе данных ЦВА было выяснено, что электрохимические превращения ТС лимитируются его диффузией к поверхности электрода. При росте скорости развёртки потенциала токи окисления/восстановления линейно растут, при этом отношение токов окисления к токам восстановления практически не изменяется. Зависимость тока восстановления ( $I_{p\ red}$ ) от скорости развёртки потенциала ( $v$ ) аппроксимируется уравнением:

$$|I_{p\ red}| = 0,4627v^{1/2} - 0,128 \quad (R^2=0,989),$$

что позволяет связать рост показателей силы тока именно с диффузионными процессами.

Первая исследованная модель была построена следующим образом: использовалось 2 электрода. На рабочий электрод одного из них наносился раствор желатина и после загустевания - раствор ТС. На другой рабочий электрод наносился раствор желатина, предварительно инкубированный с трипсином, далее также ТС. На первом электроде значения силы тока росли во времени с 0,79 мкА до 5,83 мкА, отражая диффузию ТС. При измерении значений тока на втором электроде показатели сразу вышли на стабильный уровень ( $\approx 4,9$  мкА), что говорит о снижении диффузионных ограничений.



Во второй модели на оба электрода наносился раствор желатина. После образования пленки желатина на рабочем электроде на один из электродов наносился ТС, а на другой - раствор трипсина и ТС. В обоих случаях полученные показатели стремятся к стабилизации на временном интервале до 35 минут. Причем на электроде с внесенным раствором трипсина это происходит быстрее.

На основании полученных данных можно судить о протеазной активности трипсина, расщепляющего желатиновый гель. Протеолиз снижает диффузионные ограничения, что выражается в быстрой стабилизации токов окисления/восстановления ТС.

## КУМАРИН-АКТИВИРОВАННАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ В ИССЛЕДОВАНИИ ЛИПОПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА *c* С КАРДИОЛИПИНОМ

**Ромодин Л.А.<sup>1,2</sup>, Владимиров Ю.А.<sup>2</sup>, Зарудная Е.Н.<sup>1</sup>, Лысенко Н.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

[rla2904@mail.ru](mailto:rla2904@mail.ru)

Липопероксидазная активность комплекса цитохрома *c* с кардиолипином (ЦитС-КЛ) играет ключевую роль в запуске апоптоза по внутреннему, митохондриальному, пути, признанному причиной развития многих патологических процессов [2]. Влияние на активность ЦитС-КЛ позволит управлять апоптозом: ингибировать или же запускать его, скажем, при онкологии. Свойства ЦитС-КЛ изучаются методом активированной хемилюминесценции (ХЛ).

Проблемой использования ХЛ для изучения липопероксидазной активности ЦитС-КЛ может стать несоответствие результатов, полученных на моделях *in vitro*, реальной картине в функционирующих биосистемах. Для соблюдения принципа наименьшего вмешательства в систему необходимо, чтобы активатор ХЛ был физическим (не реагировал химически с её компонентами); таковыми считались кумарины [1]. Однако опытов по адекватности их использования для системы ЦитС-КЛ-Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub> до нас не проводили.

Проведённый нами спектрофотометрический анализ выявил расход кумаринов С-334 и С-525 при липопероксидазной реакции: с течением времени реакция величина пика поглощения кумаринов (455 нм) уменьшалась, что свидетельствует об их непосредственном химическом взаимодействии с участниками реакции, т.е. в этой системе они не являлись физическими активаторами.

Также необходимо указать, что маточные растворы кумаринов, добавляемые в систему ХЛ, являются метанольными, поэтому есть опасность того, что на одном из этапов опыта концентрация метанола будет достаточной для изменения конформации молекулы цитохрома *c*, и при его необратимости даже после разбавления полученные данные будут неадекватны. При исследовании действия метанола на цитохром *c* методом спектрофотометрии мы показали обратимость изменения его структуры (93,7%). Это означает, что метанол, вызывает не денатурацию, а обратимое изменение конформации молекулы цитохрома *c*, что позволяет использовать метанольные растворы активаторов ХЛ при изучении свойств ЦитС-КЛ.

Таким образом, нами была показана возможность использования метанольных растворов в изучении функций ЦитС-КЛ, но сами кумарины в контексте изучения свойств ЦитС-КЛ считать чисто физическими активаторами нельзя, что необходимо учитывать при интерпретации данных ХЛ системы ЦитС-КЛ-Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

1. Vladimirov Y.A., Sharov V.S., Driomina E.S., Reznitchenko A.V., Gashev S.B. Coumarin derivatives enhance the chemiluminescence accompanying lipid peroxidation//Free Radic Biol Med/18,4, 1995. 739-45.

2. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Алексеев А.В. Молекулярные механизмы апоптоза. Структура комплекса цитохрома *c* с кардиолипином. Обзор//Биохимия/78,10, 2013. 1391-404.



