

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ
И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СО РАН
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СО РАН
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ СО РАН
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ВСЕРОССИЙСКАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АССОЦИАЦИЯ
«СИМБИОЗ-РОССИЯ»**

СИМБИОЗ – РОССИЯ 2015

**МАТЕРИАЛЫ
VIII ВСЕРОССИЙСКОГО С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
КОНГРЕССА МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ-БИОЛОГОВ**

5–9 октября 2015 г.

**Новосибирск
2015**

УДК 15.010
ББК Ю 9

С37 Симбиоз – Россия 2015 : материалы VIII Всеросс. с междунар. участием конгресса молодых учёных-биологов / Новосиб. гос. ун-т. – Новосибирск, 2015. – 160 с.

ISBN 978-5-4437-0443-2

Конгресс проводится при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-34-10398), Фонда «Эндаумент НГУ», Ассоциации выпускников «СОЮЗ НГУ», инновационных компаний Новосибирска и России.

Председатель оргкомитета

академик РАН, д-р биол. наук, проф. Валентин Викторович Власов

Сопредседатели оргкомитета

академик РАН, д-р биол. наук, проф. Игорь Фёдорович Жимулёв
чл.-корр. РАН, д-р биол. наук, проф. Сергей Викторович Нетёсов

Заместители председателя

чл.-корр. РАН, д-р биол. наук, проф. Николай Николаевич Дыгало
д-р хим. наук, проф., Владимир Анатольевич Резников
канд. хим. наук, проф. Светлана Дмитриевна Мызина

Экспертный совет:

д-р биол. наук, доцент Татьяна Николаевна Ильичева
д-р мед. наук, проф. Галина Израилевна Лифшиц
д-р биол. наук, проф. Елена Ивановна Рябчикова
д-р биол. наук, проф. Михаил Георгиевич Сергеев
д-р биол. наук, проф. Лидия Владимировна Шестопалова
канд. биол. наук Сергей Владимирович Гусельников
канд. биол. наук Владимир Олегович Пустыльняк
канд. биол. наук Маргарита Владимировна Тарасова
канд. хим. наук, доцент Людмила Михайловна Халимская

УДК 15.010
ББК Ю 9

ISBN 978-5-4437-0443-2

© Новосибирский государственный университет, 2015

**MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF RUSSIA
NOVOSIBIRSK STATE UNIVERSITY
INSTITUTE OF CHEMICAL BIOLOGY AND
FUNDAMENTAL MEDICINE SB RAS
INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS SB RAS
INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY SB RAS
NOVOSIBIRSK STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY
ALL-RUSSIAN BIOLOGY ALLIANCE "SYMBIOSE-RUSSIA"**

SYMBIOSE – RUSSIA 2015

**PROCEEDINGS
OF THE 8TH RUSSIAN CONGRESS OF YOUNG BIOLOGISTS**

October, 5–9, 2015

**Novosibirsk, Russian Federation
2015**

UDC 15.010
ББК Ю 9

SymBioSE – Russia 2015: Proceedings of the 8th Russian Congress of Young Biologists / Novosibirsk State University. Novosibirsk, Russian Federation. 2015. 160 pp.

ISBN 978-5-4437-0443-2

The conference is hekermyzld with the significant support of Russian Foundation for Basic Research (grant № 15-34-10398), Fund “Endowment NSU”, NSU Alumni Union, innovative companies of Novosibirsk and Russia.

Conference chair

Acad. RAS, Dr. Biol., Prof. Valentin Vlasov

Conference co-chairs

Acad. RAS, Dr. Biol., Prof. Igor Zhimulev
Corr. Mem. RAS, Dr. Biol., Prof. Sergey Netesov

Conference vice-chairs

Corr. Mem. RAS, Dr. Biol., Prof. Nikolai Dygalo
Dr. Chem., Prof. Vladimir Reznikov
Cand. Chem., Prof. Svetlana Myzina

Scientific board

Dr. Biol., Assoc. Prof. Tatyana Ilyicheva
Dr. Med., Prof. Galina Lifshits
Dr. Biol., Prof. Elena Ryabchikova
Dr. Biol., Prof. Michael Sergeev
Dr. Biol., Prof. Lidia Shestopalova
Cand. Biol. Sergey Gusel'nikov
Cand. Biol. Vladimir Pustyl'nyak
Cand. Biol. Margarita Tarasova
Cand. Chem., Assoc. Prof. Ludmila Khalimskaya

UDC 15.010
ББК Ю 9

ISBN 978-5-4437-0443-2

© Novosibirsk State University, 2015

БИОМЕДИЦИНА

УДК 57.085.23

РАЗРАБОТКА И ИСПЫТАНИЯ НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА АНТИОНКОРАН-М

И. В. Алексеенко, Е. Д. Свердлов
Институт молекулярной генетики РАН, г. Москва
e-mail: irina.alekseenko@mail.ru

Разработан новый генно-терапевтический препарат АнтионкоРАН-М, который представляет собой комплекс генной конструкции, содержащей ген-убийцу тимидинкиназу вируса простого герпеса (HSVtk) и ген-иммуномодулятор GM-CSF и блок-сополимера ПЭГ (полиэтиленгликоль)-ПЭИ (полиэтиленимин). Для облегчения проникновения в клетки к блок-сополимеру ПЭИ-ПЭГ дополнительно присоединен фрагмент ТАТ-белка, повышающий эффективность проникновения блок-сополимера в клетки.

HSVtk – фермент, который способен фосфорилировать низкотоксичный аналог гуанозина – ганцикловир до ганцикловир-монофосфата. Когда в опухолевые клетки доставляется извне ганцикловир, клетки, трансформированные HSVtk, погибают, поскольку HSVtk превращает его в ганцикловирмонофосфат, который затем клеточные киназы фосфорилируют до ганцикловиртрифосфата. Последний при клеточном делении включается во вновь синтезированную цепь ДНК и обрывает ее дальнейший синтез. Очень важной особенностью данного подхода является способность вновь образуемого ганцикловиртрифосфата высвобождаться из клетки, в которой он был образован, и проникать в соседние раковые клетки, вызывая их гибель. Образование токсинов внутри раковых клеток и их диффузия в соседние клетки резко снижает токсичность препарата и увеличивает его терапевтический индекс.

Показано, что внутриопухолевое введение АнтионкоРАН-М в сочетании с внутрибрюшинным введением ганцикловира приводит к биологически значимому противоопухолевому эффекту у животных с привитой саркомой S37. На 30 сутки наблюдения торможение роста опухоли у животных, получавших АнтионкоРАН-М в сочетании с ганцикловиром составило 82%. Саркома S37 обладает высоким потенциалом метастазирования, приводя к поражению регионарных лимфоузлов. В группе леченных животных торможение метастазирования составило 83%, увеличение продолжительности жизни животных – 70%.

Исследование поддержано грантом Президента России МК-6185.2015.4.
Научный руководитель: канд. биол. наук. И. В. Алексеенко.

ПОИСК И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПЕПТИДНЫХ БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

И. В. Азаркин, Р. Х. Зиганшин, Г. П. Арапиди, С. И. Ковальчук,
О. М. Иванова, В. О. Шендер, Н. А. Аниканов, В. М. Говорун, В. Т. Иванов
Институт биоорганической химии
им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, г. Москва
e-mail: garik.igor.azar@gmail.com

По данным Международного агентства по исследованию рака IARC колоректальный рак (КРР) является третьим по распространённости онкологическим заболеваниями у мужчин и вторым – у женщин. Одной из важнейших проблем мониторинга и лечения КРР является его ранняя диагностика. Целью настоящей работы является выявление в сыворотке крови пациентов с КРР пептидных маркеров этого заболевания с использованием новейших протеомных подходов.

В нашей работе были выделены пептиды из образцов сыворотки крови 50 пациентов с КРР и 50 здоровых доноров. Для выделения пептидов использовали последовательно магнитные микрочастицы со слабой катионообменной поверхностью. Полученные в результате пептидные фракции обессоливали и анализировали методом LC-MS/MS на квадрупольно-времяпролетном масс-спектрометре ABSciex TripleTOF 5600+. Относительную квантификацию идентифицированных сывороточных пептидов проводили методом безметочной масс-спектрометрии SWATH (sequential windows acquisition of all theoretical ion-fragments spectra).

Использованная схема позволила идентифицировать более 6000 уникальных пептидов, являющихся фрагментами более 1000 белков. В результате SWATH анализа пептидных фракций образцов сыворотки крови пациентов с КРР и здоровых доноров была проведена относительная квантификация 2761 пептида. Среди квантифицированных пептидов выявлены 163 пептида, содержание которых в образцах КРР более чем в 3 раза превышало их содержание в контрольных образцах, и 57 пептидов, содержание которых в контрольных образцах более чем в 3 раза превышало их содержание в образцах КРР.

В настоящий момент разрабатывается клинично-диагностическая система анализа пептидных биомаркеров для диагностики КРР.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

Научный руководитель: канд. хим. наук Р. Х. Зиганшин.

ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ М- И Н-ОТВЕТОВ ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ В ХРОНИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА ПРИ СОЧЕТАНИИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ РЕАБИЛИТАЦИИ

М. Э. Балтин, Н. Ф. Ахметов
Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: baban.bog@mail.ru

Методы реабилитации, которые сочетали бы в себе лечение, способное предотвратить активацию вторичной травмы, и, одновременно, изменить структуру и эффективность синапсов в поврежденной ЦНС, имеют большие перспективы в оптимизации стратегий функционального восстановления. Целью нашего исследования было оценить эффективность комбинированного лечения экспериментальной травмы спинного мозга (ТСМ) у крыс с использованием метилпреднизалона и двигательного научения.

Моделировали дозированную контузионную ТСМ на уровне Th3-Th4 по модифицированной методике Allena (1914). Эксперименты проведены с соблюдением биоэтических норм. Терапевтический протокол состоял из введения 30 мг/кг метилпреднизалона (МП) через 8 часов после травмы, с последующим повторным внутривенным введением через 24 и 48 часов после травмы. С 14 суток после ТСМ проводили ежедневные тренировки крыс на трейдбане с поддержкой веса тела по 20 минут. Проводили электромиографическую оценку состояния нейро-моторного аппарата через 30 суток после травмы.

Использование двигательной тренировки в хроническом периоде после ТСМ оказало положительный эффект на восстановление двигательных функций. Нами показано, что сочетанное применение двигательной тренировки и МП не привело к улучшению двигательных функций. Мы наблюдали при сочетанной терапии ухудшение показателей, хотя и не достоверные. Возможно, что механизмы, лежащие в основе двух моделей лечения не только различны, но и противоположны. В литературе встречаются данные, когда терапия одним методом может помешать производительности другого. Однако оптимальное сочетание комбинации методов лечения, для наилучшей реабилитации остается интересной задачей для будущих исследований.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01746а.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент, Т. В. Балтина

**ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ
ГЛИКОМНОГО ПРОФИЛЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА
КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА (CGE-LIF).**

И. В. Быкова, О. О. Зайцева, Я. А. Цепилов,
А. И. Закабунин, Е. А. Храпов
Новосибирский государственный университет
e-mail: fermoza@gmail.com

Углеводная часть гликопротеина называется гликаном. Гликомом называют совокупность гликанов, выделенных из образца определенным образом. При разделении гликанов тем или иным методом можно получить гликомный профиль. При некоторых патологиях происходит изменение гликомного профиля, процент некоторых сахарных структур может увеличиться или уменьшиться, или возникнет новая структура, совершенно отличная от изначальной. Эти данные могут расширить фундаментальную картину о механизме заболевания.

Перед нами стояла задача оптимизации методики получения гликаных профилей из белков плазмы крови методом CGE-LIF и анализа полученных результатов.

За основу была взята следующая методика. Гликаны выделялись и мегились флуоресцентным красителем: натриевой солью 8-аминопурин-1,3,6-трисульфониловой кислоты (APTS). Для очистки от краски гликаны наносились на гель P-10, с которым связывались. После промывки ацетонитрилом и избавления от не связавшейся краски гидрофильные гликаны элюировали водой. Анализ полученных гликомов осуществлялся при помощи CGE-LIF (capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence detection) на приборе Applied Biosystems 3130.

Оптимизированные нами условия очистки с помощью процедуры HILIC-SPE (Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography based Solid Phase Extraction) позволили получать воспроизводимые результаты. Были проанализированы образцы плазмы крови. Полученные таким образом данные подверглись дальнейшему биоинформатическому анализу.

По литературным данным, полученным при разделении гликанов плазмы крови с использованием капиллярного электрофореза гликаны плазмы крови формируют 30 пиков, содержащих 35 гликанов. На полученных нами электрофореграммах было идентифицировано 26 пиков, которые соответствовали по литературным данным 31 гликану.

Научные руководители: д-р биол. наук Ю. С. Аульченко,
канд. биол. наук М. Л. Филипенко

ИНФОРМАЦИОННО-ИЗМЕРИТЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВЛЕНИЯ ПО ОПОРНОЙ ПОВЕРХНОСТИ СТОП ЧЕЛОВЕКА

Э. А. Даминова

Уфимский государственный авиационный технический университет
e-mail: 11ed@mail.ru

Известны заболевания, диагностику которых проводят узкие специалисты с применением специальных устройств. Среди таких заболеваний можно выделить плоскостопие и синдром диабетической стопы. Если плоскостопие, на первый взгляд, не так безобидно, что с точки зрения медицины далеко не так, то вот синдром диабетической стопы имеет весьма печальную статистику и последствия.

Задачей работы является разработка устройства, которое основано на принципиально новом подходе к диагностике распределения давления по опорной поверхности стопы человека. Известные ныне приборы и системы являются морально устаревшими и занимают много места в помещениях, являются не мобильными. Функциональные возможности современных отечественных систем несколько ограничены и требуют значительной доработки.

Разрабатываемая система диагностики отчасти решит проблему многозадачности. Благодаря размещению датчиков система может быть использована не только в целях диагностики, но и в исследовательских целях: в спортивной медицине, постурологии.

Система состоит из измерительных стелек, со встроенными датчиками и каналом передачи данных, а также блока получения и обработки данных о давлении. Обработка и интерпретация полученных данных производится на персональном компьютере с использованием специализированного программного обеспечения.

В качестве первичных преобразователей в системе могут быть использованы как тензодатчики (интегральные преобразователи давления), так и сенсорные чувствительные элементы. Возможно это благодаря подобранной современной элементной базе системы. В основе работы системы лежит принцип пропорционального изменения электрического сигнала при изменении давления.

Работа выполняется при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере в рамках программы «У.М.Н.И.К.»

Научный руководитель: канд. техн. наук, доцент Т. В. Мирина

**ВЛИЯНИЕ BONE MORPHOGENETIC PROTEIN – 7 (BMP-7) И
ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ
АКТИВНОСТЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
КОСТНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА.**

Г. С. Демжанова, Т. Д. Укбаева
Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилева,
г. Астана, Казахстан
e-mail: demzhanova.gulnafis@mail.ru

В настоящее время в связи с развитием регенеративной медицины, ученые всего мира разрабатывают методы клеточной трансплантации стволовых клеток (СК), в том числе мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСК КМ) с целью замещения в организме поврежденных клеток и тканей опорно-двигательного аппарата.

Целью работы является изучение влияния ростового фактора BMP-7 и гиалуроновой кислоты (ГК) на пролиферацию МСК костного мозга человека, а также влияния BMP-7 на дифференциацию клеток в хондрогенном направлении. Измерение пролиферативной активности МСК проводили с помощью МТТ-теста (Mossman, 1983г.). В исследуемые клетки добавляли среду DMEM с различными концентрациями ГК: 0,12%, 0,25%, 0,5% и BMP-7: 10нг, 50нг и 100 нг. Оптическую плотность измеряли при 570 нм на спектрофотометре для планшет (Biorad, Model 680, Франция).

При тестировании разных концентраций ГК было выявлено, что наибольший эффект на пролиферацию МСК наблюдался при добавлении 0,25% ГК, что почти в два раза больше по сравнению с контролем. При концентрациях 0,12% и 0,5% пролиферативный эффект ГК на МСК был незначительным.

Измерение оптической плотности клеток при использовании BMP-7 в дозах 10нг, 50нг и 100нг установило снижение показателей почти в два раза по сравнению с контролем.

В результате дифференциации МСК в хондрогенном направлении с добавлением BMP-7 (100нг) были получены хондрогеновые микрошарики размером до 2 мм, а в контрольной группе - размером 0,5 -1,0 мм.

Таким образом, установлено, что BMP-7 играет существенную роль в хондрогенезе (100нг), а гиалуроновая кислота оказывает влияние на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток в концентрации 0,25%.

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. Т.Д. Укбаева

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ У БОЛЬНЫХ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Ю. Б. Дорофеева¹, И. В. Салтыкова¹, В. А. Петров¹, С. В. Федосенко¹,
Л. М. Огородова¹, А. С. Попенко², А. В. Тяхт², Н. А. Кириллова¹,
Е. С. Куликов¹, И. А. Деев¹, В. М. Говорун^{2,3}, Е. С. Кострюкова^{2,3}

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² НИИ Физико-химической медицины, г. Москва

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: julia.dorofeeva25@gmail.com

Бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), - наиболее распространенные хронические заболевания органов дыхания у взрослых. Ранее микробиота дыхательных путей при БА и ХОБЛ уже была охарактеризована, но не проводилась ее сравнительная характеристика.

В исследование были включены 138 пациентов с БА и ХОБЛ. Для получения микробиоты были забраны орофарингеальные мазки, по которым оценивался видовой состав путем секвенирования по переменным регионам V3-V4 последовательности генов 16S рНК на приборе Illumina MiSeq.

Фильтрация ридов по качеству и их классификация по таксонам были выполнены при помощи программного обеспечения QIIME, в качестве референсной базы данных послужила Greengenes версии V13.5. Для статистического анализа был применен пакет metagenomeSeq языка R.

В ходе исследования обнаружено преобладание у больных ХОБЛ бактерий родов: *Mycoplasma*, *Actinomyces*, *Bordetella*, *Aggregatibacter*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Catonella*. Тогда как у больных с БА более высокой, чем у пациентов с ХОБЛ оказалась представленность рода *Selenomonas*, *Granulicatella* и *Gemella*.

В то же время у больных тяжелой неконтролируемой БА и ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения статистически значимые различия в составе микробиоты не выявлены, что позволяет предположить схожий характер активности иммунной системы при тяжелых стадиях патологий.

Научный руководитель: канд. мед. наук И.В. Салтыкова

ВЛИЯНИЕ МОДЕЛИРУЕМОЙ ОПОРНОЙ РАЗГРУЗКИ И ОДНОСТОРОННЕЙ ПЕРЕРЕЗКИ СУХОЖИЛИЯ НА ПАРАМЕТРЫ МОТОРНОГО ОТВЕТА ИКРОНОЖНЫХ МЫШЦ КРЫСЫ

М. В. Кузнецов, А. О. Федянин, М. А. Чеботарев
Казанский (Приволжский) федеральный университет
kyznetcov.m@gmail.com

Неоднократно было показано, что с помощью пассивного растяжения можно уменьшить степень атрофии и изменить баланс синтеза и распада белков *m. soleus* «вывешенной» конечности. В выполненном в лаборатории эксперименте антиатрофический эффект растяжения при вывешивании крыс был столь же выражен, как и эффект физических нагрузок. Целью настоящей работы являлось изучить характеристики моторных ответов контралатеральной (на стороне противоположной оперированной) икроножной мышцы при гравитационной разгрузке в сочетании с односторонней перерезкой сухожилия каудальной большеберцовой мышцы.

Исследование проводили на 10 нелинейных лабораторных крысах массой 130-150 г. Оценивали функциональное состояние нейро-моторного аппарата икроножной мышцы крысы при моделируемой гравитационной разгрузке задних конечностей в сочетании с односторонним пассивным растяжением икроножной мышцы, осуществляемым перерезкой сухожилия каудальной большеберцовой мышцы (тенотомией). Все эксперименты выполнены с соблюдением биоэтических норм.

Порог М-ответа ипсилатеральной икроножной мышцы (ИИМ) крысы через 7 суток после перерезки сухожилия и разгрузки задних конечностей составил $75 \pm 10\%$, а контралатеральной (КИМ) – $85 \pm 12\%$, от контроля ($p < 0.05$). Затем его величина изменялась, и через 14 суток значение ИИМ – $55 \pm 15\%$, КИМ - $48 \pm 13\%$, в сравнении с контролем ($p < 0.05$). Амплитуда М-ответа ИИМ крысы через 7 суток составила $87 \pm 17\%$, КИМ - $95 \pm 15\%$ в сравнении с контролем ($p > 0.05$). Через 14 суток после вывешивания и перерезки сухожилия значение амплитуды М-ответа мышц достоверно не различалось, (ИИМ - $80 \pm 15\%$, КИМ - $110 \pm 16\%$ от контроля ($p > 0.05$)).

Вероятно, снижение степени растяжения мышцы при воздействии микрогравитации не сказывается на характеристиках регистрируемых электромиографических показателей.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-05951 а.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент, А. А. Еремеев.

**ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ
ПРОЦЕССОВ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА НА МОДЕЛИ
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

И. М. Голомидов, П. А. Мелентьев

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова,
Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
г. Гатчина,
e-mail: ilia_stv@mail.ru

Болезнь Паркинсона – нейродегенеративное заболевание, обусловленное дегенерацией нейронов, продуцирующих нейромедиатор дофамин. Характерным признаком заболевания является наличие телец Леви, которые образуются в результате скопления в цитоплазме белка альфа-синуклеина (SNCA). Биологические функции альфа-синуклеина до сих пор остаются малопонятными.

Для анализа функций альфа-синуклеина, в данной работе была использована модель болезни Паркинсона на *Drosophila melanogaster*. Были использованы следующие линии мух, несущие разные формы гена альфа-синуклеина человека: UAS-SNCA.WT – содержит ген альфа-синуклеина дикого типа, UAS-SNCA.A30P – содержит ген альфа-синуклеина с мутацией A30P, UAS-SNCA.A53T – содержит ген альфа-синуклеина с мутацией A53T. Для экспрессии альфа-синуклеина только на стадии имаго была использована система Target, позволяющая экспрессировать гены на определенной стадии развития дрозофилы. Экспрессия альфа-синуклеина проводилась в нервных клетках дрозофилы в течение двух недель при 29° С, далее экспрессия была остановлена и развитие продолжалось при 18° С. В первый день после вылупления, сразу же после остановки экспрессии и через две недели после остановки проводили анализ влияния экспрессии альфа-синуклеина по таким параметрам, как 1) уровень экспрессии синаптических белков; 2) нейродегенерация в мозге; 3) гибель дофаминергических нейронов.

Было показано, что экспрессия альфа-синуклеина сопровождалась снижением экспрессии синаптических белков, а также гибелью дофаминергических нейронов и прогрессирующей общей нейродегенерацией. После остановки экспрессии альфа-синуклеина уровень экспрессии синаптических белков не восстанавливался. Также наблюдалось замедление нейродегенерации. Таким образом, супрессия экспрессии альфа-синуклеина частично останавливала нейропатологию.

Научный руководитель: д-р биол. наук С. В. Саранцева

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СПОСОБНОСТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ К КОЛОНИЕОБРАЗОВАНИЮ

К. В. Горячева, В. В. Кейно, А. А. Шунк, И. В. Смирнов
Алтайский государственный университет, г. Барнаул
e-mail: ksenia.goryacheva@gmail.com

В ходе эксперимента проводили сравнение гомогената трутневой личинки (ГТЛ) с ГТЛ, подверженного термической обработке в течение 3-х часов при температуре 100 °С (ГТЛ100). Далее по методике из руководства по доклиническим исследованиям были получены неадгезирующие жизнеспособные костномозговые нуклеары, концентрация которых доводилась до 2×10^5 на 1 мл стандартной среды. Далее взвеси клеток помещали в 96-луночные пластиковые планшеты, при добавление стимулятора в объеме 5% от лунки. Планшеты культивировали в течение 7 суток в CO₂-инкубаторе при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности воздуха. После инкубирования подсчитывали число выросших колоний и кластеров. Результаты интактной группы были приняты за 100 %. В ходе эксперимента было выявлено, что количество колоний и кластеров по сравнению с показателями фона ГТЛ в разведении 1:4 увеличилось в 2,2 раза. ГТЛ100 показал в этом же разведении увеличение, по сравнению с фоновыми значениями в 2 раза. При добавлении остальных разведений ГТЛ и ГТЛ100 показатели отличались от фонового значения, но были статистически недостоверны.

Таким образом, ГТЛ и ГТЛ100 оказывают выраженное стимулирующее влияние в отношении способности гемопоэтических клеток-предшественников к колониеобразованию в системе *in vitro*.

Научный руководитель: канд. биол. наук Н. Л. Волобой

РОЛЬ ФАКТОРА Ха И ЭНДОГЕННОГО ТРОМБИНА В КОНТРАКЦИИ СГУСТКА КРОВИ

А. Д. Пешкова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: alinapeshkova@list.ru

Контракция представляет собой сжатие сгустка крови под действием сократительных белков тромбоцитов. Кроме того, контракция регулируется плазменными факторами свертывания крови. Одним из них является фактор Ха, который в комплексе с фосфолипидами, ионами Ca^{2+} и фактором Va активирует протромбин, превращая его в тромбин. Цель данной работы – определить зависимость динамики и полноты контракции кровяного сгустка от активности фактора Ха и эндогенного тромбина.

Метод изучения контракции основан на оптической регистрации изменений объема сгустка во времени с использованием прибора «Регистратор тромбодинамики» (ГемаКор, Москва). Венозную кровь здоровых доноров стабилизировали 3,2%-ным цитратом натрия в соотношении 9:1 по объему. Образование сгустка крови и его контракцию индуцировали добавлением ионов кальция (2 мМ) и экзогенного тромбина (1 ЕД/мл). Всего исследовано 11 образцов крови больных, принимающих непрямой антикоагулянт варфарин, и 57 образцов крови здоровых доноров, из которых в 7 добавляли прямой ингибитор фактора Ха - ривароксабан.

Варфарин, подавляющий образование эндогенного тромбина, снижал скорость и степень контракции сгустка по сравнению с контролем, несмотря на добавление экзогенного тромбина. Чтобы подтвердить важную роль эндогенного тромбина и фактора Ха, мы изучили зависимость контракции сгустка крови в присутствии ривароксабана в диапазоне концентраций от 0,1 мкМ до 2 мкМ. Обнаружено, что подавление активности фактора Ха и нарушение генерации тромбина в присутствии ривароксабана достоверно снижало степень и скорость контракции сгустка крови.

Полученные результаты указывают на важность эндогенного тромбина и фактора Ха для полноценной ретракции сгустка в цельной крови, даже в присутствии экзогенного тромбина.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. Р.И. Литвинов

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ (CeO_2 и CeGdO_2)
НА РАЗВИТИЕ БЕРЕМЕННОСТИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ SHK.**

А. Л. Попов¹, А. С. Смирнов¹, Н. Р. Попова¹,
И. И. Селезнева¹, В. К. Иванов²

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
г. Пущино

²Институт общей и неорганической химии им. Н. С. Курнакова, г. Москва
e-mail: antonpopovleonid@gmail.com

Исследование влияния наноматериалов на организмы женского пола заслуживает особого внимания, поскольку токсичность в этой группе может повлиять как на репродуктивные функции, так и на развитие плода. Ранее нами показана возможность потенциального использования наночастиц диоксида церия в качестве эффективного антиоксиданта в биомедицинских применениях, при этом информации о влиянии наночастиц диоксида церия на репродуктивные функции и развитие плода в открытых литературных источниках нет.

Нами было проведено исследование влияния наночастиц диоксида церия, синтезированных различными способами, на течение беременности и плодовитость мышей линии SHK. Каждая экспериментальная группа состояла из 12 самок, которым внутривбрюшинно вводили наночастицы диоксида церия (10^{-6} М), разведенных в 0,9% NaCl сразу после обнаружения паховой пробки. Показано, что введение наночастиц диоксида церия, синтезированных цитратным способом (CeO_2) и наночастиц диоксида церия, допированных гадолинием (CeGdO_2) не влияет на количество положительных беременностей (более 80%) и ее развитие, а также на общее количество потомства. Количество родившихся детенышей в группах, которым вводили наночастицы диоксида церия, составляло не менее 8 на каждые роды, что сравнимо с контролем. Уровень ложноположительных беременностей (наличие пробки, при отсутствии беременности) также был сравним с контрольной группой, и составлял 18 %. При этом дальнейшее наблюдение за развитием потомства в течение 30 дней не выявило различий с контрольной группой в поведенческих реакциях. Для подтверждения отсутствия токсичности этих наноматериалов необходимо проведение дополнительных биохимических и молекулярно-генетических исследований.

Работа выполнена при поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 14-04-32199 мол_а и №14-44-03615 р_центр_а

Научный руководитель: канд. физ.-мат. наук И.И. Селезнева

МАРКЕРЫ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕМОЗГОВЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ

Н. А. Щелчкова, Р. М. Майоров, А. С. Куракина, М. В. Ведунова
Нижегородская государственная медицинская академия
e-mail: natalia-shelchkova@rambler.ru

В настоящее время отмечается распространенность внеозгловых опухолей головного мозга (ВОГМ) среди новообразований центральной нервной системы. Ключевая роль в компенсаторно-восстановительных процессах при развитии и лечении ВОГМ, отводится нейротрофическим факторам головного мозга (в частности BDNF), а поврежденность нейронов оценивается по уровню внутриклеточного белка – нейронспецифической енолазы (NSE). Также хронически развивающаяся патология сопровождается формированием «окислительного стресса» организма, т.е. активацией перекисного окисления липидов.

Цель работы – оценить уровень BDNF и NSE в сыворотке крови и маркеры перекисного окисления липидов (ДК и МДА) мембран эритроцитов, как адекватной модели клеточных мембран организма у пациентов с ВОГМ в динамике лечения.

Изучение уровня BDNF в сыворотке крови выявило достоверное ($p < 0,05$) снижение данного показателя в группе пациентов с ВОГМ по сравнению с контролем ($141,0 \pm 8,0$ и $303,0 \pm 54,0$ пг/мл соответственно). После оперативного удаления ОГМ содержание BDNF в сыворотке крови увеличилось в среднем в 2 раза. Повышение концентрации BDNF обуславливается развитием компенсаторных механизмов и активацией синтеза нейротрофина. Аналогичные изменения отмечены при определении NSE в изучаемых группах. При оценке показателей перекисного окисления липидов выявлено, увеличение уровня ДК и МДА мембран эритроцитов в группе пациентов с ВОГМ по сравнению с контрольной группой (на 60% и 42% соответственно). Резекция опухоли вызывает снижение количества ДК и МДА мембран.

Таким образом, показано, что развитие ВОГМ вызывает стойкие нарушения метаболизма нервной ткани, которые проявляются угнетением процессов синтеза BDNF и активацией процессов ПОЛ, что приводит к изменению фосфолипидного слоя мембраны и, как следствие, нарушению ее восприимчивости к проводимым сигналам в головном мозге. Удаление опухоли вызывает нормализацию биохимических показателей.

МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫМ ИНТЕРФЕРОНОМ α -2b

О. Г. Шитикова

НИИ фармакологии и регенеративной медицины
им. Е. Д. Гольдберга, г. Томск.

Сибирский центр фармакологии и биотехнологии, г. Новосибирск
e-mail: Olya.lya@mail.ru

Иммобилизация интерферона α -2b на полиэтиленгликоле является одним из путей повышения эффективности интерферонотерапии. Однако механизмы влияния иммобилизованного интерферона на клетки иммунной системы до конца не ясны. В связи с этим актуальным является детализация сигнальных молекул, участвующих в проведении сигнала активации макрофагов.

Роль сигнальных молекул (сAMP, p38, NF- κ B и PI3K) в реализации влияния иммобилизованного интерферона α -2b (иммИФН- α 2b) (ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», г. Новосибирск) и препарата сравнения реаферона-ЕС (РФН-ЕС) (ЗАО «Вектор-Медика», Новосибирск) в дозах 150 МЕ/мл и 1500 МЕ/мл оценивали *in vitro* по продукции оксида азота (NO) перитонеальными макрофагами мышей линии СВА/СаЛас, используя соответствующие ингибиторы сигнальных молекул (2',5'-дидеоксиаденозин, SB203580, оридонин и LY294002). В качестве контроля был использован активатор макрофагов – липополисахарид *E. coli* (ЛПС).

Проведенные эксперименты показали, что инкубация перитонеальных макрофагов с ЛПС приводила к усилению продукции NO с $3,65 \pm 0,10$ мкМ до $29,84 \pm 0,80$ мкМ. Культивирование клеток в присутствии иммИФН- α 2b и РФН-ЕС в концентрациях 150 МЕ/мл NO-активирующее действие усиливалось на 10 % и не изменяло при использовании дозы 1500 МЕ/мл. Ингибитор сAMP не влиял на продукцию NO контрольными макрофагами, тогда как ингибиторы MAP-киназы p38 (в 5,3 раза), NF- κ B (в 2 раза), PI3K (в 3,3 раза) снижали концентрацию NO, что подтверждает роль этих молекул в проведении сигнала активации макрофагов. Присутствие иммИФН- α 2b в культуральных средах, особенно в дозе 1500 МЕ/мл, усиливало действие всех изучаемых ингибиторов. Инкубация клеток с РФН-ЕС и ингибиторами, за исключением 2',5'-дидеоксиаденозина, в изучаемых концентрациях также приводила к снижению синтеза NO. Таким образом, в исследовании было показано, что иммИФН- α 2b активирует макрофаги через сигнальные молекулы сAMP, MAP-киназы p38, NF- κ B, PI3K.

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. Е. Ю. Шерстобоев

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТА ФУЛЛЕРЕНОЛА C60 НА
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ, НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЮ В
МОЗГЕ И ПОВЕДЕНИЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER* С
ЭКСПРЕССИЕЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ АМИЛОИДНОГО
ПЕПТИДА БЕТА**

Е. Э. Слепнева, А. Д. Слободина

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова,
Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
г. Гатчина
e-mail: slepnyova-liza@yandex.ru

Болезнь Альцгеймера (БА) - прогрессирующее старческое слабоумие, поражающее более 15% населения в возрасте старше 65 лет. В настоящее время нет единого понимания причин возникновения БА. Окислительный стресс, по мнению многих исследователей, является одним из таких факторов. Следовательно, необходим поиск и разработка соединений, которые бы предотвращали негативные последствия окислительного стресса в мозге. Фуллерены и их производные обладают мощной антиоксидантной активностью, которая обусловлена их способностью дезактивировать кислородсодержащие свободные радикалы. Однако использование фуллеренов и их производных в медицине требует детального изучения их влияния на живые организмы, а также исследования их взаимодействия с нервными клетками. Основной целью настоящего исследования явилась оценка токсичности, а также исследование возможных нейропротекторных свойств фуллеренола C60 *in vivo* на модели болезни Альцгеймера на *Drosophila melanogaster*. В работе была использована трансгенная линия *Drosophila*, несущая последовательность, кодирующую амилоидный пептид бета, состоящий из 42 аминокислот. Анализ кривых выживаемости показал, что все использованные дозы фуллеренола C60 (0,05; 0,5 и 2,5 мг/мл) не токсичны и не снизили продолжительность жизни *Drosophila* исследованных линий. В то же время мы не обнаружили и положительного воздействия исследуемых доз фуллеренола. Уровень нейродегенерации в мозге и уровень локомоции не отличались от контрольных при одинаковых сроках исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-29-01350 офу_м

Научный руководитель: д-р биол. наук С.В Саранцева

РНК-АПТАМЕРЫ К АУТОАНТИТЕЛАМ, ХАРАКТЕРНЫМ ДЛЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА, КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОСЕНСОРОВ

В. В. Тимошенко

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

e-mail: TimoshenkoValya@gmail.com

Рассеянный склероз (РС) – хроническое аутоиммунное заболевание, при котором поражается миелиновая оболочка нервных волокон головного и спинного мозга. Достоверного метода лабораторной диагностики этого заболевания пока не существует. Характерным признаком РС является наличие в организме аутоантител-протеаз, разрушающих основной белок миелина (ОБМ). Нами предложен новый подход к детекции анти-ОБМ аутоантител в крови с использованием биосенсоров, содержащих в качестве "узнающих" элементов устойчивые в биологических средах 2'-фтор-РНК-аптаммеры к анти-ОБМ аутоантителам.

Для получения аптамеров был использован метод селекции *in vitro*, включающий в себя селекцию на анти-ОБМ антитела из крови больных РС и контрселекцию на антитела здоровых доноров. После секвенирования обогащенной РНК-библиотеки и анализа полученных данных была синтезирована серия индивидуальных 71-звенных 2'-фтор-РНК-аптамеров и исследованы их свойства. Минимизация нуклеотидной последовательности наиболее высокоаффинных и специфичных аптамеров позволила получить новые «укороченные» аптаммеры, содержащие 57 и 26 нуклеотидных звеньев. Показана способность полученных аптамеров узнавать аутоантитела-мишени в препаратах суммарных IgG-антител из крови больных РС. На основе аптамеров были сконструированы биосенсоры с биолюминесцентным и флуоресцентным типом детекции. В настоящее время проводятся исследования их чувствительности и специфичности с использованием в качестве аналитов различных препаратов антител от больных РС и здоровых доноров, в результате которых будет выбран оптимальный вариант биосенсора для дальнейшей разработки тест-систем для лабораторной диагностики.

Работа поддержана грантами РФФИ № 14-04-01611 и УМНИК 2014-2015.

Научный руководитель: канд. хим. наук М. А. Воробьева

МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ БОЛЕЗНЕЙ МОТОРНЫХ НЕЙРОНОВ НА ОСНОВЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

К. Р. Валетдинова, С. П. Медведев, С. М. Закиян
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск
e-mail: valetdinova@bionet.nsc.ru

Моторные нейроны, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека, представляют собой универсальную модельную систему для выявления и глубокого анализа механизмов патогенеза болезней двигательных нейронов, а также для скрининга лекарственных препаратов и разработки тактики терапии этих заболеваний. Данная работа посвящена созданию клеточной модели спинальной мышечной атрофии (СМА) – заболевания, сопровождающегося гибелью периферических моторных нейронов, на основе пациент-специфических ИПСК. Полученные от пациентов со СМА фибробласты трансфецировали неинтегрируемыми в геном эписомными векторами, несущими факторы репрограммирования. Через 28 дней после нуклеофекции эписомных векторов появлялись многочисленные колонии ИПСК, обладающие характерной морфологией и положительно окрашивающиеся на щелочную фосфатазу. Три линии были подвергнуты тщательной характеристике. Методом ОТ-ПЦР показана экспрессия основных маркеров плюрипотентности, а с помощью иммуноцитохимического окрашивания также показана экспрессия поверхностных маркеров плюрипотентных клеток SSEA-4 и TRA-1-60. Кроме того, все полученные линии имели делецию в 7 и 8 экзонах гена *SMN1*, которая выявляется у 95% больных СМА. С помощью мультиплексной ПЦР в реальном времени определено количество копий гена *SMN2*, который является псевдогеном *SMN1* и влияет на тяжесть течения этого заболевания. Для всех линий это количество было равно двум копиям, что соответствует СМА I типа. Методом ПЦР в реальном времени показано отсутствие эписомных встроков в 5 из 6 полученных линий. Таким образом, данные клетки, после завершения полного анализа, могут быть использованы для получения моторных нейронов, пригодных не только для изучения патологических механизмов СМА, но и для скрининга потенциальных лекарственных соединений.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. С. М. Закиян

**ОНКОЛИТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА
ОСПОВАКЦИНЫ, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО АПОПТИН, НА
МОДЕЛИ ИСКУССТВЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ
КАРЦИНОМЫ А431**

А. Ю. Юнусова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины
СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: pretty_lie@mail.ru

Модификация генома встройкой генов апоптоз-индуцирующих белков – один из способов усилить онколитические свойства вирусов. Апоптин, белок вируса анемии кур, избирательно вызывает апоптоз опухолевых клеток. Нами было показано выраженное противоопухолевое действие рекомбинантного штамма вируса осповакцины (ВОВ) с делецией гена вирусного фактора роста (VGF) и встройкой гена апоптоина на ксенографты карциномы А431 у мышей *nude*. В данной работе на модели искусственного метастазирования карциномы А431 изучали противоопухолевый эффект другого рекомбинантного штамма ВОВ, *VVdGF-GFP2*, с делецией двух генов (VGF и тимидинкиназы) и встройкой генов апоптоина и белка GFP. Цель работы: выявить противоопухолевый эффект рекомбинантного штамма *VVdGF-GFP2* ВОВ и его способность диссеминировать из опухоли, в которую его вводили, в отдаленный опухолевый узел (метастаз) и разрушать его ткань.

Светооптическое исследование установило, что введение рекомбинантного штамма *VVdGF-GFP2* ВОВ в один из двух ксенографтов мыши, приводит к деструкции обеих опухолей. Полная деструкция ткани опухоли и «метастаза» регистрируется через 12 и 20 сут после инъекции вируса, соответственно. Разрушенная опухолевая ткань имеет признаки отека и небольшой лейкоцитарной инфильтрации. Иммуногистохимически показана экспрессия апоптоина в цитоплазме опухолевых клеток, причем редкие позитивно-окрашенные клетки регистрируются в ткани «метастаза» через 6 сут после инъекции вируса, тогда как в ткани опухоли отчетливая позитивная реакция отмечается через 4 сут. Ультраструктурное и иммуногистохимическое исследование выявило репродукцию ВОВ в ткани и опухоли, и «метастаза». Вирус размножается избирательно в опухолевых клетках, что приводит к их гибели.

Таким образом, штамм *VVdGF-GFP2* ВОВ способен разрушать клетки первичного опухолевого узла и мигрировать в отдаленный узел, что говорит о его антиметастатическом потенциале.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. Е. И. Рябчикова.

ВОПРОСЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПАРАМАГНИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЛАНТАНОИДОВ ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ТЕРМО- и pH-МЕТРИИ В ЦЕЛЯХ РАЗВИТИЯ МАГНИТОРЕЗОНАНСНОЙ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ

Е. Н. Заполоцкий, С. П. Бабайлов

Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН,

г. Новосибирск

e-mail: neodin_85@mail.ru

Чувствительность и эффективность медицинской магниторезонансной томографии (ММРТ) человека и экспериментальных животных существенно увеличивается благодаря контрастным релаксационным реагентам, наиболее успешными из которых в настоящее время являются комплексы гадолиния. Комплексы же других лантанидов (Ln, отличных от Gd) пока остаются мало исследованными методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

Известно, что в недоброкачественных опухолях и очагах воспаления локальная температура выше, чем в здоровых тканях. Методы определения температуры биообъектов, основанные на анализе температурной зависимости химического сдвига протонов тканевой воды либо времени продольной релаксации T_1 , имеют довольно высокую погрешность измерения температуры в $\pm 1-2$ °С. Более точную регистрацию температурных вариаций (до $\pm 0,1$ °С) могут обеспечить предложенные нами специальные ЯМР-термосенсорные реагенты (ЯМР-ТСР) на основе парамагнитных комплексов Ln для трехмерного (3D) ММРТ мониторинга температуры тела. Принцип функционирования ЯМР-ТСР основан на существенной температурной зависимости парамагнитных сдвигов (ПС) в спектрах ЯМР на ядрах лигандов изучаемых комплексов Ln. Одними из осложняющих факторов применения комплексов Ln в качестве ЯМР-ТСР является молекулярная динамика и pH зависимость ПС. В работе детально описаны способы учета pH зависимости ПС и определения энергетических параметров молекулярной динамики ряда комплексов Ln с EDTA и DOTA (найденно, что $\Delta G^\ddagger(298\text{K}) = 65$ кДж/моль для внутримолекулярной конформационной динамики), а также *in vitro* показано, что эти комплексы перспективны в качестве ЯМР-ТСР для диагностики онкозаболеваний и очагов воспалений.

Научный руководитель: д-р.хим.наук С.П. Бабайлов

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ СМОЛЯНЫХ КИСЛОТ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ

К. М. Черемных, Н. А. Лучникова

Пермский государственный национальный исследовательский университет
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь
e-mail: kseniya.cheremnikh@gmail.com

Смоляные кислоты – природные трициклические дитерпеноиды, доля которых среди токсичных соединений сточных вод целлюлозно-бумажной промышленности составляет более 50%. Среди смоляных кислот в жидких отходах ЦБК преобладает дегидроабиетиновая кислота (ДАК). В связи с этим актуален поиск эффективного способа нейтрализации ДАК. В настоящее время наиболее перспективно использование микроорганизмов, способных не только снижать уровень токсичных соединений, но и трансформировать их в биологически активные вещества. Одной из активно разрабатываемых в биотехнологическом плане групп микроорганизмов являются актинобактерии, которые катализируют широкий круг стерео- и региоселективных ферментативных реакций.

Исследована возможность использования представителей актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов, относящихся к *Dietzia maris* (17), *Gordonia rubripertincta* (29), *G. terrae* (11), *Rhodococcus ruber* (28), *R. erythropolis* (22), для биотрансформации ДАК. Актинобактерии выращивали в минеральной среде К с добавлением 0,02 – 0,1 об.% *n*-гексадекана и 0,5 г/л ДАК, растворенной в этаноле. ДАК вносили через 48 ч роста культуры. Продолжительность процесса трансформации составляла 7 сут.

В результате проведенных исследований отобраны штаммы – активные биодеструкторы *D. maris* ИЭГМ 55^T, *G. rubripertincta* ИЭГМ 104 и ИЭГМ 107, способные деградировать до 97 % ДАК, а также штаммы *G. rubripertincta* ИЭГМ 132, *G. rubripertincta* ИЭГМ 120, *G. rubripertincta* ИЭГМ 100 и *R. erythropolis* ИЭГМ 267, катализирующие биотрансформацию ДАК с образованием гидроксипроизводного. Доказано, что наибольшее (33 %) образование целевого продукта регистрируется при использовании штамма *Rhodococcus erythropolis* 267 с добавлением в среду культивирования в качестве дополнительного источника углерода 0.06 об. % *n*-гексадекана. *Исследования выполнены в рамках государственного задания 6.1194.2014/К Минобрнауки России.*

Научные руководители: д-р биол. наук, чл.-корр. РАН И. Б. Ившина, канд. хим. наук В. В. Гришко.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОБЩЕГО БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КЛЕТОК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Т. М. Новикова, Р. П. Тренкеншу
Севастопольский государственный университет
Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского,
г. Севастополь
e-mail: nowTanj@yandex.ru

В настоящее время существует множество работ по исследованию влияния режимов выращивания, типов фотобиореакторов, различных источников освещения на роста микроводорослей, а также влияние всех этих факторов на биохимический состав клеток. Общеизвестно, что непрерывный процесс выращивания культур микроводорослей позволяет стабилизировать условия, в которых растут клетки микроводорослей. Опыты с непрерывными культурами микроводорослей показали, что биохимический состав клеток зависит не только от внешних условий, но и от способа управления процессом роста – регулирования плотности культуры или скорости протока среды. В опытах такого рода биохимический состав клеток изменяется только в начале процесса культивирования, стабилизируясь в дальнейшем на определенном уровне. Факторами изменения биохимического состава клеток микроводорослей являются смена световой и темновой стадии роста, а также их длительности. Рассматривая биохимические компоненты клеток можно выделить наиболее доминирующие, такие как белки, углеводы и липиды которые в сумме составляют более 70 % от общего содержания всех биохимических соединений клеток. Нами была разработана математическая модель, в основу которой положено разделение биомассы водорослей на основные биохимические составляющие, такие как белки, углеводы и липиды. Углеводы и липиды, в свою очередь, разделены на структурные и резервные формы. В то же время белки рассматриваются только как структурные составляющие клетки. Такие положения позволили нам создать динамическую математическую модель, описывающую синтез и расход биохимических составляющих в реакциях метаболизма клеток микроводорослей. Полученная нами математическая модель позволяет при определенных условиях (выбор лимитирующего фактора) редуцировать систему уравнений до небольшого числа и найти интегральные решения, т.е. количественно описать динамику изменения каждого биохимического компонента и их соотношение в клетках микроводорослей при свето-темновом режиме.

Научный руководитель: канд. биол. наук Р. П. Тренкеншу

**ХИМЕРНЫЕ БЕЛКИ НА ОСНОВЕ АНТИМИКРОБНЫХ
ПЕПТИДОВ ЕЖОВНИКА (*ESCHINOCHLOA CRUSGALLI* L.)
ИНГИБИРУЮТ *PHYTOPHTHORA INFESTANS***

Е. А. Рогожин, Д. Ю. Рязанцев
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва
e-mail: rea21@list.ru

Исследование функциональной роли защитных белков и пептидов растений как один из основных компонентов врожденного иммунитета растений к возбудителям болезней и вредителям является наиболее приоритетным в мировом научном пространстве. Одним из направлений изучения таких молекул является повышение их содержания в самих растениях с целью увеличения устойчивости к биотическим стрессам и создания прототипов природных биопестицидов. Однако ввиду небольшого содержания таких белков и пептидов в растениях, в частности, в определенных органах, становится актуальной проблема разработки биотехнологической схемы получения целевых молекул в препаративных количествах. Ранее была апробирована система получения рекомбинантных антимикробных пептидов (АМП) ежовника методом гетерологической экспрессии в системе *E. coli*. Данный принцип заключается в сборке синтетического гена пептида в составе фьюжн-белка с бактериальным якорным белком - тиоредоксином, обеспечивающим последующий фолдинг молекулы. Последующий гидролиз гибридного белка по заранее введенному сайту протеолиза (бромцианом, энтеропептидазой) позволяет получить отдельный пептид, идентичный природному. Цель настоящего исследования состояла в получении и сравнительном тестировании антифунгальной активности химерных (негидролизированных) белков и соответствующих трех рекомбинантных пептидов (EcAMP1-EcAMP3) по отношению к возбудителю фитофтороза - оомицету *P. infestans*. В результате показано, что присутствие в N-концевом фрагменте якорного белка (тиоредоксина), не обладающего антимикробной активностью, существенным образом не снижает ингибирующее действие каждого отдельно взятого АМП ежовника (достоверное уменьшение биологической активности по ИК₅₀ составило в пределах 20% от контроля). Полученные результаты дают перспективную возможность изучения действия данных пептидов в качестве гибридных рекомбинантных белков как прототипов биофунгицидов.

Научный руководитель: канд. хим. наук Рогожин Е.А

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ШТАММЫ НЕФТЕДЕСТРУКТОРЫ

М. С. Третьякова¹, Л. А. Беловежец², Ю. А. Маркова¹

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск

² Институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, г. Иркутск
e-mail: marina-tretjakova@yandex.ru, lyu-sya@yandex.ru

Нефть и нефтепродукты являются опасными загрязнителями окружающей среды во всем мире, т.к. их попадание в почву в результате добычи, транспортировки и утечки при аварийных ситуациях приводит к негативным экологическим последствиям, оказывающим токсическое действие на живые организмы. Существуют различные методы по очистке нефтезагрязненной территории, но, в настоящее время, наиболее перспективным является микробиологический метод, основанный на использовании природных углеводородоокисляющих микроорганизмов. В частности, используются бактерии, выделенные из ризосферы и эндосферы растений, у которых, по литературным данным, встречаемость плазмид, ответственных за деградацию нефти, выше, чем у свободноживущих почвенных микроорганизмов. Поэтому целью нашей работы стало выделение эндофитных и ризосферных микроорганизмов из растений, произрастающих на нефтезагрязненных почвах, и их скрининг по способности к деградации нефти. В результате проведенных исследований было выделено 60 ризосферных и эндофитных бактерий, потенциально способных к биодegradации нефти. Путем скрининга выявлено 6 наиболее перспективных штаммов, которые за 2 месяца культивирования утилизировали около 50 % нефти. Все они были способны расти при высоких (до 20 %) и очень высоких (50 %) концентрациях нефти в питательной среде, а также эффективно разрушали тетрадекан, дизельное топливо и сырую нефть на твердой питательной среде. На основании морфологических, культуральных, физиолого-биохимических свойств, штаммы были отнесены к родам *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*. Полученные результаты являются основой для дальнейшего изучения и применения этих штаммов для очистки нефтезагрязненных территорий Иркутского региона.

Научный руководитель: канд. биол. наук Л. А. Беловежец

АКТИВАЦИЯ АНИОННЫХ ОБМЕННИКОВ ЭРИТРОЦИТА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СУЛЬФАТА МАГНИЯ

Е. С. Чернышова

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
Новосибирский государственный университет

В перинатальной диагностике существует проблема выявления риска гипоксии плода на ранних стадиях беременности. Основной характеристикой, определяющей скорость кислородного обмена в организме, является анионная проницаемость мембраны эритроцита. Отклонение от нормы данной характеристики свидетельствует о риске развития гипоксии. На сегодняшний день в медицине для улучшения состояния пациента широко применяется токолитическая терапия с использованием сульфата магния. Несмотря на это, молекулярный механизм влияния сульфата магния на анионную проницаемость эритроцитов не до конца изучен.

Данная работа посвящена исследованию изменения анионной проницаемости эритроцитов под действием сульфата магния как *in vivo*, так и *in vitro*. В качестве образцов бралась венозная кровь беременных женщин в растворе EDTA при 22° С. Для обработки полученных экспериментальных данных была разработана соответствующая молекулярно-кинетическая модель. Анионная проницаемость эритроцитов определялась методом изотонического гемолиза в растворе хлорида аммония. Эксперименты проводилось на оригинальном сканирующем проточном цитометре.

По результатам экспериментов было измерено увеличение анионной проницаемости эритроцитов в присутствии растворенного сульфата магния. Полученные данные были обработаны предложенной теоретической моделью, описывающей динамику проникновения через мембрану и взаимодействия иона магния внутри клетки с основным анионным обменником эритроцита (cdB3), и в результате были определены следующие параметры: проницаемость мембраны эритроцита к Mg^{2+} и константа равновесия комплекса Mg^{2+} -cdB3.

Научный руководитель: канд. физ.-мат. наук А. В. Чернышев.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЧАСТИЦ КРОВИ И ИХ ДИМЕРОВ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ПРОТОЧНОГО ЦИТОМЕТРА

Д. Н. Чернова

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
Новосибирский государственный университет

Микрочастицы крови – это фосфолипидные везикулы размером от 0.1 до 1 мкм, высвобождающиеся из клеток в ходе таких процессов, как активация и апоптоз. Так как микрочастицы задействованы в таких межклеточных процессах как сигнализация и взаимодействие, а также участвуют в патогенезе заболеваний связанных со свертыванием крови, передачей кислорода и возникновением опухолей, в настоящее время множество исследований направлено на их изучение.

Существует широкий спектр методов детекции и характеристики микрочастиц. Большинство из них основано на измерении сигнала светорассеяния. Для клинических исследований чаще всего используется метод проточной цитометрии. Однако у него есть некоторые ограничения и недостатки. Как правило, требуется использование флуоресцентных меток, которые кроме микрочастиц так же окрашивают сами клетки и клеточные фрагменты, находящиеся в пробе. Во избежание этого проводится сложная процедура прободготовки, которая, однако, может повлиять на свойства микрочастиц, либо привести к их частичной потере. Так же было обнаружено, что в образце могут находиться не только одиночные сферические частицы, но и их димеры и более крупные агрегаты микрочастиц, а также одиночные частицы несферической формы. Однако существующие методы не позволяют с высокой точностью одновременно определять форму, размер и показатель преломления микрочастиц крови, что затрудняет осуществлять их детальный анализ и интерпретировать получаемые результаты измерений.

Разработанный в нашей лаборатории метод сканирующей проточной цитометрии позволяет за счет измерения угловой зависимости светорассеяния для отдельных частиц, а так же использования сигнала бокового светорассеяния в качестве дополнительной информации разрешить эти проблемы. Решая обратную задачу светорассеяния с помощью теории Ми для одиночных сферических частиц и метода T-матриц для их димеров, становится возможным охарактеризовать частицы с высокой точностью, при этом одновременно определяя как размер, так и показатель преломления. Благодаря этому данный метод отделяет микрочастицы от их агрегатов, а также других частиц плазмы без сложных процедуры прободготовки.

Научный руководитель: А. И. Конохова.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАННИХ СТАДИЙ ПРОЦЕССА АПОПТОЗА МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕЙ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

И. В. Хало, Д. И. Строкотов, А. В. Чернышев, В. П. Мальцев
Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
e-mail: khalo.irina@yandex.ru

Апоптоз – это процесс запрограммированной клеточной гибели, который является неотъемлемым инструментом для осуществления наследственного и приобретенного, гуморального и клеточного ответа иммунной системы. Исследования в данной области представляют интерес как для фундаментальной науки, так и для вполне конкретных приложений. В настоящее время на начальной стадии апоптоз идентифицируется в основном биохимическими или иммунологическими методами, основанными на использовании флуоресцентных меток. Кроме того, на начальной стадии апоптоза в клетке происходят только небольшие морфологические изменения, которые сложно зарегистрировать существующей экспериментальной техникой с достаточной точностью. Поэтому данная работа посвящена развитию, с одной стороны, экспериментальных методов позволяющих измерять сигналы, чувствительные к небольшим изменениям морфологии, а с другой стороны, методов анализа этих сигналов для извлечения диагностически важной информации без использования флуоресцентных меток.

Исследование процесса апоптоза в данной работе проводилось на лимфоцитах человека с помощью сканирующей проточной цитометрии, которая позволяет изучать светорассеяние от одиночных частиц. Для решения обратной задачи светорассеяния и определения характеристик клеток в качестве оптической модели была выбрана: 1) двухслойная сфера; 2) трехслойная сфера, позволяющая учесть гетерогенность ядер. Для описания динамики функций распределений клеток по объему ядер на ранних стадиях апоптоза была предложена математическая модель, описывающая вероятность появления апоптотических клеток в пробе.

Таким образом, в ходе данной работы был предложен новый бесфлуоресцентный метод для изучения кинетики ранних стадий апоптоза. Разработанный метод позволил определить следующие характеристики моноклеарных клеток: объемы клеток и ядер клеток до и после инициации апоптоза, показатель преломления ядра, долю апоптотических клеток в пробе, характерное время лаг-фазы процесса апоптоза и синхронность ухода популяции клеток в апоптоз. Использование двух оптических моделей позволило нам учесть гетерогенность ядер и конденсацию хроматина по периферии ядра в процессе апоптоза.

Научный руководитель: канд. физ.-мат. наук. Д. И. Строкотов

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЯДРА КЛЕТКИ ПРИ АПОПТОЗЕ: АНАЛИЗ КОНФОКАЛЬНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ОДИНОЧНЫХ КЛЕТОК И МОЛЕКУЛЯРНО-КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

А. И. Конохова

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
e-mail: konokhova_a@mail.ru

Отличительными морфологическими особенностями апоптоза от других видов клеточной гибели являются изменения, затрагивающие ядро клетки. Уменьшение объема ядра, сопровождающееся конденсацией хроматина, является одним из первых морфологических признаков апоптоза, свидетельствующих об успешном запуске генетической программы, приводящей к гибели клетки и ее безопасному удалению из ткани (минуя развитие воспалительной реакции). При этом наблюдаемая динамика изменений ядра позволяет судить об эффективности протекания программы апоптоза. Однако до сих пор не было предложено модели, которая характеризовала бы процесс морфологических изменений ядра на ранних стадиях апоптоза, и позволяла бы количественно анализировать и прогнозировать их эволюцию. Механизмы, лежащие в основе данных процессов, также в настоящее время остаются мало изученными, а их описание носит преимущественно качественный характер.

Данная работа была посвящена исследованию морфологических изменений ядер клеток на ранних стадиях апоптоза. Наблюдение осуществлялось методом конфокальной микроскопии в реальном времени на одиночных ядрах опухолевых клеток печени HepG2, стабильно экспрессирующих флуоресцентно меченный гистоновый белок H4. Для анализа конфокальных изображений был разработан алгоритм, позволяющий определять объем клетки и количество конденсированного хроматина в каждый момент времени. Для описания динамики процессов была построена математическая модель, описывающая динамику образования и эволюции наблюдаемого «апоптотического кольца» конденсированного хроматина по периферии ядра и связывающая уменьшение объема ядра со структурными изменениями хроматина.

В результате работы было показано, что предложенная математическая модель позволяет объяснить и количественно описать наблюдаемые в эксперименте ранние стадии конденсации хроматина при одновременном уменьшении объема ядра. Анализ экспериментальных данных позволил охарактеризовать морфологические изменения клеток HepG2 на ранней стадии апоптоза рядом динамических характеристик, определенных с хорошей точностью.

Научный руководитель: д-р физ.-мат. наук, проф. В.П.Мальцев

ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ОСНОВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОЧАСТИЦ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ПРОТОЧНОГО ЦИТОМЕТРА

А. Н. Красулина, В. Ф. Кузин

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
Новосибирский государственный университет
e-mail: nas19961401kras@mail.ru

Полимерные частицы различного состава широко используются во многих областях медицинских, биологических, химических и физических исследований как в качестве носителей биологических молекул, так и в качестве самостоятельных объектов наблюдения. Ключевыми физическими и физико-химическими характеристиками полимерных частиц, которые определяют возможность их использования в различных приложениях, являются размер, показатель преломления и плотность поверхностного заряда. Эта работа посвящена построению метода оценки основных параметров полимерных микрочастиц с помощью сканирующего проточного цитометра (СПЦ).

На СПЦ измеряли зависимость интенсивности светорассеяния от азимутального угла (индикатрисы) карбоксилированных полистирольных микрочастиц (латексов) разного размера. С использованием теории Ми решали обратную задачу светорассеяния, аппроксимируя экспериментальные зависимости интенсивности светорассеяния частиц теоретическими с помощью метода глобальной оптимизации DiRect. При этом определяли размер частиц и показатель преломления с высокой точностью.

На следующем этапе работы исследовали начальную стадию агрегации латексов диаметром 880 нм. Увеличение ионной силы раствора приводило к уменьшению коллоидной стабильности латексов и они агрегировали. Регистрацию популяций мономеров и агрегатов в ходе реакции проводили с помощью СПЦ.

С использованием экспериментально полученных зависимостей формирования агрегатов частиц в растворах разной ионной силы определяли константы скорости димеризации, а затем на основании теории ДЛФО рассчитывали характеристики их поверхности.

Таким образом, в данной работе построен метод оценки размера, показателя преломления и поверхностной плотности заряда полимерных микрочастиц с помощью сканирующего проточного цитометра.

Научный руководитель: А. А. Польщичин

ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ОСНОВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРОФОТОМЕТРА

В. Ф. Кузин, А. Н. Красулина

Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
Новосибирский государственный университет
e-mail: kuzinvladik@yandex.ru

Во многих областях биомедицинских и биофизических исследований полимерные частицы разного размера и состава находят широкое применение. Такой параметр как поверхностная плотность заряда частиц важен для оценки возможности иммобилизации на их поверхности различных биологических молекул, таких как ДНК и белки.

Целью данной работы является разработка метода определения размера, концентрации, а также поверхностной плотности заряда полимерных наночастиц с помощью стандартного спектрофотометра.

На спектрофотометре Shimadzu UV-2401PC измерены спектры светорассеяния монодисперсных полистирольных наночастиц разного диаметра в видимом диапазоне в стандартных условиях. С использованием теории Ми решали обратную задачу светорассеяния, аппроксимируя экспериментальные зависимости оптической плотности от длины волны теоретическими с помощью метода глобальной оптимизации DiRect. При этом определяли размер частиц и их концентрацию в растворе с высокой точностью.

На следующем этапе работы изучали динамику изменения оптической плотности раствора карбоксилированных полистирольных сфер диаметром 70 нм при добавлении различных концентраций электролита. На основании полученных данных, используя систему кинетических уравнений Смолуховского и метод Т-матриц, находили константы скорости димеризации. Далее с помощью формулы Фукса решением обратной задачи определяли поверхностную плотность заряда частиц.

В результате работы был построен экспериментальный метод определения размера, концентрации и поверхностной плотности заряда полимерных частиц с использованием спектрофотометра.

Научный руководитель: А. А. Польщичин

ДЛИНОЗАВИСИМАЯ МОДУЛЯЦИЯ СПАДА Ca^{2+} -ПЕРЕХОДОВ В МИОКАРДЕ КРЫС И МОРСКИХ СВИНОК

Д. А. Кузнецов, О. Н. Лукин

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург
e-mail: virus_x@mail.ru

Характер спада Ca^{2+} -перехода (CaT) в миокарде правого желудочка (ПЖ) крысы зависит от степени растяжения ткани: в нерастянутой мышце этот спад монотонен, в то время как градуальное растяжение мышцы вызывает появление фазы кратковременного замедления спада (“bump”). Предполагаемым механизмом “bump” является длинозависимое изменение сродства ионов кальция к регуляторному белку тропонину С. Изучение этого феномена имеет большое значение для объяснения длинозависимой регуляции сократимости миокарда млекопитающих.

Мы исследовали влияние преднагрузки, температуры и специфического ингибирования функции АТФ-зависимого Ca^{2+} -насоса саркоплазматического ретикулума (SERCA2a) на выраженность фазы “bump” в ходе спада Ca^{2+} -переходов в трабекулах ПЖ крыс и морских свинок. Обнаружено, что: а) температура оказывает влияние на форму спада CaT у морских свинок (монотонный спад при 25⁰С, фаза “bump” при 30⁰С, фаза “плато” при 35⁰С), но не у крыс; б) преднагрузка оказывает влияние на форму спада CaT у крыс (магнитуа и продолжительность “bump” возрастают при градуальном растяжении мышцы), но не у морских свинок; в) повышение температуры ускоряет, а ингибирование SERCA2a – замедляет спад CaT у крыс и морских свинок.

Таким образом, избирательное/неизбирательное воздействие на функцию SERCA2a приводит к схожим изменениям характера спада CaT в здоровом миокарде ПЖ крыс и морских свинок. При этом длинозависимое возникновение фазы кратковременного замедления спада CaT выражено в миокарде ПЖ крыс. Эти видоспецифические различия могут быть обусловлены разными скоростями поглощения Ca^{2+} в саркоплазматический ретикулум в миокарде крыс и морских свинок. Быстрое удаление Ca^{2+} из цитозоля в сердечных клетках ПЖ крыс позволяет наблюдать фазу «bump», связанную с высвобождением Ca^{2+} с регуляторного белка тропонина С. Медленное выведение Ca^{2+} из цитозоля в миокарде ПЖ морских свинок маскирует этот длинозависимый эффект.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-00085 и проектом №15-5-4-6 программы фундаментальных исследований УрО РАН 2015-2017 гг.

Научный руководитель: канд. биол. наук О. Н. Лукин

АКТИВАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ: МОЛЕКУЛЯРНО-КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ И ЕЁ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА

А. Л. Литвиненко

Новосибирский государственный университет
Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского СО РАН
e-mail: alyone_93@bk.ru

Тромбоциты крови человека играют важнейшую роль в поддержании гемостаза. Любые патологии, связанные с тромбоцитами влекут за собой серьёзные последствия. Именно поэтому необходимо понимать процессы, позволяющие тромбоцитам выполнять свои функции и уметь диагностировать нарушения в конкретных процессах.

Первым этапом реакции тромбоцитов на повреждение кровеносного сосуда является их активация, которая сопровождается изменением формы. Именно этот этап изучался в данной работе, как наиболее важный. Так же целью данной работы является построить молекулярно-кинетическую модель активации тромбоцитов и проверить её достоверность экспериментально.

Экспериментальная работа проводилась с использованием сканирующего проточного цитометра. Данный прибор регистрирует индикатрису светорассеяния от исследуемой частицы в диапазоне углов от 10 до 70 градусов. Благодаря этому можно получить достоверную информацию о форме частицы. Так же данный прибор способен регистрировать стандартный сигнал флуоресценции от различных флуоресцентных зондов. В результате были получены кинетики изменения формы тромбоцитов в зависимости от формы, после активации *in vitro* стандартным активатором. А также была предложена модель описания процессов, приводящих к данной кинетической зависимости

Полученные результаты могут помочь как в диагностике заболеваний тромбоцитов на раннем сроке, так и в проверке эффективности терапии этих заболеваний. А так же в более детальном понимании процессов, приводящих к изменению формы тромбоцита.

Научный руководитель: А.Е. Москаленский.

FRAP CURVE ANALYSIS AND MICROTUBULE FLUX IN THE MITOTIC SPINDLE OF *D.MELANOGASTER* S2 CELLS

A. F. Munzarova, L. V. Omelyanchuk
Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS
Novosibirsk State University
e-mail: alina.munzarova@gmail.com

Mitotic spindle is a highly organized dynamic structure which functions to provide equal segregation of the chromosomes to the poles of a dividing cell. Microtubules of the spindle are asymmetric: they are composed of polymerized tubulin dimers and have "plus" and "minus" ends. "Plus" ends of microtubules may undergo both polymerization and depolymerization. In contrast, only depolymerization may occur on the "minus" ends. This anisotropy of the microtubules underlies various types of movements within the spindle. One of them is termed *microtubule flux*, which includes the growth of a kinetochore-anchored microtubule on its "plus" end, whereas it undergoes disassembly on its "minus" end attached to a centrosome.

Microtubule flux was originally observed using a number of approaches, such as tracing the movement of small granules in the spindle, spindle fiber birefringence and local UV-photobleaching of microtubules. The phenomenon received its exhaustive description using mitotic spindles labeled with photoactivatable tubulin molecules and so time-lapse imaging of photoactivated regions of the spindle could be performed.

Current method of microtubule flux measurement involves the determination of a rate of photobleached stripe movement; however this method has had limited application because flux is masked by rapidly polymerizing non-kinetochore microtubules. We took advantage of deep photobleaching of cytoplasmic mCherry-tagged tubulin monomers, which allowed us to improve the dynamic range of the measurements. Using *Drosophila* S2 cell line, we show that our approach results in more accurate measurements of flux rate of kinetochore and interpolar microtubule flux rate. We report on the correlation between flux rate and structure of the mitotic spindle.

We also construct the chemical kinetics model for Fluorescence Recovery after Photobleaching for mitotic spindle that connects parameters of tubulin dimer polymerization with the observed parameters of FRAP curve.

Scientific adviser: Dr. L. V. Omelyanchuk

АДАПТИВНАЯ ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ КАК МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

А. А. Польщичин

ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск

Институт химической кинетики и горения СО РАН, г. Новосибирск

Новосибирский государственный университет

e-mail: polschitsin@gmail.com

Агрегация микроскопических объектов в кластеры является широко распространенным явлением, которое встречается в различных областях физики, химии, биологии и медицины. Такие биологические процессы, как тромбообразование, агглютинация бактерий или полимерных частиц, являются типичными примерами коллоидной агрегации. Классические методы характеристики кинетики агрегации основаны на измерении света, рассеиваемого образцом.

Эта работа посвящена разработке метода адаптивной поляризационной нефелометрии для исследования начальных стадий агрегации сферических объектов. Метод отличается от классических высокой чувствительностью, учетом поляризационных эффектов, а также возможностью регулировать диапазон детектируемых углов рассеяния света в зависимости от приложения.

В данной работе предложены две различных схемы инструмента со следующими ключевыми особенностями: 1. нет сигнала на детекторе, когда исследуемая смесь содержит только мономеры; 2. сигнал для димеров (бисфер) является максимальным среди всех углов рассеяния (оптимизация осуществляется с помощью теоретических расчетов с использованием метода суперпозиции T-матриц). Схемы построены на основании особенностей матриц Мюллера сферических объектов и их агрегатов.

Предложенный метод позволяет детектировать формирование каждого отдельного агрегата частиц, а также работать с экстремально низкими концентрациями образца в суспензии. Это обеспечивает существенное увеличение чувствительности основанных на агрегации или агглютинации количественных анализов по сравнению с аналогами.

Научный руководитель: д-р физ.-мат. наук, проф. В. П. Мальцев

СВЕТ, ПРЕОБРАЗОВАННЫЙ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ, УЛУЧШАЕТ РАЗВИТИЕ РАНЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ *IN VITRO*

Д. А. Решетников, Г. А. Рысцов, А. С. Чернов

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино
Пущинский государственный естественно-научный институт
e-mail: 152no@bk.ru

Видимый свет негативно влияет на развитие эмбрионов млекопитающих. Свет в синей части спектра (445-500нм), приводит к синтезу стрессовых белков теплового шока, и к увеличению числа апоптотических клеток в эмбрионе. Однако свет в красной части спектра (620-750 нм) наоборот, способен оказывать положительное воздействие на развитие клеточных культур *in vitro* и всего организма в целом. Цель работы - исследовать влияние прямого и преобразованного света с дополнительной люминесцентной красной компонентой на развитие ранних эмбрионов мыши *in vitro*.

2-х клеточные эмбрионы от мышей линии SHK однократно в течение 15 минут облучали светом от галогеновой лампы (35W) с или без светопреобразующего экрана. Экран содержит полупроводниковые наночастицы CdSe/CdS, преобразующие свет УФ и синего диапазонов в красный свет ($\lambda_{\text{max}} = 632\text{нм}$). В качестве контроля использовали интактные эмбрионы, которые не подвергали облучению, и эмбрионы облученные светом от галогеновой лампы без светопреобразующего экрана. Состояние клеток эмбрионов оценивали с помощью флуоресцентного набора Apoptosis Assay Kit (ААК).

Показано, что облучение эмбрионов прямым светом галогеновой лампы на 45% увеличивало число погибших эмбрионов по сравнению с интактными, а также в 3 раза повышало количество аномальных бластоцист. Облучение эмбрионов преобразованным светом на 20% снижало число погибших эмбрионов по сравнению с интактными, а количество эмбрионов, развившихся до конечной стадии – бластоцисты, было больше на 30%. Используя набор ААК было обнаружено, что бластоцисты, развившиеся после облучения преобразованным светом имели наименьшее количество мертвых и апоптотических клеток, по сравнению с интактными эмбрионами и облученными прямым галогеновым светом. Таким образом, преобразованный свет ($\lambda_{\text{max}} = 632\text{нм}$) оказывает положительное влияние на развитие ранних эмбрионов мыши.

Научный руководитель: канд. физ.-мат. наук И. И. Селезнева

РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРНОЙ МОДЕЛИ ТРЕХМЕРНОЙ УПАКОВКИ ХРОМАТИНА

И. А. Сидоренко

Новосибирский государственный университет
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Пространственная организация хроматина играет важную роль в регуляции экспрессии генов. Нарушения упаковки ДНК могут быть причиной возникновения раковых заболеваний. Трёхмерная организация хромосом и активность транскрипции генов в них могут меняться в зависимости от типа клеток и эпигенетического состояния, которое зависит от модификаций гистонов и ДНК. В данной работе строится компьютерная модель трёхмерной хромосомы на основе Hi-C матрицы и с использованием данных об эпигенетическом состоянии хроматина.

В разрабатываемой модели хромосома рассматривается как гетерополимер, мономеры которого соответствуют сегментам хроматина, находящимся в различных эпигенетических состояниях. Взаимодействия между различными участками хроматина описываются несколькими потенциалами, которые позволяют восстановить 3D конформацию полимера. Потенциал Леннарда-Джонса используется для описания парного взаимодействия мономеров. Потенциал, зависящий от длины связи между соседними мономерами по цепи, описывает упругие взаимодействия между соседними мономерами. Для учета эпигенетического состояния мономеров вводится кулоновский потенциал с соответствующим коэффициентом. Параметры потенциалов зависят от эпигенетического состояния хроматина. Дополнительно вводится упругий потенциал, позволяющий сблизить отдаленные мономеры для согласования структуры хромосомы с матрицей Hi-C.

Модель даёт возможность реконструировать трёхмерную упаковку хроматина в ядре, соответствующую теоретической матрице Hi-C, отражающей вероятность взаимодействия между участками генома. При этом возникают структуры, соответствующие петлям активного хроматина и компактным участкам репрессированного хроматина. Это позволяет имитировать фундаментальные свойства организации хроматина в ядре. Разрабатываемая модель может обеспечить основу понимания того, как регуляция эпигенома в ходе развития может привести к вариациям клеточных фенотипов через масштабную структурную реорганизацию генома.

Научный руководитель: канд. биол. наук Д. А. Афонников

БИОХИМИЯ

УДК 577.112.7

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ И КАТАЛИТИЧЕСКИЕ АКТИВНОСТИ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

Е. Е. Буркова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

Многочисленные биологические функции плаценты осуществляются различными белками и их комплексами. При этом активности комплексов могут значительно отличаться от активностей индивидуальных белков. Известно, что высокомолекулярные белковые комплексы молока человека проявляют разнообразные каталитические активности.

Целью настоящей работы было определение состава и исследование свойств растворимого, не связанного с мембранами, высокомолекулярного белкового комплекса плаценты человека.

Из водорастворимой фракции экстракта плаценты человека был выделен белковый комплекс с молекулярной массой порядка 1000 кДа. Измерением светорассеяния показана стабильность высокомолекулярного комплекса в концентрированных растворах солей, в присутствии органических растворителей, ЭДТА. Эффективная диссоциация комплекса происходила только в присутствии 8 М мочевины и 50 мМ ЭДТА. С использованием SDS-PAGE и MALDI-TOF масс-спектрометрии было показано, что в состав стабильного высокомолекулярного белкового комплекса входит большое число белков с молекулярными массами от 2 до 180 кДа. Идентифицированы некоторые белковые компоненты комплекса, в том числе сывороточный альбумин и иммуноглобулины класса G. Получена электронная микрофотография высокомолекулярного белкового комплекса.

Показано, что высокомолекулярный белковый комплекс обладает ДНКазной и каталазной активностями. Кроме того, полученный комплекс на 90 % подавлял рост клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН "Молекулярная и клеточная биология" № 6.2, Междисциплинарным интеграционным проектом СО РАН № 59, грантами РФФИ №№ 13-04-00210, 13-04-00208.

Научный руководитель: д-р хим. наук, проф. Г. А. Невинский

INFLUENCE OF PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE AND SATURATED AND UNSATURATED LYSOPHOSPHATIDYLETHANOLAMINES ON CONFORMATION OF OmpF-LIKE PORIN FROM *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

L. A. Davydova¹, N. M. Sanina¹, S. I. Bakholdina², P. V. Velansky¹,
O. D. Novikova², O. U. Pornyagina²

¹Far Eastern Federal University, Vladivostok

²Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok

e-mail:davydova.la@dvfu.ru

Our previous studies showed that the phenol biocide induced a sharp increase of the content of LPE in cells of Gram-negative enterobacterium *Yersinia pseudotuberculosis*. The 2.5-fold increase of LPE content in bacterial lipids results in the enhanced thermostability of OmpF-like porin from the same bacteria (YOmpF). However, lyso-lipids are usually considered as detergent destabilizing membranes. The present work is aimed to clarify what molecular forms of lysophosphatidylethanolamine (LPE) is preferentially accumulated in lipids of *Yersinia pseudotuberculosis* under stress and to compare effect of phosphatidylethanolamine (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DPPE) and saturated (1-palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, MPPE) and unsaturated (1-oleoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, MOPE) lyso phosphatidylethanolamine (LPE) on conformation of homotrimeric YOmpF.

Mainly unsaturated LPE (50% vs. 15% of saturated LPE) was shown to accumulate in cells of *Y. pseudotuberculosis* under stress.

The differential scanning calorimetry showed that MOPE stabilizes porin more effectively than even lamellar DPPE, whereas MPPE behaves like detergent promoting denaturation of protein. According to spectrofluorimetric analysis all three lipids, but especially MPPE, have a relaxing effect on conformation of porin, loosening peripheral region of protein. Simultaneously DPPE and especially MOPE strengthen the contact between monomers in YOmpF trimer, while MPPE conversely weakens.

Different effect of studied phospholipids on conformation of YOmpF can be explained by differences in geometry and hydrophilic-lipophilic balance of their molecules. MOPE protects porin from denaturation better than the other lipids, because it forms transitional superstructure combining properties of bilayer (DPPE) and micelles with positive curvature (MPPE).

This work was supported by Russian Science Foundation Grant 15-15-00035

Scientific adviser: PhD, DrSci Professor N. M. Sanina

ДНКАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ АНТИТЕЛ КРОВИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Е. А. Ермаков, Ф. Ф. Микелев

Новосибирский государственный университет

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Научно-исследовательский институт психического здоровья, г. Томск

e-mail: evgeny_ermakov@mail.ru

Многолетними и многочисленными исследованиями убедительно доказано нарушение гуморального иммунитета при шизофрении, приводящее к образованию антител (АТ) к компонентам нервной ткани и гаптенам. У больных шизофренией были обнаружены АТ к различным рецепторам, а также анти-ДНК АТ. Среди пула аутоантител организма при аутоиммунных и инфекционных заболеваниях были обнаружены IgG, гидролизующие ДНК, которые представляют интерес с точки зрения механизма их образования и возможности использования в качестве диагностических маркеров.

В настоящей работе исследована ДНКазная активность препаратов IgG, выделенных из сыворотки крови 58 больных шизофренией и 22 здоровых доноров. ДНК-азную активность выявляли по степени гидролиза ДНК плазмиды рBluescript. Проверкой жестких критериев (электрофоретическая гомогенность АТ, гель-фильтрация в условиях «рН-шока», выявление ДНКазной активности АТ *in situ*) доказано, что ДНК-гидролизующая активность является собственным свойством АТ. Установлено, что относительная ДНКазная активность IgG больных шизофренией в среднем составила $55,37 \pm 32,55$ %. АТ здоровых доноров демонстрировали низкую активность (в среднем $9,12 \pm 6,5$ %). При этом ДНКазная активность АТ у больных шизофренией с ведущей негативной симптоматикой была достоверно выше ($73,26 \pm 23,77$ %), чем у больных с ведущей позитивной симптоматикой ($43,3 \pm 33,1$ %). Кроме того, у больных шизофренией с негативной симптоматикой было обнаружено достоверное уменьшение титра АТ к однонитевой ДНК, в сравнении со здоровыми донорами. Полученные данные демонстрируют корреляцию уровня ДНКазной активности с ведущей симптоматикой больных шизофренией.

Работа поддержана грантами РФФ № 14-15-00480 и РФФИ 13-04-00208.

Научные руководители: д-р биол. наук, проф. В. Н. Бунева, канд. мед. наук Л. П. Смирнова

КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ АССОЦИАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА МЕТОДОМ «СЛОЙ-ЗА-СЛОЕМ»

В. В. Ершкова

Новосибирский государственный университет

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

e-mail: valeriya_ershkova@mail.ru

Благодаря своим уникальным свойствам наночастицы благородных металлов (например, золото, серебро) широко применяют как объект фундаментальных исследований, так и в прикладных разработках. Так, наночастицы золота (НЧЗ) широко используют как систему доставки в клетки. «Слой-за-слоем» - это простой, эффективный способ модификации поверхностей и получения нековалентных наноструктурированных полимерных многослойных тонких пленок и нанокомпозитов с учетом толщины, структуры, свойств и функций с любым типом субстрата.