## МОНИТОРИНГ ОТВЕТА ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПОРФИРАЗИНОВОЙ ПРИРОДЫ СО СВОЙСТВАМИ ВЯЗКОСТНОГО СЕНСОРА

Сороко С.С.<sup>1</sup>, Воловецкий А.Б.<sup>1,2</sup>, Лермонтова С.А.<sup>1,3</sup>, Клапшина Л.Г.<sup>1,3</sup>, Плеханов В.И.<sup>2</sup>, Балалаева И.В.<sup>1</sup>, Воденев В.А.<sup>1</sup>, Шилягина Н.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; <sup>2</sup>ФИЦ Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия; <sup>3</sup>Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

*kastarashan@gmail.com*

В настоящее время в мире ведется активный поиск новых фотосенсибилизаторов (ФС) с целью повышения эффективности фотодинамической терапии (ФДТ). Особой актуальностью обладает вопрос об индивидуализации параметров воздействия и возможности раннего контроля эффективности проведенной терапии. Для реализации такого подхода предлагается использование флуорофоров, сочетающих свойства ФС и флуоресцентных зондов локальной вязкости.

Целью данной работы являлся *in vivo* мониторинг ответа опухолевой ткани на фотодинамическое воздействие путем изменения времени жизни флуоресценции ФС порфиразиновой природы (тетра(4-фторфенил) тетрацианопорфиразина, Pz), чувствительного к изменению локального микроокружения.

Эксперимент проводили на мышах линии Balb/c с подкожной опухолью СТ-26. Инъекцию Pz осуществляли через хвостовую вену в дозе 15 мг/кг. С целью подтверждения накопления Pz в опухоли проводили флуоресцентный имиджинг. После этого регистрировали время жизни возбужденного состояния Pz в области опухоли и нормальной ткани с помощью установки для время-коррелированного счета одиночных фотонов. Фотодинамическое воздействие на опухоль осуществляли с использованием светодиодной установки (640 нм, 150 Дж/см<sup>2</sup>).

Нами было показано, что Pz характеризуется высокой фотодинамической активностью – вызывает существенное (10-20 раз) уменьшение объемов опухолевого узла у животных в опытной группе по сравнению с контролем. Коэффициент торможения опухолевого роста при ФДТ с Pz составил около 95%. Было показано, что у животных через 4 недели после ФДТ с Pz происходит полная регрессия опухолевого узла. Кроме этого, при эффективной ФДТ с Pz происходит увеличение времени жизни его возбужденного состояния в облученной области в 1.5-2 раза по сравнению с исходным уровнем, при этом в необлученной ткани таковых изменений не наблюдается. ФДТ с Pz значительно увеличивает продолжительность жизни животных-опухоленосителей по сравнению с животными, которые не подвергались лечению.

Таким образом, сочетание свойств ФС и флуоресцентного зонда локального микроокружения для Pz может стать основой для принципиально нового подхода при проведении ФДТ, при котором функциональное состояние опухолевых клеток при проведении лечения контролируется по изменению времени жизни возбужденного состояния флуорофора.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Госзадание №6.3099.2017/ПЧ, проект №14.Z50.31.0022).

## ВЛИЯНИЕ БЕДАКВИЛИНА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ЛИПОСОМ

Старинец В.С.<sup>1</sup>, Дубинин М.В.<sup>1</sup>, Теньков К.С.<sup>1</sup>, Белослудцева Н.В.<sup>2</sup>, Белослудцев К.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия; <sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

*vlastar@list.ru*

Бедаквилин – антимикробный препарат нового поколения, относящийся к группе диарилхинолинов и оказывающий свое действие против возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis*. Бактерицидное действие препарата обусловлено специфическим ингибированием F1/F0 АТФ-синтазы микобактерий. Это приводит к нарушению процесса окислительного фосфорилирования, синтеза АТФ и в конечном счете – к гибели бактериальной клетки. Обладая бактерицидным действием, противотуберкулезные препараты так же могут оказывать влияние на





клетки эукариот, вызывая побочные эффекты. Изучение такого воздействия является важным фактором при внедрении противомикробных препаратов в медицинскую практику. Действительно, данные, представленные в литературе, указывают на два возможных механизма действия бедаквилина на эукариотические клетки: влияние на энергетику клетки и функционирование мембранных структур. Можно предположить, что, являясь амфифильным катионом, бедаквилин способен непосредственно взаимодействовать с липидной составляющей мембраны. Известно, что такого рода взаимодействия могут лежать в основе нарушения функционирования биологических мембран. Поэтому в настоящей работе было исследовано влияние бедаквилина на структуру и проницаемость липосомальных мембран, сформированных из природных и синтетических липидов. Установлено, что бедаквилин способен вызывать выброс флуоресцентного зонда сульфородамина Б из лецитиновых липосом. При этом он практически не изменял ионную проводимость бислоевых липидных мембран. Кроме того, установлено, что бедаквилин стимулирует агрегацию липосом с последующим их слиянием и пермеабиллизацией. Обсуждаются возможные механизмы влияния бедаквилина на проницаемость липидных мембран.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 6.5170.2017/8.9), а также при поддержке РФФИ и правительства Московской области (17-44-500584).

## ДИНАМИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ВАЗОРЕАКТИВНОСТИ

Стюхина Е.С.<sup>1</sup>, Постнов Д.Э.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия

*ells03@yandex.ru*

Физиологами уже давно было установлено, что сосудистая система человека и животных - это не просто "система эластичных трубок", проводящая кровоток, а нечто значительно более сложное, централизованно управляемое системными механизмами и саморегулирующееся на локальном уровне. Возможно по этой причине, в области теоретического анализа гемодинамики и васкулярных структур сосуществуют две различные и слабопересекающиеся области моделирования, одна из которых базируется на гидродинамическом подходе, где в целях "решаемости" уравнений степень упругости сосудистой стенки, как правило, считается постоянным параметром, в то время как модели клеточных механизмов управления сосудистым тонусом, по большей части, не включают описание собственно регуляции потока крови.

Автору известно относительно небольшое число работ по моделированию функций сосудистой системы, в которых динамика микроциркуляции анализировалась бы в условиях активной ее саморегуляции, опосредованной клетками сосудистой стенки. В редких примерах таких работ выявляются дополнительные проблемы, связанные с явно недостаточно полным пониманием характерных особенностей динамики такой многокомпонентной системы. Наконец, имеются существенные отличия в режиме функционирования изолированного кровеносного сосуда и его же - в составе интактной микроциркуляторной сети. Таким образом, актуальны задачи развития физических и вычислительных методов регистрации, анализа и моделирования динамики кровотока и вазомоторных реакций в интактной микроциркуляторной сети.

В настоящей работе излагаются результаты, полученные в рамках описанной выше концепции. А именно, на основе физических аналогий и общности модельного описания, предложено "компромиссное" модельное описание сегмента сосуда на упрощенном уровне, включающее как динамику потока в условиях нелинейной и переменной во времени упругости сосудистой стенки, так и феноменологическое описание действия основных регуляторных механизмов, реализуемых клетками гладкой мускулатуры и эндотелия.

Средствами вычислительного эксперимента проиллюстрировано применение разработанной модельной единицы для решения различных задач, включающих исследование: (1) характера взаимосвязи артериального давления и скорости пульсовой волны в саморегулирующемся сосуде, (2) динамики перераспределения потоков в малом фрагменте (3-7 сегментов) микроциркуляторной сети, (3) закономерностей распределения потоков в больших васкулярных структурах (несколько тысяч сегментов).



## **RULE-BASED МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА. СИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ**

**Талызина А. А.<sup>1</sup>, Сорокин А. А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия; <sup>2</sup>ФГУБН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия;

*anna.talyzina@phystech.edu*

Одним из препятствий при разработке математических моделей биологических систем является так называемый «комбинаторный взрыв». Это означает, что размерность модели очень быстро растет при добавлении в нее новых реакций, белков, сайтов модификации. Причиной комбинаторного взрыва является наличие в системе элементов с независимо меняющимися свойствами. Увеличение числа таких свойств ведет к экспоненциальному росту числа возможных состояний элемента — комбинаторному взрыву. Для построения моделей, имеющих склонность к «комбинаторному взрыву», в последние 10 лет были разработаны методы rule-based моделирования. Принцип такого подхода заключается в замене явного кинетического уравнения на некоторый минимально необходимый шаблон.

Сложность при моделировании метаболизма липидов связана с комбинаторной природой этих соединений: небольшое число остатков жирных кислот и полярных “голов” в соединении с глицерином образуют все многообразие триглицеридных молекул. Химики описывают реакции синтеза и взаимных превращений липидов с помощью обобщенных реакций, напоминающих реакционные шаблоны rule-based моделирования.

Методами масс-спектрометрии были получены данные о том, что липидный состав в опухолевых тканях мозга отличается от липидного состава неопухолевых образцов. Модель, описывающая метаболизм липидов в опухолевых и неопухолевых образцах, поможет объяснить такие различия и использовать их для понимания процессов карциногенеза, диагностики и поиска новых видов лечения.

Задача данной работы состоит в том, чтобы продемонстрировать возможность использования rule-based моделирования на примере метаболизма жирных кислот. Первым этапом работы является описание синтеза жирных кислот, начиная с образования ацетил-Коа и заканчивая образованием длинных жирных кислот, таких как олеиновая и стеариновая кислоты.

Для описания и симуляции rule-based модели был использован язык Карра. На данный момент нами описаны на языке Карра все основные реакции синтеза жирных кислот, начиная с ацетил-Коа. Также был проведен анализ достижимости (reachability analysis) модели — первый этап проверки работоспособности модели. Такой анализ подтвердил, что все вещества, описываемые моделью, могут образоваться по правилам, заданным в модели.

Rule-based модель синтеза жирных кислот поможет прояснить изменения в метаболизме липидов, которые происходят в тканях мозга при развитии опухоли, и в будущем даст возможность отличать опухолевые ткани от неопухолевых, основываясь на данных масс-спектрометрии.

## **КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА И УФ СВЕТА**

**Толкаева М.С.<sup>1</sup>, Евстратова Е.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>МРНЦ им. А.Ф. Цыба филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

*marya.tolkaeva@yandex.ru*

Разрушение и истощение озонового слоя приводит к повышению фона УФ излучения, которое оказывает негативное воздействие на состояние окружающей среды. Особый интерес представляет изучение комбинированного действия УФ излучения с различными химическими факторами, которые могут так же приводить к негативным последствиям для окружающей среды и живых организмов. Одними из наиболее вредных для биосферы Земли химических загрязнений, имеющих самые разнообразные вредные последствия, являются загрязнения тяжелыми металлами.



В данной работе рассмотрено влияние совместного действия УФ света и йодида свинца(II) на выживаемость дрожжевых клеток. В опытах использовали диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* штамм XS800 в стационарной стадии роста. Перед облучением и добавлением йодида свинца(II) подготавливалась суспензия клеток с концентрацией до  $10^6$  клеток/мл. Облучение проводилось при длине волны УФ излучения 245 нм со следующими концентрациями растворов йодида свинца(II): 0,01 мг/мл, 0,1 мг/мл, 1 мг/мл, 10 мг/мл. Растворы йодида свинца(II), после добавления суспензии, разливались в кюветы диаметром 3,5 см по 2 мл после чего облучались УФ излучением 1-15 минут. После облучения производился посев клеток на питательную среду поверхностным методом. Для оценки результатов использовался показатель выживаемости клеток, оцениваемый отношением числа колоний, образованных клетками, подвергшимся облучению и действию йодида свинца(II), к числу контрольных колоний, сформированных необлученными и не подвергшимся действию йодида свинца(II) клетками. После проведения подсчетов были построены графики выживаемости клеток после совместного воздействия УФ излучения и йодида свинца(II), отдельного воздействия УФ излучения и отдельного воздействия соли исследуемого тяжелого металла в зависимости от продолжительности воздействия.

На полученных графиках кривая выживаемости дрожжевых клеток при совместном действии агентов снижается с увеличением времени воздействия и концентрации раствора, находясь одновременно выше, чем при действии отдельно УФ света и ниже, чем при действии отдельно йодида свинца(II). Таким образом, выживаемость дрожжевых клеток при совместном действии УФ излучения и йодида свинца(II), полученная экспериментальным путём выше, чем при независимом сложении действия двух агентов. Что свидетельствует о проявлении протекторного действия йодида свинца(II). Можно предположить, что полученный эффект связан с высокой отражательной способностью свинца.

## **ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТА МЕДИ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ГИПЕРТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ**

**Филимонова А.Н.<sup>1,2</sup>, Воробей О.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>МРНЦ им. А.Ф. Цыба филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия; <sup>2</sup>ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск, Россия

*filimonowa.af@gmail.com*

Ионизирующее излучение и некоторые химические агенты используются в ядерной медицине в комбинации с гипертермией, которая синергически усиливает действие физических и химических агентов. Ранее были установлены закономерности проявления синергических эффектов на клеточном уровне при комбинированном действии гипертермии с ионизирующим излучением, ультрафиолетовым светом и ультразвуком.

Было отмечено, что, во-первых, синергизм наблюдается не при любых, случайно выбранных «дозах» воздействующих агентов. Во-вторых, существуют как оптимальная действующая температура, так и оптимальная интенсивность физических факторов, используемых в комбинации с гипертермией, которые приводят к максимальному синергическому взаимодействию. В-третьих, синергизм зависит от интенсивности применяемых агентов, причем, чем меньше интенсивность физического фактора, тем при меньшей действующей температуре регистрируется максимальный синергический эффект. Эта закономерность указывает на принципиальную возможность синергического взаимодействия небольших интенсивностей вредных факторов окружающей среды, реально встречающихся в биосфере. Однако в настоящее время отсутствуют систематические данные, которые подтверждали бы выявленные универсальные закономерности для комбинированного действия сульфата меди агентов с гипертермией. Представляет интерес изучить закономерности комбинированного действия сульфата меди и гипертермии на дрожжевые клетки с целью поиска оптимальных режимов для достижения максимального значения синергизма.

Получены результаты определения выживаемости диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800) после одновременного и отдельного применения сульфата меди с гипертермией, а также теоретические кривые, рассчитанные при условии независимого сложения эффектов используемых факторов. Характер взаимодействия этих агентов



является синергическим. На основании полученных результатов, мы рассчитали зависимость коэффициента синергического усиления от действующей температуры. При одновременном действии сульфата меди и гипертермии при 50°C коэффициент синергического усиления был равен 2,76. Это значение является максимальным синергическим взаимодействием сульфата меди и гипертермии, так как любое отклонение действующей температуры от оптимального значения приводило к существенному снижению и даже прекращению синергического взаимодействия изученных факторов, которые практически используются в клинических исследованиях.

## **ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

**Хотина В.А.<sup>1</sup>, Наквасина М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

*nafany905@gmail.com*

Исследовано влияние внеклеточного кальция на структурно-функциональные свойства лимфоцитов периферической крови человека: поверхностную архитектуру, структурное состояние плазматических мембран, метаболический индекс, уровень активности ряда ключевых ферментов, внутри- и внеклеточной концентрации кальция, экспрессии Fas-рецепторов и процессы гибели. Использовались методы флуоресценции, спектрофотометрии, электронной микроскопии и проточной цитофлуориметрии. Лимфоциты инкубировали в растворах Хенкса с различной концентрацией кальция: без кальция, с нормальным содержанием кальция (1,3 ммоль/л) и избыточным (13 ммоль/л).