Целью работы является конструирование и изучение свойств нековалентных ассоциатов наночастиц золота с олигонуклеотидом (ОН) и полиэтиленимином (PEI), а именно Au/PEI/ON/PEI методом «слой-за-слоем». Частицы характеризовали просвечивающей электронной микроскопией и фотонно-корреляционной спектроскопией. Были получены НЧЗ размером 14 нм и с поверхностным зарядом -30 мВ.

Для стабилизации и усиления связывания наночастиц с первым слоем на основе PEI модифицировали НЧЗ меркаптоундекановой кислотой. Введение разветвленного или линейного полиэтиленimina приводило к смене потенциала первичного ассоциата (Au/PEI) на положительный (+50 мВ). Размер данного ассоциата, согласно ПЭМ, является суперпозицией размера исходной НЧЗ (14 ± 2 нм) и PEI-«короны» - плотного однородного слоя, размер которого составил 10 нм. Далее присоединяли олигонуклеотид через электростатические взаимодействия. Заряд ассоциатов Au/PEI/ON менялся на отрицательный (-11 мВ), а согласно ПЭМ изображениям происходило уплотнение внешнего слоя. Аналогично первому слою на заключительном этапе создания ассоциатов присоединяли дополнительный слой полиэтиленimina. В результате получали положительно заряженные наночастицы, обладающие 14 нанометровой «коронай». Подобным образом были получены ассоциаты на основе стержневых наночастиц золота.

Научный руководитель: канд. хим. наук И. А. Пышная.

**НАЛИЧИЕ ДВУХ ТИПОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗ
У ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ
RHODOVULUM STEPPENSE ШТАММА А-20S**

В. М. Ларченков, А. Х. Ахмед, Ж. А. Целуйко,
М. И. Фалалеева, А. Т. Епринцев
Воронежский государственный университет
e-mail: larchenkoff.vladimir@yandex.ru

Целью данной работы было изучение метаболизма пирувата у галоалкалофильного микроорганизма *Rhodovulum steppense* штамма А-20s — представителя несерных пурпурных бактерий.

В клетках *Rhodovulum steppense* были обнаружены NAD-зависимая L-лактатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.27) и NAD-независимая лактатдегидрогеназа цитохромной природы (L-лактат-цитохром С-оксидоредуктаза) (КФ 1.1.2.3). Для исследований использовались культуры с фотолитоавтотрофным, фотоорганогетеротрофным типами питания, выращенные в анаэробных условиях, и культура с хемоорганогетеротрофным типом питания, выращенная в аэробных условиях, и культура, выращенная в аэробных условиях на комплексной питательной среде, включающей в себя как органические вещества, так и восстановленные соединения серы в качестве донора электронов для фотосинтеза.

Значения удельной активности L-лактатдегидрогеназы составили: при фотолитоавтотрофном типе питания — 3,43 Е/мг белка, для миксотрофной культуры — 0,376 Е/мг белка, при фотоорганогетеротрофном типе питания — 0,009 Е/мг белка, при хемоорганогетеротрофном типе питания в аэробных условиях — 0,335 Е/мг белка. Из миксотрофной культуры был получен препарат данного фермента с удельной активностью 32,71 Е/мг белка, очищенный в 87,65 раз.

Значения удельной активности L-лактат-цитохром С-оксидоредуктазы составили: при фотолитоавтотрофном типе питания 0,0623 Е/мг белка, при фотоорганогетеротрофном — 0,0961 Е/мг белка, при фотомиксотрофном — 0,014 Е/мг белка. Также наличие обоих ферментов было подтверждено электрофоретическими исследованиями с проявлением активных зон тетразолиевым методом.

Характер активности лактатдегидрогеназ у *Rhodovulum steppense* указывает на их возможное участие в реализации литотрофного типа питания.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. Епринцев А.Т.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ NER-КОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ С АНАЛОГАМИ СУБСТРАТА NER, СОДЕРЖАЩИМИ ФОТОАКТИВНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ

Н.В. Лукьянчикова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск
e-mail: lunata9@yandex.ru

Клеточные системы репарации защищают ДНК живой клетки, препятствуя накоплению в генетическом материале повреждений, возникающих в результате воздействия различных физических и химических факторов. Основным механизмом удаления разнообразных объемных повреждений, искажающих регулярную структуру дцДНК, является эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) – многостадийный процесс с участием большого набора ферментов и белковых факторов.

Анализ взаимодействия синтетических аналогов поврежденной ДНК с белками комплекса NER позволяет лучше понять механизм распознавания повреждения и то, как скорость удаления повреждения связана с его структурой. Такое понимание важно как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте: например, действие многих химиотерапевтических препаратов основано на внесении повреждений в структуру ДНК.

Целью данной работы было исследование свойств нуклеозида, модифицированного по азотистому основанию объемной фторазидобензоильной группировкой (5Fab-dC), как повреждения, опознаваемого системой NER и компонента ДНК-зондов для фотоаффинной модификации белков-участников NER.

Было показано, что 5Fab-dC-ДНК является эффективным субстратом системы NER в реакции эксцизии, катализируемой белками NER-компетентных экстрактов клеток млекопитающих.

Эксперименты по аффинной модификации белков NER-компетентных экстрактов фотоактивными ДНК-зондами с различным взаимным расположением объемных модификаций 5Fab-dC и nFlu (ненуклеозидная вставка, содержащая остаток флуоресцеина) продемонстрировали чувствительность зондов к белковому составу этих сложных систем, а также позволили выявить наиболее перспективный ДНК-зонд для дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 142400038.

Научные руководители: канд. хим. наук И. О. Петрусёва, канд. биол. наук А. Н. Евдокимов

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ БЕЛКА p53 НА АКТИВНОСТЬ
ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ
ВОССТАНОВЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА ПРИ ДЕЙСТВИИ
КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ(IV).**

В. А. Мумятова, А. А. Балакина, А. А. Терентьев
Институт проблем химической физики, г. Черноголовка
e-mail: vmumyatova@bk.ru

Известно, что механизм действия ряда генотоксических соединений, в том числе комплексов платины, сопровождается образованием активных форм кислорода (АФК). При этом важная роль отводится опухолевому супрессору p53, который, как известно, способен регулировать работу антиоксидантной системы.

В ходе работы было исследовано действие комплекса платины (IV) JM216, а также аминитроксильных комплексов BC-131 и BC-149 на функционирование антиоксидантной системы в норме и при подавлении функций опухолевого супрессора p53. Исследование проводилось на линии опухолевых клеток MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека), содержащей неповрежденный p53.

Было показано, что все исследуемые соединения вызывали накопление малонового диальдегида (МДА) в опухолевых клетках после 12 ч действия. Обнаруженное увеличение МДА в 3-4 раза по сравнению с контролем говорит об индукции образования АФК и развитии окислительного стресса. Установлено, что все изученные комплексы не оказали существенного воздействия на содержание восстановленного глутатиона (GSH) в клетках. Однако ингибирование белка p53 индуцировало значительное снижение концентрации GSH, как в контроле, так и в экспериментальных образцах. Следует отметить также существенное снижение количества глутатиона при действии комплексов JM216 и BC-149 относительно контроля.

Аналогичные изменения предполагались и в активности фермента глутатионпероксидазы. Однако лишь в случае с JM-216 наблюдается существенное увеличение активности фермента и ее значительное снижение при ингибировании белка p53.

Таким образом, ингибирование функций белка p53 в опухолевых клетках приводит к изменению их редокс-статуса вследствие снижения концентрации восстановленного глутатиона и, вероятно, усиливает прооксидантные свойства комплексов платины.

Научный руководитель: канд. биол. наук А.А. Терентьев

КОНСТРУИРОВАНИЕ АНТИСЕНС-ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОНУКЛЕАЗОЙ Р

А. С. Назаров

Новосибирский государственный университет,
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск
e-mail: nazarov.ngu@gmail.com

Одной из наиболее актуальных проблем современной химической биологии, биотехнологии и медицины является создание принципиально новых антибактериальных препаратов. Многообещающим подходом к решению данной проблемы является конструирование олигонуклеотидов, способных специфично взаимодействовать с определенными бактериальными РНК и блокировать их функции, подавляя тем самым рост бактерий. Перспективным направлением в этой области является создание антисенс-олигонуклеотидов, содержащих ССА-последовательность на 3'-конце, которые способны направлять бактериальную рибонуклеазу Р для расщепления комплементарного им участка в мРНК-мишени. С другой стороны, наличие в составе бактериальной РНКазы Р собственной протяженной молекулы РНК позволяет ингибировать активность этого критически важного для бактерий фермента при помощи олигонуклеотидов, комплементарных определенному участку его РНК. Целью данного исследования является создание устойчивых в биологических средах модифицированных направляющих и ингибирующих олигонуклеотидов, взаимодействующих с бактериальной РНКазой Р. В ходе работы было проведено сравнительное исследование способности серии новых модифицированных направляющих олигонуклеотидов индуцировать гидролиз РНК-мишени бактериальной рибонуклеазой Р. Проведено также исследование свойств различных модифицированных олигонуклеотидов, комплементарных фрагменту М1 РНК в составе рибонуклеазы Р *E.coli*, как ингибиторов расщепления модельного РНК-субстрата бактериальной рибонуклеазой Р. В обоих случаях выбраны наиболее эффективные варианты модифицированных олигонуклетидов, которые можно рассматривать как основу для создания высокоспецифичных антибактериальных препаратов.

Работа выполнена в рамках проекта, поддержанного грантом правительства РФ для гос. поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых N14.B25.31.0028

Научный руководитель: канд. хим. наук М. А. Воробьева.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ЛИНИИ P19 ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОКСИИ IN VITRO

Д. С. Орлов, Н. В. Рязанцева, Е. А. Степовая, О. Л. Носарева,
В. В. Иванов, Е. В. Шахристова

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск
e-mail: DOC_esperanzo@mail.ru

Формирование гипоксии является общей чертой всех солидных опухолей. В настоящее время установлена положительная корреляция между степенью опухолевой гипоксии и резистентностью к терапии, а также повышенным метастазированием и ухудшением общего прогноза заболевания.

Опухолевые клетки линии P19 культивировали в полной питательной среде alpha-MEM, содержащей 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамин (0,3 мг/мл) и гентамицин (0,1 мг/мл) в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂). Оценку жизнеспособности с помощью 0,1% раствора трипанового синего и пересадку клеток осуществляли каждые 2 дня. При моделировании гипоксии клеточную культуру помещали на 18 часов в специальную камеру («Нурохиа Incubator Chamber»), заполняемую газовой смесью, содержащей 5% O₂, 5% CO₂, 90% N₂. Активность ферментов (глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы) определяли спектрофотометрическим методом (длина волны 412 нм).

Благодаря общей глутатионпероксидазной активности в клетках регулируется концентрация гидропероксидов полиненасыщенных жирных кислот и H₂O₂. Окисленный в ходе данных реакций глутатион затем восстанавливается при участии глутатионредуктазы. Было установлено, что при гипоксии формируется состояние окислительного стресса. Активность глутатионпероксидазы снижается в 1,3 раза (p<0,05) по сравнению с нормоксией. При этом активность глутатионредуктазы повышается в 1,7 раза (p<0,05). Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда в рамках научного проекта № 15-36-01289.

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. Е. А. Степовая

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ МАЛЫХ РЕК В ЧЕРТЕ Г. НОВОСИБИРСКА БИОТЕСТИРОВАНИЕМ

Е. В. Рощина

Сибирский государственный университет водного транспорта,
г. Новосибирск
e-mail: kvig@nsawt.ru

Малые реки г. Новосибирска относятся к бассейну р. Обь. В правобережье – Иня (нижняя), Ельцовка-1, Ельцовка-2, Каменка, Камышенка, Плющиха, Нижняя Ельцовка, в левобережье – р. Тула.

Малые реки, протекая по территории города, принимают большую часть поверхностного стока и значительное количество сточных вод города. Общий объем стоков, поступающих в малые реки города, составляет более 19,5 млн.м³/год, из них поверхностного стока около 77%, хозяйственно-бытового ~ 9%, производственного около 14%.

Цель работы – анализ качества воды малых рек в черте г. Новосибирска биотестированием. В качестве тест – объектов использовались *Daphnia magna* straus, широко распространенные на территории России.

Анализ качества воды малых рек в черте города Новосибирска проводился по данным, полученным в лаборатории мониторинга загрязнения поверхностных вод Федерального государственного бюджетного учреждения «Западно-Сибирское управление по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды» за 1993–2012 гг. [1,2].

Результаты анализа качества воды показали, что токсичность воды малых рек города Новосибирска изменялась в пределах от 5 до 77%, что соответствовало качеству воды от слабозагрязненной до грязной. Максимальная токсичность воды наблюдалась для рек Тула, Каменка, Ельцовка-1, Ельцовка-2. В последние годы наметилась тенденция улучшения качества воды малых рек, реки Каменка, Иня (нижняя), Ельцовка-1, Ельцовка-2 перешли в категорию слабозагрязненные.

1. Состояние окружающей среды Новосибирской области в 1993-2009 году/ Новосибирский областной комитет охраны окружающей среды и природных ресурсов; ред. Петрика А.И. Новосибирск, 1994-2010.

2. О состоянии и об охране окружающей среды Новосибирской области в 2010-2012 году: государственный доклад/ Департамент природных ресурсов и охраны окружающей среды Новосибирской области; ред. Марченко Ю.Ю. Новосибирск, 2011-2013.

Научный руководитель: канд. хим. наук, доцент С.Я. Тарасенко

СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА И ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ РЕДОКС-СТАТУСА КЛЕТОК ЛИНИИ HBL-100 В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Е. В. Шахристова, Р. И. Чильчигашев, О. Л. Носарева, Е. А. Степовая
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск
e-mail: shaxristova@yandex.ru

Окислительный стресс может развиваться в различных типах клеток, в том числе в эпителиальных, и сопровождать онкологические, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые заболевания. Целью настоящего исследования являлось изучение состояния системы глутатиона и уровня окислительной модификации белков (ОМБ) при индуцированном окислительном стрессе с помощью модуляции редокс-статуса клеток эпителия молочной железы блокатором SH-групп N-этилмалеимидом (NEM, 5,0 мМ) и протектором SH-групп 1,4-дитиозэритритолом (DTE, 5,0 мМ).

Эксперименты выполнены на культуре клеток эпителия молочной железы человека линии HBL-100, полученной из Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Культивирование клеток проводили адгезионным методом в полной питательной среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия). В клетках линии HBL-100 при окислительном стрессе, индуцированном H_2O_2 (0,3 мМ), и модуляции редокс-статуса оценивали состояние системы глутатиона по содержанию восстановленного (GSH), окисленного (GSSG) глутатиона и величины отношения GSH/GSSG, отражающей редокс-статус клетки. Интенсивность ОМБ оценивали по концентрации карбонильных производных белков, окисленного триптофана и образованию битирозина. Результаты обрабатывали с помощью непараметрических критериев Краскала-Уолиса и Манна-Уитни.

В результате проведенных исследований нами было установлено, что в клетках линии HBL-100 при индуцированном окислительном стрессе и инкубации с NEM снижался редокс-статус и увеличивалась концентрация карбонильных производных белков, битирозина и окисленного триптофана ($p < 0,01$). Инкубация клеток эпителия молочной железы с DTE при окислительном стрессе способствовала увеличению редокс-статуса и снижению уровня окислительной модификации белков и аминокислот ($p < 0,01$) по сравнению с клетками, инкубированными только с H_2O_2 .

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда в рамках научного проекта № 15-36-01289.

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. Е. А. Степовая

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОБИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ УГЛЕВОДОВ В СОЛОМИНЕ ЯЧМЕНЯ

О. С. Синенко

Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург
e-mail: olga_sinenko@list.ru

Донорно-акцепторные отношения играют важную роль в процессах роста и развития целого растения и отдельных органов. В ходе онтогенеза происходит неоднократная смена доноров и акцепторов. При формировании колоса у злаков наряду с продуктами текущего фотосинтеза используются вещества, накопленные растением до цветения. Основными транспортными и запасными формами являются углеводы. Изучение динамики углеводов в растении в ходе онтогенеза необходимо для понимания донорно-акцепторных отношений, лежащих в основе формирования колоса.

Растения ячменя *Hordeum vulgare L.* сорта «Дина», выращенные в открытом грунте мелкоделяночным способом, в период трубкования были «подкормлены» $^{14}\text{CO}_2$. О распределении фотоассимилятов в последующие этапы онтогенеза судили по радиоактивности органов. Содержание низкомолекулярных сахаров проводили резорциновым методом (Ермаков, 1987).

В ходе формирования колоса отмечено старение растения, снижение фотосинтеза, однако налив зерновок продолжался вплоть до восковой спелости. Содержание мобильных фракций углеводов в солоmine удваивалось от фазы трубкования к фазе колошения, а к фазе восковой спелости еще в 2,3 раза. Мы предположили, что несоответствие между снижением фотосинтеза и ростом количества спирто-водорастворимых углеводов в солоmine обусловлено тем, что соломина выполняет функцию временного депо ассимилятов. На ранних этапах формирования колоса, когда растение в целом обладало высоким уровнем ассимиляции CO_2 , происходило депонирование части фотоассимилятов в солоmine. В период налива зерновок временно запасенные вещества гидролизовались, и сахара транспортировались в колос. Так радиоактивность соломины и колоса в период с трубкования до колошения удваивалась, а к концу онтогенеза возрастала еще в 1,7 раза. Сам факт накопления в зерновках радиоактивных углеводов свидетельствует об использовании в наливе зерновок ассимилятов, синтезированных на более ранних этапах онтогенеза.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент И. С. Киселева

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИЙ ФОТОВОЗБУЖДЕННОЙ КИНУРЕНОВОЙ КИСЛОТЫ С КРИСТАЛЛИНАМИ

Е. Д. Сормачева

Международный томографический центр СО РАН, Новосибирск
e-mail: kate.sormacheva@gmail.com

Катаракта является наиболее частой причиной снижения зрения и слепоты. Одним из основных факторов, вызывающих развитие катаракты, является УФ-излучение солнца. Под действием кванта света УФ-фильтры хрусталика – кинуренин и его производные –, способны переходить в триплетное состояние. Взаимодействие основных белков хрусталика, кристаллинов, с возбужденными молекулами кинуренинов приводит к накоплению пост-трансляционных модификаций. Целями данной работы было: 1) исследование реакций тушения триплетного состояния фотовозбужденных молекул аминокислотами и белками хрусталика; измерение констант скорости этих реакций; 2) определение характера модификаций белков хрусталика, образующихся в результате реакций с триплетными молекулами.

Тушение триплетных молекул кинуреновой кислоты (¹КНК) аминокислотами происходит по механизму переноса электрона с образованием соответствующих радикалов. Триптофан и тирозин являются наиболее эффективными тушителями среди аминокислот. Реакции ¹КНК с альфа- и бета-кристаллинами приводят к образованию радикалов триптофановых и тирозиновых остатков. В случае реакций с гамма-кристаллином наблюдается сигнал только от тирозинового радикала.

Фотолиз бета- и гамма-кристаллинов (в нативном и денатурированном состоянии) в присутствии КНК в анаэробных условиях приводит к образованию высокомолекулярных агрегатов. Для всех кристаллинов было обнаружено образование новой полосы поглощения с максимумом на 325 нм, что говорит о появлении продуктов, поглощающих в ближней УФ-области. Масс-спектрометрический анализ показал монотонную гибель белков и тирозин-содержащих пептидов в процессе фотолиза.

Полученные результаты показывают, что фото-индуцированные модификации кристаллинов приводят к значительным изменениям свойств этих белков, которые, в свою очередь, могли бы играть важную роль в катарактогенезе.

Научные руководители: д-р хим. наук Ю. П. Центалович,
канд. физ.-мат. наук П. С. Шерин

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОТИПА ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ С ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫА. С. Тугбаева¹, Ю. А. Ковалицкая², К. А. Шестибратов²¹ Уральский федеральный университет им. первого Президента России
Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург;² Филиал Института биоорганической химии им. академиков
М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, г. Пушкино.
e-mail: anastasia.tugbaeva@gmail.com

Осина является одной из легковозобновляемых и быстрорастущих древесных пород, которая широко применяется в целлюлозно-бумажной промышленности. Производство бумажной массы влечет за собой загрязнение окружающей среды техническими лигнинами. Использование древесины со сниженным содержанием лигнинов в клеточной стенке сделает производство ЦБК менее затратным и ограничит загрязнение окружающей среды. Грибные лакказы – ферменты, способные окислять лигнин, делая его доступным для дальнейшего разложения. Цель исследования – определить, как влияет экспрессия гена грибной лакказы в трансгенных растениях осины на биометрические характеристики и состав древесины. Исходный клон осины 47 трансформировали вектором pBI, несущим ген лакказы из гриба *Trametes hirsuta* под контролем CaMV 35S промотора. ПЦР-анализ тотальной ДНК трансформантов показал, что в 17 линиях произошла встройка целевого гена *Lac*, агробактериальная контаминация отсутствует. Экспрессия целевой конструкции была подтверждена методом ОТ-ПЦР.

Анализ ферментативной активности рекомбинантной лакказы показал ее увеличение в растениях *in vitro* у 7 линий на 26-120% по сравнению с нетрансгенным контролем; в растениях *ex vitro* увеличение у 9 линий на 14-40% (отличие достоверно). Наблюдается корреляция между повышением ферментативной активности лакказы *in vitro* и *ex vitro*. По данным биометрического анализа, показано, что высота растений в возрасте 4 месяцев у 5 линий выше контроля (до 26,5%); для 6 линий высота ниже контроля (до 70,9%). Эффективность укоренения в условиях *in vitro* на уровне контроля у 9 линий трансформантов (80-100% укоренение на 12 день); для 2 линий укоренение ниже уровня контроля (20-40%). Химический анализ состава древесины выявил снижение пентозанов на 8,65-11,86%, содержание целлюлозы в древесине трансгенных растений возрастает на 3,70-7,60% для 9 линий. Содержание общего лигнина уменьшается на 1,11-1,90% для 5 линий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-08-31667.

Научные руководители: канд. биол. наук Ю. А. Ковалицкая, канд. биол. наук К. А. Шестибратов.

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА *DROSOPHILA MELANOGASTER* В ХОДЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ НАПРАВЛЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ В ПРИСУТСТВИИ МЕТОТРЕКСАТА

О. Н. Антосюк

Уральский федеральный университет им. первого Президента России
Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург
e-mail: Antosuk-olga@mail.ru

В нашем исследовании мы использовали 3 линии дикого типа *Drosophila melanogaster*: «Host» (отловлена в 2005 году), «Белгород» (отловлена в 2006 году) и «Биос-3» (отловлена в 2007 году). Используются следующие методы: 1. определение средней индивидуальной плодовитости особей; 2. определение частоты встречаемости гибели потомства на ранней и поздней стадиях эмбрионального развития; 3. определение частоты хемоморфозов типа «вырезка» на крыле; 4. морфометрический анализ крыла; 5. ПЦР анализ количества копий *hobo*-элемента. В качестве фактора химического стресса использовали метотрексат (2 мкг/кг среды). Полученные нами результаты свидетельствуют о влиянии метотрексата как на генеративные, так и на соматические клетки у *D. melanogaster*. Таким образом, на основании результатов, полученных в ходе дискриминантного анализа морфометрических показателей крыла, можно говорить о том, что линия дикого типа «Белгород» отличается от линий дикого типа «Биос-3» и «Host» при воздействии метотрексатом. Копийность *hobo* и *hobo*-подобных элементов после первичного воздействия метотрексатом у трех линий дикого типа уменьшается, но впоследствии в ходе длительной направленной селекции линейные различия становятся более выраженными, так как количество *hobo* и *hobo* – подобных элементов изменяется в линиях по-разному. Направленный отбор в условиях стресса может привести к сильной активации транспозонов, либо дезактивации транспозонов. Дезактивация, благодаря механизмам эксцизии, либо за счет других механизмов, может приводить к гибели особей.

Работа выполнена при финансовой поддержке постановление № 211
Правительства Российской Федерации, контракт № 02.А03.21.0006

МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА *HSM* ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

А. Ю. Черненко, Д. В. Федоров, Т. А. Евстюхина, Т. Н. Кожина,
В. Т. Пешехонов, В. Г. Королев
Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова,
г. Гатчина
e-mail: ancher@omrb.pnpi.spb.ru

В нашей лаборатории получена коллекция мутантов семейства генов *HSM* (*HSM2*, *HSM3*, *HSM6* и *HIM1*), характеризующихся высоким уровнем спонтанного мутагенеза, повышенными частотами индуцированного мутагенеза и пониженной способностью репарировать гетеродуплексы ДНК. Все гены семейства картированы, получены различные типы мутантов по каждому из генов, выделены соответствующие белковые продукты.

Для гена *HSM2* показана аллельность с геном *HMO1*, продукт которого относится к семейству HMG-белков и принимает участие в процессах пострепликативной и рекомбинационной репарации.

Ген *HSM6* аллелен гену *PSY4*, кодирующему субъединицу ядерной фосфатазы III, отвечающей за фосфорилирование гистонов H3 и H4. Белок Hsm6 взаимодействует с белком Rad53 в каскаде реакций чекпойнта.

Ген *HSM3* кодирует белок Hsm3, для которого установлена доменная структура, показано участие центрального домена в сборке и работе протеасомного комплекса (взаимодействие с Rpt1p, Rpt2p и Rpt5p), С-концевого домена – в механизмах контроля различных типов мутагенеза. Мутации в гене *HSM3* оказывают влияние на стабильность D-петли как основного интермедиата пострепликативной и гомологичной рекомбинационной репарации. Установлено, что белок Hsm3 является субъединицей (шапероном) гистонацетилазного комплекса NuB4/НАТ-В, ацетилирующего ядерные и цитоплазматические гистоны H4. Показано влияние белка Hsm3 на эффективность работы рибонуклеотид редуктазы и уровень пула дНТФ в клетках. Выявлено взаимодействие Hsm3p с одним из основных факторов реорганизации хроматина – Asf1p.

Мутанты *him1* фенотипически сходны с мутантами *hsm3*. При этом, продукт гена *HIM1* взаимодействует с гистонацетилазным комплексом *SIN3* (функциональным антагонистом комплекса NuB4), осуществляющим деацетилирование гистонов H3 и H4 по шаблону, аналогичному шаблону ацетилирования комплексом НАТ-В.

Научный руководитель: д-р биол. наук В. Г. Королев

ОДНОНУКЛЕОТИДНАЯ ЗАМЕНА 721A>C ГЕНА TLR10 В ПОПУЛЯЦИЯХ РУССКИХ И БАШКИР

А. В. Евдокимов, А. Л. Бурмистрова, Д. С. Сташкевич, Ю. Ю. Филиппова
Челябинский государственный университет
e-mail: avdax@yandex.ru

Введение. Толл-подобные рецепторы (toll-like receptors, TLRs) встречаются на мембранах клеток всех млекопитающих и осуществляют распознавание молекул микробного происхождения, общих для разных групп микроорганизмов. Подобное распознавание приводит к активации механизмов врождённого иммунного ответа. Полногеномное секвенирование области генов TLRs позволило выявить однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphisms, SNPs), влияющие на функциональную активность TLRs и встречающиеся с различной частотой в мировых популяциях. К таким SNPs относится замена 721C>T в гене TLR10: аллель с заменой (721*С) с более высокой частотой встречается в монголоидных популяциях, в то время как в популяциях европеоидного происхождения наиболее частым является предковый аллель 721*А.

Цель исследования. Определить частоту встречаемости аллелей и генотипов по точковому полиморфизму 721A>C гена толл-подобного рецептора 10 (TLR6) в популяциях русских и башкир Челябинской области.

Материалы и методы. Исследовалась геномная ДНК, полученная от двух групп: русские (137 человек) и башкиры (127 человек). Полиморфизм 721A>C гена TLR10 определён при помощи анализа длин рестрикционных фрагментов (рестриктаза NlaIII), с электрофоретической детекцией в 3% агарозном геле. Полученные частоты генотипов были проверены на соответствие закону Харди – Вайнберга. Для определения различий в частотах распределения аллелей и генотипов между популяциями были рассчитаны отклонения Фримана–Тьюки. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,050$.

Результаты. Аллель 721*А достоверно чаще встречался в популяции русских (65,7%, $p = 0,001$), чем в популяции башкир (50,0%, $p < 0,001$), в то время как аллель 721*С был более частым в популяции башкир по сравнению с популяцией русских (50,0% и 34,3% соответственно, $p < 0,001$). В исследованных популяциях были обнаружены статистически значимые различия в распределении гомозигот: доля гомозигот по аллелю 721*А выше в популяции русских (45,3% по сравнению с 26,8% у башкир, $p = 0,004$), а гомозиготы по аллелю 721*С достоверно чаще встречаются в популяции башкир (26,8% по сравнению с 13,9% у русских, $p = 0,006$).

АССОЦИАЦИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНЕ ЛИМФОТОКСИНА БЕТА *LTV* С РЕПРОДУКТИВНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ

Я. Гон

Новосибирский государственный университет

e-mail: 1154996779@qq.com

У диких и лабораторных животных показано существование компромисса между репродуктивным успехом и иммунитетом в результате ограниченности энергетических ресурсов организма. Поэтому искусственный отбор сельскохозяйственных животных на усиление репродуктивных признаков может сопровождаться снижением иммунного ответа. Гены, кодирующие белки иммунной системы, являются перспективными генами-кандидатами хозяйственно важных признаков свиней. Согласно гипотезе компромисса (trade-off) существуют антагонистические отношения между иммунной и репродуктивной функцией животных. Поэтому мутации в генах иммунной системы, нарушающие функции белков, могут приводить к усилению репродуктивных характеристик. Например, у свиней к этим признакам относится число живых поросят в помете, масса гнезда поросят и т.д.

Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) – замена одного нуклеотида на другой в последовательности нуклеотидов, которая возникает в результате точечной мутации. Кодирующие области генов (экзоны) содержат генетическую информацию, которая используется для транскрипции мРНК и ее трансляции в соответствующий белковый продукт, который влияет на фенотипические признаки. Нуклеотидные замены в экзонах являются основой генетического разнообразия, поскольку полиморфные варианты ДНК с положительными эффектами на признак накапливаются, а варианты с нежелательными эффектами методично исключаются из дальнейшей селекции. Они могут позитивно или негативно влиять на функцию белка и, таким образом, на признаки продуктивности. ОНП в некодирующих частях генов (промоторы, интроны и т.д.) могут влиять на уровень экспрессии мРНК и ее стабильность. Белок лимфотоксин бета является членом суперсемейства белков фактора некроза опухолей альфа экспрессируется в лимфоцитах при активации иммунного ответа. У свиней ген лимфотоксина бета *LTV* расположен на 7 хромосоме и занимает 1899 п.н. В промоторе гена *LTV* находится ОНП rs340283541 – замена A/G в позиции 283 п.н. выше старта транскрипции.

Целью работы были определение частоты генотипов и аллелей ОНП rs340283541 в гене лимфотоксина бета *LTV* у свиней крупной белой породы, а также анализ его ассоциации с числом поросят, массой гнезда и средним весом поросенка в возрасте 0, 21 и 60 дней.

В исследовании использовали 80 свиней крупной белой породы из ЗАО АПК «Иня» (Новосибирская область). Венозную кровь забирали из яремной

вены в вакуумную пробирку с антикоагулянтом (ЭДТА). Геномную ДНК выделяли методом протеолитической обработки с последующей экстракцией фенол-хлороформом.

Фрагмент гена *LTV* размером 172 п.н. амплифицировали в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 3 мМ $MgCl_2$, по 200 мкМ каждого dNTP, по 1 мкМ каждого праймера (5'-TCCCTCAGACTCAACACTGCACAC-3' и 5'-TTCAGGCAGCTGGCAGGGAGAA-3'), 2,5 ед. активности Taq-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск), и 0.5-1 мкг ДНК в течение 35 циклов (95°C – 30 с, 68°C – 30 с, 72°C – 30 с) с предварительной денатурацией при 95°C – 3 мин.

Продукт амплификации подвергали рестрикции ферментом HpySE526I («СибЭнзим», Россия), при условиях, рекомендуемых производителем. Ампликон 172 п.н. либо оставался неразрезанным (дикий тип, аллель А), либо разрезался на фрагменты 148 и 24 п.н. (мутация, аллель G). Электрофоретический анализ фрагмента проводили в 6% полиакриламидном геле с добавлением бромистого этидия.

Проверку отклонения распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга проводили с помощью критерия χ^2 . Оценку влияния ОНП маркера гена *LTV* на репродуктивные показатели проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа, попарные сравнения проводили с помощью *post-hoc* анализа по Фишеру. Для статистической обработки данных использовали пакет программ STATISTICA 8.0.

Распределение генотипов в изученной выборке статистически достоверно отличалось от равновесия Харди–Вайнберга. Оказалось, что ОНП полиморфизм достоверно ассоциирован с числом живых поросят ($F(2,207) = 3.662$, $p = 0,027$) и массой гнезда ($F(2,199) = 3.084$, $p = 0,048$) при рождении. Число живых поросят и масса гнезда при рождении у свиноматок с генотипом AA было достоверно выше значений этих показателей у свиноматок с генотипом GG ($p = 0.012$) или GA ($p = 0.011$). Генотип матери по ОНП в гене *LTV* не оказывал влияния на среднюю массу одного поросенка при рождении ($F(2,199) = 1.127$, $p = 0,881$). Также не обнаружены ассоциации rs340283541 в гене *LTV* с репродуктивными показателями поросят в возрасте 21 и 60 дней.

Ранее другими авторами были показаны положительная ассоциация однонуклеотидного полиморфизма гена *PANE1*, кодирующего минорный антиген гистосовместимости, с иммунологическими показателями крови и отрицательная ассоциация с массой при рождении у поросят породы ландрас [1].

Таким образом, генотип ОНП rs340283541 влияет на число живых поросят и массу гнезда при рождении, но не влияет на среднюю массу одного новорожденного поросёнка, а также на репродуктивные параметры поросят в возрасте 21 и 60 дней.

1. Huang et al., Mol. Biol. Rep. 2010. V. 37. No. 5. P. 2571–2577.

Научный руководитель: канд. биол. наук Н.С. Юдин

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ПЕПТИДОМА КЛЕТОК МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS*

Р. А. Хазигалева¹, И. А. Фесенко¹, Г. П. Арапиди¹, С. И. Ковальчук¹,
К. А. Бабалян¹, К. С. Ануфриева¹, В. М. Говорун^{1,2}, В. Т. Иванов.¹

¹Институт биоорганической химии

им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, г. Москва

²НИИ физико-химической медицины, г. Москва

e-mail: khazigaleeva.regina@gmail.com

Пептиды являются важнейшим классом низкомолекулярных биорегуляторов. В последние годы был идентифицирован целый ряд регуляторных пептидов растений, которые являются продуктами деградации белков-предшественников. В тоже время мало что известно о пептидах, которые образуются при трансляции коротких открытых рамок считывания (sORF) и при протеолизе функционально активных белков.

Целью нашей работы являлся анализ пептидома клеток модельного объекта - мох *P. patens*.

Используя масс-спектрометрический анализ, мы проанализировали пулы нативных пептидов, выделенных из клеток гаметофоров, протонемы и протопластов мха *P. patens* в трех биологических повторах. В результате анализа мы идентифицировали около 28000 тысяч уникальных пептидов – продуктов деградации функционально активных пептидов. При этом в пептидоме протопластов, мы идентифицировали 20 427 уникальных пептида, являющихся фрагментами 1572 белков. Мы предполагаем, что существенное увеличение пептидов в протопластах, является результатом действия стрессовых факторов.

Кроме того, используя, программу sORFfinder мы обнаружили в геноме мха 241,228 sORFs с высоким кодирующим потенциалом. Для того, чтобы доказать транскрипцию идентифицированных коротких рамок считывания мы использовали данные транскрипционного профилирования (RNA-seq). Используя данные RNA-seq, мы показали транскрипцию 8450 sORFs, которые локализуются в межгенных участках. Используя тандемный масс-спектрометрический анализ, мы подтвердили трансляцию 27 межгенных коротких открытых рамок считывания.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

Научный руководитель: канд. биол. наук И. А. Фесенко

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ НА ОСНОВЕ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ ИНДИКАТОРНЫХ ОРГАНИЗМОВ

А. М. Хусаинов

Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: shade0602@yandex.ru

Водные объекты, расположенные в крупных городах, испытывают сильную антропогенную нагрузку. Поэтому быстрый и своевременный мониторинг водоемов очень актуален. Биоиндикация является одним из основных методов оценки состояния водоемов. Метод заключается в определении индикаторных видов организмов по морфологическим признакам под микроскопом, и мнение эксперта может быть субъективным. Мы предлагаем объективный способ оценки, базирующийся на современных инструментальных методах молекулярной генетики и биоинформатики, который позволит достоверно и в короткие сроки оценивать экологическое состояние водоемов.

В настоящее время исследователи используют участок митохондриального гена COI в определении классификации животных (ДНК-штрихкодирование). Такой подход повышает достоверность и скорость определения индикаторных видов.

Определение индикаторных организмов по маркерному белку позволит избежать использование микроскопа и даст возможность работать с совокупностью организмов из одной пробы. Для этого в работе проведен анализ степени межвидовой варибельности аминокислотной последовательности белка цитохром *c*-оксидазы I на предмет применения в качестве маркерного белка для идентификации в пробе воды зоопланктонных организмов – индикаторов сапробности водоема. Для 29 индикаторных зоопланктонных организмов из 95 исследованных идентифицированы уникальные олигопептидные участки белка COI, не имеющие гомологичных участков у данных белков других видов. Использование маркерного белка цитохром *c*-оксидаза I позволит в более краткие сроки получать объективную достоверную информацию о состоянии водоема.

Научный руководитель: канд техн. наук, доцент Л. Л. Фролова

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ ЯЩЕРИЦ РОДА *ANOLIS* С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ БИОИНФОРМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

И. Г. Кичигин, А. И. Макунин

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: kig@mcb.nsc.ru

У ящериц зафиксировано удивительное разнообразие систем определения пола. Чешуйчатые с точки зрения геномов изучены недостаточно хорошо: геном только одного вида был секвенирован, проанализован и отчасти собран (*Anolis carolinensis*). Род *Anolis* является разнообразным таксоном ящериц состоящим из более чем 400 видов, который часто используют в качестве модельного рода рептилий. Большинство видов этого рода обладают гомоморфными половыми хромосомами, причем система XY по-видимому эволюционировала из одной и той же пары аутосом и является общей для всего рода.

В этой работе мы обнаружили основные тенденции эволюции половых хромосом у анолисов, цитогенетически проанализировав 9 видов. Особо интересными случаями оказались виды *A. sagrei* и *A. pogus*. С помощью проточного сортирования мы получили хромосом-специфические библиотеки *A. carolinensis*, *A. sagrei* и *A. pogus*. Сравнительный пэйнтинг между *A. carolinensis* (АСА) и *A. sagrei* показал наличие сигнала нескольких аутосом АСА на половых хромосомах *A. sagrei*, тогда как у *A. pogus* была обнаружена система X_1X_2Y , также включающая районы гомологии с аутосомами АСА. С помощью секвенирования нового поколения хромосомспецифических библиотек мы охарактеризовали содержание и структуру микрохромосом *A. carolinensis* и *A. sagrei*. Это позволило нам провести картирование незаякоренных скэффолдов *A. carolinensis* на микрохромосомы АСА.

Сравнительный анализ показал, что половые хромосомы *A. sagrei* претерпели слияние с тремя микроаутосомами, а часть материала Y-хромосомы была потеряна в результате вырождения.

Работа поддержана грантом МКБ 6.13.

Научный руководитель: канд. биол. наук Трифионов В. А.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА IL-17A И IL-17F У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

О. О. Латыева, А. К. Шуряева
Новосибирский государственный университет
e-mail: lesia030394@mail.ru

IL-17A представляет собой гомодимер, цитокин. Он продуцируется активированными Т-клетками памяти, стимулирует врожденный иммунитет и иммунную защиту организма. IL-17A и IL-17F мобилизуют нейтрофил. Т-клетки линии Th17 продуцируют интерлейкин-17, который обладает сильными противовоспалительными свойствами и индуцирует тяжелую аутоиммунную патологию. Семейство IL-17 играет роль в развитии воспалительных заболеваний, аутоиммунной патологии и злокачественных опухолей. Повышенные уровни IL-17 ассоциированы с различными состояниями, такими как: воспаление дыхательных путей, ревматоидный артрит, воспалительные заболевания кишечника, псориаз, рассеянный склероз и рак.

Рак желудка является одним из самых распространенных видов рака человека. Россия относится к странам с высокой заболеваемостью раком желудка.

Мы изучали связь между IL-17A G197A и IL-17F A7488G и раком желудка. ДНК выделялась стандартным фенол-хлороформным методом. Исследование IL-17A G197A и IL-17F A7488G полиморфизмов проводилось методом полимеразной цепной реакции и рестрикционным анализом.

По IL-17F A7488G были исследованы выборки из 104 больных раком желудка и 38 здоровых людей. На основании полученных данных было сделано предположение, что при GG генотипе IL-17F 7488 наблюдается повышенный риск развития рака желудка.

В ходе исследования было выявлено, что при GG генотипе IL-17F A7488G наблюдается повышенный риск развития рака желудка, а AA генотип IL-17A G197A был связан с повышенным риском в III – IV стадии и в возрасте от 40-65 лет.