Обнаружили снижение уровня РНК, активности лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, глутатионредуктазы, повышение уровня активности Ca<sup>2+</sup>-АТФазы, а также изменения жизнеспособности и состояния поверхности иммуноцитов в средах без кальция и с его избытком по сравнению с таковыми для клеток в присутствии кальция в нормальной концентрации. Выявили незначительное увеличение концентрации внутриклеточного кальция в средах без кальция и с его избытком по сравнению с контролем. Инкубация иммуноцитов в «бескальциевой» и кальций содержащих средах инициировала статистически достоверное уменьшение концентрации внеклеточного кальция по сравнению с этой величиной для клеток без инкубации. Методом сканирующей электронной микроскопии обнаружили апоптотические клетки с характерными чертами округления в средах с избыточным и дефицитным содержанием кальция. С помощью проточной цитофлуориметрии выявили, что процессы клеточной гибели в условиях дефицита и избытка кальция реализуются преимущественно по механизму апоптоза и в меньшей степени некроза. Не обнаружены изменения уровня экспрессии Fas-рецепторов на поверхности лимфоцитов в средах с избытком и дефицитом кальция по сравнению с таковым для клеток, инкубированных при нормальной концентрации кальция. Следовательно, апоптоз лимфоцитов осуществляется не с участием Fas-опосредованного пути, а по другим механизмам. Вероятно, падение уровня, восстановленного глутатиона, АТФ, интенсификация свободно-радикальных реакций на поверхности лимфоцитов, изменения активности исследованных ферментов и снижение уровня РНК вносят вклад в изменение состояния митохондрий и реализацию митохондриального апоптотического пути.

Таким образом, можно заключить, что в условиях дефицитного и избыточного содержания внеклеточного кальция инициируются процессы апоптоза лимфоцитов, которые осуществляются, возможно, по митохондриальному пути, а также с участием протеинкиназы С.



## ДЛЯ ГЕНЕРАЦИИ $\text{Ca}^{2+}$ -ОТВЕТОВ НА АДЕНОЗИН МСК ИСПОЛЬЗУЮТ ФОСФОЛИПАЗНЫЙ ПУТЬ

**Черкашин А.П.<sup>1</sup>, Кочкина Е.Н.<sup>1</sup>, Котова П.Д.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*a.p.cher@ynadex.ru*

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию пролиферирующих недифференцированных клеток, включающую мультипотентные стволовые клетки. Хотя МСК активно исследуются во многих лабораториях, существующие представления об их рецепторных и сигнальных системах весьма ограничены. В данной работе исследовалась  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализация, инициируемая в МСК внеклеточным аденозином. МСК выделяли из жировой ткани человека, поддерживали в культуре, и изучали с использованием микрофотометрии,  $\text{Ca}^{2+}$ -зондов и ингибиторного анализа.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что популяция МСК гетерогенна по чувствительности к агонистам различных рецепторов. В настоящей работе мы анализировали сигнальные каскады, которые обеспечивают сопряжение аденозиновых рецепторов с мобилизацией внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . Выяснилось, что МСК генерируют нормальные по амплитуде и кинетике ответы на аденозин в отсутствие внешнего  $\text{Ca}^{2+}$ , что однозначно указывает на то, что основной вклад в эти ответы вносит выброс депонированного  $\text{Ca}^{2+}$ . Ингибитор PLC U73122 полностью подавлял ответы на аденозин, в то время как его неактивный аналог U73343 ожидаемо был неэффективен. Это свидетельствовало о том, что аденозиновые рецепторы в МСК сопряжены с фосфолипазой C, которая гидролизует  $\text{PIP}_2$  до  $\text{IP}_3$  и DAG. Образовавшийся  $\text{IP}_3$  стимулирует  $\text{IP}_3$  рецепторы  $\text{Ca}^{2+}$ -депо, о чем свидетельствуют эксперименты, в которых было показано, что антагонист  $\text{IP}_3$ -рецепторов 2-APB полностью подавлял ответы на аденозин, тогда как ингибитор рианодиновых рецепторов Ruanodine не влиял на способность МСК генерировать  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы на аденозин.

Перечисленные данные свидетельствуют о том, что МСК генерируют  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы на аденозин при участии классического фосфолипазного пути. Следует отметить, что для клеточных ответов на аденозин была характерна весьма необычная дозозависимость – амплитуда ответов фактически не зависела от концентрации апплицируемого аденозина. Этот необычный факт свидетельствует о том, что сигнальные процессы, запускаемые в МСК аденозином, не ограничиваются активацией только фосфолипазного сигнального каскада, и для их детализации требуются дальнейшие исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-34-00365 мол\_а.

## АКТИВНОСТЬ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ РЕГУЛИРУЕТСЯ ЛАТЕРАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ В ГИДРОФИЛЬНОЙ ОБЛАСТИ МЕМБРАНЫ

**Чулков Е. Г.<sup>1</sup>, Ефимова С. С.<sup>1</sup>, Остроумова О. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт Петербург, Россия

*echulkov@incras.ru*

Грибковые заболевания ежегодно уносят жизни до полутора миллиона человек по всему миру, что сравнимо со смертностью от туберкулёза и ВИЧ-инфекции, в то же время от одного до двух миллиардов человек являются носителями поверхностных микозов. Противогрибковые макролидные полиеновые антибиотики, такие как нистатин или амфотерицин, активно применяются в медицинской нанобиотехнологии для лечения пациентов, страдающих грибковыми заболеваниями. Среди модельных систем, использующихся для изучения взаимодействия полиенов с плазмолеммой, особый интерес представляют те, в которых антибиотик находится только с одной стороны мембраны, так как *in vivo* экзогенный агент взаимодействует только с внешней стороной клеточной мембраны. Будучи добавленными в омывающий раствор с одной стороны липидного бислоя, полиены способны значительно увеличивать его проводимость за счёт формирования ион-проницаемых асимметричных тороидальных полиен-липидных пор (Kleinberg and Finkelstein, 1984). Также в зависимости от состава и состояния липидного микроокружения полиены могут изменять активность в широких пределах.



Была поставлена задача: выяснить, какие особенности структуры и строения липидной мембраны влияют на эффективность порообразования полиеновыми антибиотиками. Для модификации параметров бислоя использовались флавоноиды и местные анестетики, способные изменять дипольный потенциал, характер фазовой сегрегации, вязкость и температуру плавления углеводородных цепей фосфохолиновой мембраны. Активность антимикотиков определялась по трансмембранному току, индуцированному односторонней добавкой полиена к стерин-содержащему фосфохолиновому бислою. Показано, что флавоноиды таксифолин, кверцетин, мирицетин, флоретин и флорицин, а также местные анестетики тетракаин и бупивакаин увеличивают индуцированный полиеном трансмембранный ток. Эффект может быть объяснен увеличением латерального давления в области липидного устья полиеновой поры и облегчением формирования проводящего канала. В то же время изменения дипольного потенциала мембраны под действием указанных модификаторов не коррелируют с ростом полиен-индуцированного трансмембранного тока.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00968.

### **ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ИЗОЛИРОВАННОГО ПЕРФУЗИРУЕМОГО ОРГАНА ПРИ ГИПОКСИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

**Шадрин К.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения РФ, Красноярск, Россия

*kvsh\_buffon@mail.ru*

При управляемом культивировании изолированных органов определение качества их функционирования осуществляется на основе анализа ряда измеряемых показателей: полного сосудистого сопротивления, парциального давления кислорода и углекислого газа и т.д. К сожалению, такой подход не позволяет сделать вывод о жизнеспособности органа в целом. Эта задача еще больше усложняется в том случае, если орган при культивировании попадает в экстремальное состояние, примером которого может служить гипоксия. При гипоксии регуляция клеточного метаболизма во многом определяется уровнем обеспечения клеток энергетическими субстратами, поэтому актуальным является выявление параметра, отражающего уровень обеспеченности энергетическими ресурсами клеток изолированного органа, находящегося в состоянии гипоксии.

Определение обеспеченности энергетическими ресурсами изолированного перфузируемого органа и согласованности их распределения в его клетках проводили с применением методологии Ципфа-Парето об оптимальном распределении ресурсов. Использовали уравнения рангового распределения Ципфа-Парето и Ципфа-Парето-Мандельброта, коэффициент детерминации для которых показывает степень согласованности распределения ресурсов между потребителями. Для построения модели распределения ресурсов в изолированной перфузируемой печени использовали величины субстратных потоков, полученные в результате потокового моделирования. Экспериментальные данные для потоковой модели получали с использованием метода управляемой перфузии печени для условий нормального снабжения изолированного органа кислородом (нормоксия) и при гипоксии (нормобарической и гистотоксической).

Было получено, что для нормоксии наблюдаются высокие значения коэффициента детерминации уравнения Ципфа-Парето. Это свидетельствует о том, что при нормальном снабжении кислородом изолированного органа его метаболическая система работает оптимально и энергетические ресурсы распределяются наиболее эффективно и конкуренция идет только за один вид энергетических ресурсов.

При гипоксии ранговое распределение метаболических потоков описывается уравнением Ципфа-Парето-Мандельброта также с высоким значением коэффициента детерминации. Это можно объяснить присутствием внешнего экстремального воздействия – гипоксии, причем, как нормобарической, так и гистотоксической.



Таким образом, можно заключить, что коэффициент детерминации прямых Ципфа-Парето и Ципфа-Парето-Мандельброта представляет собой параметр качественной и количественной оценки состояния энергетического метаболизма, изолированного перфузируемого органа.

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СИНУСОВОГО РИТМА ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ НАТРИЕВОГО ТОКА В КЛЕТКАХ СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА СЕРДЦА

**Шмарко Д.В.<sup>1,2</sup>, Хохлова А.Д.<sup>1,2</sup>, Лебедева Е.А.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина; <sup>2</sup>ФГБУН "Институт иммунологии и физиологии" УрО РАН; <sup>3</sup>ФГУН Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН

*d.shmarko@yandex.ru*

До сих пор остаются противоречивыми литературные данные по влиянию нарушения функционирования натриевых ионных каналов на электрогенез пейсмекерных клеток синоатриального узла (САУ) сердца [1, 2].

Целью работы являлось исследование влияния ингибирования натриевого тока на генерацию потенциала действия (ПД) клеток САУ и анализ способов восстановления нормального ритма при его нарушении при помощи математического моделирования.