Научный руководитель: канд. биол. наук М. А. Губина

ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КУНЬИХ – ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ

А. Г. Мензоров^{1,2}, Н. М. Матвеева¹, А. А. Хабарова¹, Е. А. Кизилова^{1,2},
И. Е. Пристяжнюк¹, А. И. Железова¹, О. Л. Серов^{1,2}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет

menzorov@bionet.nsc.ru

Возможность репрограммирования генома млекопитающих активно исследуется более полувека. В 1962 году Гёрдон показал возможность репрограммирования генома дифференцированной клетки факторами энуклеированного ооцита. В 2006 Яманака получил индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) мыши из фибробластов с помощью всего лишь четырех транскрипционных факторов: Klf4, Sox2, Oct4 и c-Мyc. В настоящее время ИПСК получены для десятков видов животных, однако эмбриональные стволовые (ЭС) клетки – менее чем для двадцати. В 1993 и 2007 годах в нашей лаборатории были получены ЭС клетки ценного пушного зверя, американской норки (*Neovison vison*). Это создало уникальную возможность сравнить индуцированные и «настоящие» плюрипотентные клетки Американской норки и определить полноту репрограммирования: остаются ли активными специфичные для фибробластов гены и насколько профиль экспрессии генов ИПСК соответствует «стандарту», ЭС клеткам? Для получения ИПСК американской норки мы использовали трансдукцию эмбриональных фибробластов норки лентивирусами, несущими репрограммирующие транскрипционные факторы человека: KLF4, SOX2, OCT4 и C-MYC. Мы получили 22 линии ИПСК с диплоидным модальным числом хромосом. В них были выявлены такие гены-маркеры плюрипотентности как Sox2 и Oct4, а замолкание введенных в геном трансгенов показано для KLF4 и C-MYC. Плюрипотентность ИПСК подтверждена в тесте на формирование тератом *in vivo* в иммунодефицитных мышах. Таким образом, мы успешно получили и охарактеризовали ИПСК американской норки. Интересно, что в них, в отличие от ИПСК мыши, человека и собаки, экспрессии Nanog не было. По-видимому, это видоспецифическая особенность. Получение и изучение ИПСК других куньих может обогатить знания о поддержании плюрипотентности у разных видов млекопитающих.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. О. Л. Серов

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ЖЕЛЧИ ПРИ ИНВАЗИИ *OPISTHORCHIS FELINEUS*

И. В. Салтыкова, В. А. Петров, М. Д. Логачева, П. Г. Иванова,
Л. М. Огородова, Н. В. Мерзликин, П. Дж. Бриндли, А. Э. Сазонов
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск
Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
Университет Джорджа Вашингтона, г. Вашингтон, США
e-mail: vyacheslav.a.petrov@mail.ru

Описторхоз – природно-очаговый гельминтоз, вызываемый печеночными сосальщиками рода *Opisthorhis*. Известно, что при паразитарных инвазиях возможны изменения в составе микробиоты пораженного участка тела, что потенциально оказывает влияние на состояние здоровья. Ранее были охарактеризованы изменения в композиции микробиоты желчи при инвазии *Opisthorhis viverrini* на экспериментальной модели описторхоза у животных.

Целью данной работы была оценка микробиоты желчи при инвазии *Opisthorhis felineus*. В исследовании принял участие 31 человек, 17 инфицированных *O.felineus* и 14 пациентов группы контроля. Образцы желчи были получены в ходе холецистэктомии у больных с холециститом. Статус инвазии подтверждался микроскопией желчи. Для исследования микробиоты проводилось высокопроизводительное секвенирование по 16S-субъединице рРНК. Анализ прочтений осуществлялся с использованием программного обеспечения QIIME 1.9.0, статистическая обработка проводилась в языковой среде R с использованием пакета metagenomeSeq 1.10.

При оценке таксономического разнообразия (альфа-разнообразия) на основании индекса Шеннона выявлено, что более разнообразна микробиота у больных описторхозом. Также, были зарегистрированы таксономические различия на видовом и родовом уровне. При инвазии *O.felineus* выше представленность операционных таксономических единиц (ОТЕ) родов *Lactobacillus*, *Sphingomonas*, *Propionibacterium*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Acinetobacter*, *Cellulosimicrobium*, *Salinibacterium* и ОТЕ видов *Propionibacterium acnes*, *Acinetobacter rhizosphaerae*, *Sphingomonas wittichii*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Veillonella dispar*, *Acinetobacter lwoffii* и *Paracoccus aminovorans*, в группе контроля выше представленность ОТЕ бактерий рода *Escherichia*.

Научный руководитель: канд. мед. наук И. В. Салтыкова.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS* В БАССЕЙНЕ РЕКИ ОБЬ

М. А. Побединцева^{1,2}, А. И. Кулемзина¹, Н. В. Воробьева¹,
Н. А. Сердюкова¹, С. А. Романенко^{1,2}, А. И. Макунин¹,
А. С. Графодатский^{1,2}, В. А. Трифонов^{1,2}.

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск
e-mail: mapob@mcb.nsc.ru

Стерлядь (*Acipenser ruthenus*) относится к семейству осетровых (*Acipenseridae*). Населяет воды северного полушария. Для этих ценных в хозяйственном отношении рыб характерно позднее половое созревание, не ежегодное икрометание и жесткие рамки экологических требований для реализации жизненного цикла. Стерлядь чрезвычайно уязвима к воздействию разнообразных факторов, препятствующих ее естественному воспроизводству. Кроме того, снижению численности способствует интенсивный промысел, в том числе незаконный.

Основная цель настоящей работы – описание генетической структуры стерляди (*A. ruthenus*) в бассейне Оби для выявления ее популяционной организации и формирования действенной стратегии охраны и рациональной эксплуатации данного вида.

Для анализа был выбран контрольный район митохондриальной ДНК. В исследованных выборках (245 особей) по последовательности 628 пн контрольного района выявлен 61 гаплотип. Проведение филогенетического анализа обнаруженных замен позволило выделить семь основных гаплогрупп, представленных с разной частотой в разных районах бассейна. Изучение гаплотипов из разных участков Иртыша, Оби и Чулыма показало значительные отличия по генетическому разнообразию и гаплотипическому составу, что свидетельствует об их сложной популяционной структуре.

При рассмотрении района тандемных повторов (80 пн) обнаружена его значительная вариабельность по количеству повторяющихся единиц как среди диких особей одного гаплотипа, так и среди близкородственных особей из питомника. Средний размер гипервариабельного района составляет 3,5 – 4,5 единиц повторенной последовательности. Каждая гаплогруппа имеет характерный набор замен в повторенной единице, свидетельствующий о механизмах гомогенизации повторов в мтДНК.

Научный руководитель: канд. биол. наук В. А. Трифонов.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК АРКТИЧЕСКОГО ГОЛЬЦА ИЗ ПОПУЛЯЦИЙ ПОЛЯРНОГО УРАЛА

Ю. К. Политыко

¹Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург
e-mail: polityko.yulia@gmail.com

Работа направлена на решение вопроса о филогеографическом статусе особей арктического гольца (*Salvelinus alpinus*) популяций полярного Урала. на основании новых данные по изменчивости участка контрольного региона (мтДНК)

В ходе работы впервые были получены нуклеотидные последовательности участка (507 п.о.) контрольного региона (мтДНК) для 37 экземпляров арктического гольца, взятых из озера Большое Щучье, рек Большая Хадыга и Байдарата и Байдаратской губы (Ямало-Ненецкий автономный округ).

Для оценки филогеографического статуса особей арктического гольца из популяций Полярного Урала проведено сравнение собственных данных с ранее опубликованными (Brunner et. al., 2001; Alekseev et al., 2009) последовательностями, представленными в базе данных GenBank.

Полученные данные позволяют пересмотреть имеющиеся представления о филогеографической структуре арктического гольца, которые основываются на анализе изменчивости контрольного региона мтДНК.

Научный руководитель: д-р биол. наук А. В. Бородин.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И МЕЖПОПУЛЯЦИОННАЯ
ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ
PINUS SYLVESTRIS L. НА ВОСТОКЕ РУССКОЙ РАВНИНЫ**

Я. В. Пришнивская, С. В. Боронникова, Ю. С. Нечаева,
В. П. Красильников, Н. А. Мартыненко

Пермский государственный национальный исследовательский университет
e-mail: yana_prishnivskaya@mail.ru

Для решения современных проблем лесоводства необходима оценка биоразнообразия лесных экосистем, важным элементом которой является изучение генофонда основных лесообразующих пород. Леса с доминированием *Pinus sylvestris* L. занимают около 17 % общей лесопокрытой площади России.

Молекулярно-генетический анализ проведен у четырех популяций *P. sylvestris*, расположенных на востоке Русской равнины. Первая популяция находится в бассейне р. Юг и р. Северной Двины, а вторая, третья и четвертая популяции – в верхнем, среднем и нижнем течении р. Ветлуги соответственно.

В изученных популяциях *P. sylvestris* доля полиморфных локусов (P_{95}) высока и составила 0,960, а ожидаемая гетерозиготность (H_E) равна 0,159. Высокие показатели генетического разнообразия установлены в четвертой популяции ($P_{95} = 0,783$; $H_E = 0,211$; $n_e = 1,367$; $R = 17$), а самые низкие отмечены в третьей популяции ($P_{95}=0,553$; $H_E = 0,101$; $n_e = 1,157$; $R=1$). Анализ генетической структуры изученных популяций *P. sylvestris* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку составила 0,318, ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции по всем локусам (H_S) равна 0,159; поэтому коэффициент генетической подразделенности популяций (G_{ST}) высокий – 0,501. Таким образом, четыре изученные популяции *P. sylvestris* сильно дифференцированы, так как на долю межпопуляционной изменчивости приходится 50,1%.

Работа выполнена при частичном финансировании в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки России (проект 144, № гос. рег. 01201461915) и гранта РФФИ (проект № 12- 04-00062-а).

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. С. В. Боронникова

**ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ
В РАЙОНЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ X-ХРОМОСОМЫ
С ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКОЙ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ
ANOPHELES ATROPARVUS (DIPTERA: CULICIDAE)**

В. В. Широкова, Г. Н. Артемов, В. Н. Стегний
Томский государственный университет
e-mail: vera.shirokova_9@mail.ru

Изучение расположения хромосом в интерфазе считается важным для понимания процессов регуляции экспрессии генов. Один из механизмов позиционирования в ядре – это связь с ядерными структурами, например ядерной ламиной. Она участвует в заякоривании областей генома, которые называются ламин-ассоциированные домены (ЛАД) (Kind et al., 2014). Изучение ЛАДов поможет в понимании механизмов прикрепления хромосом и пространственной организации ядра (Meuleman et al., 2013). Данное исследование заключалось в изучении молекулярно-генетического состава области контакта X-хромосомы с ламином В (район 2С) в трофоцитах яичников малярийного комара *Anopheles atroparvus* (Артемов и др., 2013). Используя данные по физическому картированию генома *Anopheles atroparvus* (Artemov et al., 2015), уточнили локализацию района связывания ламина В с помощью FISH. Далее определили содержание генов, мобильных генетических элементов и tandemных повторов с помощью инструментов Biomart, RepeatMasker, а также Tandem Repeats Finder соответственно. Морфология района 2С X-хромосомы *An. atroparvus* позволяет предположить, что район является интеркалярным диффузным гетерохроматином (ДИГ), что подтверждается также невысокой плотностью генов (5 ген/100 т.п.н) по сравнению со средним значением для X-хромосомы (7,8 ген/100 т.п.н). Сравнили молекулярно-генетический состав района 2С с данными по ДИГ хромосом трофоцитов *An. gambiae* (Sharakhova et al., 2010). Выявили, что данная область имеет меньшее содержание LINE-элементов (1,25%/100 т.п.н) и ДНК-транспозонов (0,18%/100 т.п.н.), а также микро- и минисателлитов (0,45% и 0,44%/100 т.п.н соответственно). Неожиданным оказалось также низкое содержание S/MAR последовательностей (данные SMARTest) – 0,2%/100 т.п.н., (по сравнению с 7%/100 т.п.н. для ДИГ *An. gambiae*). Возможно, что прикрепление X-хромосомы к ядерной оболочке в изучаемой области в основном зависит от взаимодействия белков хроматина. Изучение состава генетических элементов и белков хроматина в районах связывания ламина В поможет в понимании пространственной организации ядра.

Научный руководитель: канд. биол. наук Г. Н. Артемов

ИССЛЕДОВАНИЕ ДОФАМИН- β -ГИДРОКСИЛАЗЫ (DBH) У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

А. К. Шуряева, О. О. Латыева
Новосибирский государственный университет
e-mail: anna.shuryaewa@yandex.ru

Наш организм находится под постоянным регулирующим влиянием ВНС, в том числе при развитии злокачественного новообразования. Дофамин- β -гидроксилаза (DBH) – фермент, катализирующий конверсию дофамина в норадреналин в адренергических нейронах. Показана ассоциация полиморфизма гена DBH и активности фермента в плазме с различными психическими и неврологическими расстройствами.

Нами была предпринята попытка исследовать взаимосвязь гена DBH с раком желудка. Рак желудка занимает одно из ведущих мест в России. Известно, что дофаминергическая система при гиперактивности оказывает ингибирующее действие на развитие опухолей, следовательно, изучение связи дофамина с раком желудка является актуальным.

Мы изучали связь между Дофамин- β - гидроксилаза DBH в экзоне 2 (DBH G444A) и инсерционно-делеционный полиморфизм в 5'фланкирующем регионе (DBH 5'-ins/del) и раком желудка. ДНК выделялась стандартным фенол-хлороформным методом. Исследование Дофамин- β - гидроксилаза DBH в экзоне 2 (DBH G444A) и инсерционно-делеционный полиморфизм в 5'фланкирующем регионе (DBH 5'-ins/del) полиморфизмов проводилось методом полимеразной цепной реакции и рестрикционным анализом. По DBH в экзоне 2 (DBH G444A) были исследованы выборки из 110 больных раком желудка и 104 здоровых людей, по DBH 5'-ins/del 113 больных и 120 здоровых .

Наши исследования показали более неблагоприятное клиническое течения злокачественного процесса у лиц с AA генотипом по полиморфизму гена DBH G444A, при этом зависимости от пола и возраста пациентов не выявлено. При исследовании гена DBH (5'-ins/del полиморфизм) у больных РЖ мужчин независимо от возраста функционально полноценный (ins/ins) и вариантный (del/del) генотипы предрасполагают к опухолевой прогрессии.

Научный руководитель: канд. биол. наук М. А. Губина

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ЧЕЛОВЕКА *hGM-CSF* ПОД ЭНДОГЕННЫМ ПРОМОТОРОМ АЛЬФА-S1-КАЗЕИНА В ГЕНОМЕ МЫШИ

А. В. Смирнов¹, А. Г. Мензоров^{1,2}, О. Л. Серов^{1,2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск,

² Новосибирский государственный университет

e-mail: smirnovskaven@bionet.nsc.ru

Молоко трансгенных сельскохозяйственных животных-биореакторов – перспективный источник ценных рекомбинантных белков человека, применяемых в медицине. В нашей лаборатории ведется работа с двумя гемопоэтическими факторами человека – hG-CSF и hGM-CSF (Гранулоцит- и Гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующие факторы). Эти белки имеют высокую биологическую активность, поэтому неспецифическая экспрессия вне клеток эпителия молочной железы трансгенного животного может приводить к различным нарушениям гемопоэза животного-биореактора. Цель нашего проекта – создание трансгенных линий мышей, у которых ген человека *hGM-CSF* помещен под контроль эндогенного промотора “молочного гена” альфа-S1-казеина (*Csn1s1*), с сохранением кодирующей части казеинового гена (инсерция) или с полной заменой гена казеина на трансгенную кассету (замещение). Для повышения эффективности гомологичной рекомбинации в район сайта интеграции трансгена вносились направленные разрывы с помощью системы CRISPR/Cas9.

По результатам ПЦР-анализа 175 колоний эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) мыши, выросших на селективной среде с пуромицином после трансфекции, было обнаружено 27 клонов ЭСК (15%), содержащих правильную вставку, из них 16 клонов несли инсерцию, а 11 – замещение *Csn1s1*. Цитогенетический анализ ЭСК показал, что 5 из 27 трансгенных клонов имеют нормальный кариотип (19%). Кассета гена устойчивости к пуромицину была удалена из трансгенных ЭСК с помощью Cre-рекомбинации. ЭСК клоны были проверены секвенированием на правильность вставки. Выбранные по итогам работы клоны ЭСК будут использованы для создания трансгенных линий мышей через технологию химерных животных.

Научный руководитель работы: д-р биол. наук, проф. О. Л. Серов

**ПОЛУЧЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ
ТРИФОСФАТОВ ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ
НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ГРУППЫ НА
ПИРИМИДИНОВЫХ ОСНОВАНИЯХ**

М. А. Спицын, В. Е. Кузнецова, В. Е. Шершов, Т. О. Гусейнов, С. А. Лапа,
Я. Ю. Киселева, С. П. Радько, А. В. Чудинов
Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, г. Москва
Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В. Н. Ореховича, г. Москва
e-mail: chud@eimb.ru

Определенные последовательности нуклеиновых кислот (НК) способные специфично взаимодействовать с биологическими мишенями принято называть аптамерами. Модификация нуклеотидов с помощью различных функциональных групп повышает способность аптамеров к взаимодействию с их мишенями и расширяет спектр мишеней.

Для получения аптамеров с модифицированными нуклеотидами ферментативным методом SELEX необходимым условием является совместимость модифицированных нуклеозидтрифосфатов с ДНК-полимеразами и высокое аффинное средство получаемой модифицированной НК к молекуле-мишени.

Нами синтезированы пять трифосфатов дезоксиуридина, содержащих на гетероциклических основаниях по С5-положению функциональные группы, характерные для аминокислот, которые часто входят в антигенсвязывающие центры иммуноглобулинов, фенилаланина, триптофана, валина и лейцина. Проведена экспериментальная оценка степени включения модифицированных нуклеотидов в ДНК в реакции достраивания праймера (primer extension) с Taq, DeepVent и KOD XL ДНК-полимеразами при полной замене природного dTTP на модифицированный трифосфат дезоксиуридина. Найдено, что модифицированные нуклеозидтрифосфаты совместимы с ДНК-полимеразами, наблюдается образование полноразмерного продукта, при этом эффективность включения модифицированных нуклеотидов KOD XL ДНК-полимеразой превосходит другие полимеразы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 14.604.21.0111 (идентификатор проекта RFMEFI60414X0111).

Научный руководитель: канд. хим. наук А. В. Чудинов

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

УДК 579.66+547.92

ОПТИМИЗАЦИЯ СТЕРОЛТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК РОДОКОККОВ

Г. А. Бажутин¹, Е. М. Ноговицина²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь

e-mail: sniffedbybadger@gmail.com

По нашим данным, в ростовых условиях актинобактерии рода *Rhodococcus* в присутствии *n*-гексадекана способны к трансформации β -ситостерола – наиболее доступного стерола растительного происхождения. При этом образуется 50-95% фармакологически перспективного стигмаст-4-ен-3-она. Цель настоящего исследования – оценка способности иммобилизованных клеток родококков к трансформации β -ситостерола в условиях фосфатно-щелочного буфера. Иммобилизованные бактерии, обладающие повышенной устойчивостью к высоким концентрациям растворителей и токсичных органических соединений, активно используются в процессах биотрансформации. Однако сведения по их стеролтрансформирующей активности ограничены. В работе использовали штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 487, ИЭГМ 766 и *R. ruber* ИЭГМ 233, хранящиеся в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegm.ru/iegmcol). Иммобилизованные клетки получали методом поверхностной адсорбции на технической полимерной ткани из нитей СВМ арт. 56313 "Н" ТУ 17 ВНИИПХВ-350-88 ООО «УкрматериалИнвест» (Украина). При использовании данного носителя степень образования стигмаст-4-ен-3-она после 5 сут культивирования в среде с глюкозой достигала 64% в условиях добавления 0,5 г/л β -ситостерола.

Установлено, что закрепленные на носителе родококки эффективно трансформируют 2 г/л β -ситостерола в условиях фосфатно-щелочного буфера ($\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{NaOH}$, pH 7). При этом продолжительность процесса биотрансформации составляет 3 сут. Наиболее высокий (50%) уровень конверсии исходного стерола в стигмаст-4-ен-3-он достигается при использовании 10 единиц носителя (фрагменты ткани площадью 1 см²) с иммобилизованными клетками *R. erythropolis* ИЭГМ 487 в 50 мл буфера.

Исследования поддержаны грантом РФФИ и Министерства промышленности, инноваций и науки Пермского края (№ 14-04-96005-р_урал_a).

Научный руководитель: д-р биол. наук, чл.-корр. РАН И.Б. Ившина.

МЕТАГЕНОМНЫЙ 16S рРНК АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ МОРСКИХ ЛИМАНОВ В ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ

А. Е. Боброва, Й. Б. Кристофферсен
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
Греческий центр морских исследований, г. Анавоссос, Греция
e-mail: o.bobrova@onu.edu.ua

Морские лиманы сочетают в себе черты морских, речных и земноводных сред. Микроорганизмы, которые обитают в лиманах играют важную роль во всех биогехимических циклах и формируют уникальную экосистему. В Одесской области расположено множество лиманов с различными речными стоками. Целью этого исследования было определить состав микробных сообществ в Хаджибейском, Сухом и Днестровском лиманах с помощью метагеномного 16S РНК анализа воды. Вода Хаджибейского, Сухого и Днестровского лиманов была впервые профильтрована с последующим выделением из нее тотальной ДНК и секвенированием для исследования бактериальных сообществ, которые населяют эти воды. Библиотеку клонов создавали с помощью ПЦР и использования специфических двух-индексных праймеров к V4 варибельному участку 16S гена. Секвенирование проводили на платформе Illumina Miseq. Биоинформативный анализ осуществляли в программе QIIME компьютерного обеспечения Bio-Linux.

В результате было показано высокое бактериальное разнообразие среди исследуемых образцов. Распределение бактериальных сообществ различалось между лиманами. В Хаджибейском лимане доминировали представители филума *Proteobacteria*, в то время как в Сухом и Днестровском лимане преобладали *Cyanobacteria*. Также идентифицированы *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes* и *Verrucomicrobia* во всех образцах. На таксономическом уровне «род» показано доминирование *Acinetobacter*, *Actinobacteria*, *Rhodobacteraceae*, *Comamonadaceae*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Marivita*, *Phaeobacter* и др. в Хаджибейском лимане В Сухом и Днестровском лимане преобладали *Cyanobacteria*., *Actinobacteria*, *Planctomycetaceae*, *Spartobacteria* и др. Большинство идентифицированных бактерий являются типичными обитателями морских сред и были описаны в других подобных исследованиях. Различия в бактериальных популяциях между лиманами были показаны путем построения UPGMA дерева и анализом бета-разнообразия, где образец Хаджибейского лимана располагался отдельно от Сухого и Днестровского лиманов.

Научный руководитель: д-р биол. наук В. А. Иваница.

СИНТЕЗ И ДЕГРАДАЦИЯ ЗАПАСНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ У БАКТЕРИЙ

Е. Ю. Бурлуцкая

Пермский государственный национальный исследовательский университет
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь
e-mail: burlutskajalena@yandex.ru

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – полиэфиры гидроксипроизводных жирных кислот микробного происхождения. В настоящее время уделяется значительное внимание исследованию синтеза ПГА при помощи микроорганизмов. Это связано с комплексом высоких потребительских свойств, характерных для данного класса полимеров, имеющих различные свойства – от высококристаллических термопластов до резиноподобных эластомеров [1].

Наиболее важным является поиск суперпродуцентов ПГА и оптимизация сред культивирования для максимального накопления ПГА. К наиболее активным продуцентам ПГА, согласно известным данным, относят *Wautersia eutropha* (*Ralstonia eutropha*) – грамтрицательную литоавтотрофную бактерию, относящуюся к β-протеобактериям. Однако интересным является изучение накопления этого полимера и у гетеротрофных грамположительных бактерий.

В связи с этим, целью нашей работы было исследование способности микроорганизмов рода *Rhodococcus* к накоплению ПГА и изучение особенностей накопления в зависимости от модификации состава среды культивирования.

Изучено накопление ПГА у актинобактерий рода *Rhodococcus* при росте на различных источниках углерода. Накопление ПГА контролировали методом фазово-контрастной микроскопии препаратов без окрашивания и флюоресцентной микроскопии препаратов, окрашенных красителем нильским голубым. Показано накопление гранул ПГА при наращивании биомассы на жидкой минеральной среде, сбалансированной по источникам азота и углерода, с дальнейшим переносом на среду, лимитированную по источнику азота, но содержащую избыток углеродного субстрата.

1. Т. Г. Волова и др. Биосинтез многокомпонентных полигидроксиалканоатов бактериями *Wautersia eutropha* // Микробиология. 2007. Т. 76. С. 797 – 804.

Научные руководители: канд. биол. наук А. Ю. Максимов,
канд. биол. наук Ю. Г. Максимова

ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОЙ ПЛАЗМИДЫ, СОДЕРЖАЩЕЙ КОПИЮ ГЕНОМА АДЕНОВИРУСА 6-ГО СЕРОТИПА, ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАЗРАБОТКЕ СРЕДСТВА ПРОТИВОРАКОВОЙ ТЕРАПИИ

Е. В. Демидова
Новосибирский государственный университет
e-mail: alfaelena@mail.ru

По данным Росстата в России ежегодно регистрируется около 526 000 онкологических больных, и это чисто растёт. Одним из новых подходов к лечению рака является использование онколитических вирусов, в частности, вирусов семейства *Adenoviridae*.

Мы работаем с аденовирусом человека 6-го серотипа (Ad6), имеющим хороший онколитический потенциал среди серотипов своей (С) и других серогрупп.

Цель данной работы – получение плазмиды, содержащей полный геном Ad6, для дальнейшего конструирования модифицированного аденовирусного штамма 6-го серотипа, обладающего более эффективными по сравнению с исходным штаммом онколитическими свойствами.

Плазмиду, содержащую копию полного генома Ad6, получали путем гомологичной рекомбинации между плазмидой pAdEnds, содержащей начальный и конечный фрагменты генома Ad6, и геномной ДНК Ad6. Указанная плазида pAdEnds была сделана таким образом, чтобы «внешние» концы фрагментов были фланкированы сайтами рестрикции, не встречающимися в геноме Ad6, для последующих встройки/вырезания копии генома из плазмиды. pAdEnds линейаризовали по уникальному сайту рестрикции, расположенному на границе начального и конечного фрагментов, и трансформировали в клетки *E.coli* BJ5183 вместе с предварительно выделенной геномной ДНК Ad6.

В результате гомологичной рекомбинации вышеописанных конструкций в *E.coli* BJ5183 была получена плазида pAd6, содержащая полный геном Ad6, что было подтверждено рестрикционным анализом. Трансфекция клеток Ad293 с липофектамином геномной ДНК из pAd6 показала «жизнеспособность» плазмидной копии вирусной ДНК, и наблюдаемое цитопатическое действие свидетельствует о пригодности конструкции для дальнейших генно-инженерных манипуляций.

Научные руководители: канд. биол. наук М. В. Тарасова, д-р биол. наук, чл.-корр. РАН, проф. С. В. Нетёсов.

МИКРООРГАНИЗМЫ ПОЧВ, ДЛИТЕЛЬНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМ ИНСЕКТИЦИДОМ ДДТ

В. В. Фарофонова¹, Е. А. Шестакова²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет
²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь
e-mail: CrazyTide@yandex.ru

Дихлордифенолтрихлорэтан (ДДТ) – контактный хлорорганический инсектицид, накапливающийся в жировой ткани по мере продвижения в пищевой цепи, что особо опасно для человека. Стокгольмской конвенцией ООН от 2001 года это соединение отнесено к особо опасным, однако ДДТ продолжают применять в ряде стран мира для борьбы с малярией. В 2011 году Россия ратифицировала конвенцию и приняла на себя обязательства по разработке национальных проектов для утилизации запасов, прекращению синтеза, применения ДДТ. Биодеструкция ДДТ осуществляется сообществами аэробных и анаэробных микроорганизмов.

Цель работы – выделение и описание бактерий из почв, подвергавшихся длительному загрязнению инсектицидным препаратом торговой марки "ДДТ".

Объекты и методы исследования. Образцы почвы (обозначенные О1, О2, О3, О4) были отобраны на территории ООПТ «Осинская лесная дача» (Пермский край), в 1968-1970 годах подвергавшейся обработке препаратом торговой марки «ДДТ». Выделение микроорганизмов производили методом накопительного культивирования в минеральной среде К1 с добавлением ДДТ (0,5 г/л). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре BioSpec-mini (Shimadzu). Чистые культуры получали методом посева на агаризованную богатую среду LB.

Результаты исследований. Путем трех последовательных пересевов накопительных культур (НК) были получены ассоциации микроорганизмов (АМ), способные использовать ДДТ в качестве единственного источника углерода и энергии. Максимальная ОП₆₀₀ НК составляла (о.е.): О1 - 0,69 (1,08 – 2-й пересев); О2 - 0,11 (0,54); О3 - 0,11 (0,43); О4 - 0,04 (0,03). Из НК был выделен 71 штамм бактерий, составляющих 39 различных морфотипов. Представители каждого морфотипа были отобраны для дальнейшего анализа. После длительной селекции в составе АМ оставалось 2-3 доминирующих морфотипа.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-96021_урал_a.

Научный руководитель: д-р биол. наук Е. Г. Плотникова.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ СМОРОДИНОВОЙ ТЛИ НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ф. Э. Гамидова

Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского
e-mail: saida.gamidowa@yandex.ru

Смородиновая тля не только механически повреждает растения, но и переносит ряд фитопатогенных микроорганизмов. В последние годы внимание исследователей привлекают симбиотические и ассоциативные микроорганизмы тли, которые могут влиять на выживание фитопатогена в организме насекомого. Тем не менее, сведения о спонтанных микробоценозах смородиновой тли крайне скудны. В связи с этим, целью настоящей работы стало выявление микробоценоза смородиновой тли на территории Саратовской области.

Материалом для микробиологических исследований послужили бескрылые самки смородиновой тли (*Aphis schneideri* B.), собранные с их основного кормового растения – чёрной смородины в окрестностях г. Саратова. Микробиологические исследования насекомых осуществляли по методикам, описанным ранее.

Из организмов тлей было выделено 90 штаммов бактерий, которые были отнесены к 24 видам 10 родов. Наиболее разнообразно в микробной ассоциации смородиновой тли представлен род *Bacillus* (14 видов), роды *Microbacterium* и *Pseudomonas* включали по 2 представителя, остальные роды были представлены единичными видами.

Из грамположительных споровых палочек наиболее часто встречаемым видом оказался *B. pumilus*, регулярно из организма тли выделялись *B. clausii*, *B. horti*, *B. simplex*, *B. soli* и *B. thuringiensis*. Среди грамположительных неспоровых палочек чаще всего выделялся *Listeria murray*.

Среди грамотрицательных палочек наиболее распространённым видом оказался *Stenotrophomonas maltophilia*. Достаточно часто в микробоценозе смородиновой тли встречались такие виды как *Aeromonas hydrophila*, *Pectobacterium carotovorum*, *Pseudomonas saccharophyla*, *Serratia plymuthica*. Таким образом, организм смородиновой тли является средой обитания для широкого круга как сапрофитических, так и фитопатогенных микроорганизмов.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент А. М. Петерсон.

**1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОКСИЛАТДЕЗАМИНАЗЫ
АЭРОБНЫХ МЕТИЛОТРОФОВ:
БИОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

Ю. С. Герасимова

Уральский федеральный университет имени первого Президента России

Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов

им. Г. К. Скрыбина РАН, г.Пушино

e-mail: likenoother12@mail.ru

Аэробные метиловобактерии, использующие окисленные и замещенные производные метана (но не CH_4), широко распространены в природе и часто ассоциированы с растениями. Эти ассоциации постоянны и обусловлены тем, что с одной стороны, метилотрофы потребляют метанол, выделяемый растениями через устьица в окружающую среду, с другой стороны, стимулируют рост и развитие растений за счет биосинтеза фитогормонов и витаминов.

Также одним из ключевых механизмов влияния бактерий на развитие растений является способность снижать уровень этилена за счет активности 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы (АЦК-дезаминазы).

Этилен - один из основных фитогормонов, сверхпродукция которого в стрессовых условиях приводит к запуску программы преждевременного старения растений, опадению листьев и созреванию плодов.

Amycolatopsis methanolica 239 – представитель филума *Actinobacteria*, одна из немногих грамположительных бактерий, обитающих в почве и использующих метанол в качестве ростового субстрата.

В настоящее время уделяется особое внимание изучению АЦК-дезаминаз. Несмотря на то, что у многих бактерий обнаружена активность данного фермента, очищены и охарактеризованы только четыре.

В нашей работе впервые проведена очистка и исследованы основные биохимические свойства рекомбинантной АЦКдезаминазы факультативного метилотрофного актиномицета *A. methanolica* 239. Анализ аминокислотных последовательностей показал, что АЦК-дезаминазы актинобактерий образуют отдельный филогенетический кластер. Проведена сравнительная характеристика ферментов, ранее выделенных из других бактерий, что позволило выявить закономерности в их структуре и свойствах.

Научный руководитель: канд. биол.наук Д. Н. Фёдоров

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА БИОТРАНСФОРМАЦИЮ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА

Э. М. Ибрагимов

Казанский (Приволжский) федеральный университет

e-mail: frenk_93@mail.ru

За последние 150 лет были произведены миллионы тонн 2,4,6-тринитротолуола (ТНТ), что привело к значительному загрязнению почв, поверхностных и грунтовых вод. ТНТ является токсичным и потенциально мутагенным веществом, поэтому разработка способов очистки объектов, загрязненных ТНТ и его производными, является важным и перспективным направлением в биотехнологии.

В настоящей работе было исследовано влияние различных источников углерода и энергии на эффективность трансформации ТНТ штаммом дрожжей *Yarrowia lipolytica* ВКПМ У-3492. Так, рост культуры *Y. lipolytica* ВКПМ У-3492 в средах с ТНТ протекал быстрее в присутствии глюкозы и этанола в качестве единственных источников углерода и энергии. Для определения активности дрожжей в направлении трансформации ТНТ измеряли спектры поглощения культуральной жидкости, освобожденной от клеточной массы, в видимой области. В расчет брали максимум поглощения при длине волны 476 нм, соответствующий длине волны поглощения моногидридного комплекса Мейзенхеймера. Поскольку это главный метаболит на интересующем нас пути превращения ТНТ (гидридный путь), то по скорости его накопления в начале эксперимента и по скорости распада в конце эксперимента можно судить об эффективности биологического разложения ТНТ в целом.

Из полученных результатов следует, что в течение первых семи часов культивирования интенсивность образования моногидридного комплекса Мейзенхеймера была выше на питательных средах с глицерином, глюкозой и ацетатом, тогда как на средах с пропионатом и этанолом процесс присоединения гидрид-ионов к тринитротолуолу протекал заметно медленнее. Однако интересно, что если на среде с этанолом гидридный комплекс Мейзенхеймера накапливался медленнее всего, то дальнейшее превращение данного метаболита шло приблизительно на сходном уровне, что и на средах с глюкозой и глицерином, в то время как на средах с пропионатом и ацетатом данный процесс значительно замедлился.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент Зиганшин А.М.

СИНТЕЗ С-КОНЦЕВЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКА Е ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА (ВКЭ) И АНАЛИЗ ИХ ИММУНОГЕННОСТИ В СОСТАВЕ ТУБУЛЯРНОГО ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО КОМПЛЕКСА

А. А. Иванов¹, Е. Н. Люкманова², И. Г. Кондратов³, Г. Н. Веремейчик⁴,
А. Н. Мазейка¹, Н. М. Санина¹, Э. Я. Костецкий¹

¹ Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

² Институт биоорганической химии

имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, г. Москва

³ Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

⁴ Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток

e-mail: ivanov.aa@dvfu.ru

В связи с тем, что распространенность ВКЭ с каждым годом растет, как и смертность от него, а надежной вакцины однократного введения с продолжительным протективным эффектом против этого недуга пока нет, возникает проблема разработки вакцины альтернативной существующей (цельновирионной). Такой альтернативой может послужить субъединичная вакцина с иммунологически-активным носителем, так как субъединичные структуры вириона, сами по себе, слабо иммуногенны.

Наиболее иммуногенной субъединицей вирусного вириона является поверхностный белок Е, отвечающий за проникновение вируса в клетку-мишень. Он расположен на поверхности вириона димерами, каждый из которых имеет 3 структурных домена, ножку и гидрофобный хвост, закорячивающий молекулу белка в билипидном слое вириона. Исходя из литературных данных, для работы был взят третий домен белка Е и этот же домен, но с С-концевыми ножкой и гидрофобным хвостом.

В качестве носителя антигенов был использован тубулярный иммуностимулирующий комплекс, разработанный на кафедре биохимии ДВФУ, состоящий из холестерина, моногалактозилдиацилглицерола из морских водорослей и кукумариозида А2-2 из японской кукумарии. Данный носитель неплохо зарекомендовал себя при иммунологических испытаниях с белком порином из *Yersinia pseudotuberculosis*[1].

Различными путями нами были синтезированы вышеназванные белки и проверена их иммуногенность в составе ТИ-комплексов на мышах.

1. N. M. Sanina et al. The influence of monogalactosyldiacylglycerols from different marine macrophytes on immunogenicity and conformation of protein antigen of tubular immunostimulating complex // *Biochimie*, 2012.

**ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА ПОСЕВНОГО
МАТЕРИАЛА НА ОБРАЗОВАНИЕ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ
*TRICHODERMA SP.***

Ю. М. Капустина, И. В. Мороз

Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь
e-mail: irmorz@gmail.com

Целлюлоза представляет собой линейный полимер глюкозы. Деструкцию этого природного полисахарида катализируют ферменты целлюлазного комплекса, которые относятся к *O*-гликозид-гидролазам. Целлюлазы широко используются в различных отраслях промышленности, медицине и сельском хозяйстве.

Ранее в лаборатории ферментов Института микробиологии НАН Беларуси в результате скрининга продуцентов целлюлазы среди коллекционных и выделенных из природной среды грибных культур был отобран штамм *Trichoderma sp.* При получении ферментов грибов в качестве посевного материала используют как споровую суспензию, так и вегетативный мицелий. Количество и качество посевного материала влияют на длительность ферментации и выход конечного продукта.

Глубинное культивирование *Trichoderma sp.* проводили в колбах Эрленмейера с 50 мл питательной среды со свекловичным жомом на качалке (180–220 об/мин) в течение 4 сут. В качестве посевного материала использовали водную суспензию спор гриба, выросшего при 28°C в течение 14 сут на агаризованной среде Чапека, а также 24-72-часовой вегетативный мицелий в количестве 1-10 об. %. В случае применения споровой суспензии наиболее высокий уровень синтеза фермента грибом наблюдался при плотности засева $1,6-1,9 \times 10^6$ спор /мл среды. При этом для приготовления суспензии спор следует использовать культуру, хранившуюся в течение 3,5-6,0 месяцев при температуре 5°C. Что касается вегетативного мицелия, то оптимальным является применение его в количестве 4 об. %. Установлено, что 48-часовой инокулом (4 об. %) обеспечивает в 1,9 раза более высокий уровень продуцирования фермента *Trichoderma sp.*, по сравнению со споровой суспензией.

Таким образом, показана целесообразность использования вегетативного мицелия в качестве посевного материала при глубинном культивировании продуцента целлюлазы *Trichoderma sp.* Полученные данные будут использованы при создании биотехнологии получения ферментного препарата целлюлолитического действия.

Научный руководитель: канд. биол. наук И. В. Мороз

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ РИККЕТСИЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

М. Ю. Карташов, Н. Л. Тупота, Н. С. Москвитина, В. А. Терновой,
Т. П. Микрюкова, В. Б. Локтев
Новосибирский государственный университет
Томский государственный университет
e-mail: kartashov_myu@vector.nsc.ru

Многие виды риккетсий являются возбудителями заболеваний человека – риккетсиозов, при этом число их выявлений у больных с годами растет в связи с открытием новых видов этих патогенов. Уточнение спектра циркулирующих в регионах риккетсий и их возможных переносчиков имеет огромное значение для совершенствования диагностики и дальнейшей разработки средств специфической профилактики этих заболеваний.

Цель работы состояла в изучении распространенности и видового разнообразия риккетсий в клещах, собранных на территории Новосибирской области.

В исследование взято 305 собранных на флаг клещей (220 клещей вида *I. persulcatus* и 85 клещей вида *D. reticulatus*), а также 500 клещей (для исследования был предоставлен их гомогенат), снятых с людей. По результатам исследования методом ПЦР уровень зараженности риккетсиями клещей *I. persulcatus* составил $13,1 \pm 2,2\%$, для клещей *D. reticulatus* он составил $38,2 \pm 5,4\%$. Путем определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена *COI* митохондриального генома клещей нам удалось восстановить видовую принадлежность клещей, снятых с людей: 52 % - *I. persulcatus*, 10 % - *I. pavlovskyi*, 37 % - *D. reticulatus*, в единичных случаях обнаружены клещи *D. sivarum*. Зараженность клещей *Ixodes spp.*, снятых с людей, составила $24,8 \pm 2,4\%$; клещей *Dermacentor spp.* – $37,5 \pm 3,4\%$. Генотипирование риккетсий проведено путем секвенирования фрагмента гена цитратсинтазы *glTA*. Показано, что в иксодовых клещах на этой территории циркулирует 4 вида риккетсий: *Candidatus R. tarasevichiae*, *R. raoultii*, *R. helvetica*, *R. sibirica*.