Были выбраны математические модели, отличающиеся механизмами генерации ПД в клетках САУ кролика: модель Zhang [3], не учитывающая внутриклеточную динамику ионов  $Ca^{2+}$ , модель Алиева [4], учитывающая внутриклеточную динамику ионов  $Ca^{2+}$  и модель Мальцева и Лакатта [5], в которой  $Ca^{2+}$ -высвобождающая система работает в автоколебательном режиме как самоподдерживающийся устойчивый осциллятор.

Для верификации результатов моделирования были использованы экспериментальные данные по влиянию лидокаина, ингибитора натриевых каналов, на генерацию ПД в клетках САУ кролика [6].

Во всех математических моделях при уменьшении  $g_{bNa}$  увеличился период колебаний и замедлилась скорость фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{\max}$ ), что соотносится с данными эксперимента при концентрации лидокаина 500 мкМ.

При добавлении лидокаина в концентрации 1000 мкМ было отмечено прекращение генерации ПД после пяти минут экспозиции. Аналогичный эффект был воспроизведен в модели [5] при уменьшении  $g_{bNa}$  на 40%.

При уменьшении  $g_{bNa}$  на 40% были подобраны значения проводимостей других ионных каналов, при которых восстанавливалась генерация ПД.

Отметим, что увеличение проводимости кальциевых каналов L-типа на 0.8% привело к восстановлению генерации ПД.

Ингибирование натриевого тока в клетках истинного водителя ритма САУ может приводить к прекращению его электрической активности. Анализ моделирования восстановления нормального синусового ритма показал, что наиболее в таких условиях мембрана клетки чувствительна к изменению кальциевого тока L-типа.

Исследования проводились по гос. теме № АААА-А18-118020590031-8 (Шмарко Д.В., Хохлова А.Д.) и № ГР АААА-А17-117012310152-2 (Лебедева Е.А.).

1. Kodama I. et al. Am J Physiol, 272, (1997).
2. Головкин В. А. Росс. физиол. ж. им. И.М.Сеченова, 95, (2009).
3. Zhang H. et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 279, (2000).
4. Алиев Р. Р., Чайлахян Л. М. Доклад РАН, 402, (2005).
5. Maltsev V. A., Lakatta E. G. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 296, (2009).
6. Лебедева Е.А. Известия Коми научного центра, 3(15), (2013).



## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АЛГОРИТМОВ СБОРКИ ГЕНОМОВ DE NOVO ДЛЯ ДАННЫХ ПОЛНОГЕНОМОНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ *APHIS FABAE MORDVILKOI*

Шулинский Р.С.<sup>1</sup>, Кветко П.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>БГУ, Минск, Беларусь

*shulinsky@mail.ru*

На сегодняшний день существует ряд программ, которые способны выполнять задачи *de novo* сборки, однако в связи с различными технологиями секвенирования, качеством и длиной прочтений, особенностями генома целевого организма, результаты *de novo* сборки для определенных данных могут существенно различаться. В данной работе мы сравнили результаты сборки для данных полногеномного секвенирования *Aphis fabae mordvilkoii* с помощью ассемблеров ABySS 2.0 и Velvet, модуль Columbus.

Оценка качества прочтений была произведена в программе FastQC. Тримминг некачественных прочтений проводили в программе Trimmomatic. Сборке контиг проводили в ассемблерах ABySS 2.0 и Velvet, модуль Columbus. Для генерирования и сортировки SAM файлов, которые необходимы для работы модуля Columbus мы использовали программы Bowtie2 и Samtools. Сравнение эффективности алгоритмов проводили по таким статистическим показателям как количество контиг, N50, максимальная длина контиги.

Была выполнена работа по поиску оптимальной длины k-меры, в ходе которой которой мы тестировали данное значение от 20 до 120 с шагом в 10 единиц, и, в интервале наилучших статистических показателей сборки, с шагом в 2 единицы. Оптимальным значением k-меры для ассемблера ABySS 2.0 для данных полногеномного секвенирования *A. fabae mordvilkoii* оказалось значение 80, при котором результаты сборки имели следующие статистические показатели: 2 756 558 контиг со значением N50 равным 762, суммарной длиной контиг  $129,4 \times 10^6$  и максимальной длиной контиги равной 4 155 нуклеотидов. При сборке с помощью ассемблера Velvet, модуль Columbus, который позволяет пользователю учитывать результаты маппинга по близкородственному референсу, в качестве которого использовали *Aphis glycines*, что эффективно помогает процессу сборки. При значении k-меры равном 101, результаты сборки имели следующие статистические показатели: 1 906 288 контиг со значением N50 равным 2 996 и суммарной длиной контиг  $378,6 \times 10^5$ . Максимальная длина контиги при данной сборке составляла 74 761 нуклеотид.

Как видно из вышепоказанных результатов, ассемблеры, предоставляющие возможность учитывать результаты маппинга, намного повышают статистические показатели *de novo* сборки. В частности, при использовании одних и тех же данных, но разных алгоритмов сборки, один из основных статистических показателей N50 повысился в 5,5 раз, а максимальная длина контиги увеличилась более чем на 70 000 нуклеотидов, что сделает дальнейшие этапы *de novo* сборки, а также поиск целевых генов, находящихся в этих контигах более эффективным.

## БИОСОКРАТИМЫЕ МИКРОКАПИЛЛЯРЫ НА ОСНОВЕ СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ ДЛЯ ПЕРИСТАЛЬТИЧЕСКОЙ ПРОКАЧКИ ЖИДКОСТИ

Шутько А.В.<sup>1</sup>, Горбунов В.С.<sup>1</sup>, Гурия К.Г.<sup>1</sup>, Агладзе К.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАО Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*kkguria@gmail.com*

Относительно новая и быстро развивающаяся область тканевой инженерии - создание микро-устройств, приводимых в движение биологическими тканями и клетками. Этот тип устройств имеет множество потенциальных применений, начиная от исследования фундаментальных механизмов биологической подвижности и адресной доставки веществ и заканчивая тестированием лекарственных средств в системах типа «орган-на-чипе». Еще одной новой областью исследований в этом направлении является создание биоуправляемых микро-насосов. В последнее время было предложено несколько конструкций таких насосных устройств. Все они имеют общую особенность: поток жидкости в них создается сократительной силой кардиомиоцитов, воздействующих на тонкие мембраны. Хотя мощность такого рода микро-насосов намного меньше, чем у их электромеханических аналогов, тем не менее, их дальнейшее





развитие представляется весьма перспективным. Принимая во внимание их биосовместимость и отсутствие потребности в каком-либо внешнем источнике энергии (за исключением глюкозы, растворенной в культуральной среде), представляется, что этот тип насосов на основе клеток может найти свое применение в создании сложных биогибридных структур и тканеинженерных тест-систем.

Целью настоящей работы являлось создание принципиально нового типа микро-насоса, состоящего из канала с тонкой сократимой стенкой, покрытой кардиомиоцитами. Прокачка жидкости в данном типе насосов осуществляется за счет перистальтических движений стенок канала, вызываемых распространением волн возбуждения по их поверхности. В дальнейшем такой микро-насос может быть использован в качестве биофизической модели для исследования электромеханического сопряжения и механо-электрической обратной связи в сердечной ткани, а также для создания систем микро-вакуляризации искусственных тканеинженерных конструкций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-60225\_мол\_а\_дк.

## **ПЕРОКСИД ВОДОРОДА В ОТВЕТЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ЦИСПЛАТИНА**

**Щукина К.М.<sup>1</sup>, Неруш А.С.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАО ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (ННГУ); <sup>2</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН

*KsushaSchukina1995@yandex.ru*

Роль пероксида водорода ( $H_2O_2$ ) в качестве вторичного мессенджера, в регулировании фундаментальных биологических процессов, была обнаружена недавно и все чаще подтверждается новыми данными.  $H_2O_2$  участвует в терапевтических процессах, таких как ранозаживление, антибактериальная защита, пролиферация стволовых клеток и адаптивный ответ астроцитов для нейрональной защиты. Однако избыточное производство  $H_2O_2$  оказывает токсическое воздействие на клетки и окружающую их среду. Последние данные показывают, что искусственное повышение внутриклеточного уровня  $H_2O_2$  может быть эффективным способом уничтожения раковых клеток.

В работе было проведено исследование роли пероксида водорода в цисплатин-индуцированной гибели опухолевых клеток при участии ловушки АФК N-ацетил-L-цистеина (НАС). Работа проводилась с использованием линии клеток HeLa Kyoto, трансфицированной флуоресцентным сенсором  $H_2O_2$  HyPer2.

Клетки высаживались на 12-луночные планшеты в количестве 100 тысяч клеток на лунку за сутки до эксперимента, затем клетки подвергались воздействию 16,6 мкМ цисплатина в присутствии или отсутствии N-ацетил-L-цистеина (НАС) (5 мМ), кроме того, использовали клетки, не подвергающиеся воздействию ни цисплатина, ни НАС. Для исследования цитотоксичности цисплатина в условиях действия НАС было использовано два методических подхода: окрашивание трипановым синим с подсчетом жизнеспособных и мертвых клеток на камере Горяева и окрашивание PE Annexin V и 7-AAD с анализом путей клеточной гибели методом проточной цитофлуориметрии (с одновременной регистрацией отклика сенсора  $H_2O_2$ ).

Результаты окрашивания трипановым синим клеток продемонстрировали, что цисплатин индуцирует снижение процента жизнеспособных клеток, а НАС уменьшает данный эффект. Таким образом, использование НАС приводит к снижению цитотоксичности цисплатина, что демонстрирует участие АФК в процессе гибели.

Проточная цитометрия позволила определить, что цисплатин индуцирует гибель клеток по пути апоптоза, при этом самые ранние стадии его развития сопровождаются накоплением  $H_2O_2$ . НАС уменьшает процент положительных по PE Аннексину V клеток, демонстрируя роль АФК в реализации апоптоза при действии цисплатина. При этом содержание пероксида водорода снижается по сравнению с подвергнутыми химиотерапии, но необработанными НАС клетками. Такая реакция наблюдается как в популяции живых, так и апоптотических клеток.

Можно утверждать, что активные формы кислорода играют важную роль в реализации механизма цисплатин-индуцированной клеточной гибели и пероксид водорода является одним из участников этого процесса.