Результаты исследования подтверждают широкие распространенность и видовой состав риккетсий в клещах на территории Новосибирской области и указывают на необходимость совершенствования существующих методов дифференциальной диагностики вызываемых ими инфекций.

Научные руководители: чл.-корр. РАН, д-р биол. наук С. В. Нетёсов; канд. биол. наук Т. П. Микрюкова

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПЦР ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCUS*

А. И. Конев¹, М. К. Серебrenникова²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь
e-mail: serebrennikova@iegm.ru

Актинобактерии рода *Rhodococcus* занимают доминирующее положение в нефтезагрязненных биотопах и являются перспективными объектами экологической биотехнологии при решении проблем очистки нефтезагрязненных территорий. Ежегодное пополнение фонда Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (www.iegm.ru/iegmcol/strains) новыми культурами требует разработки эффективных экспресс-методов идентификации. В настоящее время в данной области широкое применение получили молекулярно-генетические методы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Цель настоящего исследования – оптимизация параметров ПЦР для повышения видовой специфичности пар праймеров Rjo5-Rjo6 и Rfa1-Rfa2, разработанных для представителей *Rhodococcus jostii* и *Rhodococcus fascians* соответственно. В работе использовали типовые штаммы актинобактерий рода *Rhodococcus* (13 видов), амплификацию проводили в 25 мкл ПЦР смеси на амплификаторе MJ Cyclor (BioRad, США). Продукты ПЦР анализировали в 1,5% агарозном геле при помощи системы Gel Doc XR (BioRad, США). Специфичность ПЦР оценивали по наличию продуктов амплификации с размером, определенным каждой паре праймеров.

В результате проведенных исследований установлено, что наименьшее пороговое значение температуры отжига, при котором амплификация с исследуемыми парами праймеров отсутствует, составляет 55 °С. Проведение отжига при температуре 60–66 °С приводило к образованию неспецифических продуктов в ходе ПЦР с ДНК-матрицей 5 видов родококков. Незначительное снижение неспецифической амплификации для пары праймеров Rjo5-Rjo6 наблюдалось при увеличении температуры отжига до 74 °С. При достижении температуры отжига 76 и 78 °С отмечено появление неспецифических ампликонов для 3-х и 2-х видов соответственно.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 6.1194.2014/К Минобрнауки России

Научный руководитель: д-р биол. наук М. С. Куюкина

АКТИВАЦИЯ РАБОТЫ ЭФФЛЮКСНЫХ НАСОСОВ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ РОДОКОККОВ К ОРГАНИЧЕСКИМ РАСТВОРИТЕЛЯМ

И. О. Коршунова

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь
e-mail: subunit2012@yandex.ru

Эффлюксные насосы играют важную роль в формировании устойчивости бактерий к токсическим соединениям [1]. Органические растворители и их смеси с водными средами используют в качестве среды для биотрансформации гидрофобных соединений [2]. Цель работы – изучение активности эффлюксных насосов при воздействии органических растворителей на клетки родококков.

Бактериальный штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WDCM # 768; www.iegm.ru/iegmcol/strains) инкубировали в присутствии 20% *n*-гексана или циклогексана, либо 1% бутанола-1, этанола, ацетона или ацетонитрила в течение 1 сут. Суспензию родококков (ОП₆₀₀ 0,05) вносили в среду LB с добавлением растворителя и 10 мМ ортованадата натрия, или 0,025 мМ парокситина гидрохлорида, или 0,1 мМ фенил-аргинин β-нафтиламид (РАβN) дигидрохлорида в качестве ингибиторов. Растворители и ингибиторы эффлюксных насосов вносили в субингибиторных концентрациях. Инкубирование проводили на орбитальном шейкере при 28°C и 160 об./мин в течение 7 сут, контролируя бактериальный рост путем измерения ОП₆₀₀ каждые 6-12 ч. Парокситин практически полностью (на 99%) подавлял рост *R. ruber* ИЭГМ 231 в присутствии растворителей, что указывает на участие H⁺-зависимых эффлюксных насосов в формировании устойчивости родококков. Напротив, присутствие в среде ортованадата натрия и РАβN не оказывало ингибирующего воздействия на бактериальный рост клеток, так как Na⁺- и АТФ-зависимые насосы, по-видимому, не участвуют в выведении избытка растворителей из клеток родококков.

Исследования выполнены в рамках государственного задания 6.1194.2014/К Минобрнауки России.

1. Kongpol A., Kato J., Tajima T., Vangnai A.S. // *Microbes Environ.* 2012. V. 27. № 1. P. 30-35; [2] de Carvalho, C.C.C.R. / Ed. H.M. Alvares. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2010. P. 109–131.

Научный руководитель: д-р биол. наук М. С. Куюкина

**ЗАВИСИМОСТЬ ЧИСЛЕННОСТИ СИМБИОТИЧЕСКИХ
БАКТЕРИЙ *WOLBACHIA* В МОЗГЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*
ОТ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ХОЗЯИНОМ ГЕНА БЕЛКА
ТЕПЛОВОГО ШОКА *HSP67BC***

Д. А. Малькеева^{1,2}, М. В. Жукова², Е. В. Киселева²

¹Новосибирский государственный университет

²Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: elka@bionet.nsc.ru

Бактерии *Wolbachia* – широко распространённые эндосимбионты нематод и членистоногих, оказывающие на своих хозяев значительное влияние. У плодовой мушки *Drosophila melanogaster* *Wolbachia* изменяют экспрессию множества генов, в том числе гена малого белка теплового шока *hsp67Bc*. Белок Hsp67Bc способен предотвращать агрегацию белков с полиглутаминовыми трактами и регулировать аутофагию. Было показано, что бактерии *Wolbachia* удаляются из клеток насекомых и нематод в процессе аутофагии, поэтому в настоящей работе мы исследовали влияние уровня экспрессии гена *hsp67Bc* на численность бактерий *Wolbachia* природного штамма wMel и патогенного штамма wMelPop в мозге *D. melanogaster*.

Пуём скрещиваний нами были получены инфицированные штаммами *Wolbachia* wMel и wMelPop *D. melanogaster*, не экспрессирующие *hsp67Bc*, с 1 функционирующей копией *hsp67Bc*, с 2 копиями *hsp67Bc* (контроль) и с повышенной экспрессией гена *hsp67Bc*. В образцах мозга полученных мух был проведён подсчёт отношения площади, занимаемой *Wolbachia*, визуализированными с помощью флуоресцентной *in situ* гибридизации, к площади оптического среза мозга (S_w/S_B , $n \sim 40$). У мух, инфицированных штаммом wMel, отсутствие экспрессии одной из двух копий *hsp67Bc* и повышение экспрессии этого гена не оказывали значительного влияния на численность бактерий в мозге, однако при отсутствии экспрессии *hsp67Bc* численность *Wolbachia* в мозге мух повышалась ($S_w/S_B = 0,65 \pm 0,15\%$) по сравнению с контролем ($S_w/S_B = 0,39 \pm 0,10\%$). У мух, инфицированных патогенным штаммом wMelPop, при отсутствии экспрессии даже одной копии *hsp67Bc* численность *Wolbachia* в мозге повышалась ($3,68 \pm 0,73\%$; $2,69 \pm 0,58\%$ в контроле), а при повышенной экспрессии становилась ниже естественной ($1,21 \pm 0,29\%$; $2,97 \pm 0,65\%$ в контроле). Таким образом, впервые показано, что для поддержания численности *Wolbachia* штамма wMel в мозге *D. melanogaster* на определённом уровне достаточно одной копии гена *hsp67Bc*, тогда как для поддержания численности патогенного штамма wMelPop необходимы обе копии *hsp67Bc*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-08993.

**СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЭПИФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
РИЗОСФЕРЫ *ARTEMISIA SALSOLOIDES* WILLD.**

А. А. Меликян, Е. З. Усубова
Волгоградский государственный университет
e-mail: melikyan.anushka@yandex.ru

Эпифитные микроорганизмы, обитающие на поверхности корневой системы растений, выполняют важную функцию биоредукторов органических соединений. Комплексы микроорганизмов являются индикаторами состояния растения и могут служить показателем в микробиологическом мониторинге автотрофного яруса трофической структуры экосистемы [1]. В связи с этим, целью настоящей работы является изучение эпифитных микроорганизмов ризосферы полыни солянковидной (*Artemisia salsoioides* Willd.).

В результате исследований выявлена сезонная численность бактерий ризосферы *Artemisia salsoioides* Willd. Эти данные можно объяснить сезонными изменениями численности микроорганизмов, в ноябре температура атмосферного воздуха резко снизилась, поэтому микроорганизмы, адаптированные к более стабильным климатическим условиям оказались нежизнеспособными. Высокая численность эпифитных бактерий весной может быть связана с закономерным, для данного периода, повышением уровня выделительной активности растения, т.е. питательного субстрата для микроорганизмов.

Таким образом, при исследовании ризосферы *Artemisia salsoioides* Willd. было установлено, что общая численность микроорганизмов в весенний период намного выше, чем осенью и летом, следовательно, эпифитные микроорганизмы характеризуются большой вариабельностью по численности в зависимости от сезонного развития растений. В состав ризосферной микрофлоры *Artemisia salsoioides* Willd. входят микроорганизмы с различными требованиями к условиям питания и источникам энергии, а количественные соотношения между ними зависят от экологических условий, в которых складывается тот или иной микробный ценоз.

1. Степанова, Л.Т. Эпифитные бактерии как аналитические индикаторы растений / Л.Т. Степанова. Казань: Новое знание, 2000. - 360 с.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент Е. З. Усубова

CHARACTERIZATION OF ASSOCIATED APPLE PLANT FUNGUS *TRICHODERMA HARZIANUM*

Mohamed H. A¹, Peterson A. M¹, Weaam N. E.²

¹ Saratov State University named after N. G. Chernyshevsky, Russia

² Heinrich-Heine-University, Dusseldorf, Germany

e-mail: hassan_awad37@mail.ru

Trichoderma is a fungal genus found in many ecosystems and can reduce the severity of plant diseases by inhibiting plant pathogens in the soil through their highly potent antagonistic and mycoparasitic activity.

In this study we isolated 18 isolates of *Trichoderma* spp found on 29 apple shoots from two different apple sorts Perktovka and Uwealth, all of these strains are morphologically characterized by performing cotton blue staining and Molecular characterization performed by internal transcribed spacer ITS1 and ITS4 of rRNA gene sequence analysis its has identical sequences (100% of similarity) and it was confirmed as *Trichoderma harzianum*. (T104).

Cultivation and isolation of secondary metabolites was done After Fresh fungal mycelium transferring into Erlenmeyer flask (1L each) was containing 100 g rice for solid cultures. The cultures were then incubated at room temperature (no shaking) between 21 and 30 days. Then complete extraction filtration was done followed by repeated extraction with EtOAc and MeOH. HPLC analysis of the fungal extract was investigated.

According to Sephadex fractions, the peaks of the HPLC- chromatogram were matched with the reference compound available in the database by UV-Visible spectrum. The peaks in the chromatogram having the same UV-Visible spectrum and retention time with that of the reference compound was identified and named. **A) Bastadin-3** peak retention time at 38.31 min, **B) kahalalide S** retention peak time at 37.54 min, **C) kahalalide S** peak retention time at 37.54 min, **D) Pavetannin A1** peak retention time at 30.14 min, **E) Citreoisocoumarinol** peak retention time at 32.61 min.

Biologically activity of fungal crude extract was recorded against *Mycobacterium tuberculosis* TB and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The results show that 0,5 mg extract /50µl DMSO observed effect >100 (µg/ml). All these analysis data and fungal identification were carried out at the Institute of Pharmaceutical Biology and Biotechnology, Heinrich-Heine University, Düsseldorf, Germany.

Scientific adviser: Cand. Biol. A. M. Peterson.

**PHYLOGENY OF BOVINE LEUKAEMIA VIRUS ISOLATES FROM
EASTERN EUROPE AND SIBERIA**

J. Kuz'mak¹, M. Rola-Łuszczak¹, A. Pluta¹, M. Olech¹, I. Donnik²,
M. Petropavlovskiy², A. Gerilovych³, I. Vinogradova⁴, B. Choudhury⁵

¹ Department of Biochemistry, National Veterinary Research Institute,
Pulawy, Poland,

² Urals State Scientific Research Institute of Veterinary Medicine,
Ekaterinburg, Russia

³ Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkov, Ukraine

⁴ All Russian Research Institute of Animal Breeding, Dubrovitsy, Russia,

⁵ Department of Virology, Animal Health and Veterinary Laboratories Agency,
New Haw, Surrey, United Kingdom
e-mail: Petropavlovsky_m@mail.ru

Recent studies have shown that bovine leukemia virus (BLV) sequences can be classified into seven distinct genotypes based on full gp51 sequence. This classification was based on available sequence data that mainly represented the BLV population that is circulating in cattle from the US and South America. In order to aid with a global perspective inclusion of data from Eastern Europe is required. In this study, we examined 44 BLV isolates from different geographical regions of Poland, Belarus, Ukraine, and Russia. Phylogenetic analysis based on a 444bp fragment of env gene revealed that most of isolates belonged to genotypes 4 and 7. Furthermore, we confirmed the existence of a new genotype, genotype 8, which was highly supported by phylogenetic computations. A significant number of amino acid substitutions were found in these sequences of the studied Eastern European isolates, of which 71% have not been described previously. The substitutions encompassed mainly the C-part of the CD4+ epitope, zinc binding peptide region, CD8+ T cell epitope, and overlapping linear epitope E. These observations highlight the use of sequence data to both elucidate phylogenetic relationships and the potential effect on serological detection of geographically diverse isolates.

Scientific advisers: Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor Irina Donnik, Professor Jacek Kuźmak, DVM, PhD, ScD.

ЛИГНИНДЕГРАДИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОСПИРИЛЛ

С. В. Петров, М. А. Купряшина

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов

e-mail: petrov.s.v.999@mail.ru

Лигнин – сложный полимер, устойчивый к воздействию микроорганизмов. До недавнего времени окислительная деструкция лигнина активно изучалась на примере лигниндеградирующих ферментов грибов. Относительно недавно появились сообщения о способности некоторых почвенных бактерий к деполимеризации соединений лигнина, однако к началу наших исследований полностью отсутствовали сведения о способности почвенных бактерий рода *Azospirillum* к лигниндеградации. Целью данной работы явилось выявление способности азоспирилл к деградации лигнина и изучение участия Mn- и лигнин-пероксидаз в этом процессе.

В ходе исследования нами обнаружено, что все изучаемые штаммы: *A. brasilense* Sp245, *A. brasilense* Sp7, *A. brasilense* Sp107, *A. brasilense* SR 80, *A. picis* TAR-3, *A. lipoferum* Sp59b, *A. tiophilum* Bv-S и *A. irakense* KBC-1, *A. irakense* KA-3, способны деградировать модельные соединения лигнина. Установлено, что лигнинолитическая активность азоспирилл ниже, по сравнению с *Phanerochaete chrysosporium* - главным деструктором лигнина, но одного порядка со многими микоризными грибами, и выше, чем у других почвенных бактерий. На примере очищенных препаратов ферментов нами было установлено, что и лигнин- и Mn-пероксидаза способны к деструктивному окислению модельных препаратов лигнина, при этом проявляют сходную активность в отношении модифицированного препарата лигнина. Однако, при деградации нативного препарата, лигниндеградирующий потенциал лигнин-пероксидазы, был на 42% выше по сравнению с Mn-пероксидазой, что, вероятно, свидетельствует о способности данного фермента к деградации более сложных полифенольных структур. Таким образом, нами впервые показана способность девяти штаммов бактерий рода *Azospirillum* к деградации модельных соединений лигнина. В результате проведенного исследования, подтверждена энзиматическая природа бактериальной деградации лигнина с участием собственных лигнин- и Mn-пероксидаз.

Научные руководители: д-р биол. наук В. Е. Никитина, канд. биол. наук Е. В. Глинская

ОЦЕНКА АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ШТАММОВ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД

Е. С. Протасов, И. В. Войцеховская, Д. В. Аксенов-Грибанов
Иркутский государственный университет
e-mail: protasov.evgenii@gmail.com

Целью работы было исследование антибиотической активности этилацетатных экстрактов актинобактерий, выделенных из байкальских эндемичных глубоководных и литоральных видов амфипод (*Crypturopus tuberculatus*, *Acanthogammarus godleuskii*, *Pallasea cancelloides*, *Eulimnogammarus viridis viridis*). В ходе работы было выделено 7 штаммов актинобактерий (*Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /11-1, *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /11-2, *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /11-3, *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /11-4 из *Crypturopus tuberculatus*; *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /14-2 из *Acanthogammarus godleuskii*; *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /20-1 из *Pallasea cancelloides*; *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /28-2 из *Eulimnogammarus viridis viridis*). Для выделения штаммов актинобактерий использовали селективные среды MS, крахмало-аммиачный агар, среда Гаузе №1. Полученные штаммы культивировали на средах NL-19 и SG. Для определения антибиотической активности этилацетатных экстрактов из культуральной жидкости и биомассы культивируемых штаммов были выделены биологически активные соединения и проведены диск-диффузионные тесты против модельных тест культур. Экстракты проявили антибиотическую активность относительно ряда тест культур: *E. coli* ATCC25922, *Pseudomonas putida* KT2440, *B. subtilis* ATCC 6633, *St. carnosus* ATCC 51365, *S. cerevisiae* BY4742. Наибольшую активность из исследованных штаммов показали штаммы *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /11-1 и *Actinobacteria spp.* IB 2015 /P /11-2. Однако, данные штаммы были неактивны в отношении *S. cerevisiae*.

Таким образом показано, что штаммы актинобактерий, выделенные из байкальских эндемичных амфипод, обладают антибиотической активностью в отношении ряда тест-культур.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проектной части ГЗ № 6.382.2014/К, грантов РФФИ № 14-04-00501_a и 15-54-04062 Бел_мол_a (приобретение расходных материалов), РФФИ 14-14-00400 (приобретение расходных материалов) и ФГБОУ ВПО «ИГУ» (приобретение расходных материалов).

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. М. А. Тимофеев

МИКРООРГАНИЗМЫ В СОЛЯНЫХ ПОРОДАХ ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

А. А. Пьянкова¹, Ю. А. Карташова²

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

² Пермский государственный национальный исследовательский университет
e-mail: annpjankva@mail.ru

В последние годы все больший интерес вызывают галофильные микроорганизмы, которые являются перспективными для использования в биотехнологических целях. Верхнекамское месторождение калийно-магниевых и натриевых солей (ВКМКС) является крупнейшим по запасам в РФ и в мире. Промышленная разработка солей осуществляется на территории Пермского края (г. Соликамск и г. Березники).

Цель работы – исследование микроорганизмов в образцах пород из залежей солей ВКМКС (Пермский край).

Объектами исследования были 16 образцов (каменная соль, карналлит, мергель, сильвинит, известняк, глина), отобранные с разной глубины (от 33,1 м до 411,5 м) на территории Усть-Яйвинского рудника, расположенного в юго-западной части ВКМКС (Усольский район, Пермский край). Образцы для исследований были предоставлены сотрудниками Горного института УрО РАН.

В жидкой модифицированной среде АТСС 213 «*Halobacterium medium*» (200 г/л NaCl) получены накопительные культуры (НК). Материал для получения НК был взят из толщи образца исследуемой породы в стерильных условиях. С применением набора реактивов Fast DNA spin kit for soil («MP Biomedicals», Франция) из каждой НК была выделена тотальная ДНК, которую далее использовали в качестве матрицы для ПЦР. В результате амплификации генов 16S рРНК (праймеры 27F и 1492R) получены ПЦР-продукты искомого размера (около 1400 п.н.) у всех исследуемых культур. Также проведена амплификация фрагментов генов 16S рРНК архей (праймеры 109F и 958R), в результате которой получены ампликоны с пяти образцов ДНК, выделенной из НК с каменной солью (239,7 и 411,5 м), мергелем (126,2 и 140,9 м), глиной (326,9 м). Таким образом, можно предположить, что в породах залежей солей ВКМКС присутствуют микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям солей.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-Урал № 13-04-96048.

Научный руководитель: д-р биол. наук Е. Г. Плотникова

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ БАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ ГОЛОДА

Ю. П. Сергеева, В. Ю. Горшков, А. Г. Даминова, Ю. В. Гоголев
Казанский (Приволжский) федеральный университет
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН
e-mail: juliasergeeva_94@mail.ru

Микроорганизмы способны быстро распознавать изменения внешней среды и адекватно реагировать на них. Учитывая разнообразие стрессовых факторов, и неодинаковое физиологическое состояние микроорганизмов в момент стрессового воздействия логично предположить существование множества адаптивных программ в популяции бактерий.

Целью данной работы является характеристика морфогенетических параметров бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043, подвергаемых голоданию при различном исходном физиологическом состоянии (клетки логарифмической (ЛФ) и стационарной (СФ) фаз роста).

В культурах *P. atrosepticum*, инокулированных СФ клетками, происходило образование покоящихся форм, не выявляемых при высеве КОЕ, но выявляемых при помощи ПЦР. На микрографиях СФ культур были выявлены клетки с разной степенью целостности клеточной стенки. В этих культурах уровень экспрессии генов ферментов биосинтеза клеточной оболочки был снижен. У культур, инокулированных ЛФ клетками, в качестве адаптивной стратегии, по-видимому, использовалась модификация генетического аппарата клетки, препятствующая детектированию ДНК-мишеней при помощи ПЦР-РВ. Фенол-хлороформная экстракция ДНК приводила к восстановлению ПЦР-сигнала. На микрографиях ЛФ культур преобладали клетки с конденсированным нуклеоидом. Экспрессия генов, продукты которых участвуют в конденсации нуклеоида, была повышена в культурах, инокулированных ЛФ клетками.

Таким образом, в зависимости от своего физиологического состояния бактерии способны реализовать разные стратегии адаптации к голоду.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 15-04-02380_А и РНФ 15-14-10022.

Научный руководитель: канд. биол. наук О. Е. Петрова.

**МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ШЛАМАХРАНИЛИЩА
СОЛЕДОБЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ
ОАО «УРАЛКАЛИЙ» (Г. БЕРЕЗНИКИ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ)**

А. В. Шипова¹, Е. А. Шестакова²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь
e-mail: shipova.alisa@mail.ru

Деятельность соледобывающих предприятий ОАО «Уралкалий» сопровождается образованием значительного объема отходов, которые представляют собой сложные техногенно-минеральные образования, содержащие широкий спектр токсичных органических соединений (фенолов, полициклических ароматических углеводородов, фталатов). Галофильные и галотолерантные микроорганизмы, способные разлагать широкий спектр токсичных ароматических соединений, перспективны для разработки эковиотехнологий восстановления загрязненных почв с высоким уровнем солености.

Цель исследования – характеристика микробного сообщества шламахранилища соледобывающего предприятия, расположенного в г. Березники (Пермский край).

Из образцов шлама выделено 35 штаммов бактерий-деструкторов нафталина, бифенила, *орто*-фталата. На основании морфологических признаков штаммы были отнесены к 16 группам. Представители каждой морфогруппы были идентифицированы на основе анализа нуклеотидных последовательностей 16S рДНК. Установлено, что 11 культур являются представителями класса *Actinobacteria* (роды *Janibacter*, *Brevibacterium*, *Rhodococcus*, *Dietzia*, *Promicromonospora*, *Microbacterium*), 2 штамма относятся к классу *Gammaproteobacteria* (роды *Halomonas*, *Alcanivorax*) и 3 штамма – к классу *Alphaproteobacteria* (роды *Thalassospira*, *Nitratireductor*, *Citromicrobium*). Бактерии способны осуществлять деструкцию ароматических соединений в присутствии 5% NaCl в ростовой среде.

Таким образом, в микробном сообществе шламахранилища соледобывающего предприятия выявлены активные галотолерантные деструкторы моно(поли)ароматических соединений, перспективные для разработки мероприятий по восстановлению загрязненных/засоленных территорий и предотвращения эмиссии поллютантов в окружающую среду.

Научный руководитель: д-р биол. наук Е. Г. Плотникова

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СВИНЦА НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ СЕМЯН В ПРИСУТСТВИИ *RHODOCOCCUS*-БИОСУРФАКТАНТОВ

А. В. Тищенко¹, Л. В. Костина²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь
e-mail: artem.dark.introvert@gmail.com

Загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) – одно из самых распространенных и экологически опасных для объектов окружающей среды. В настоящее время разрабатываются комбинированные и экологически безопасные технологии очистки почвы от ТМ, основанные на использовании методов фиторемедиации и биосурфактантов, для увеличения мобилизации и десорбции ТМ от компонентов почвы. Цель настоящей работы – изучение фитотоксичности свинца в присутствии *Rhodococcus*-биосурфактантов. В сравнительных исследованиях изучали влияние *Rhodococcus*-биосурфактантов (2,0; 4,0 и 8,0 г/л воды) и нитрата свинца ($Pb(NO_3)_2$) на фитотоксичность семян растений: овес посевной (*Avena sativa*), горчица белая (*Sinapis alba*) и вика полевая (*Vicia sativa* L.). Уровень фитотоксичности определяли по методу МР 2.1.7.2297-07 «Фитотест». Нитрат свинца добавляли в количестве 1, 10, 50, 100 и 200 ПДК. Биосурфактанты получали методом, разработанным в ЛАМ ИЭГМ УрО РАН, при культивировании штамма *R. ruber* ИЭГМ 231 в жидкой минеральной среде с *n*-додеканом (C_{12}) и *n*-гексадеканом (C_{16}) в качестве единственного источника углерода и энергии. Эксперименты по фитотоксичности проводили на базе Ботанического сада ПГНИУ.

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее устойчивым к действию ионов Pb^{2+} растением является овес посевной, менее устойчивы семена вики. Уровень прорастания семян овса колебался от 10 до 92 %. Следует отметить, что размер побегов и корневой системы семян овса при добавлении *Rhodococcus*-биосурфактантов C_{16} , был длиннее на 6,9 и 5,3 см, соответственно, по сравнению с таковым при изучении фитотоксичности ионов Pb^{2+} в присутствии *Rhodococcus*-биосурфактантов C_{12} . Семена горчицы и вики при концентрации ионов Pb^{2+} 50 ПДК и выше не прорастали. Ионы Pb^{2+} во всех вариантах эксперимента ингибировали прорастание корневой системы у вики полевой, а количество проросших побегов не превышало 12%. Исследования поддержаны Российским Научным Фондом (14-14-00643).

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН И. Б. Ившина

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ КУЛЬТИВИРУЕМОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЛИЧИНОК НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЖУКОВ-КСИЛОФАГОВ

П. Ю. Ваньков, Э. Э. Зиганшина, А. М. Зиганшин
Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: vankov93@bk.ru

Целлюлоза – одно из самых распространенных органических веществ. Одна из задач современной биотехнологии – разработка эффективных способов биодеструкции труднодоступных полимеров. Многие насекомые имеют симбиотические кишечные микроорганизмы, помогающие им осуществлять переваривание целлюлозы. Эти микроорганизмы могут быть выделены и использованы для деструкции целлюлозосодержащего субстрата.

В работе были проанализированы бактериальные сообщества кишечного тракта личинок представителей *Oryctes* sp. и подсемейства *Cetoniinae*. Для получения накопительной культуры целлюлолитиков использовали среду Имшенецкого, среду Пфеннига, модифицированную Кузнецовым, и среду Gupta [1]. В каждую колбу с питательной средой были внесены полоски фильтровальной бумаги в качестве единственного источника углерода. Через две недели после начала культивирования из колб был произведен пересев на соответствующие питательные агаризованные среды, содержащие порошковую целлюлозу в качестве источника углерода.

Определение таксономической принадлежности выделенных бактерий производили с использованием масс-спектрометра MALDI Biotyper (Bruker). Анализу подвергли 95 колоний. Определить таксономическую принадлежность удалось для 33 колоний. Возможно, это обусловлено ограниченностью базы данных MALDI Biotyper, а также специфичностью изучаемых сообществ. Из кишечника *Oryctes* sp. удалось выделить и идентифицировать бактерии родов *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Citrobacter*, *Ochrobactrum*, *Rothia*, *Sphingorhixis* и *Stenotrophomonas*, а из кишечника *Cetoniinae* – представителей родов *Bacillus*, *Citrobacter*, *Leifsonia*, *Ochrobactrum* и *Streptomyces*.

1. P. Gupta et al. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential // International Journal of Microbiology 2012.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент А. М. Зиганшин.

БАКТЕРИИ РОДА *BACILLUS*, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОРГАНИЗМОМ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (*APHIS POMI DE GEER, 1773*)

Р. А. Верховский, А. А. Абалымов, Е. В. Глинская
Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского
e-mail: arcadich1993@gmail.com

В современной экологии все макроорганизмы рассматриваются как среда обитания, весомую нишу в которой занимают бактерии. Несмотря на это, микробоценозы большинства организмов до сих пор остаются малоизученными.

Целью настоящей работы являлось выделение бактерий рода *Bacillus* и изучение их видового состава в организме яблонной тли (*Aphis pomi*) на территории право – и левобережья Саратовской области.

Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

Сбор насекомых осуществляли в весенне-летний период 2014 г. с деревьев яблонь, растущих на дачных участках Саратовского, Хвалынского, Энгельского и Пугачевского районов Саратовской области. Систематическое положение насекомых определяли по Blackman, Eastop (2006).

В ходе исследования было изучено 1600 особей тли.

Идентификацию выделенных штаммов проводили по Определителю бактерий Берджи (2001).

В результате исследований из организма яблонной тли было выделено 18 штаммов бактерий. Видовой состав бацилл представлен следующими видами: *Bacillus bataviensis*, *B. lentus*, *B. funiculus*, *B. nealsonii*, *B. soli*, *B. horikoshii*, *B. clausii*, *B. niacini*, *B. pumilus*, *B. halodurans*, *B. oleronius*. В зависимости от времени и места сбора тли, количественный и качественный состав микроорганизмов тли изменялся. Индекс встречаемости изолированных штаммов варьировал в пределах 10 - 80%, индекс общности видового состава находился в пределах 12.5 – 54.5%.

Для Саратовского и Хвалынского районов общими являлись виды *B. bataviensis*, *B. funiculus*, *B. halodurans*, *B. lentus*, *B. nealsonii*. Для Энгельского и Пугачёвского районов - *B. oleronius* и *B. clausii*.

Таким образом, наши исследования показали, что организм яблонной тли является средой обитания для широкого круга сапрофитических бактерий рода *Bacillus*.

АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ ШТАММОВ БАЙКАЛЬСКИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭНДЕМИЧНЫХ МАКРОБЕСПОЗВОНОЧНЫХ, К ПРОДУЦИРОВАНИЮ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

И. В. Войцеховская, Д. В. Аксёнов-Грибанов, Е. С. Протасов
Иркутский государственный университет
e-mail: irina.voytsekhovskaya@gmail.com

В данной работе было выделено двадцать пять штаммов актинобактерий из байкальских эндемичных макробеспозвоночных. Большинство штаммов выделено из личинок ручейника *Trichoptera* sp. и амфипод *Brandtia* sp., а наименьшее – из губок *B. bacilifera* и планарий *B. variegata*. Также установлено что 96% актинобактериальных штаммов обладают антибиотической активностью против ряда модельных тест-культур. В ходе количественного анализа основных продуцируемых соединений с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией низкого разрешения, показано, что выделенные штаммы продуцируют от 14 до 93 соединений. Анализ соединений двух активных штаммов актинобактерий рода *Streptomyces* sp. с применением масс-спектрометрии высокого разрешения, показал, что штаммом *Streptomyces* sp. IB2014/016-6 продуцируется 90 соединений, 10 из которых относятся к ранее идентифицированным, а 3 из них представляют собой высокомолекулярные соединения семейства миналеминов (А, В, С), ранее обнаруженные в морских асцидиях *Didemnum rodriguiesi*. Также показано, что штамм *Streptomyces* sp. IB2014/010-1 продуцирует 103 соединений, 5 из которых относятся к ранее идентифицированным, а одно представлено высокомолекулярным соединением – вариапептином, которое ранее обнаружено у штамма *Streptomyces variabilis* K2912.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проектной части ГЗ № 6.382.2014/К, грантов РФФИ № 14-04-00501_a и 15-54-04062 Бел мол а (приобретение расходных материалов), РНФ 14-14-00400 (приобретение расходных материалов) и ФГБОУ ВПО «ИГУ» (приобретение расходных материалов).

Научные руководители: д-р биол. наук, проф. М. А. Тимофеев,
канд. биол. наук Д. В. Аксёнов-Грибанов

СПЕКТР АДАПТИВНЫХ МУТАЦИЙ ВИРУСА СЕНДАЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК

С. С. Зайнутдинов

Новосибирский государственный университет

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

Существуют вирусы, обладающие выраженными онколитическими свойствами, например, вирусы болезни Ньюкасла и Сендай, а также некоторые штаммы вирусов кори, энтеровирусов и другие. Многие из них нарабатываются на куриных эмбрионах, однако препараты, полученные таким образом, могут вызывать аллергические реакции из-за присутствия большого количества куриного белка. Одно из решений проблемы – наработка вирусов на культурах клеток.

Онколитические свойства штамма Moscow вируса Сендай изучались в Институте вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН и Онкологическом научном центре РАМН. В Москве в 1980–90-х гг. этот штамм применялся для терапии безнадежно больных людей со злокачественными опухолями. Культивирование штамма Moscow проводилось на куриных эмбрионах.

Данная работа посвящена выявлению адаптивных мутаций штамма Moscow при культивировании на клетках 293 и 4647, аттестованных для производства вакцин в России. В результате адаптации были получены штаммы Sen293nsk1, Sen293nsk1310 и Sen293nsk1616, прошедшие 21, 10 и 16 пассажей на клетках 293 соответственно, и штаммы Sen4647mos25 и Sen4647nsk0410, прошедшие 25 и 10 пассажей на клетках 4647. Для всех штаммов проведено полногеномное секвенирование (15384 н.) и сравнительный анализ структуры со следующими результатами:

1. Все культуральные штаммы гетерогенны и представляют собой смесь нескольких клонов вируса.

2. Спектр мутаций отличается между штаммами, адаптированными к разным культурам клеток (293 и 4647), и достаточно сильно совпадает при независимых актах культивирования исходного вируса на одной культуре клеток (как для 293, так и 4647).

3. Наибольшая плотность мутаций наблюдается в генах поверхностных белков. С помощью реакции торможения гемагглютинации было показано, что эти мутации существенно изменяют антигенные свойства вируса.

Полногеномная последовательность штамма Moscow вируса Сендай была задепонирована в базе данных GenBank (KP717417.1).

Научный руководитель: д-р биол. наук Г. В. Кочнева.

**ЭФФЕКТ УВЕЛИЧЕНИЯ НАГРУЗКИ ПО ОРГАНИКЕ И
ВНЕСЕНИЯ ЦЕОЛИТОВ НА РАЗВИТИЕ МИКРОБНОГО
СООБЩЕСТВА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА АНАЭРОБНУЮ
ПЕРЕРАБОТКУ КУРИНОГО ПОМЕТА.**

Э. Э. Зиганшина¹, Д. Е. Белостоцкий², О.Н. Ильинская¹, А. М. Зиганшин¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет

² Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова

Казанского научного центра РАН

e-mail: elvira051088@gmail.com

Накопление органических отходов и их применение без соответствующей обработки создают опасность загрязнения почвы, водоемов и воздуха. Одним из эффективных способов утилизации отходов сельского хозяйства является их активная анаэробная обработка с получением возобновляемой энергии в виде выделяющегося биометана. Микробные сообщества, вовлеченные в анаэробную переработку биомассы в условиях, близких к ингибирующим, например, куриного помета с высоким содержанием ионов аммония, представляют большой интерес как модельные объекты для раскрытия функциональных особенностей протекания гидролиза, ацидогенеза и метаногенеза.

Настоящая работа посвящена изучению влияния увеличения нагрузки по органике (НО) с 1.0 до 3.5 г л⁻¹сут⁻¹ при постоянном времени удерживания (35 суток) на развитие мезофильных анаэробных микробных сообществ, ответственных за переработку куриного помета как в отсутствие (Реактор 1), так и в присутствии цеолитов (Реактор 2) (с целью снижения концентрации аммония в субстрате). Структуру микробных сообществ оценивали методом пиросеквенирования генов 16S рРНК. В структуре микробных сообществ преобладали различные представители *Bacteroidales* и *Methanobacterium* sp. при умеренных значениях аммонийного азота и летучих жирных кислот (ЛЖК). Увеличение НО, сопровождающееся накоплением аммония и ЛЖК, приводило к преобладанию представителей *Erysipelotrichaceae*, *Clostridium* и *Methanosarcina*. Члены рода *Methanosarcina* достигли относительного содержания в 94% в реакторе 1 и 57% в реакторе 2 к концу эксперимента (94 суток). Параллельно с увеличением концентрации аммонийного азота, ЛЖК и повышением рН наблюдалось уменьшение *Synergistaceae* и *Crenarchaeota*, а также увеличение членов *Acholeplasmataceae*.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент А. М. Зиганшин.

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АПОПТИН-ПРОДУЦИРУЮЩЕГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ НА КАРЦИНОМУ ЭРЛИХА МЫШЕЙ

Е. В. Зонов, Г. В. Кочнева

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
e-mail: zoman89@gmail.com

Для усиления природных онколитических свойств ВОВ на основе штамма Л-ИВП был сконструирован рекомбинантный апоптин-продуцирующий ВОВ VVdGF-ApoS24/2. Апоптин - неструктурный белок вируса анемии цыплят, избирательно вызывающий апоптоз опухолевых клеток. Цель данной работы - изучение механизма противоопухолевого действия ВОВ VVdGF-ApoS24/2 на солидную и асцитную формы карциномы Эрлиха у мышей.

Мышам линии ICR прививали карциномы Эрлиха подкожно или внутривнутрибрюшинно. После формирования опухоли мышам однократно интратуморально вводили ВОВ VVdGF-ApoS24/2, мышам контрольных групп вводили ВОВ Л-ИВП и физраствор. Регулярно измеряли объем опухолевых узлов или длину окружности брюха мышей. Животных выводили из эксперимента на различных сроках после введения ВОВ, отбирали ткань опухолевых узлов или асцитическую жидкость, фиксировали в 4% параформальдегиде, обрабатывали стандартными способами для светооптического и ультраструктурного исследований, иммуногистохимического выявления белков-маркеров пролиферации.

Введение рекомбинантного ВОВ мышам с карциномой Эрлиха приводило к значительному уменьшению объема опухолевых узлов и длины окружности брюха мышей по сравнению с контрольными мышами. Прямое титрование ВОВ и ультраструктурное исследование осадков асцитической жидкости мышей показало, что оба штамма ВОВ размножаются лишь в единичных клетках карциномы Эрлиха. Внутривнутрибрюшинные инъекции ВОВ обоих штаммов приводили к снижению митотической активности опухолевых клеток в асцитической жидкости мышей и, одновременно, к увеличению количества клеток, экспрессирующих белок PCNA, что говорит о вирус-индуцированной остановке клеточного цикла опухолевых клеток.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. Е. И. Рябчикова

ЭВОЛЮЦИЯ СИСТЕМЫ МНОЖЕСТВЕННЫХ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ НА ПРИМЕРЕ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ ПОЛОСАТОГО ОПЛЕГНАТА (*Oplegnathus fasciatus*)

Д. А. Андреюшкова

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: ada@mcb.nsc.ru

Для костных рыб (Osteichthyes) характерно высокое разнообразие систем определения пола, в частности, различных систем половых хромосом у видов с генетическим определением. Одним из таких возможных вариантов является система множественных половых хромосом, которая, как правило, возникает в результате слияния предковых половых хромосом с аутосомами. Так, самки полосатого оплегната (*Oplegnathus fasciatus*, отряд Окунеобразные) имеют 2 пары акроцентрических X-хромосом (X_1 и X_2), в то время как в кариотипе самцов присутствуют по одной хромосоме X_1 и X_2 и одна крупная метацентрическая Y-хромосома [1].

Целью данной работы являлось выявление районов X-хромосом полосатого оплегната, гомологичных Y-хромосоме.

В процессе работы были получены флуоресцентно меченые микродиссекционные пробы Y-хромосомы полосатого оплегната и проведена флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) этих проб на метафазных хромосомах самцов и самок данного вида. В результате FISH были детектированы специфические сигналы на Y-хромосоме самца и X-хромосомах самок, соответствующие районам синтении.

1. D. Xu et al. Chromosomal mapping of microsatellite repeats in the rock bream fish *Oplegnathus fasciatus*, with emphasis of their distribution in the neo-Y chromosome // Molecular Cytogenetics, 2013, 6:12.

Научный руководитель: канд. биол. наук В. А. Трифонов

НОВЫЕ УСТОЙЧИВЫЕ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ РНК-АПТАМЕРЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОР IGF-1

А. С. Давыдова, М. А. Воробьева

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

e-mail: anna.davydova@niboch.nsc.ru

В настоящее время онкологические заболевания занимают второе место по смертности среди населения России. Разработка новых средств диагностики и лечения таких социально значимых заболеваний является актуальной проблемой биотехнологии и медицины. Одним из перспективных подходов к созданию принципиально новых систем детекции опухолевых клеток является использование биосенсоров на основе аптамеров - аптасенсоров. Аптамеры – синтетические олигонуклеотиды (РНК или ДНК), способные связывать заданные молекулы-мишени с высокой аффинностью и селективностью за счет образования специфических третичных структур.

Данная работа посвящена отбору методом SELEX новых устойчивых в биологических средах РНК-аптамеров, способных связывать рецептор инсулиноподобного фактора роста человека (IGF-1R) на поверхности живых клеток. Выбор в качестве мишени IGF-1R человека обусловлен тем, что этот трансмембранный белок, относящийся к семейству рецепторных тирозинкиназ, участвует в регуляции роста, миграции и подвижности многих типов опухолевых клеток. Для повышения устойчивости полученных РНК-аптамеров к действию нуклеаз в биологических средах все пиримидиновые нуклеозиды были заменены их 2'-F-аналогами.

После 10 раундов селекции на целые клетки было проведено секвенирование обогащенной библиотеки на платформе MiSeq (Illumina). На основе полученных данных были отобраны три аптамера, проведен их химико-ферментативный синтез, определены параметры их связывания с клетками-мишенями. На основе полученных РНК-аптамеров планируется создание флуоресцентных РНК-биосенсоров для высокоточной и эффективной детекции белка IGF-1R на поверхности опухолевых клеток. Такие биосенсоры в перспективе могут быть использованы при разработке новых методов диагностики онкологических заболеваний.

Научный руководитель: канд. хим. наук, доцент А. Г. Веньямина

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АЛЬФА-КРИСТАЛЛИНОВ ПРИ РАЗВИТИИ КАРДИОМИОПАТИИ У КРЫС OXYS

В. А. Девяткин

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
Новосибирский государственный университет
e-mail: devyatkinvasiliy@gmail.com

Основной причиной преждевременной смерти остаются заболевания сердечно-сосудистой системы. Генетические основы гипертрофической кардиомиопатии (ГК) – наиболее частого наследственного заболевания сердца - в 50% случаев остаются не ясными, что затрудняет своевременное выявление и создание эффективных способов профилактики и лечения. Перспективной моделью для изучения механизмов преждевременного старения и связанных с ним заболеваний является линия крыс OXYS (ИЦиГ СО РАН). Развитие катаракты и ретинопатии у этих животных связано со снижением экспрессии α -кристаллинов (α -CRY). Имеющиеся в литературе сведения позволяют предположить, что системные изменения экспрессии α -CRY с возрастом могут вносить существенный вклад в развитие ассоциированных со старением заболеваний. Цель: изучение молекулярно-генетических механизмов развития ГК у крыс OXYS.

Данные ЭКГ и гистологического исследований подтвердили развитие у крыс OXYS ГК к возрасту 12 мес., первые признаки которой выявлены в возрасте 3 мес. Анализ данных RNA-seq транскриптома крыс OXYS среди 42 ассоциированных с кардиомиопатией генов выявил однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в генах *Calr3*, *Ndufv2*, *HspB7* и *Des*, три из которых были подтверждены методом прямого секвенирования по Сенгеру, но на данный момент их вклад в развитие заболевания неизвестен. Уровень мРНК гена *α B-CRY* (ПЦР в режиме РВ) с возраста 20 дн. до 24 мес. существенно не менялся у крыс OXYS, но повышался у контрольных крыс Вистар. Уровень мРНК гена *α A-CRY* выявлен на фоновом уровне во всех группах животных. Уровень белков α -CRY (метод вестерн блот анализа) у крыс Вистар был выше, чем у одновозрастных OXYS. Максимальные значения *α B-CRY* достигались к 24 мес. у крыс обеих линий. Уровень *α A-CRY* у Вистар снижался к 3 мес. до уровня крыс OXYS. Полученные результаты не позволяют говорить о наличии прямой связи развития ГК с изменениями экспрессии α -CRY, можно предположить, что её развитию предшествует снижение уровня их белковых продуктов в миокарде. (Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00376).

Научный руководитель: канд. мед. наук Н. А. Муралёва

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИСКУССТВЕННЫХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ СТАД СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS L.*)

Л. В. Комарова, Н. В. Костицына, С. В. Боронникова

Пермский государственный национальный исследовательский университет
e-mail: lidie.komarova@mail.ru

В настоящее время проблема рационального использования и восполнения водных ресурсов становится актуальной. Ввиду частого использования стерляди для выпуска в водоемы с целью компенсации ущерба, нанесенного водным биоресурсам от хозяйственной деятельности, поднимаются вопросы генетического разнообразия популяций, а также молекулярно-генетического сходства выпускаемых и обитающих в водоемах рыб.

Для молекулярно-генетического анализа популяций и стад *A. ruthenus* были отобраны пять наиболее эффективных ISSR-праймеров, согласно технологии, предложенной С. В. Боронниковой (2009). Анализ полиморфизма ДНК проведен у 252 особей из 8 популяции и стад *A. ruthenus*. В общей выборке из естественных популяций и искусственных стад выявлено 143 ISSR-маркера, из которых 126 были полиморфными ($P95=0,881$). Таким образом, показатели наибольшей доли полиморфных локусов и ожидаемой гетерозиготности (HE) установлены в выборке из реки Вятка ($P95=0,877$; $HE=0,209$), а наименьшей в выборке из реки Обь ($P95=0,634$; $HE=0,089$).

Проанализирована генетическая структура изученных популяций и стад *A. ruthenus*. Выявлено, что доля межпопуляционного разнообразия (GST) составляет 0,416, то есть на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия стерляди приходится 41,6 % разнообразия, а на внутривидовую – 58,4 %, которая вносит основной вклад в генетическое разнообразие.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Пермского отделения «ГосНИОРХ» и Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «УМНИК».

1. Боронникова С. В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов / С. В. Боронникова // Аграрный вестник Урала. – 2009. - №2. С. 57-59.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. С.В. Боронникова

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ
ПОПУЛЯЦИЙ *LARIX SIBIRICA* LEDEB. НА УРАЛЕ**

В. П. Красильников, Ю. С. Нечаева, Я. В. Пришневская, С. В. Боронникова
Пермский государственный национальный исследовательский университет
e-mail: trait969@gmail.com

В настоящее время все наиболее остро встает вопрос сохранения лесов и контроль над промышленным использованием лесных ресурсов. В соответствии с ФЗ №415 от 28 декабря 2013 г. лесоматериалы обязательно должны быть идентифицированы с помощью технологии маркировки. В связи с этим разработка и внедрение эффективных методов молекулярно-генетической идентификации и контроля географического происхождения популяций древесных хвойных видов растений и их древесины приобретает все большую актуальность.

Молекулярно-генетическая идентификация популяций *L. sibirica* проведена на основании технологии, предложенной С.В. Боронниковой (2009) с учетом нуклеотидного полиморфизма. Для молекулярно-генетической идентификации популяций изучаемого вида отобраны четыре наиболее информативных ISSR-праймера, с помощью которых выявлены эффективные для изучаемых видов рода *Larix* ISSR-маркеры и проведен отбор идентификационных молекулярных маркеров. Для выявления видовых и родовых ISSR-маркеров были использованы данные молекулярно-генетического анализа лиственницы сибирской (*L. sibirica*) и лиственницы европейской (*L. decidua*). В ходе молекулярно-генетического анализа были выявлены уникальные ISSR-маркеры. Из 10 анализируемых популяций лиственницы сибирской уникальные ISSR-маркеры отмечены в 4 популяциях.

Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки России (проект144, № гос. рег. 01201461915).

1. Боронникова С. В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов / С. В. Боронникова // Аграрный вестник Урала. – 2009. - №2. С. 57-59.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. С.В. Боронникова

АНАЛИЗ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ, ОКСИДА НИКЕЛЯ (II) И ОКСИДА МАРГАНЦА (II, III) НА КУЛЬТУРЕ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

Д. А. Кушнина, Н. В. Дорофеева

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург

Уральский федеральный университет им. первого президента России

Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург

e-mail: dasha.kushnina@yandex.ru, dorofeeva.nadin@gmail.com

Формирование и развитие национальной nanoиндустрии обуславливает необходимость более тщательного изучения потенциальных угроз в сфере жизнедеятельности человека. В настоящее время ни один вид наночастиц не был изучен в полном объёме на биобезопасность. Ввиду отсутствия достаточной информации ведущие международные организации рекомендовали проводить исследования токсичности наночастиц *in vitro*.

Наночастицы меди способны повреждать ДНК, формируя ДНК-аддукты, которые блокируют репликацию, транскрипцию и, как результат, клеточную пролиферацию. Избыток наночастиц оксида марганца в клетке приводит к образованию активных форм кислорода, угнетению митохондриальной активности и апоптозу. Токсичность наночастиц оксида никеля проявляется в подавлении процессов пролиферации, синтеза белка, ДНК, образовании токсичного гидроксил-радикала.

Токсическое действие наночастиц обусловлено их большой реакционной площадью поверхности, высокой проникающей способностью, возможностью генерировать АФК

Целью нашего исследования стало изучение токсичности наночастиц меди, оксида никеля (II) и оксида марганца (II, III) на культуре фибробластов человека с помощью построения кривых роста и морфологического анализа.

В работе исследовалась токсичность наночастиц меди, оксида марганца (II, III) и оксида никеля (II) со средним диаметром 30 ± 14 , 32 ± 12 и 30 ± 10 нм соответственно на линии культивируемых фибробластов человека, 4-7 пассаж. Клетки культивировали при стандартных условиях. Исследуемые концентрации наночастиц – 0,01, 0,05 и 0,1 мг/мл. Для морфологического исследования проводилась окрашивание культур по методу Романовского.

После введения суспензии наночастиц меди в концентрациях 0,01, 0,05 и 0,1 мг/мл уже на 3 сутки после цитотоксического воздействия произошло резкое снижение количества клеток по сравнению с контролем. Клеточный рост был либо пролонгирован с дальнейшей гибелью клеток, либо вообще отсутствовал. Часть клеток набухшие, с нечёткими границами. На 6 сутки после воздействия число клеток сократилось в 2,5 – 4 раза, процессы

апоптоза и некроза преобладали над процессами митоза. Наблюдаются округлые, открепленные клетки, фибробласты имеют нечеткие границы, их цитоплазма сильно вакуолизирована, клетки находятся на стадии апоптоза. На 9 сутки культура полностью погибла. Особенно сильное падение числа клеток наблюдается после введения частиц в концентрации 0,1 мг/мл.

После введения суспензии наночастиц оксида марганца (II, III) в концентрации 0,01 мг/мл уже на 3-и сутки отмечалось снижение количества клеток по сравнению с контролем, культура представлена фибробластами разной степени дифференцировки. Преобладают функционально активные клетки с крупным ядром и отростками, которые относятся к бластным формам. В ядре 1 или 2 ядрышка. Значимое падение числа клеток наблюдалось также после введения суспензии наночастиц в концентрации 0,05 мг/мл, преобладают дифинитивные формы фибробластов с дистрофическими изменениями. Наибольшую цитотоксичность проявили наночастицы марганца в концентрации 0,1 мг/мл, в цитоплазме, ядре определяются включения темно-коричневого цвета, что может свидетельствовать об общей деградации культуры. На 6-е сутки наблюдались единичные прикрепленные клетки с сильно вакуолизированной цитоплазмой. На 9-е сутки культуры погибли.

При введении в исследуемую культуру фибробластов наночастиц оксида никеля (II) в концентрации 0,01 мг/мл отмечается высокая клеточная плотность. Клетки дифференцированные с межклеточными контактами. В ядре хорошо определяется ядрышковый аппарат, включения в цитоплазме единичны, что, по-видимому, свидетельствует о сравнительно низкой токсичности используемых наночастиц в данной концентрации. Воздействие наночастиц оксида никеля (II) в концентрации 0,05 мг/мл приводит к снижению клеточности культуры. Наблюдаются клетки с признаками деструкции. После воздействия на культуру фибробластов наночастиц никеля в концентрации 0,1 мг/мл определяются конгломераты темно-коричневых включений, клетки культуры разрушены. Наибольшую цитотоксичность проявили наночастицы оксида никеля (II) в концентрации 0,1 мг/мл. На 6-е сутки число клеток по сравнению с контролем уменьшилось в 4-5 раз.

Выводы. Наночастицы меди, оксида марганца (II, III) и оксида никеля (II) в концентрациях 0,01, 0,05 и 0,1 мг/мл обладают цитотоксичностью. Цитотоксичность этих типов наночастиц растёт с увеличением их концентрации.

Установлено, что с увеличением концентрации наночастиц меди, оксида марганца и оксида никеля, ускоряется процесс дифференцировки фибробластического дифферона с последующей гибелью клеток. Наиболее выраженным цитотоксическим эффектом обладают наночастицы оксида никеля (II).

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. О. Г. Макеев

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАСТИ ДРЕВНИХ ЛОШАДЕЙ АЛТАЯ И БУРЯТИИ: СРАВНЕНИЕ С СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ

М. А. Куслий

Новосибирский государственный университет

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

e-mail: viola_ramashka@mail.ru

Изучая ядерные гены окраски древних и современных лошадей, можно выяснить, какие изменения в цвете шерсти произошли в процессе одомашнивания. Сравнение митохондриальных геномов помогает воссоздать филогенетические отношения между древними и современными представителями рода *Equus*, динамику изменения популяций во времени.

Целью исследования является генотипирование и определение масти древних лошадей Алтая и Бурятии и установление их филогенетических отношений с современными лошадьми алтайской популяции.

В ходе данной работы выделена ДНК из 24 костных образцов древних лошадей (40 тыс. лет до н.э. – 5 век н.э.) из республик Бурятия, Алтай, Якутия, из Забайкальского края, Ульяновской области, сделаны библиотеки для секвенирования, обогащённые фрагментами 7 генов окраски и мтДНК. По результатам секвенирования были определены гаплогруппы (E, N, R) древних лошадей и их место на филогенетическом древе по статье Ачилли с соавт. [1], а также масти, отличные от дикого типа, у 4 древних лошадей.

Выделена ДНК 88 современных лошадей из 2 районов Алтая и секвенирован фрагмент гипервариабельного района мтДНК, построена филогенетическая сеть. Исходя из замен в этом фрагменте, по классификации Сизлака с соавт. [2] мы отнесли исследованных нами современных лошадей к 10 гаплогруппам (A, B, D, F, I, K, K3, X2, X3, X4), а древних лошадей Бурятии, с плато Укок, из Денисовой пещеры к гаплогруппам X3, K, X7 соответственно.

1. Achilli, A., et al. Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2012. – Vol. 109. – N. 7. – P. 2449–54.

2. Cieslak, M., et al. Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – N. 12. – P. e15311.

Научный руководитель: канд. биол. наук Н. В. Воробьева

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ФЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКРОГЛИЯ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОТРАВМ

Я. О. Мухамедшина, М. Н. Журавлева, Э. Р. Санатова
Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: yana.k-z-n@mail.ru

Относительно недавно пришло осознание того, что клетки микроглии играют специфическую роль в определении прогрессирования и исхода всех заболеваний ЦНС. Микроглия перестала рассматриваться в качестве незначительной детали при различных патологиях нервной системы и в настоящее время занимает одно из центральных мест в качестве терапевтической мишени. Микроглия, как вариант клеточной терапии, в наибольшей мере удовлетворяет исследователей по критериям онкогенной безопасности и минимальной инвазивности. Несмотря на перспективные свойства, практически отсутствуют сведения о применении микроглии для трансплантации с целью стимулирования регенерации при нейротравме.

Цель данной работы – получить жизнеспособные клетки микроглии, пригодные для последующей терапии травматических повреждений ЦНС. Клетки микроглии получали из коры головного мозга новорожденных крыс по оптимизированному протоколу Lee [1] с помощью ферментативной дезагрегации и последующего центрифугирования в градиенте плотности Histodenz.

В ходе проведения проточной цитометрии через 24 часа после выделения было показано, что полученные клетки на 47% Iba1-позитивны, 11% CD11b позитивны, 19% CD45 позитивны. Методом иммуноцитохимии установлено, что полученные клетки Iba1/CD68/CD11b/CD45-позитивные и GFAP/Nestin/Vimentin/NF200/ β 3-tubullin-отрицательные. Для получения культуры делящихся клеток микроглии проводили культивирование смешанной глиальной культуры на среде с добавлением G-CSF, стабильная продукция клеток сохранялась до 8 недель. Таким образом, в результате исследования были получены клетки по своим антигенным характеристикам относящиеся к микроглии, в количествах достаточных для *in vitro* и последующих *in vivo* исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МК-4020.2015.7) и гранта РФФИ №14-04-31246_мол_а.

1. J.K. Lee et al. Microglia isolation from adult mouse brain // Methods Mol Biol. 2013; 1041: 17-23.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. А. А. Ризванов.

THE ROLE OF KINESIN-LIKE PROTEINS IN KINETOCHORE-DRIVEN MICROTUBULE FORMATION IN DROSOPHILAG. A. Pavlova^{1,3}, A. F. Munzarova^{1,2}, J. V. Popova^{1,4}, A. V. Razuvaeva^{1,2}¹Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk²Novosibirsk State University³Kazan Federal University⁴Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk

e-mail: gerapavlova@gmail.com

The fidelity of mitosis and the maintenance of chromosome stability are crucial for normal development of multicellular organisms and to prevent cancer, birth defects and other human pathologies. Thus, unraveling the mechanisms of spindle assembly is a central issue in both fundamental and cancer-oriented research. It is now widely accepted that chromosome/kinetochore-induced microtubules (MTs) are essential for spindle formation. However, the molecules and the mechanisms governing nucleation and growth of these MTs are poorly understood.

To dissect the mechanisms underlying kinetochore-driven MT growth we analyzed MT regrowth from chromosomes/kinetochores after cold-induced MT depolymerization (abbreviated with MTRAC) in *Drosophila* S2 cells. Current studies indicate that this process mimics kinetochore fibers (k-fibers) formation in normal cells that did not suffer chilling. Specifically, we analyzed the roles of four MT destabilizing kinesins: Klp67A and Klp59C that mainly act at the kinetochores, Klp10A that functions at the spindle poles, and Klp59D that is thought to act at both the spindle poles and the kinetochores. RNAi against these kinesins produced different mitotic phenotypes. Klp67A depletion disrupted kinetochore-MT interactions resulting in long spindles and preventing anaphase. RNAi against Klp59D produced relatively short spindles and caused a partial block in metaphase-to-anaphase transition. Irregular spindles were also observed in Klp59C- Klp10A- and Klp59D- depleted cells, which, however, entered anaphase and segregated the chromosomes. MTRAC experiments showed that of the four kinesins only Klp59D is required for this process. These results indicate that MTRAC is under specific control and delineate different roles for MT-depolymerizing kinesins in the process. They further suggest that proper kinetochore-MT attachment, which is disrupted Klp67A-depleted cells, is essential for satisfying the spindle assembly checkpoint and mediate chromosome segregation but not for MTRAC.

Scientific advisor: PhD, Prof. Maurizio Gatti

ВЛИЯНИЕ МОНОИОДАЦЕТАТА НАТРИЯ И ПРОГРЕВАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ В ФИТОПАТОСИСТЕМЕ КОЛЬЦЕВАЯ ГНИЛЬ – ВЕГЕТИРУЮЩИЙ КАРТОФЕЛЬ

А. И. Перфильева, Е. В. Рымарева, Е. Г. Рихванов,
М. А. Живетьев, И. А. Граскова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск
e-mail: alla.light@mail.ru

Изучали изменение активности гваякол-зависимой пероксидазы у двух сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.), различающихся по устойчивости к возбудителю кольцевой гнили *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). *Cms* – грамположительная бактерия, вызывает заболевание кольцевая гниль картофеля, проявляющееся в виде вилта стеблей и пожелтения листьев, наличия коричневого кольца на срезе клубня. Несмотря на значительный ущерб, наносимый кольцевой гнилью, на сегодняшний день не существует доступных и эффективных способов борьбы с *Cms*, а также с другими бактериальными болезнями картофеля. В этой связи представляется актуальным поиск способа борьбы с *Cms*. Потенциальным агентом для борьбы с *Cms* является моноиодацетат натрия (МИА), ингибитор гликолиза. Ранее нами показано, что МИА имеет значительный фунгицидный и бактерицидный эффект, не оказывает отрицательного действия на продуктивность картофеля и, более того, способен ее повышать. Бактерицидное действие МИА при повышении температуры значительно возросло. Эти обстоятельства дали основания считать, что данный агент окажется не только эффективным средством борьбы с кольцевой гнилью. Поскольку активность пероксидазы можно рассматривать как показатель стрессового состояния растений, было интересно изучить эффект МИА и прогревания на активность этого фермента в процессе развития картофеля.

Клубни картофеля заражали *Cms*, а также обрабатывали МИА и прогревали (45°C). Активность пероксидазы анализировали в листьях растений на стадии бутонизации и цветения. Показана зависимость между устойчивостью к патогену и активацией пероксидазы У устойчивого сорта картофеля активность пероксидазы возрастала при переходе в фазу цветения и при инфицировании патогеном. Этого не наблюдалось у восприимчивого сорта. В то же время, предпосадочная обработка клубней прогреванием и МИА ингибировала повышение активности пероксидазы. Полученные данные указывают, что МИА прогревание могут оказывать длительный физиологический эффект на растения картофеля.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОРГАННЫХ И ТКАНЕВЫХ ЭКСТРАКТОВ В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ СОСТАВЛЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Т. И. Почевалова

Астраханский государственный университет

e-mail: astbio@mail.ru

Питательные среды для культуры клеток животных и человека должны обеспечивать все внешние условия, которые клетки имели *in vivo*. Это обеспечивает выживание клеток, их пролиферацию и дифференцировку. Внеклеточная среда должна обеспечивать клетки питательными и гормональными факторами, т.е. обладать всем необходимым для роста и выживания клеток. Условия культивирования животных клеток – это определенные требования к составу питательной среды, соотношению CO_2/O_2 и поверхности субстрата.

Питательная среда представляет собой раствор определенного состава, основу которого составляют солевые растворы. Кроме того в состав питательных сред добавляются компоненты невыясненного биологического происхождения (добавки плазмы, сыворотки крови, тканевые экстракты и т.д.).

Удовлетворить потребность клетки в получении специфических факторов роста и питательных веществ в процессе ее пролиферации и роста можно внесением узкоспециализированных питательных сред. В связи с этим возникла необходимость поиска гомологичных культивируемым клеткам органических компонентов, обладающих высокой органной и тканевой специфичностью, системами доставки питательных веществ в гомологичные органы или ткани, а также высокой биодоступностью и усвояемостью для клеточного материала. Предварительные испытания экстрактов, полученных из зрелых тканей и органов млекопитающих, открыли перспективы для их дальнейшего использования в качестве активных биостимуляторов, благодаря сбалансированному содержанию в их составе белков, аминокислот, регуляторных веществ, факторов роста и др. ценных биоконпонентов.

Используя новые подходы в получении биологически активных экстрактов из паренхиматозных органов, можно получить конечные продукты, не отягощенные балластными веществами биомассы тканей, что позволяет стимулировать пролиферативную активность клеточных культур в условиях *in vitro*.

Таким образом, использование экстрактов из органов и тканей животных в качестве компонентов для составления питательных сред является новым перспективным направлением в развитии клеточной биотехнологии и тканевой инженерии.

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ, ЛЕЖАЩИХ В ОСНОВЕ
КИНЕТОХОР-ЗАВИСИМОГО РОСТА МИКРОТРУБОЧЕК
У *DROSOPHILA MELANOGASTER*:
АНАЛИЗ РОЛИ БЕЛКОВ *Eb1*, *MAST*, *MARS* И *MEI-38***

Ю. В. Попова^{1,2}, А. В. Разуваева^{1,3}, А. Ф. Мунзарова^{1,3}, Г. А. Павлова^{1,4}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

² Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

³ Новосибирский государственный университет

⁴ Казанский государственный университет

e-mail: popova@mcb.nsc.ru

Для понимания механизмов, лежащих в основе кинетохор-зависимого роста микротрубочек (МТ), мы исследовали повторный рост митотических МТ (ПРМТ) от хромосом/кинетохор после деполимеризации тубулина, вызванной воздействием холодом, в культуре клеток дрозофилы *S2*. Считается, что этот процесс имитирует формирование кинетохорных пучков МТ в клетках, которые не подвергались воздействию холода.

Мы проанализировали роль четырех белковых факторов, которые по литературным данным вовлечены в сборку веретена деления: *Eb1*, *Mast*, *Mars* и *Mei-38*. Белок *Eb1* является эволюционно консервативным белком, который локализуется на плюс-концах МТ и способствует их росту. Белок *Mast* необходим для прикрепления МТ к кинетохорам. Белки *Mei-38* и *Mars* стабилизируют кинетохорные пучки МТ.

Мы показали, что истощение каждого белка посредством РНК-интерференции приводило к укорочению митотического веретена деления. При истощении белка *Mast* наблюдались нарушения взаимодействия МТ с кинетохорами, что проявлялось как в частом образовании монополярного веретена деления, так и в остановке деления клетки с биполярным веретёном на стадии прометафазы или метафазы. РНК-интерференция генов *Eb1*, *mars* и *mei-38* задерживала переход делящейся клетки из метафазы в анафазу.

Исследования ПРМТ показали, что истощение белка *Eb1* или *Mast* значительно подавляет кинетохор-зависимый рост МТ, в то время как истощение белка *Mei-38* имеет лишь незначительный подавляющий эффект. РНК-интерференция гена *mars* не влияет на ПРМТ.

Научный руководитель: канд. биол. наук А. В. Пиндюрин

РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ AS-8

А. Х. Сабилов, Нгуен Тхи Няп Тханг, М. Б. Пугачев, Н. В. Штырлин,
Р. Р. Мифтахова, А. Г. Иксанова, Ю. Г. Штырлин
Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: Arsenicum-ash@mail.ru

Гликолитический путь метаболизма наряду со сниженной активностью митохондрий позволяют опухолевым клеткам подавлять эндогенные механизмы гибели и способствуют их быстрому распространению. В рамках настоящего исследования предложен новый подход к сдвигу внутриклеточного метаболизма опухолевых клеток в сторону нормальных клеток.

Клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 выращивали в среде α -МЕМ, содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 50 мкг/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ L-глутамин и 10 мкг/мл (IC_{25}) исследуемого соединения AS-8 в условиях 37°C в CO_2 -инкубаторе с содержанием CO_2 5%. На седьмые сутки инкубации наблюдали изменение морфологии клеток MCF-7/AS-8, которые становились вытянутыми, ровной формы, с четко оформленным ядром. После 21-25 дней инкубации опухолевые клетки MCF-7/AS-8 откреплялись от поверхности и переходили в адгезионное состояние.

После 9 дней инкубации клеток MCF-7/AS-8 был проведен тест на формирование маммосфер. Клетки были посажены на среду α -МЕМ, не содержащей эмбриональной телячьей сыворотки. На 3-ий день было зарегистрировано значительное увеличение количества маммосфер по сравнению с контрольными клетками, что может свидетельствовать об увеличении субпопуляции клеток со стволовыми свойствами. По данным литературы такие изменения говорят об увеличении злокачественности раковых клеток.

Однако по результатам описанных ниже экспериментов можно утверждать, что клетки MCF-7/AS-8 становятся менее злокачественными по отношению к контрольным клеткам. Так, после 20 дней инкубации с AS-8 клетки MCF-7 в 1,68 раз становятся более чувствительными к доксорубину ($IC_{50} = 7.63 \times 10^{-7}$ М) в сравнении с контрольными клетками MCF-7 ($IC_{50} = 1.28 \times 10^{-6}$ М). Также в ходе инкубации на 3, 7, 10, 15 и 20 сутки инкубации проводили скрининг метаболической активности клеток MCF-7/AS-8 относительно контрольных клеток, не подвергавшихся действию исследуемого соединения. С 1-10 сутки инкубации с AS-8 в

клетках MCF-7 достоверно снижается уровень активности лактатдегидрогеназы, содержание лактата и АТФ при неизменяющемся уровне глюкозы и пирувата. Известно, что эффект Варбурга является отличительной чертой опухолевых клеток, а высокие уровни лактата, воздействуя на опухоль-ассоциированные фибробласты, приводят к выработке гиалуронана – благоприятной среды для миграции клеток и появлению метастазов. Результаты исследования показывают ослабление эффекта Варбурга. Кроме того, понижение уровня АТФ при сохранении жизнеспособности опухолевых клеток согласно механизму отрицательной обратной связи, может привести к активации цикла Кребса. С целью выяснения влияния AS-8 на данный процесс проверяли уровни ацетил-СоА, который начинает возрастать на 7 сутки инкубации, и уровень оксалоацетата, возрастающего на десятые сутки инкубации. На всем периоде инкубации клеток MCF-7 с AS-8 наблюдается достоверное снижение уровня активных форм кислорода.

Известно, что соотношение NADH/NAD⁺ коррелирует со степенью агрессивности опухоли, поэтому на данном этапе представлялось важным выяснить влияние AS-8 на энергетические процессы в опухолевых клетках, а именно сравнить содержание NAD⁺ и NADH как главных нуклеотидов, ответственных за redox статус клеток. Согласно результатам проведенных экспериментов, было показано отсутствие достоверных различий в содержании NADH в контрольных и подвергшихся инкубации с AS-8 клеток MCF-7. В то же время уровень NAD⁺ достоверно увеличивается на 15 сутки инкубации с AS-8, что несомненно, является подтверждением активации митохондрий опухолевых клеток. На всем периоде инкубации клеток MCF-7 с AS-8 наблюдается достоверное снижение уровня активных форм кислорода.

Таким образом, результаты проведенных исследований говорят о сдвиге метаболизма клеток рака молочной железы в сторону уменьшения их злокачественности, что представляет интерес для разработок в области химиотерапии злокачественных новообразований.

Научный руководитель: канд. биол. наук А. Г. Иксанова

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ПЛУРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК ЭМБРИОНА МЫШИ В ПРОЦЕССЕ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ ЛИНИЙ ЭСК

Л. А. Сульдина, К. Н. Морозова, А. Г. Мензоров, Е. А. Кизилова,
Е. Ю. Короткевич, А. Н. Голубица, А. И. Железова, Е. В. Киселева.
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: suldinalubov@gmail.com

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), получаемые из клеток внутренней массы (ВКМ) бластоцисты широко используются в фундаментальной биологии и медицине для воспроизводства любых типов клеток организма. Однако получение стабильных линий ЭСК не всегда удаётся. До сих пор недостаточно изученными остаются морфофункциональные изменения клеток, сопровождающие переход клеток ВКМ в ЭСК в условиях *in vitro*. Нами проведен анализ морфометрических параметров клеток ВКМ бластоцист мыши на разных стадиях их культивирования при получении стабильных линий ЭСК. В экспериментах использовались аутбредные бластоцисты 129xBALB. Новые линии ЭСК - MA13, MA14, и MA15, - получали по протоколу Брай с соавторами [1]. Были проанализированы 3 интактные бластоцисты на сроке 3.5 *dpc*, и по 3 бластоцисты на 6 день культивирования (пассаж 0) и ЭСК на втором (день 19), четвертом (день 25) и 20 пассажах. Образцы анализировали на полутонких и ультратонких срезах.

Морфометрический анализ показал, что на 0 пассаже в 1.3-2,3-раза увеличивается средняя площадь клеток и в 1.2 раза ядерно-цитоплазматическое соотношение. Около 20% клеток гибнет. Существенно изменяется строение митохондрий – в 2-4 раза увеличивается средняя площадь органелл, а количество крист на единицу площади снижается в 1,7-2,3 раза. На последующих пассажах площадь митохондрий уменьшается, а количество крист на единицу площади немного возрастает. На 0 и частично на 2 пассаже между линиями ЭСК наблюдается высокая гетерогенность по исследованным параметрам. На 4 пассаже различия между линиями практически исчезают. Клетки линии MA13 характеризуются более высокой нестабильностью по сравнению с другими линиями. Таким образом, изменение структурных параметров клеток ВКМ происходит между 0 и 6 днем культивирования. Этот процесс частично стабилизируется ко 2-му и полностью завершается к 4 пассажиу ЭСК.

Bryja V. et al/ An efficient method for the derivation of mouse embryonic stem cells // Stem Cells 2006. V. 24(4). P. 844-849.

ПОДБОР ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ISSR-АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ДНК *EQUUS CABALLUS*

А. В. Тимарова, С. В. Боронникова, Я. В. Пришнивская
Пермский государственный национальный исследовательский университет
e-mail: Lynx531@yandex.ru

Повышение эффективности контроля происхождения племенных лошадей – одна из важнейших задач коневодства. В наше время в связи с появлением большого числа частных владельцев, высокой стоимостью племенных животных, участием в соревнованиях, а также применением биотехнологических методов при воспроизводстве, необходимость надежной системы идентификации и контроля происхождения лошадей становится особенно актуальной и осуществляется, в первую очередь, с помощью молекулярно-генетического анализа.

Кровь для молекулярно-генетического анализа *Equus caballus* (L., 1758) была собрана в двух выборках из поголовий лошадей, расположенных в конных клубах “Престиж” и “Реприз” Пермского края. Тотальная ДНК выделена с использованием коммерческого набора «ПРОБА-ГС» из крови 91 животных.

В результате исследований была определена эффективность 20 ISSR-праймеров, по шкале 1-5: от низкой (1) до высокой (5). Выявлены 5 эффективных ISSR-праймеров: M3 (AC)₈CT; M27 (GA)₈C; CR-217 (GT)₆GG; X9 (ACC)₆G; X11 (AGC)₆G. Первые три из пяти ISSR-праймеров являются динуклеотидными, а два – тринуклеотидными, в зависимости от числа нуклеотидов в коровом мотиве. Каждый праймер был индивидуально анализирован с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК [2].

Использование полиморфизма межмикросателлитных локусов является одним из перспективных методов ДНК-тестирования животных и уже широко практикуется при контроле происхождения и оценке генетического разнообразия популяций.

1. Боронникова С. В., Тихомирова Н. Н., Кравченко О. А. Характеристика генофондов редкого лекарственного вида *Adonis vernalis* L. с использованием ISSR-маркеров // Аграрный вестник Урала. – 2009. – № 5 (59). – С. 67-69.

Научный руководитель: д-р биол.наук, проф. С. В. Боронникова

АКТИВАЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ РЕКОМБИНАНТНЫМ АНАЛОГОМ ЛАКТАПИНА

О. С. Троицкая, А. В. Ткаченко, О. А. Коваль

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
Новосибирский государственный университет
e-mail: troitskaya_olga@bk.ru

В последние десятилетия одной из успешных противоопухолевых стратегий, отличных от хирургического вмешательства, рассматривают стратегию «двойного действия», когда с одной стороны, противоопухолевый препарат напрямую индуцирует апоптоз и гибель большинства раковых клеток, а с другой стороны, активирует иммунную систему, клетки которой далее распознают, атакуют и уничтожают раковые клетки, слабочувствительные к химиотерапии. Ранее в лаборатории биотехнологии ИХБФМ СО РАН из молока человека был выделен белок – лактапин – протеолитический фрагмент каппа-казеина человека, вызывающий гибель раковых клеток в культуре.

Целью данной работы являлось изучение активации иммунной системы и вклада такой активации в противоопухолевое действие рекомбинантного аналога лактапина RL2.

В экспериментах *in vivo* изучено цитокин-стимулирующее действие RL2. Методом Bio-Plex проанализировано изменение уровня 23-х цитокинов в сыворотке крови лабораторных мышей, получавших инъекции RL2. Показано, что после инъекций RL2 происходит достоверное увеличение уровня цитокинов: IL-10, IL-1 β , IL-2, G-CSF, KC, MCP-1, по сравнению с контрольными животными. Исследована возможность индукции иммуногенного апоптоза аналогом лактапина. Экспозиция калретикулина на внешнюю клеточную мембрану (CRT), увеличение уровня внеклеточного АТФ и HMGB1 являются ключевыми событиями для реализации иммуногенного апоптоза. Методом проточной цитометрии показано, что при инкубации клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7, MDA-MB-231 и рабдомиосаркомы мыши MX-7 с RL2 в течение 2-4 ч происходит увеличение CRT-положительной популяции клеток, что свидетельствует в пользу экспозиции CRT на внешней плазматической мембране. Также показано увеличение уровня внеклеточного АТФ при инкубации клеток MDA-MB-231 и MX-7 с RL2 в течение 20-24 ч, что является характерным признаком иммуногенной гибели клеток. Таким образом, RL2 является потенциальным индуктором иммуногенного апоптоза.

Научный руководитель: канд. биол. наук О. А. Коваль.

ПОИСК ОПТИМАЛЬНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ТРАНСГЕНОВ В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Д. В. Тюлькина, В. В. Плешкан, Е. Д. Свердлов;
Институт биоорганической химии
имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, г. Москва
e-mail: tyulkina.dina@mail.ru

Исследованы гены *CTGF*, *JAG1*, *IGFBP2* и *CXCL12*, обладающие повышенным уровнем экспрессии в клетках стромы опухоли поджелудочной железы. Строма опухоли задействована в таких процессах как поддержание, выживание и распространение опухолевых клеток.

Уровень экспрессии данных генов в клеточных линиях PANC-1, MIA PaCa-2, AsPC-1, Calu-1 и линии фибробластов был определен методом ПЦР относительно представленности генов домашнего хозяйства 18S РНК и EEF1A1. Все исследованные гены являются низкопредставленными, их количество не превышает 10-100 копий транскриптов на клетку во всех исследованных образцах, кроме гена *CXCL12*, чьи транскрипты были детектированы только в фибробластах.

Проведено *in vitro* исследование активности промоторов выбранных генов на четырех клеточных линиях человека и культуре фибробластов человека. Промоторы генов *JAG1* и *CXCL12* практически не проявляют активности, промотор гена *IGFBP2* наиболее активен в линиях PANC-1, AsPC-1 и фибробластах, а промотор гена *CTGF* как минимум на порядок активнее остальных промоторов во всех исследованных культурах.

Данные экспериментов были проанализированы для выявления наиболее оптимального регуляторного элемента (промотора) с точки зрения эффективности и потенциальной тканеспецифичности действия. Несмотря на то, что в исследованных культурах разница в эндогенном уровне транскрипции исследованных генов составляла иногда 1-2 порядка, показатели активности соответствующих им промоторов в искусственных конструкциях обычно варьируют меньше.

Таким образом, наиболее тканеспецифичным представляется промотор гена *IGFBP2*, активность которого коррелировала с соответствующим эндогенным уровнем экспрессии гена и была наибольшей в тех клеточных линиях, где количество транскриптов максимальное и составляет около 100 копий на клетку. Промотор гена *CTGF* способен обеспечить экспрессию трансгена на более высоком уровне как в раковых, так и в прилежащих к ним стромальных клетках.

Проект поддержан грантом РФФИ 15-04-07773 А.

Научный руководитель: канд. биол. наук В. В. Плешкан.

ЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ДДТ

Д. С. Ушаков, М. В. Шашков

Новосибирский государственный педагогический университет
Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики
Институт катализа СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: d.usackov@gmail.com

Профиль экспрессии микроРНК (miRNA) меняется при развитии многих болезней человека, включая рак. Однако причины, приводящие к таким нарушениям, остаются малоисследованными. Ксенобиотики, взаимодействуя с ядерными рецепторами, могут вызывать изменение экспрессии многих генов, включая микроРНК.

Целью настоящей работы было определение экспрессии микроРНК miR-21, 221, 222, 429, 146b и генов-мишеней, вовлеченных в регуляцию пролиферации и дифференцировки клеток, в печени и мозге самок крыс при хроническом воздействии ДДТ. ДДТ вводился внутривентриально в течение трех месяцев еженедельно в дозировках 50 и 10 мг/кг. При помощи хроматомасс-спектрометрии в печени, мозге и жировой ткани определялась концентрация ДДТ. В печени крыс определялась активность белка CYP2B, как маркера воздействия ДДТ на экспрессию генов. Через 3 месяца после экспозиции ДДТ регистрировалось 20-кратное увеличение активности CYP2B, а также значительное содержание ДДТ в исследуемых органах (0,05-0,8 мг/г жировой ткани, 0,5-5 мкг/г мозга).

Уровень экспрессии онкогенной микроРНК miR-21 дозозависимо увеличивался в 2-3 раза как в печени, так и в мозге крыс. При этом не наблюдалось изменения уровня экспрессии гена *Cyclin D₁*, одного из важных маркеров клеточной пролиферации. При помощи биоинформатического анализа были определены гены, которые регулируются miR-21: *ARMCX1* и *ACAT1*. Экспрессия данных генов определялась в печени и мозге самок крыс. Наблюдалась обратная корреляция между уровнем экспрессии miR-21 и уровнем экспрессии генов *ARMCX1*, *ACAT1*, что говорит в пользу вовлечения данной микроРНК в ДДТ-индуцированную пролиферацию клеток, которая подтверждалась гистологическим анализом.

Полученные результаты говорят о важности и перспективности исследования роли микроРНК в процессах канцерогенеза.

Работа поддержана грантом РФФ № 15-15-30012

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. Л. Ф. Гуляева

**ВЛИЯНИЕ ГРАДИЕНТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ
ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И
ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У АМФИПОД *GAMMARUS LACUSTIS*
SARS ИЗ МЕРОМИКТИЧЕСКОГО ОЗ. ШИРА**

К. П. Верещагина, Ж. М. Шатилина, Д. В. Аксенов-Грибанов
Иркутский государственный университет
e-mail: k.p.vereshagina@gmail.com

Целью данного исследования являлось изучение влияния градиентной гипертермии на активность ферментов антиоксидантной системы (пероксидазы, каталазы, глутатион S-трансферазы) и лактатдегидрогеназы у палеарктического вида амфипод *Gammarus lacustris* Sars. из солонowodного оз. Шира (Хакасия).

В ходе исследования проведены эксперименты по экспозиции амфипод в условиях градиентного повышения температуры среды от контрольной (7°C) до температуры гибели 100% особей (33°C). Повышение температуры проводили со скоростью 1°C/ч.

Показано, что экспозиция амфипод в данных условиях приводила к статистически значимому снижению активности пероксидазы при достижении 17°C и лактатдегидрогеназы при достижении 9°C и до окончания эксперимента. Изменений в активности каталазы и глутатион S-трансферазы выявлено не было.

Снижение активности пероксидазы может указывать на угнетение физиологического состояния организма и развитие оксидативного стресса у амфипод. Можно предположить, что происходит увеличению концентрации перекиси в клетках и, как следствие, деградация фермента. Наблюдаемое снижение активности пероксидазы у *G. lacustris* может также осуществляться с целью сохранения энергетического гомеостаза. В пользу этого также свидетельствует и снижение активности лактатдегидрогеназы. Изменения активности пероксидазы и лактатдегидрогеназы в условиях повышения температуры среды могут способствовать повышению эффективности функционирования гликолитических процессов и поддержанию энергетического гомеостаза у амфипод.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 1354–2014/51), РНФ (14-14-00400), CRDF (FSCX-15-61168-0), РФФИ (14-04-00501, 15-04-06685), Германской службы академических обменов (DAAD).

Научный руководитель: д-р биол. наук М. А. Тимофеев

МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ НА ОСНОВЕ МИКРОРНК

Ю. А. Веряскина

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск,
e-mail: fl-31@mail.ru

Рак молочной железы (РМЖ) – злокачественное новообразование, стоящее на первом месте по частоте развития и смертности от онкологических заболеваний у женщин. Плоскоклеточные карциномы головы и шеи (ПКГШ) отличаются высокой агрессивностью и длительным бессимптомным течением. Диагностика заболеваний на ранних стадиях и оценка риска метастазирования, а также прогноза течения опухолевого процесса является приоритетной задачей современной клинической онкологии. Всё это требует поиска дополнительных молекулярно - генетических маркеров, позволяющих максимально индивидуализировать лечение онкологических больных. Открытие молекул - ингибиторов синтеза белков на посттранскрипционном уровне - микроРНК (миРНК) предоставило новые возможности в поиске специфических опухолевых маркеров. Каждый тип опухолей человека обладает уникальным набором экспрессируемых миРНК, а так же миРНК в биологических тканях больного стабильны. С целью определения различий в экспрессии миРНК в различных опухолях человека методом ОТ-ПЦР в реальном времени оценивали уровень экспрессии миРНК - 21, 221, 222, 155, 205, 20a, 125b, 146b, 200a, 181b, 126, 451 в опухолевой ткани и прилежащей условно нормально ткани у пациентов с диагнозом РМЖ и ПКГШ. В опухолевой ткани ПКГШ установлено увеличение уровня экспрессии пяти миРНК: миРНК - 21, 155, 181b, 126, 451 ($p < 0.05$) в отличие от окружающей неизменной ткани. У пациентов с диагнозом РМЖ наблюдается увеличение уровня экспрессии трёх миРНК: миРНК - 21, 155, 200a ($p < 0.05$) и уменьшение уровня экспрессии четырех миРНК: миРНК - 221, 222, 205, 125b ($p < 0.05$) в опухолевой ткани в отличие от прилежащей условно нормальной ткани. Таким образом, полученные результаты позволили сформировать уникальный профиль экспрессии миРНК для различных опухолей человека.

Научный руководитель: д-р биол. наук Н. Н. Колесников

МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОЧНЫХ И ТКАНЕВЫХ СТРУКТУР

УДК 617.764-03

СТРУКТУРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

А. Е. Григорьева¹, С. Н. Тамкович¹, А. В. Еремина²

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

² Новосибирский филиал МНТК «Микрохирургия глаза»
e-mail: a.e.grigoreva@gmail.com

Слезная жидкость (СЖ) - единственный атравматично доступный субстрат для диагностики офтальмологических заболеваний. В СЖ присутствуют экзосомы - группа внеклеточных пузырьков, имеющих высокий диагностический потенциал, и микрочастицы - компактные агрегаты макромолекул. Цель данного исследования: выделить и исследовать структурные компоненты СЖ здоровых людей и больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ).

Методом негативного контрастирования в СЖ 29 здоровых доноров и 33 больных ПОУГ исследована морфология экзосом и микрочастиц в нативных препаратах и после ультрафильтрации и двойного ультрацентрифугирования. Экзосомы (40-100 нм) имели округлую или чашеобразную форму. Оценена доля микрочастиц в образцах (17% для ПОУГ и 20% для здоровых), природа экзосом подтверждена с помощью меченных золотом моноклональных антител к тетраспанинам CD63, CD9 – основным маркерам экзосом, и CD24 – маркеру эпителиальных клеток. Специфичными для образцов больных ПОУГ являются везикулы, покрытые «оболочкой» из электронно-прозрачного материала. Образцы экзосом содержат ДНК и микроРНК.

На ультратонких срезах осадков СЖ обнаружены эпителиальные клетки и лейкоциты, волокнистый матрикс и детрит. Образцы СЖ больных ПОУГ содержали меньшее количество эпителиальных клеток, лейкоциты отсутствовали.

В работе впервые показано присутствие экзосом в СЖ больных ПОУГ и проведено сравнение их свойств с таковыми с СЖ здоровых людей. Изучены структурные компоненты СЖ и выявлены изменения ее состава при развитии ПОУГ. Таким образом, СЖ предстает как перспективный источник диагностических маркеров офтальмологических заболеваний и требует дальнейших тщательных исследований.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. Е. И. Рябчикова

ИССЛЕДОВАНИЕ МИЕЛИНОБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК ПРИ ГИПОГРАВИТАЦИОННОМ ДВИГАТЕЛЬНОМ СИНДРОМЕ

Т. В. Повышева

Казанский государственный медицинский университет
e-mail: t.povysheva@gmail.com

В условиях моделирования гипогравитации на Земле путем опорной разгрузки задних конечностей мышей C57B/6 в течение 30 суток (hindlimb unloading model, HUM) и у мышей после 30-суточного космического полета на биоспутнике по проекту БИОН М1 (полетные мыши) изучена численность популяций глиальных клеток, экспрессия их маркерных белков и структура поясничного отдела спинного мозга в различных зонах серого [вентральные рога (VH), зона вхождения задних корешков (DREZ), зона центрального канала (CC)] и белого [вентральные канатики (VF), главный кортикоспинальный тракт (CST)] вещества.

В белом веществе спинного мозга иммунофлуоресцентная реакция с антителами против маркерного белка миелина олигодендроцитов OSP была значительно слабее, чем в контроле. В VF показано уменьшение численности популяции OSP^+ олигодендроцитов. У полетных мышей, в отличие от HUM мышей, выявлено уменьшение количества $Olig2^+$ клеток как в сером (VH), так и в белом веществе (VF, CST). Количество $Olig2^+$ клеток в передних канатиках у полетных мышей в 2 раза меньше, чем у HUM мышей. Количество клеток, экспрессирующих транскрипционный фактор Krox-20, уменьшается в 2–4 раза в различных зонах серого и белого вещества, что не было выявлено ни в одной из тех же зон у HUM мышей. Количество клеток, экспрессирующих нормально присутствующий в плазмолемме перикариона олигодендроцитов маркерный белок щелевых контактов коннексин 47 (Cx47), у HUM мышей увеличивается в сером и уменьшается в белом веществе. У полетных мышей количество $Cx47^+$ олигодендроцитов в зонах VH, DREZ и VF оказалось существенно меньшим, чем у HUM мышей, только в зоне CC, что указывает на снижение уровня межклеточных коммуникаций миелинообразующих клеток спинного мозга в условиях космического полета.

Полученные данные об миелинообразующих клетках дают основание полагать, что нарушение миелинизации в спинном мозге является одним из ведущих компонентов в патогенезе гипогравитационного двигательного синдрома.

Научный руководитель: д-р мед. наук Ю. А. Челышев

ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

CADDIS FLY LARVAE COMMUNITIES (TRICHOPTERA, HYDROPSYCHIDAE) OF SALAIR RIDGE RIVERS TOPIC 2, AQUATIC HABITATS – BIODIVERSITY INTERRELATIONS - ORAL

Natalia Baturina
Novosibirsk State University
e-mail: ns_baturina5@mail.ru

The present study addresses the ecological affinities of larvae of Hydropsychidae in terms of the community structure pattern and spatial distribution of species in the rivers and brooks of Salair Ridge (Southwestern Siberia). Samples were collected at 40 stations encompassing stream orders 1-4 and an elevation about 200 m.a.s.l. Function analysis was used to examine habitat differences between the sampling stations due to the following variables: current velocity; current volume, substrate composition (by particle size); substrate heterogeneity, amount of the dissolved oxygen. The associations of these variables with the abundance (and production) of larval hydropsychids was also examined using the same statistical procedures.

For communities of Hydropsychidae 6 species were most common – *Hydropsyche angustipennis* (Curtis, 1834), *Hydropsyche pellicidula* (Curtis, 1834), *Hydropsyche bulgaromanorum* (Malicky, 1977), *Ceratopsyche nevae* (Kolenati, 1858), *Macrostemum radiatum* (MacLachlan, 1872), *Cheumatopsyche lepida*, (Pictet, 1834). Species distribution along the stream system is substantially determined by current velocity, current volume, amount of the dissolved oxygen. In areas where current velocity is about $1,1 \pm 0,1$ m/s, current volume of the flow – $0,34 \pm 0,2$ m³/s, amount of the dissolved oxygen – $10,5 \pm 2,0$ ml/l the biomass was greatest.

Analysis of species distribution due to microhabitate conditions showed differences of community structure at the upper, lower and lateral sites of substrate particles. Accordingly, at the upper site of boulder prevailed *Hydropsyche bulgaromanorum* – $92,0 \pm 2,0$ %. Larvae community structure at the lateral site consisted of *Hydropsyche pellicidula* – $44,0 \pm 3,0$ %, *Ceratopsyche nevae* and *Hydropsyche angustipennis* – $28,0 \pm 3,0$ % and $18,0 \pm 4,0$ % respectively. At the lower site of boulders dominated *Macrostemum radiatum* – $58,0 \pm 4,0$ %. There are several possible explanations of this, one of which is distribution of the species according to differences of the catching-nets construction. So, *Hydropsyche bulgaromanorum* larvae used to construct rows of catching-nets linked with each over, that leads to increasing of the construction steadiness in condition of large flow velocity at the upper site of substrate particles.

ВЛИЯНИЕ МЕСТ БЛАГОПРИЯТНЫХ ЗИМОВОК НА ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕНДРОФИЛЬНЫХ ВИДОВ ПТИЦ НА ГНЕЗДОВАНИИ

И. Г. Фролов

Новосибирский государственный университет

Плотность большой синицы в период зимовки высока и в пригородных лесах, и в городской застройке, а в период гнездования значимая плотность достигается лишь в пригородных лесах. Большая синица придерживается полесья – топоархитектуры, представленной и в некоторых районах антропогенной застройки, и в пригородных лесах. Плотность этого вида в городе постепенно возрастает с начала осени. Перемещение больших синиц зимой в районы антропогенной застройки связано, вероятно, со сменой способа питания с насекомоядного летом на всеядный зимой. Весной для синицы характерны сильные колебания плотности.

Высокая плотность пухляка наблюдается в пригородных лесах в течение всего года. Происходят кратковременные подъемы и спады плотности вида в периоды весенних и осенних миграций. Поползень и большой пёстрый дятел имеют сходную с пухляком годовую динамику плотности.

В течение года пухляк, обыкновенный поползень и большой пёстрый дятел придерживаются сомкнутого рослого древостоя. Для этих видов характерны колебания плотности во время осенних и весенних миграций. Топоархитектура является основным фактором, определяющим пространственное распределение в гнездовой и послегнездовой период, обеспечивая необходимые защитные условия местности.

Выявлена функциональная зависимость плотности вида на гнездовании от мест благоприятных зимовок. Для большой синицы зависимость плотности от удаления от мест жилой застройки носит обратный экспоненциальный характер. Иными словами, чем ближе участок располагается к населённым пунктам и городам, тем выше вероятность достижения высокой плотности большой синицы на гнездовании.

Научный руководитель: д-р биол. наук В. А. Юдкин.

**БАКТЕРИИ РОДА *ARTHROBACTER* ИЗ РАЙОНА
СОЛЕРАЗБОТОК ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ
(ПЕРМСКИЙ КРАЙ)**

О. Н. Гагарских¹, Е. С. Корсакова^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь
e-mail: gagarsckih.olga@yandex.ru

Бактерии рода *Arthrobacter* широко распространены в окружающей среде и являются типичными представителями микрофлоры почвенных экосистем. Род *Arthrobacter* включает 66 видов и входит в класс *Actinobacteridae*, порядок *Actinomycetales*, семейство *Micrococcaceae*. Известна способность артробактеров к разложению ряда природных ароматических, алифатических соединений и ксенобиотиков, поступающих в почву в результате промышленной деятельности человека.

Цель работы - характеристика бактерий рода *Arthrobacter*, выделенных из загрязненных почв и отходов калийного производства (гг. Березники, Соликамск, Пермский край).

Из рабочей коллекции микроорганизмов Лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН для проведения исследований было отобрано 19 штамма бактерии рода *Arthrobacter*. Молекулярно-генетическая и физиолого-биохимическая идентификация исследуемых бактерий показала, что штаммы рода *Arthrobacter* из района солеразработок характеризуются видовым разнообразием: 9 штаммов принадлежат группе "*Arthrobacter globiformis*", 5 штаммов отнесены к группе "*Arthrobacter protophormiae*", 4 штамма - к группам "*Arthrobacter oxydans*" (2 штамма) и "*Arthrobacter agilis*" (2 штамма). Результаты типирования (ВОХ-ПЦР) штаммов рода *Arthrobacter* выявили генетическую гетерогенность исследуемых культур. Исследуемые бактериальные штаммы способны осуществлять деструкцию алифатических, моно(поли)ароматических углеводов (нафталина, фенантрена, бензойной, салициловой кислот, других углеводов) и растут в условиях повышенной концентрации соли (60-90 г/л NaCl).

Работа поддержана грантом РФФИ-Урал №13-04-96048р_урал_a.

Научный руководитель: д-р биол. наук Е. Г. Плотникова

КАРТИНЫ МИГРАЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ГИДРОБИОНТОВ ПРИ СУТОЧНЫХ ВЕРТИКАЛЬНЫХ МИГРАЦИЯХ В ОЗ. БАЙКАЛ

Д. Ю. Карнаухов

Иркутский государственный университет

e-mail: karnauhovdmiriii@gmail.com

Явление суточных вертикальных миграций гидробионтов (СВМ) является широко распространенным. Оно отмечается во всех крупных водоемах. В озере Байкал суточная миграционная активность исследуется с помощью современной подводной видеоаппаратуры и классических гидробиологических методов. Характерными представителями ночного миграционного комплекса оз. Байкал являются донные амфиподы, пелагическая амфипода – *Macrohectopus branickii*, а также коттоидные рыбы.

По одной из гипотез считалось, что донные амфиподы поднимаются в ночное время в водную толщу для питания и защиты от хищников, но проведенные исследования опровергли данную гипотезу (Механикова, Тахтеев, 2001). Оказалось, что из-за особого строения ротового аппарата, питаться в толще воды донные амфиподы не могут, да и миграции совершают в основном неполовозрелые особи. В то же время рыбы, напротив, активно поедают амфипод, всплывающих в верхние слои воды. На основе подводных видеонаблюдений, сделанных в 2013–2015 годах и ранее, было выявлено 5 «картин» ночного миграционного комплекса: 1. МК очень беден, встречаются единичные экземпляры амфипод и рыб; 2. МК состоит в основном из амфипод, рыбы малочисленны; 3. МК состоит из амфипод, молоди рыб; 4. МК формируется из донных амфипод, рыб и многочисленного скопления макрогектопуса; 5. МК состоит из крупных скоплений полупелагических амфипод.

По результатам проведенных наблюдений и их дальнейшей обработки, отмечается, что количество донных амфипод в стоп-кадре снижается при увеличении количества рыб, и наоборот. В то же время, увеличение количества рыб никак не влияет на макрогектопуса, количество которого либо остается стабильным, либо увеличивается на протяжении всего времени съемки.

Автор благодарит за помощь в проведении видеосъемок И. А. Махова, А. С. Мишарина, И. О. Еропову.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-04-00614.

Научный руководитель: д-р биол. наук В. В. Тахтеев.

**ФАУНА НЕМАТОД РОДА *PANAGROBELUS* (PANAGROLAIMIDAE)
НА ТЕРРИТОРИИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ**

Р. В. Хусаинов

Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва
e-mail: ren_khusainov@yahoo.com

Представители рода *Panagrobelus* являются свободноживущими нематодами-бактериофагами, которые заселяют надземную часть деревьев, находящихся в различном санитарном состоянии. Данный род отличается от близкого рода *Panagrolaimus* наличием псевдогуб на головной капсуле и включает всего три валидных вида (*P. coronatus* (Fuchs, 1930) Thorne, 1939; *P. stammeri* Ruhm, 1956; *P. phloeosini* Massey, 1974). На территории России зарегистрирован всего один вид – *P. phloeosini* (Гагарин, 1992; Круглик, 2005). Не смотря на то, что изучению подобных нематод придается мало значения, панагробелусы являются типичными представителями фауны нематод-ксилобионтов в различных экосистемах наряду с нематодами рода *Laimaphelenchus* (Хусаинов, 2013).

Изучение фауны древесных нематод проводилось в 2011-2014 гг. на территории 12 регионов Европейской части России. Нематод выделяли вороночным методом по Берману. Экспозиция составляла от 24 до 72 часов в зависимости от типа субстрата и температуры в помещении. Нематод нагревали в течении 2 мин. при 55°C и фиксировали 4% раствором ТАФ.

В результате исследований выявлено четыре вида нематод рода *Panagrobelus*: *P. coronatus*, *P. phloeosini*, *P. stammeri* и *P. sp.* Все виды, за исключением *P. phloeosini*, впервые регистрируются на территории России. Наиболее широко распространенным и часто встречаемым видом являлся *P. phloeosini*. Этот вид наряду с *P. stammeri* распространен по всей территории Европейской части России. *P. coronatus* и *P. sp.* отмечены единично. Численность панагробелусов зависела от типа экосистемы. Наибольшая численность наблюдалась в естественных ценозах (леса и поймы), – от 8 до 115 особей/100см³ древесного субстрата. На урбанизированных территориях (посадки вдоль автострад, городские парки) количество нематод колебалось от 5 до 70 особей/100см³ субстрата. На живых стоячих деревьях панагробелусы обитают на поверхности коры (флеобионты), где их численность зависит от структуры ее поверхности. После утраты деревом коры нематоды переходят на поверхность оголенной древесины, также они заселяют ходы насекомых-ксилофагов (кормобионты), и продолжают обитать на гниющей древесине после гибели дерева.

**КОМПЛЕКСНЫЙ МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД В СИСТЕМАТИКЕ
РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ РОДА *ELYMUS* L.
(POACEAE: TRITICEAE)**

Е. В. Кобозева, С. В. Асбаганов

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск

E-mail: ekobozeva87@mail.ru

Задачи таксономии, как инструмента изучения природного разнообразия в систематике растений, остаются чрезвычайно актуальными, так как малообоснованные критерии классификации и, как следствие, неверное определение таксономического ранга могут привести к ошибочным заключениям. Основой естественной систематики является комплекс признаков, отражающих естественные взаимоотношения между организмами. В связи с этим, при построении системы таксонов важно отметить необходимость проведения комплексных исследований с использованием как традиционных методов систематики растений, так и современных методов экспериментальной биологии, наиболее близко отражающих филогенетические связи. При этом, применение экспериментальных методов должно быть основано на знаниях о пределах изменчивости таксона и его репродуктивных особенностях. Таким образом, использование комплекса методов позволит всесторонне изучить взаимоотношения таксонов и подтвердить или установить их статус.

Ранее нами был высказан ряд критических замечаний и предложений в отношении принципов классификации в роде *Elymus* L. и его видового состава. Без комплексного методического подхода, даже при использовании новейших методов секвенирования выборочных генов, далеко не всегда проясняются сложные отношения между филогенетически близкими видами этого рода, а односторонний уклон в традиционные или молекулярно-генетические методы приводит к противоречивым и даже весьма сомнительным выводам.

Для изучения взаимоотношений таксонов *Elymus* наряду с классическими методами (сравнительно-морфологический и эколого-географический) нами применялся критерий скрещиваемости биотипов, который прояснил многие особенности репродуктивных барьеров внутри и между видами. Использование перечисленных методов совместно с методами молекулярно-генетического анализа позволило существенно расширить представления о пределах изменчивости и микроэволюционных взаимоотношениях многих видов рода *Elymus*.

**ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ АККЛИМАЦИИ В УСЛОВИЯХ
ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕННОСТИ СРЕДЫ НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ
МЕХАНИЗМЫ СТРЕСС-РЕЗИСЕНТНОСТИ АМФИПОД
GAMMARUS LACUSTRIS SARS.**

Е. С. Кондратьева, К. П. Верещагина, Е. П. Шапова, А. Н. Гурков,
Д. С. Бедулина, М. А. Тимофеев
Иркутский государственный университет
e-mail: lizzarium@gmail.com

Целью данной работы было исследование влияния изменения температуры и солёности на некоторые механизмы стресс-резистентности палеарктических амфипод *G. lacustris*.

Для оценки влияния изменения температуры и солёности среды на активность механизмов терморезистентности, в ходе исследования определяли изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и основания Шиффа (ОШ)), белков теплового шока семейства 70, а также изменение активности ферментов антиоксидантной системы (пероксидазы, каталазы и глутатион S-трансферазы).

В исследовании показано, что происходило снижение содержания продуктов ПОЛ – ДК, ТК и ОШ у амфипод при воздействии температуры 30°C, предварительно акклимированных в пресной воде в течение месяца в составе нейтральных липидов и фосфолипидов. Воздействие температуры 30 °C на амфипод, предварительно акклимированных в воде с солёностью 15‰ в течение месяца, приводило к статистически значимому снижению содержания только ОШ в составе нейтральных липидов после 3 ч экспонирования, в то время как в составе фракции фосфолипидов при данных условиях изменений в содержании продуктов ПОЛ не наблюдали. При воздействии температуры 30°C как отдельно, так и совместно с повышенным содержанием солёности 15‰ на палеарктический вид амфипод *G. lacustris* статистически значимого изменения активности антиоксидантных ферментов и содержания БТШ70 не происходило. *G. lacustris* является палеарктическим видом, обитающий в водоёмах разного типа по температурному режиму и минерализации, что может являться причиной его высокой резистентности по отношению к температурному и солёностному стрессовым воздействиям.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 1354–2014/51; 6.382.2014/К), РФФ (14-14-00400; 110-14-601; 15-14-10008), CRDF (FSCX-15-61168-0), РФФИ (14-04-00501; 15-04-06685; 15-54-04062 (110-15-408) Бел_мол_a; 15-29-01003 офи_м).

БИОЛОГИЧЕСКАЯ МИГРАЦИЯ ЭЛЕМЕНТОВ В СТЕПЯХ: ВЗАИМОСВЯЗЬ С ВИДОМ РАСТИТЕЛЬНОСТИ И ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ ПРИУРОЧЕННОСТЬЮ ЛАНДШАФТА

И. Ю. Кудреватых

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
г. Пушкино
e-mail: averkieva25@rambler.ru

Степные ландшафты по уровню самоорганизации и устойчивости из-за небольшого уровня накопления биомассы уступают многим другим природным зонам. Образование растворимых комплексных соединений гидролизатов, обусловленное геохимическими особенностями степей, повышает доступность растениям многих элементов и приводит к последующей их аккумуляции в верхних почвенных горизонтах, что является основным фактором накопления элементов в автономных ландшафтах. Все это определяет важность учета биогенной миграции, как одно из основных факторов аккумуляции химических элементов в степях.

Важную дифференцирующую роль в поглощении и концентрировании химических элементов биогенным путем играют ландшафтно-геохимические условия (рН почв и вод, степень минерализации, химический состав почв и т.п.) и связанная с ними специализация растений по видам, родам и семействам. В качестве объектов исследования нами были выбраны 5 типов степных ландшафтов, характеризующиеся различным климатическими условиями, положением в рельефе и типом почв, но имеющие одну растительную ассоциацию – полынно-злаковую. На выбранных участках проводили опробование почв и растительности, в которых измеряли концентрацию элементов при помощи рентгенфлуоресцентного анализа, а характер биологического накопления элементов определяли с использованием биолого-почвенного коэффициента (A_x) (Перельман, 1961).

Основные выводы: 1. Коэффициент биологического накопления элементов показал сильную пространственную вариабельность, которая зависит от физико-химических свойств почв; 2. В степях максимальные концентрации элементов и A_x были выявлены для видов рода *Artemisia*; 3. Наивысшая аккумуляция элементов в ландшафтах характерна для корней полыни, а минимальная - в стеблях злаков; 4. Элементы S, Zn, K, Ca, P имеют относительное накопление во всех видах и частях растений, а для видов рода *Artemisia* $A_x > 1$ так же для Sr и Ni.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-06494.

РАЗВИТИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КОЛЬЦЕВАЯ ГНИЛЬ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

А. И. Перфильева, Е. В. Рымарева, Е. Г. Рихванов
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск
e-mail: alla.light@mail.ru

Картофель является одной из наиболее широко возделываемых культур во многих регионах России. Средняя урожайность картофеля в нашей стране ниже потенциальной продуктивности используемых сортов. На сегодняшний день широко распространены различные заболевания картофеля, большинство из которых вызываются патогенными грибами и бактериями. До половины урожая картофеля в странах Северной Европы и Канады теряется в результате заболевания кольцевая гниль картофеля, которая вызывается грамположительной бактерией - *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). Согласно данным Европейской и Средиземноморской организации защиты растений (<http://www.eppo.int>) кольцевая гниль широко распространена в европейских регионах России, хотя и не является карантинным организмом. Взаимодействие растений с патогенами является чрезвычайно важным вопросом в условиях, наблюдающегося в настоящее время, глобального потепления. Высокие температуры, сами по себе, могут привести к катастрофическим потерям урожая. Предполагается, что из-за повышения температуры на 2-3°C произойдет падение урожайности сельскохозяйственных культур в Африке, Азии, Индии и на Ближнем Востоке до 35 процентов. Повышение среднегодовой температуры на планете способно привести к распространению как самих патогенов, так и повысить эффективность их проникновения в растение-хозяина. Возникает вопрос, как потепление климата скажется на поражаемость картофеля кольцевой гнилью в России? Можно ожидать, что в связи с глобальным потеплением климата ареал обитания возбудителя будет расширяться, что приведет к распространению данного заболевания и в Восточной Сибири. В настоящее время в Иркутской области по данным карантинной службы *Cms* достаточно часто обнаруживается в образцах картофеля, но никто не изучал, развивается ли заболевание в условиях Сибири. Возбудитель *Cms* диагностируется в Иркутской области, но неизвестно приводит ли это к заболеванию.

Цель работы – изучить проявление симптомов заболевания кольцевая гниль на этапе хранения и вегетации картофеля в условиях Восточной Сибири.

В работе были использованы клубни картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Лукьяновский – восприимчивого к бактериальному фитопатогену *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). Высокоурожайный - до 700 ц/га. Крахмалистость 13-15%. Клубни овальные, белые, крупные, мякоть светло-жёлтая. Цветки белые. Отличается устойчивостью к картофельной

нематоды, мало устойчивы к вирусным болезням, фитофторозу [4]. В исследованиях были использованы два штамма *Cms*: штамм Ас1405 (мукоидный, вирулентный, получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов, г. Москва) и штамм В 66 (получен из коллекции института картофелеводства НАН Белоруссии РУП, г. Минск).

Работа представлена длительным экспериментом, включающим инфицирование клубней *Cms* двух штаммов перед закладкой на хранение (осенью), анализ влияния заражения на прорастание клубней (весной, после хранения), высаживание этих клубней в почву, наблюдение за растениями в процессе вегетации (подсчет количества побегов, измерение длины побегов, учет цветения), анализ продуктивности.

Было показано, что заражение двумя штаммами *Cms* не оказывало отрицательного эффекта на количество проростков у клубней, но замедляло их прорастание. Наблюдения за растениями картофеля в период вегетации показали, что заражение обоими штаммами патогена приводило к увеличению процента цветущих растений по сравнению с контролем. У растений зараженных штаммом Ас1405 количество побегов и их длина достоверно превышало эти показатели у контрольных растений. Заражение штаммом В66 повышало количество побегов, но не влияло на их длину. По-видимому, это свидетельствует о стимуляции роста и развития растений бактериальным заражением. Также заражение штаммом Ас 1405, приводило к некоторому повышению продуктивности, заражение штаммом В66 ее снижало. Также нами была определена структура урожая. Результаты показали, что заражение клубней возбудителем кольцевой гнили никак не влияло на данный показатель.

Таким образом, было показано, что исследуемые штаммы бактерии *Cms* подавляют прорастание клубней картофеля во время хранения, не влияя на продуктивность. Более того, заражение может стимулировать рост и развитие растений, повышая количество побегов и их длину на стадии вегетации. Отсутствие отрицательного эффекта заражения *Cms* на продуктивность может быть вызвано латентным характером заболевания [1], а также климатическими условиями Восточной Сибири, ограничивающими распространение заболевания.

Выводы.

- 1) Возбудитель кольцевой гнили подавляет прорастание клубней картофеля во время хранения;
- 2) Возбудитель кольцевой гнили стимулирует рост и развитие растений, повышая количество побегов и их длину на стадии вегетации;
- 3) Заражение картофеля патогеном не снижает продуктивность. Такой эффект заражения на продуктивность может быть объяснен латентным характером заболевания, а также климатическими условиями Восточной Сибири, ограничивающими распространение заболевания. *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 14-404107 РФФИ_Сибирь.*

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЕМЯН ПИОНОВ

А. А. Реут, Л. Н. Миронова
Ботанический сад-институт УНЦ РАН, г. Уфа
e-mail: cvetok.79@mail.ru

Согласно литературным данным, семена травянистых пионов содержат жирное масло в составе, которого выделяют глицериды олеиновой, линолевой и линоленовой кислот. Информации по химическому составу семян древовидных пионов в отечественной литературе обнаружено не было. Целью работы являлось определение химического состава семян древовидных пионов.

Объектами исследования являлись *Paeonia delavayi* Franch, *P. potaninii* Kom., *P. suffruticosa* Andr., интродуцированные в Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН.

Для химического анализа заготавливали семена в количестве не менее десяти образцов в фазу плодоношения пионов. Сырье сушили, измельчали согласно требованиям фармакопейной статьи ФС 42-531-98. Для определения химического состава образцов брали среднюю навеску материала, размер частиц усредненного исследуемого материала был в пределах от 3 до 5 мм. Количественное определение аминокислот в исследуемых объектах проводили на аминокислотном анализаторе ААА-339 (ЧССР) в стандартных условиях, используемых для разделения белковых гидролизатов.

В результате исследования аминокислотного состава семян пионов установлено наличие 14 аминокислот, 7 из которых являются незаменимыми (лизин, метионин, треонин, валин, изолейцин, лейцин, фенилаланин). Выявлено максимальное содержание таких незаменимых аминокислот как валин (в среднем 3,1%), лизин (2,94%) и лейцин (2,11%). Сумма аминокислот в исследуемых образцах в среднем составила 16,71% (в т.ч. 10,69% - незаменимых аминокислот), что является достаточно высокими показателями для растений. По суммарному содержанию аминокислот лидирующее положение занимают *P. potaninii* (18,59%) и *P. delavayi* (16,25%).

Обладая широким спектром фармакологического действия, аминокислоты придают другим веществам легкоусвояемую и безвредную форму, одновременно потенцируя их эффект. Кроме того, аминокислоты участвуют в процессах нервной, сосудистой и других видах регуляции различных функций организма.

Научный руководитель: канд. биол. наук Л. Н. Миронова

ФИЗИОЛОГИЯ

МЕТАБОТРОПНЫЙ ГЛУТАМАТНЫЙ РЕЦЕПТОР ВТОРОГО ТИПА КАК МИШЕНЬ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ КОГНИТИВНЫХ И ЛОКОМОТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ В МОДЕЛИ ШИЗОФРЕНИИ

И. И. Белоусова, А. В. Шальнов, Р. Д. Лапшин, И. В. Мухина
Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского
Нижегородская государственная медицинская академия,
ira.belousova@gmail.com

В настоящее время одной из наиболее популярных гипотез шизофрении является глутаматергическая. В основе данной гипотезы лежит предположение о том, что в основе нарушений нейромедиации при шизофрении лежит гиподисфункция глутаматных NMDA рецепторов. Основанием для возникновения данной гипотезы послужили наблюдения за эффектами антагонистов NMDA-рецепторов, таких как фенциклидин, способных вызвать поведенческие нарушения у человека, сходные с клиническими проявлениями шизофрении. Перспективным с точки зрения коррекции позитивных, негативных и когнитивных нарушений является воздействие на метаботропные глутаматные рецепторы mGluR2. Целью нашей работы было оценить влияние позитивного аллостерического модулятора mGluR2 рецепторов бифенилинданона А (BINA) на поведенческие нарушения при шизофрении. Для моделирования симптомов шизофрении использовалось введение мышам C57black селективного неконкурентного антагониста NMDA рецепторов MK801. Фиксация поведенческих изменений, проведенная в системе наблюдения, регистрации и анализа поведения лабораторных животных LABORAS (Metris, Netherlands) показала усиление локомоторного поведения мышей: увеличение пройденной дистанции, скорости перемещения, снижение количества вертикальных стоек после введения MK801. Локомоторные изменения у животных сопровождались нарушением реакции вздрагивания (startle reflex) и величины престаимпульного ингибирования (PPI), а также когнитивными нарушениями при выработке условного рефлекса пассивного избегания в установке Shuttle box (PanLab Harvard Apparatus, Испания). Внутривентрикулярное введение BINA снизило скорость перемещения, пройденную дистанцию, увеличило время неподвижности, а также восстановило у мышей величину престаимпульного ингибирования и нормализовало выработку условного рефлекса пассивного избегания.

Таким образом, стимуляция метаботропных глутаматных рецепторов mGluR2 является перспективным способом коррекции двигательных и когнитивных нарушений при шизофрении.

Научный руководитель: д-р биол.наук, проф. Мухина И.В.

ЗАВИСИМОСТЬ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В-КЛЕТОК ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА ПАНКРЕАТИЧЕСКИМ ОСТРОВКОМ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Т. С. Булавинцева

Уральский федеральный университет имени первого Президента России

Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г.Екатеринбург

e-mail: omella@yandex.ru

Исследования последних лет выявили функциональную и структурную неоднородность панкреатических островков (ПО), однако, ее роль в развитии сахарного диабета остается неизвестной. Данное исследование направлено на изучение взаимосвязи между функциональной неоднородностью ПО и пролиферацией β -клеток в норме и при патологии.

Методы. Экспериментальные животные (самцы крысы линии Wistare) были разделены на 3 группы: интактные (контрольные животные), животные с аллоксановым диабетом 30 и 60 суток. С целью оценки функциональной активности β -клеток срезы поджелудочной железы окрашивали с использованием антител к инсулину (Millipore). Пролиферирующие β -клетки выявляли путем двойного последовательного иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием антител к инсулину и Ki-67 (Millipore), вторичные антитела были мечены TexasRed и Alexa488 (Abcam) соответственно. Ядра окрашивали NucRed Dead 647 (Life tec.). Визуализация изображений осуществлялась на конфокальном микроскопе LSM710 (Carl Zeiss). Все исследованные ПО были разделены на три группы: с низкой секреторией инсулина (интенсивность флюоресценции до 20 ед.), средней (21-40 ед.) и высокой (свыше 41 ед.).

Результаты. В ходе исследования нами была выявлена секреторная и пролиферативная неоднородность ПО. Так в норме наибольшее количество ПО обладает средней интенсивностью секреции инсулина. Данный феномен не зависит от размера островков или плотности β -клеток в нем. В месте с этим островки с высокой секреторной активностью содержали наибольшее количество Ki-67⁺ β -клеток. Развитие аллоксанового диабета сопровождается снижением доли островков, с высокой секрецией гормона при этом с увеличением интенсивности секреции инсулина снижается размер островка. В месте с этим выявлено формирование двух типов ПО в зависимости от их специализации: часть островков обладают высокой секреторной активностью и часть островков на фоне низкой секреции гормона содержат большое количество пролиферирующих β -клеток.

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. Б. Г. Юшков

**ГЕНДЕР-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ОТВЕТ ПЛАЦЕНТ И
ФОРМИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА
ПОТОМКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛЕПТИНА САМКАМ МЫШЕЙ НА
12 ДЕНЬ БЕРЕМЕННОСТИ**

В. В. Кожевникова
Новосибирский государственный университет
e-mail: kozhevnikova.it@yandex.ru

Ожирение матери во время беременности сопровождается повышением уровня лептина в крови и увеличивает риск развития ожирения у потомков в зрелости, причем выраженность этих эффектов зависит от пола потомства. Полагают, что материнский лептин оказывает программирующее влияние на формирование метаболического фенотипа у потомства в постнатальной жизни. Одним из посредников действия лептина может выступать плацента, в которой была обнаружена экспрессия гена рецептора к лептину.

Целью исследования являлось изучение влияния введения лептина самкам мышей на 12 день беременности на функциональное состояние плацент, рост потомков и развитие у них алиментарного ожирения в зависимости от пола. У потомков оценивали потребление пищи, массу тела, толерантность к глюкозе, определяли пол плодов методом ПЦР и уровень мРНК генов в плаценте методом ОТ-ПЦР.

Только у мужского потомства введение лептина матерям увеличило вес тела, потребление пищи в стандартных условиях, а также повысило устойчивость к диабетогенному влиянию ожирения. Показано, что 12 день беременности у мышей характеризуется повышенной экспрессией генов инсулиноподобного фактора роста (Igf2), переносчиков глюкозы (Glut1, Glut3) и рецептора к лептину (ObRb) в плацентах плодов мужского пола и их опережающим ростом по сравнению с плацентами плодов женского пола. Введение лептина на 12 день беременности замедлило темпы роста, в большей степени, у плодов мужского пола. По-видимому, это обусловлено изменением экспрессии генов в плацентах, так как при введении лептина только в плацентах плодов мужского пола снизилась экспрессия генов Igf2, Glut1, Glut3. Зависящие от пола программирующие эффекты лептина, при его введении на 12 день беременности могут объясняться различным функциональным состоянием плацент плодов мужского и женского пола в этот период и более высокой чувствительностью плацент плодов мужского пола к действию лептина.

Научный руководитель: канд. биол. наук Е. Н. Макарова

ЛОКАЛИЗАЦИЯ КИССПЕПТИНА И ЕГО РЕЦЕПТОРА В НОРМАЛЬНОМ И ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИИ СРЕДНЕЙ СТАДИИ СЕКРЕЦИИ У ЖЕНЩИН

М. Д. Ладыгина

Санкт-Петербургский государственный университет

e-mail: marialada@mail.ru

Кисспептины являются семейством пептидных медиаторов, обеспечивающим, главным образом, оптимизацию функционирования гонадотропной оси через контроль секреции гонадотропинов. Кисспептин и его рецептор KISS1R, сопряженный с G-белком, играют ключевую роль в пубертатном развитии и фертильности[1]. Выявлена сильная экспрессия системы KISS/KISS1R в эпителиальных клетках, выстилающих просвет матки и яичники, что указывает на роль в регуляции эпителиальных функций. Отмечена их связь с активностью матриксных металлопротеиназ, пролиферацией и миграцией раковых клеток, ангиогенезом и подавлением метастазирования.

Целью данной работы является изучение локализации кисспептина и его рецептора в ткани эндометрия в норме и при гиперплазии эндометрия (ГЭ). Исследования экспрессии KISS/KISS1R в эндометрии будут полезными в изучении нарушений гормональной регуляции, для установления происхождения заболеваний, характеризующихся нарушением процессов пролиферации и апоптоза, таких как ГЭ. Иммуногистохимическим методом, с применением антител к кисспептину (1:100, Abscam), рецептору кисспептина (1:200, Abscam) и рецепторов прогестерона (1:50, Dako), были исследованы образцы эндометрия средней стадии секреции пациенток с ГЭ (n=20) и контрольной группы (n=10).

В эндометрии средней стадии секреции без патологии иммуногистохимическая реакция на антитела к кисспептину и его рецептору отсутствовала или была незначительной. В ходе данной работы было показано, что при гиперплазии эндометрия экспрессия кисспептина и рецептора к кисспептину достоверно выше в железистом компоненте по сравнению со стромальным. Установлена прямая достоверная зависимость между увеличением количества рецептора к кисспептину и рецепторов к прогестерону в стромальном компоненте эндометрия при гиперплазии.

1. Пальцев М.А. и др. Кисспептины – новое семейство регуляторных пептидов: роль в молекулярных механизмах патологии человека // Молекулярная медицина, 2014. – № 6. – С. 3–8.

Научный руководитель: канд. биол. наук А. О. Дробинцева

ВОЗБУДИМОСТЬ МОТОНЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА У КРЫСЫ

А. Д. Милицкова, Е. Ю. Кадышева
Казанский (Приволжский) федеральный университет
e-mail: fata.morgana2010@yandex.ru

Травма позвоночника с повреждением спинного мозга является одной из актуальных медико-социальных проблем, так как встречается довольно часто, определяется высокой летальностью и глубокой инвалидизацией. Известно, что при травматическом повреждении спинного мозга нарушается баланс возбуждения и торможения в мотонейронах. Целью нашей работы являлось определение характера реакции импульсирующих двигательных единиц икроножной мышцы крысы на афферентный стимул в условиях контузионной травмы спинного мозга (ТСМ).

Моделировали дозированную контузионную ТСМ на уровне Th3-Th4 по модифицированной методике Allena (1914). Эксперименты проведены с соблюдением биоэтических норм. Применяли электромиографические методы оценки импульсной активности мотонейронов спинного мозга крысы при стимуляции афферентов седалищного нерва. Производили оценку активности мотонейронов на 1, 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90 сутки после операции. На первые сутки после ТСМ происходил сдвиг фоновой частоты импульсации ДЕ в сторону повышения. Однако это изменение было связано, вероятнее всего, с наблюдаемым увеличением следовой деполяризации. На 3, 7 сутки и в хроническом периоде после ТСМ проявляли более выраженную “тормозную” реакцию, вполне соответствующую изменению фона. Число тестов, в которых была зарегистрирована высокая частота фоновой импульсации, сокращалось, однако сама частота увеличивалась. Предполагается, что причиной этого может быть повышение активности мотонейронов (последнее обнаруживается при повреждающих воздействиях).

Исследования механизмов возникновения реакций мотонейронов на афферентные воздействия в условиях травмы спинного мозга могут иметь значение при анализе двигательных расстройств и способствовать разработке новых подходов к поиску эффективных методов восстановления при двигательных нарушениях.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01746а.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доцент Т. В. Балтина

ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА И УБИХИНОНА 10 ПРИ ГИПОКСИИ

И. Д. Морозов

Нижегородский государственный университет
e-mail: morozovilya2008@rambler.ru

Среди проблем современной медицины одной из актуальных является проблема гипоксии организма. Важно не только лечение последствий, но и профилактика гипоксии [1].

Целью нашей работы было изучение эффективности применения маточного молочка и убихинона-10 при моделировании гипоксии у крыс. Критериями эффективности препаратов были выбраны показатели реакции организма – электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), активность прооксидантной системы, оцениваемой по концентрации малонового диальдегида (МДА) и спермограмма. Результаты исследования показали, что моделирование гипоксии у крыс в контрольной группе вызывает ухудшение функциональных свойств крови: снижение ЭФПЭ на 9.5% и увеличение содержания МДА через сутки, что указывает на усиление процессов ПОЛ и характеризует острую фазу стресса. Общее количество сперматозоидов в контрольной группе снижалось на 27%, что может свидетельствовать о нарушении восстановления клеток репродуктивной системы. Предварительное введение препаратов улучшало показатели крови животных, перенесших гипоксию, сопоставимо с данными интактной группы. Животные опытных групп легче переносили гипоксию, первый агональный вдох наступал в среднем на 3 минуты позже, чем у контрольной группы. ЭФПЭ после моделирования гипоксии в опытных группах была на уровне интактной. В группе получавшей оба препарата наблюдались наименьшие изменения, так показатели МДА и ЭФПЭ были на уровне интактной группы или выше. Показатели спермограммы превышали уровень интактной группы на 15% и 45% соответственно.

Следовательно, показано положительное влияние маточного молочка, убихинона-10, как средств профилактики гипоксических повреждений, а их совместное применение является наиболее эффективным.

1. Крылов В.Н., Сокольский С.С. Маточное молочко пчел. Свойства, получение, применение: Научно-справочное издание. Краснодар: «Агропромполиграфист», 2000. 212с.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. В.Н. Крылов

ВЛИЯНИЕ ШУМОВОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Прямвада, Бхатия Симран
Тверской государственной медицинской университет
e-mail: biologistgma@mail.ru

Обязательным фактором для правильного понимания и решения задач в процессе мышления является внимание. На качество внимания влияют различные факторы, в том числе шумовое загрязнение, к которому относятся и сигналы мобильных телефонов, отвлекающие от работы не только обладателя телефона, но и окружающих его людей. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния шумового загрязнения на произвольное внимание.

В исследовании участвовали 27 русскоговорящих и 29 иностранных студентов. Концентрацию, устойчивость, избирательность, распределение и переключение внимания изучали с помощью общепринятых методов. Проведено два исследования с интервалом в одну неделю. I эксперимент проводился в условиях относительной тишины, в ходе II эксперимента внезапно включался сигнал мобильного телефона разной характеристики. В группах иностранных студентов звучала легкая музыка. Для одной группы русскоговорящих студентов был выбран сигнал в виде резких звуков, для другой – тяжелый рок.

Тестирование избирательности внимания показало снижение процента студентов с отличными характеристиками с 41% в I эксперименте до 16% в группе «резкий звук» и до 30% в группе «тяжелый рок». Под действием тяжелого рока процент студентов с отличными характеристиками концентрации внимания снизился с 40% до 0%, одновременно с 0% до 62% увеличилось число студентов с плохой концентрацией внимания. На распределение и переключение внимания особенно негативно влиял резкий звук, при включении которого процент студентов с отличными характеристиками уменьшился вчетверо. При включении легкой музыки характеристики внимания существенно не изменялись.

Таким образом, на степень проявления основных характеристик внимания влияет шумовое загрязнение. Агрессивная музыка и резкие звуки особенно негативно действуют на все характеристики внимания. Легкая музыка в меньшей мере влияет на свойства внимания.

Научные руководители: канд. мед. наук, доцент Н. В. Павлова,
М. А. Петровская

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ ФОРМИРОВАНИЯ ГИПЕРТЕНЗИВНОГО СТАТУСА У КРЫС ЛИНИИ НИСАГ

А. А. Серяпина, О. Б. Шевелев

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

e-mail: seryapina@bionet.nsc.ru

Протонная магнитно-резонансная спектроскопия (^1H -МРС) является высокоэффективной неинвазивной методикой, позволяющей получить представление о химическом составе исследуемых тканей. Изменения в метаболизме мозга наблюдаются при ишемическом инсульте, развитии опухолей и прочих патологиях. Нарушения в обмене веществ начинаются еще до клинических проявлений болезни, поэтому МР-спектроскопия позволяет диагностировать заболевания на самых ранних этапах развития.

В данной работе объектом исследования были крысы линии НИСАГ, селекционированные в ИЦиГ СО РАН на повышение АД в ответ на мягкий эмоциональный стресс. Целью работы было сопоставление метаболических характеристик головного мозга с формированием гипертензивного статуса у крыс НИСАГ в возрасте 1 мес. Исследование проводилось на базе ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI61914X0010).

Анализ данных, полученных в результате пространственно-локализованной одновоксельной МР-спектроскопии головного мозга, выявил существенные различия в распределении метаболитов в коре головного мозга и гипоталамусе между двумя группами 4-недельных самцов крыс НИСАГ: у крыс первой группы АД еще находилось в пределах нормы, у второй группы уже установился гипертензивный статус. У гипертензивных крыс НИСАГ наблюдалось смещение соотношения возбуждающих (аспартат, глутамат+глутамин) и тормозных (ГАМК, глицин) метаболитов в сторону возбуждающих. Кроме того, у крыс НИСАГ с повышением АД также увеличивалась доля креатина и фосфокреатина, отражающих интенсивность энергетических процессов в астроцитах и нейронах.

Таким образом, применение метода МР-спектроскопии позволило выявить ранние изменения метаболизма головного мозга, сопутствующие развитию артериальной гипертензии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 14-15-00118.

Научные руководители: д-р биол. наук, проф. А. Л. Маркель,
д-р биол. наук, проф. М. П. Мошкин

ВЛИЯНИЕ ИММУНОКОРРЕКЦИИ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ХРУСТАЛИКА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

С. Е. Смирных

Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург
e-mail: s.smirnyh@yandex.ru

Помутнение хрусталика и катаракта, развивающиеся вследствие нарушения углеводного обмена при сахарном диабете, являются одной из основных причин снижения и потери зрения. Поэтому в настоящее время ведется поиск новых средств, которые смогут остановить или замедлить патологические изменения хрусталика при сахарном диабете.

В связи с этим, целью настоящей работы является изучение влияния дериватов аминокеталгидразида на структуру хрусталика при экспериментальном сахарном диабете I типа.

Материалы и методы. Исследование проведено на 40 беспородных крысах-самцах, разделенных на 4 группы по 10 животных: интактные животные, животные с сахарным диабетом сроком 30 и 60 дней (моделировали путем введения раствора аллоксана), животные с иммунокоррекцией (вводили раствор дериватов аминокеталгидразида – иммуномодулятора, влияющего на активность макрофагов). Парафиновые срезы глаз животных окрашивали гематоксилином и эозином, а также гематоксиллин-пикрофуксином по методу Вейгерта и Ван-Гизона.

Результаты. В хрусталиках с сахарным диабетом длительностью 30 и 60 суток капсула утолщена, в эпителии виден перичеселлюлярный отек. Под капсулой определяется обширная зона с волокнами, содержащими коллаген. К 60-м суткам эксперимента в области экватора появляется многоядность эпителия, а в ядрах молодых клеток развивается вакуолизация.

На фоне иммунокоррекции отмечают восстановление структуры капсулы, эпителия и молодых клеток, однако под капсулой сохраняется увеличенная зона коллагенсодержащих волокон.

Выводы.

Введение дериватов аминокеталгидразида способствует восстановлению структуры хрусталика глаза за счет выделения макрофагами регуляторных факторов, оказывающих положительное влияние на процессы регенерации.

Научные руководители: д-р биол. наук И. Г. Данилова, д-р мед. наук, проф. М. В. Черешнева.

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ И БЛОКАДЫ β -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ

А. В. Трясучев, В. О. Ступин, К. И. Зиновьева, Е. В. Курьянова
Астраханский государственный университет
e-mail: tryandval@mail.ru

В настоящий момент данные о влиянии стимуляции и блокады адренорецепторов на интенсивность гемолиза эритроцитов весьма немногочисленны. В связи с этим, цель работы – оценить эффекты адреналина и β -блокатора анаприлина на осмотический, спонтанный и перекисный гемолиз эритроцитов самцов и самок нелинейных крыс. Осмотический и перекисный гемолиз моделировали по известным методикам (Стрюк и Длусская, 2003; Эмирбеков и соавт., 2001) с добавлением в среду инкубации адреналина ($4 \cdot 10^{-6}$ г/мл) и β -блокатора ($2,83 \cdot 10^{-4}$ г/мл). Статистическую обработку проводили в программе Statistica 8.0.

Адреналин снижал степень осмотического гемолиза примерно на 20 %, а β -блокатор – на 44-65 % ($p < 0,01$), причем в большей степени у самок ($p < 0,001$). В присутствии адреналина степень повышения перекисного и спонтанного гемолиза по сравнению с контролем составила 5-9 % ($p < 0,05$ – $p < 0,001$). β -блокатор, напротив, снизил уровень обоих видов гемолиза, оказав при этом большее тормозное влияние на перекисный гемолиз (- 10-12 % от контроля, $p < 0,001$) в сравнении со спонтанным гемолизом (- 5-8 % от контроля, $p < 0,05$). Гендерные особенности в эффектах адреналина и β -блокатора в отношении спонтанного и перекисного гемолиза не проявились.

Таким образом, адреналин оказывает на осмотический и перекисный гемолиз разнонаправленное действие, снижая осмотический и усиливая перекисный гемолиз. β -блокатор снижает степень всех видов гемолиза, в особенности осмотического. Особенности эффектов адреналина и β -блокатора на осмотический и перекисный гемолиз, вероятно, определяются механизмами развития этих видов гемолизом и ролью в этих процессах белков цитоскелета и липидного бислоя мембран эритроцитов.

Научный руководитель: д-р биол. наук, доцент Е.В. Курьянова

ВЛИЯНИЕ АМИДА ЛАМБЕРТИАНОВОЙ КИСЛОТЫ НА БАЛАНС ТОРМОЗНЫХ И ВОЗБУЖДАЮЩИХ МЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ГИППОКАМПА МЫШИ

С. О. Вечкапова, Е. Д. Сорокоумов, А. Л. Проскура,
Т. А. Запара, А. С. Ратушняк

Конструкторско-технологический институт вычислительной техники
СО РАН, г. Новосибирск
e-mail: svetavech@yandex.ru

Для нормального функционирования ЦНС необходим баланс между возбуждающими и тормозными медиаторными системами. Нарушение этого баланса может приводить к целому ряду отклонений. Считается, что наиболее распространённые нейродегенеративных заболевания, такие как болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона, рассеянный склероз, эпилепсия, ишемические поражения мозга, хотя и вызваны различными механизмами, но могут совместно использовать общий путь – гиперактивацию ионотропных глутаматных рецепторов, особенно NMDA-подтипа.

В нашей работе эпилептиформную активность на переживающих срезах гиппокампов мышей линии ICR вызвали либо снятием магниевого блока с NMDA-рецепторного комплекса, либо блокадой хлорного канала ГАМКа-рецептора коразолом. Добавление в физиологический раствор амида ламбертиановой кислоты (АмЛК) способствовало нормализации активности пирамидных нейронов поля CA1. Инкубация срезов в нормальном растворе с АмЛК не препятствовала развитию NMDA-зависимой синаптической потенциации. Превентивная обработка срезов АмЛК существенно замедляла развитие эпилептиформной активности при помещении срезов в эпилептогенную среду, либо полностью предотвращала её возникновение.

В этих же условиях эффекты АмЛК сравнивали с эффектами мемантина – хорошо известного неконкурентного низкоаффинного антагониста NMDA-рецепторов, применяемого в терапии нейродегенеративных заболеваний. Сходство эффектов АмЛК и мемантина позволяет предположить, что, возможно, мишенью АмЛК является NMDA-рецепторный комплекс.

Работа выполнена при поддержке базового проекта фундаментальных исследований РАН № IV 35.1.5, ФНМ-2012-46.

Научный руководитель: д-р биол. наук А. С. Ратушняк.

ШКОЛЬНАЯ СЕКЦИЯ

УДК 00.54

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ЭКСПЕРТИЗА ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

М. А. Кадуцкая
Средняя школа № 19, г. Тверь
e-mail: ninochka025@mail.ru

1. Методики проведения экспериментов

1.1 Органолептические методы анализа

В данной работе для продуктов детского питания на молочной основе определяли консистенцию, цвет, вкус и запах. Для исследований наливали небольшой объем образца (около 30 мл) в стакан и проводили необходимые манипуляции.

1.2 Физико-химические методы анализа

Для измерений влажности металлическую бюксу с 23 ± 2 г песка, высушивали в сушильном шкафу при температуре 102 ± 2 °С в течение 30-40 минут. Бюксу закрывали крышкой, охлаждали в эксикаторе 40 минут и взвешивали. В подготовленную бюксу взвешивали $10,0 \pm 0,1$ г жидкого или $5,0 \pm 0,1$ г пастообразного продукта, закрывали ее крышкой и взвешивали. Далее содержимое бюксы тщательно перемешивали стеклянной палочкой и открытую бюксу нагревали на водяной бане до получения рассыпающейся массы. Затем открытую бюксу помещали в сушильный шкаф с температурой 102 ± 2 °С. Через 2,5 часа бюксу вынимали, закрывали крышкой, охлаждали в эксикаторе 40 минут и взвешивали. Каждое последующее высушивание проводили через 1 час. Высушивание, охлаждение и взвешивание проводили до получения разницы в показаниях весов не более 0,005 г.

Количество металлов в образцах определялось методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

Для анализа на определение активной кислотности использовался потенциометрический анализатор (рН-метр). В химический стакан вместимостью 50 или 100 мл наливали 40 ± 5 мл продукта и погружали в него электроды, при этом электроды не должны касаться стенок и дна стакана. Для быстрого установления показаний прибора измерение проводили при непрерывном перемешивании образца на магнитной мешалке. Показания с прибора снимали через 5 секунд после установления постоянного значения. В промежутках между измерениями электроды помещали в стакан с дистиллированной водой.

Для определения титруемой кислотности в колбу вместимостью 100 или 250 мл вносили пипеткой 10 мл исследуемого продукта и 20 мл дистиллированной воды, затем добавляли 3 капли фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивали и титровали раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,1 моль/л до появления не исчезающей слабо-розовой окраски.

2. Результаты экспериментов

Эксперименты показали, что все органолептические показатели образцов соответствуют требованиям нормативных документов.

По влажности также все образцы соответствуют требованиям, приведенным в ГОСТ 30625-98.

Значения показателей содержания полезных и токсичных металлов в исследуемых образцах также полностью соответствует требованиям ГОСТ 30625-98, ТР ТС 021/2011 и ТР ТС 027/2012.

У 3 образцов (йогурт «Агуша-2, продукт кисломолочный «Биолакт» и творог «Крепыш») титруемая кислотность не соответствует требованиям нормативных документов. Это может быть связано как с нарушением технологии производства продукции, так и с нарушением условий транспортирования и хранения. Таким образом, эти 3 образца употреблять в пищу нельзя.

В процессе написания работы была выполнена основная цель - изучение химического состава и проведение экспертизы качества и безопасности продуктов детского питания, даны рекомендации по их использованию.

Научные руководители: Л. В. Михеева, Н. В. Дубинина

МЕДОВАЯ ТРАВА (*STEVIA REBAUDIANA*) И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЁ ВЫРАЩИВАНИЯ В КОМНАТНЫХ УСЛОВИЯХ

В. Р. Малеванник, Т. В. Максимова
Химический лицей, г. Тула
e-mail: mtv_71@mail.ru

Stevia rebaudiana (Bertoni) или медовая трава – это многолетнее растение семейства астровых (*Asteraceae*), произрастающее в Южной Америке. Растение уникально выработкой разнообразных гликозидов, полезных для человека, в том числе стевиозида, который в 300 раз слаще сахара.

Мы поставили цель вырастить это полезное растение в условиях школьного кабинета биологии, добиться не только роста, но и устойчивого размножения. Для работы в Интернет-магазине было куплено 50 г. семян стевии. Мы выселили их на три фарфоровые пластины с сотней ячеек каждая, и поместили в лоток с водой. Проростки появились через 7 дней, но были маленькими и слабыми, что связано с небольшим размером семян – около 1 мм. Всхожесть, оказалась всего 8% вместо 15%, обещанных производителями семян. Растения выращивались на окне, выходящем на юго-восток, в условиях умеренной влажности при температуре около 25 градусов, и периодическом опрыскивании. В течение первого года развитие происходило очень медленно, стебли сильно вытягивались и плохо ветвились. Через два года стевия, превратилась в обширный куст и стала активно цвести. Мы опылили цветки кисточкой, и завязались семена. Через месяц после начала цветения провели обрезку куста для формирования кроны. Был собран урожай листьев, а так же получены семена для дальнейшего размножения. Выяснилось, что листья достигают максимальной сладости и приобретают характерный аромат в период цветения, причем лучшие вкусовые качества наблюдаются при использовании свежих листьев, а не сушеных. Прекрасные результаты дало вегетативное размножение. Оказалось, что стеблевые черенки хорошо укореняются и при этом быстрее получают продуктивные кусты.

Стевиозин - не только сахарозаменитель, необходимый при сахарном диабете и ожирении, доказана его польза при гипертонии и некоторых воспалительных процессах. В Японии, признанном мировом лидере по продолжительности жизни, ежегодно потребляются тысячи тонн стевии. Своей работой мы хотели привлечь внимание к ценному растению, опробовать методику выращивания стевии в России и пропагандировать ее использование.

Научный руководитель: Т. В. Максимова

**ВЫЯСНЕНИЕ ХАРАКТЕРА НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ
"БЕЛЫЕ ГЛАЗА" И "ЗАГНУТЫЕ КРЫЛЬЯ" У ПЛОДОВОЙ
МУШКИ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Е. В. Малюгин
Школа № 23, г. Новосибирск
E-mail: dajeri@mail.ru

Выяснение характера наследования признаков – актуальная проблема в различных областях биологии, от генной инженерии до изучения моногенных заболеваний человека. *Drosophila melanogaster* (чернобрюхая дрозофила) – двукрылое насекомое, наиболее часто использующееся в генетических экспериментах (во второй половине XX века *D. melanogaster* стала одним из основных модельных организмов).

Целью работы является определение характера наследования признаков «белые глаза» и «загнутые крылья» у *D. melanogaster*.

Для работы использовались две линии мух: линия с красными глазами и прямыми крыльями, линия с белыми глазами и загнутыми крыльями. Для определения характера наследования данных признаков было проведено скрещивание родительских линий (скрещивание 1) для получения потомков первого поколения (F1) и скрещивание мух F1 (скрещивание 2) для получения потомков второго поколения (F2).

В результате скрещивания красноглазых самок с прямыми крыльями с белоглазыми самцами с загнутыми крыльями все потомки (34 мухи) обладали красными глазами и прямыми крыльями, что говорит о полной доминантности этих признаков. Однако в результате скрещивания белоглазых самок с загнутыми крыльями с красноглазыми самцами с прямыми крыльями в F1 наблюдалось расщепление по полу: самки (23 особи, 55%) обладали красными глазами и прямыми крыльями, в то время как самцы (19 особей, 45%) обладали белыми глазами и прямыми крыльями. Это расщепление говорит о том, что ген, отвечающий за форму крыльев, расположен в аутосоме, а ген, отвечающий за окраску глаз, расположен в половой X хромосоме. Расщепление по фенотипу в результате скрещивания 2 подтвердило эти выводы.

Таким образом, признаки «красные глаза» и «прямые крылья» являются доминантными; ген, отвечающий за форму крыльев, расположен в аутосоме, а ген, отвечающий за окраску глаз, расположен в половой X хромосоме.

Научный руководитель: Е. А. Рудницкая

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

М. Н. Мажаев

Школа № 23, г. Новосибирск
e-mail: matvey_1999q@mail.ru

Самыми распространёнными и разнообразными организмами на Земле являются бактерии. Они обнаружены в почве, в воде, в воздухе и внутри других организмов. Некоторые бактерии наносят вред сельскохозяйственной деятельности или здоровью человека. Против этих бактерий была создана группа веществ, названная антибиотиками. Их действие основано либо на уничтожении микроорганизма, либо на замедлении его роста. Однако благодаря быстрой эволюции бактерий появляются штаммы, устойчивые к антибиотикам.

Целью работы явилось определение наличия бактерий в проточной воде, смыве с рук и выдыхаемом воздухе больного человека и их устойчивости к антибиотикам.

Для исследования устойчивости бактерий к антибиотикам использовали ампициллин (подавляет образование клеточной стенки) и тетрациклин (подавляет синтез белка). На чашки Петри с твёрдой агаризированной питательной средой без антибиотика, с ампициллином или с тетрациклином наносили проточную воду, смыв с рук, а также выдыхаемый воздух больного человека.

Результаты работы показали, что на чашках Петри с проточной водой, со смывом с рук и с выдыхаемым воздухом без антибиотика первые колонии бактерий появились через 25 часов после засева. На чашках Петри со смывом с рук и с выдыхаемым воздухом больного человека образовалось несколько десятков колоний бактерий, на чашке Петри с проточной водой – 3 колонии. Колонии бактерий, развившиеся на чашке Петри со смывом с рук, отличались большим разнообразием по структуре и цвету от колоний, развившихся на чашках Петри с проточной водой и с выдыхаемым воздухом больного человека. На чашках Петри с ампициллином и тетрациклином колонии бактерий не развивались.

Таким образом, бактерии были обнаружены в проточной воде, смыве с рук и выдыхаемом воздухе больного человека; обнаруженные бактерии не обладали устойчивостью к ампициллину и тетрациклину.

Научный руководитель: Е. А. Рудницкая

ИЗУЧЕНИЕ ЯДОВИТЫХ РАСТЕНИЙ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

И. Е. Обрящиков
Химический лицей, г. Тула
e-mail: oel13@mail.ru

Разнообразен и богат растительный мир Тульской области, в нем насчитывается почти полторы тысячи видов сосудистых растений. Важно уметь точно распознать нужное растение в природе, знать свойства и признаки не только лекарственных, но и ядовитых видов.

Устойчивое развитие общества предполагает не только разумную эксплуатацию природных ресурсов, но и изменение сознания членов общества по отношению к экологическим проблемам, воспитание личности, способной жить в гармонии с окружающим миром. В современных сложных условиях нестабильной экономической обстановки и ухудшения состояния природных экосистем особое значение приобретает систематический мониторинг как окружающей среды в целом, так и отдельных ее компонентов.

Целью нашей работы было изучение видового разнообразия ядовитых растений Тульской области и информирование населения с целью профилактики случаев отравления. Экспедиционно-полевые работы по изучению видового разнообразия ядовитых сосудистых растений, произрастающих в Тульской области, проводились на территории Венёвского, Ленинского, Заокского, Ефремовского, Алексинского, Новомосковского, Суворовского, Щекинского, Белевского, Арсеньевского, Плавского, Богородицкого, Чернского, Тепло-огаревского, Каменского, Куркинского, Одоевского, Кимовского и Воловского районов области в период с мая 2014 по октябрь 2015. Значительная часть материала была собрана во время полевых практик в долине реки Осетр.

При проведении рекогносцировочного обследования зеленой зоны с фотосъемкой, сделано более 260 фотоснимков ядовитых растений, полученные данные проанализированы с использованием специальной научной литературы. Выявлено и определено 23 вида ядовитых сосудистых растений, принадлежащих 2 классам и 9 семействам. Шестнадцать из них были изучены подробно, с указанием действующих ядовитых веществ и необходимой первой помощи при отравлении. Данные были систематизированы и опубликованы в сети Интернет на сайте <http://distant.tepi.ru> в разделе «Растения Тульской области», для информирования жителей области.

Научный руководитель: Т. В. Максимова

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СЛАБОГО ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ТРЕВОЖНОСТЬ КРЫС

В. В. Тамаровский
Школа № 23, г. Новосибирск
e-mail: Toromyga@yandex.ru

Стресс – неспецифическая реакция организма на предъявляемые к нему требования. Стресс может быть вызван физическими и психическими факторами. Слабый физический стресс стимулирует адаптивные системы организма, в то время как даже слабый эмоциональный стресс приводит к их истощению. Целью настоящей работы явилась оценка поведения крыс (исследовательской активности и уровня тревожности) в условиях слабого эмоционального стресса (шум, включённый свет и возможность видеть экспериментатора).

Работа проводилась на 2-месячных крысах-самцах линии Вистар. Для оценки двигательной и исследовательской активности животных использовался тест «Открытое поле» (ОП), для оценки уровня тревожности – тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ).

Подвергнутые действию стрессора крысы демонстрировали повышенную тревожность: животные провели меньше времени в открытых рукавах ПКЛ, были в них менее активны и совершили меньшее количество выглядываний из закрытых рукавов, реже выходили в центр ОП, а также совершили в 3 раза большее количество актов груминга в обоих тестах по сравнению с животными из контрольной группы. Двигательная активность подвергнутых действию стрессора крыс была понижена в ПКЛ (меньшее количество входов в закрытые рукава и количество пересечённых в них квадратов), но повышена в ОП (большее количество пересечённых квадратов) по сравнению с контрольными животными. Возможно, повышенная двигательная активность в ОП является результатом активации симпатической нервной системы. Исследовательская активность (количество совершённых вертикальных стоек) не различалась у крыс из обеих групп. Подвергнутые действию стрессора животные совершили меньшее количество дефекаций в обоих тестах, что может свидетельствовать о пониженной эмоциональности.

Результаты нашего исследования показали, что слабый эмоциональный стресс повышает тревожность животных, но не влияет на исследовательскую активность, а его влияние на двигательную активность зависит от использованного теста.

Научный руководитель: Е. А. Рудницкая

НЕВИДИМАЯ ЖИЗНЬ ВОКРУГ НАС

Н. С. Тарасевич
Химический лицей, г. Тула
e-mail: vsokovets@gmail.com

Цель: изучить микроскопических обитателей пресных водоемов, посмотреть, какая невидимая глазу жизнь окружает каждого из нас.

Нами были отобраны пробы воды из природного водоема. Для этого был выбран пруд села Дорофеево (Ленинский район, Тульская область), координаты пруда: 54°17'10.6"N 37°47'59.7"E. Кроме того, мы отобрали пробы в аквариумах кабинета биологии.

В процессе работы нами было приготовлено и изучено более 70 препаратов из природных водоемов и 20 – из искусственных. Оказалось, что состав микроскопических обитателей во многом сходен.

С помощью светового микроскопа марки «Биомед-4» (тринокуляр) мы изучили приготовленные препараты, использовали устройство видеозахвата ToprCam UCMOS 8 MP для фото- и видеосъемки, осуществили управление устройством видеозахвата с помощью программы ToprView (версия 3.7), обработали фото- и видеоизображения с помощью программ KMPlayer (версия 2.9) и Windows Movie Maker (версия 2012). Для определения микроскопических организмов использовали научную литературу, в том числе определители, а также осуществляли поиск информации в Интернете.

Во время наблюдения за водными обитателями мы обнаружили 34 вида различных одноклеточных и многоклеточных животных. Нами были выделены микроскопические представители следующих типов: Саркомастигофоры (*Sarcomastigophora*), Инфузории (*Ciliophora*), Плоские черви (*Plathelminthes*, или *Platodes*), Круглые черви (*Nemathelminthes*), Кольчатые черви (*Annelida*), Членистоногие (*Arthropoda*). При определении простейших мы опирались на классификацию, предложенную в книге В. А. Догеля «Зоология беспозвоночных».

Нам удалось зафиксировать следующие процессы: передвижение, питание при помощи фагоцитоза у одноклеточных и при помощи пищеварительной системы у многоклеточных, размножение – бесполое путем митотического деления клетки и половой процесс (конъюгация у инфузорий), наличие покоящихся стадий – цист, выведение воды при помощи сократительных вакуолей.

Научный руководитель: Т. В. Максимова

ОГЛАВЛЕНИЕ

БИОМЕДИЦИНА	5
И. В. Алексееенко, Е. Д. Свердлов	5
И. В. Азаркин, Р. Х. Зиганшин, Г. П. Арапиди, С. И. Ковальчук, О. М. Иванова, В. О. Шендер, Н. А. Аниканов, В. М. Говорун, В. Т. Иванов	6
М. Э. Балтин, Н. Ф. Ахметов	7
И. В. Быкова, О. О. Зайцева, Я. А. Цепилов, А. И. Закабунин, Е. А. Храпов	8
Э. А. Даминова	9
Г. С. Демжанова, Т. Д. Укбаева	10
Ю. Б. Дорофеева, И. В. Салтыкова, В. А. Петров, С. В. Федосенко, Л. М. Огородова, А. С. Попенко, А. В. Тяхт, Н. А. Кириллова, Е. С. Куликов, И. А. Деев, В. М. Говорун, Е. С. Кострюкова	11
М. В. Кузнецов, А. О. Федянин, М. А. Чеботарев	12
И. М. Голомидов, П. А. Мелентьев	13
К. В. Горячева, В. В. Кейно, А. А. Шунк, И. В. Смирнов	14
А. Д. Пешкова	15
А. Л. Попов, А. С. Смирнов, Н. Р. Попова, И. И. Селезнева, В. К. Иванов	16
Н. А. Щелчкова, Р. М. Майоров, А. С. Куракина, М. В. Ведунова	17
О. Г. Шитикова	18
Е. Э. Слепнева, А. Д. Слободина	19
В. В. Тимошенко	20
К. Р. Валетдинова, С. П. Медведев, С. М. Закиян	21
А. Ю. Юнусова	22
Е. Н. Заполоцкий, С. П. Бабайлов	23
БИОТЕХНОЛОГИЯ.....	24
К. М. Черемных, Н. А. Лучникова	24
Т. М. Новикова, Р. П. Тренкеншу	25
Е. А. Рогожин, Д. Ю. Рязанцев	26
М. С. Третьякова, Л. А. Беловежец, Ю. А. Маркова	27
БИОФИЗИКА	28
Е. С. Чернышова	28
Д. Н. Чернова	29
И. В. Хало, Д. И. Строкотов, А. В. Чернышев, В. П. Мальцев	30
А. И. Конохова	31
А. Н. Красулина, В. Ф. Кузин	32

В. Ф. Кузин, А. Н. Красулина.....	33
Д. А. Кузнецов, О. Н. Лукин.....	34
А. Л. Литвиненко.....	35
А. F. Munzarova, L. V. Omelyanchuk.....	36
А. А. Польщичин.....	37
Д. А. Решетников, Г. А. Рысцов, А. С. Чернов.....	38
И. А. Сидоренко.....	39

БИОХИМИЯ.....40

Е. Е. Буркова.....	40
L. A. Davydova , N. M. Sanina, S. I. Bakholdina , P. V. Velansky , O. D. Novikova, O. U. Pornyagina.....	41
Е. А. Ермаков, Ф. Ф. Микелев.....	42
В. В. Ершкова.....	43
В. М. Ларченков, А. Х. Ахмед, Ж. А. Целуйко, М. И. Фалалеева, А. Т. Епринцев.....	44
Н.В. Лукьянчикова.....	45
В. А. Мумятова, А. А. Балакина, А. А. Терентьев.....	46
А. С. Назаров.....	47
Д. С. Орлов, Н. В. Рязанцева, Е. А. Степовая, О. Л. Носарева, В. В. Иванов, Е. В. Шахристова.....	48
Е. В. Рощина.....	49
Е. В. Шахристова, Р. И. Чильчигашев, О. Л. Носарева, Е. А. Степовая.....	50
О. С. Синенко.....	51
Е. Д. Сормачева.....	52
А. С. Тугбаева, Ю. А. Ковалицкая, К. А. Шестибратов.....	53

ГЕНЕТИКА, БИОИНЖЕНЕРИЯ, БИОИНФОРМАТИКА54

О. Н. Антосюк.....	54
А. Ю. Черненко, Д. В. Федоров, Т. А. Евстохина, Т. Н. Кожина, В. Т. Пешехонов, В. Г. Королев.....	55
А. В. Евдокимов, А. Л. Бурмистрова, Д. С. Сташкевич, Ю. Ю. Филиппова.....	56
Я. Гон.....	57
Р. А. Хазигалеева , И. А. Фесенко , Г. П. Арапиди , С. И. Ковальчук , К. А. Бабалян , К. С. Ануфриева , В. М. Говорун , В. Т. Иванов.....	59
А. М. Хусаинов.....	60
И. Г. Кичигин, А. И. Макунин.....	61
О. О. Латыева, А. К. Шуряева.....	62
А. Г. Мензоров', Н. М. Матвеева, А. А. Хабарова, Е. А. Кизилова', И. Е. Пристяжнюк, А. И. Железова, О. Л. Серов'.....	63
И. В. Салтыкова, В. А. Петров, М. Д. Логачева, П. Г. Иванова, Л. М. Огородова, Н. В. Мерзликин, П. Дж. Бриндли, А. Э. Сазонов.....	64

М. А. Побединцева, А. И. Кулемзина, Н. В. Воробьева, Н. А. Сердюкова, С. А. Романенко, А. И. Макунин, А. С. Графодатский, В. А. Трифионов	65
Ю. К. Политыко	66
Я. В. Пришнинская, С. В. Боронникова, Ю. С. Нечаева, В. П. Красильников, Н. А. Мартыненко	67
В. В. Широкова, Г. Н. Артемов, В. Н. Стегний	68
А. К. Шуряева, О. О. Латыева	69
А. В. Смирнов, А. Г. Мензоров, О. Л. Серов	70
М. А. Спицын, В. Е. Кузнецова, В. Е. Шершов, Т. О. Гусейнов, С. А. Лапа, Я. Ю. Киселева, С. П. Радько, А. В. Чудинов	71

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ 72

Г. А. Бажутин, Е. М. Ноговицина	72
А. Е. Боброва, Й. Б. Кристофферсен	73
Е. Ю. Бурлуцкая	74
Е. В. Демидова	75
В. В. Фарофонова, Е. А. Шестакова	76
Ф. Э. Гамидова	77
Ю. С. Герасимова	78
Э. М. Ибрагимов	79
А. А. Иванов, Е. Н. Люкманова, И. Г. Кондратов, Г. Н. Веремейчик, А. Н. Мазейка, Н. М. Санина, Э. Я. Костецкий	80
Ю. М. Капустина, И. В. Мороз	81
М. Ю. Карташов, Н. Л. Тупота, Н. С. Москвитина, В. А. Терновой, Т. П. Микрюкова, В. Б. Локтев	82
А. И. Конев, М. К. Серебренникова	83
И. О. Коршунова	84
Д. А. Малькеева, М. В. Жукова, Е. В. Киселева	85
А. А. Меликян, Е. З. Усубова	86
Mohamed H. A, Peterson A. M, Weaam N. E.	87
J. Kuz'mak, M. Rola-Łuszczak, A. Pluta, M. Olech, I. Donnik, M. Petropavlovskiy, A. Gerilovych, I. Vinogradova, B. Choudhury	88
С. В. Петров, М. А. Купряшина	89
Е. С. Протасов, И. В. Войцеховская, Д. В. Аксенов-Грибанов	90
А. А. Пьянкова, Ю. А. Карташова	91
Ю. П. Сергеева, В. Ю. Горшков, А. Г. Даминова, Ю. В. Гоголев	92
А. В. Шипова, Е. А. Шестакова	93
А. В. Тищенко, Л. В. Костина	94
П. Ю. Ваньков, Э. Э. Зиганшина, А. М. Зиганшин	95
Р. А. Верховский, А. А. Абальмов, Е. В. Глинская	96
И. В. Войцеховская, Д. В. Аксенов-Грибанов, Е. С. Протасов	97
С. С. Зайнутдинов	98

Э. Э. Зиганшина, Д. Е. Белостоцкий, О.Н. Ильинская, А. М. Зиганшин	99
Е. В. Зонов, Г. В. Кочнева	100

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ.....101

Д. А. Андреюшкова	101
А. С. Давыдова, М. А. Воробьева	102
В. А. Девяткин	103
Л. В. Комарова, Н. В. Костицына, С. В. Боронникова	104
В. П. Красильников, Ю. С. Нечаева, Я. В. Пришнивская, С. В. Боронникова	105
Д. А. Кушнина, Н. В. Дорофеева.....	106
М. А. Куслий.....	108
Я. О. Мухамедшина, М. Н. Журавлева, Э. Р. Санатова	109
G. A. Pavlova', A. F. Munzarova', J. V. Popova', A. V. Razuvaeva'	110
А. И. Перфильева, Е. В. Рымарева, Е. Г. Рихванов, М. А. Живетьев, И. А. Граскова.....	111
Т. И. Почевалова.....	112
Ю. В. Попова', А. В. Разуваева', А. Ф. Мунзарова', Г. А. Павлова'	113
А. Х. Сабилов, Нгуен Тхи Нят Тханг, М. Б. Пугачев, Н. В. Штырлин, Р. Р. Мифтахова, А. Г. Иксанова, Ю. Г. Штырлин	114
Л. А. Сульдина, К. Н. Морозова, А. Г. Мензоров, Е. А. Кизилова, Е. Ю. Короткевич, А. Н. Голубица, А. И. Железова, Е. В. Киселева ..	116
А. В. Тимарова, С. В. Боронникова, Я. В. Пришнивская.....	117
О. С. Троицкая, А. В. Ткаченко, О. А. Коваль	118
Д. В. Тюлькина, В. В. Плешкан, Е. Д. Свердлов;	119
Д. С. Ушаков, М. В. Шашков	120
К. П. Верещагина, Ж. М. Шатилина, Д. В. Аксенов-Грибанов.....	121
Ю. А. Веряскина	122

МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОЧНЫХ И ТКАНЕВЫХ СТРУКТУР.....123

А. Е. Григорьева, С. Н. Тамкович, А. В. Еремина	123
Т. В. Повышева	124

ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ125

Natalia Baturina.....	125
И. Г. Фролов.....	126
О. Н. Гагарских, Е. С. Корсакова'	127
Д. Ю. Карнаухов.....	128
Р. В. Хусаинов	129
Е. В. Кобозева, С. В. Асбаганов	130
Е. С. Кондратьева, К. П. Верещагина, Е. П. Щапова, А. Н. Гурков, Д. С. Бедулина, М. А. Тимофеев	131

И. Ю. Кудреватых	132
А. И. Перфильева, Е. В. Рымарева, Е. Г. Рихванов	133
А. А. Реут, Л. Н. Миронова	135
ФИЗИОЛОГИЯ	136
И. И. Белоусова, А. В. Шальнов, Р. Д. Лапшин, И. В. Мухина	136
Т. С. Булавинцева	137
В. В. Кожевникова	138
М. Д. Ладыгина	139
А. Д. Милицкова, Е. Ю. Кадышева	140
И. Д. Морозов	141
Приямвада, Бхатия Симран	142
А. А. Серяпина, О. Б. Шевелев	143
С. Е. Смирных	144
А. В. Трясучев, В. О. Ступин, К. И. Зиновьева, Е. В. Курьянова	145
С. О. Вечкапова, Е. Д. Сорокоумов, А. Л. Проскура, Т. А. Запара, А. С. Ратушняк	146
ШКОЛЬНАЯ СЕКЦИЯ	147
М. А. Кадуцкая	147
В. Р. Малеванник, Т. В. Максимова	149
Е. В. Малюгин	150
М. Н. Мажаев	151
И. Е. Обрящиков	152
В. В. Тамаровский	153
Н. С. Гарасевич	154
ОГЛАВЛЕНИЕ	155

Научное издание

СИМБИОЗ – РОССИЯ 2015

**МАТЕРИАЛЫ
VIII ВСЕРОССИЙСКОГО С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
КОНГРЕССА МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ-БИОЛОГОВ**

5–9 октября 2015 г.

Материалы конференции публикуются в авторской редакции

Подписано в печать 28.09.2015

Офсетная печать

Заказ № _____

Формат 60x84/16

Уч.-изд. л. 10,0. Усл. печ. л. 8,3.

Тираж 220 экз.

Редакционно-издательский центр НГУ
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2