



Казанский федеральный
УНИВЕРСИТЕТ

20
25



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Региональной научно-практической микробиологической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения И.Б. Лещинской

Казань, 3-4 февраля 2025 г.

КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**РЕГИОНАЛЬНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ, ПОСВЯЩЕННОЙ
90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ И. Б. ЛЕЩИНСКОЙ**

Казань, 3-4 февраля 2025 г.



КАЗАНЬ

2025

**УДК 579
ББК 28.4
М59**

Ответственный редактор
доктор биологических наук, профессор **А.М. Марданова**

Научный редактор
доктор биол. наук, проф. **О.Н. Ильинская**

Редакционная коллегия:

доктор биологических наук, профессор **М.Р. Шарипова**
доктор биологических наук, профессор **А.М. Зиганшин**
кандидат биологических наук, доцент **В.И. Вершинина**
кандидат биологических наук, доцент **М.А. Харитонова**

- М59 Сборник тезисов региональной научно-практической микробиологической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения И.Б. Лещинской** [Электронный ресурс]: тезисы докладов региональной научно-практической микробиологической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения И.Б. Лещинской (Казань, 3–4 февраля 2025 г.). – Электрон. текстовые дан. (1 файл: 0,8 Мб). – Казань: Казанский (Приволжский) федеральный университет, 2025. – 73 с.

В сборнике представлены тезисы докладов участников региональной научно-практической микробиологической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения И. Б Лещинской (Казань, 3–4 февраля 2025 г., Казань, Российская Федерация). Рассмотрены фундаментальные и прикладные аспекты современной микробиологии. Издание адресовано биологам, научным работникам, преподавателям вузов и школ, студентам, а также специалистам смежных с биологией областей.

**УДК 579
ББК 28.4**

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Алюсев А., Лутфуллин М.Т., Марданова А.М.</i>	
Сравнительная характеристика устойчивости изолятов <i>Alternaria spp.</i> к фунгицидам	8
<i>Баклагина А.В., Соколова Е.А.</i>	
Антимикробная и антибиоплёночная активность новых соединений терпенового ряда	10
<i>Бульмакова Д.С., Сокольникова Л.В., Сулейманова А.Д.</i>	
Антагонистический потенциал штаммов <i>Pantoea brenneri</i> в отношении фитопатогена <i>Erwinia amylovora</i>	11
<i>Васильева Е.С., Исламов Р.Р., Сулейманова А.Д.</i>	
Устойчивость штаммов <i>Pantoea brenneri</i> к тяжелым металлам	13
<i>Гафарова Л.Ф., Курди У., Яковлева Г.Ю., Колпаков А.И., Ильинская О.Н.</i>	15
Анализ противомикробных лечебных грязей, применяемых в Татарстане	
<i>Глухов М.С., Галеева А.Г., Яковлева Г.Ю., Колпаков А.И., Лопатин О.Н., Ильинская О.Н.</i>	17
Комплекс минерального сорбента с противоопухолевой РНКазой	
<i>Громова Е.А., Яруллина Д.Р.</i>	
Угроза распространения в кишечном микробиоме генов устойчивости к тетрациклину от лактобактерий	19
<i>Деханова Е.Н., Хиляс И.В.</i>	
Характеристика нового полиэкстремофильного эндолитного штамма <i>Exiguobacterium chiriquhucha</i> S12	21
<i>Дудкина Е.В., Пестов А.Д., Надырова А.И.</i>	
Новые молекулярные мишени цитотоксического действия биназы.	23

<i>Зеленихин П.В.</i>	
Перспективы конструирования противоопухолевых препаратов на основе РНКаз	25
<i>Камалова Я.Н., Карамова Н.С.</i>	
Влияние экстракта листьев <i>Polianthes tuberosa</i> на миграцию опухолевых клеток НiTу 80	27
<i>Карамова Н.С., Ильинская О.Н.</i>	
Антимутагенная активность штамма <i>Lactobacillus plantarum</i> B578	29
<i>Кацуруба Е.А., Фуфыгина Е.С., Яковлева Г.Ю.</i>	
Сравнительная оценка действия различных концентраций Cu ₂ O и ZnO на рост <i>Aspergillus niger</i>	30
<i>Коснырев А.С., Ульянова В.В.</i>	
Мутационный анализ рибонуклеазы <i>Bacillus pumilus</i> 7P <i>in silico</i>	32
<i>Курди У., Киселева К.М., Яковлева Г.Ю., Колпаков А.И., Ильинская О.Н.</i>	
Биоразнообразие воды Голубого озера (г. Казань)	34
<i>Лугинская С.А., Ульянова В.В.</i>	
Молекулярно-филогенетический анализ барстар-подобного семейства ингибиторов рибонуклеаз рода <i>Bacillus</i>	36
<i>Лутфуллина Г.Ф., Абубакирова А.М., Лайков А.В., Марданова А.М.</i>	
Выделение и идентификация суммарной фракции липопептидов <i>Bacillus subtilis</i> GM5 методом масс-спектрометрического анализа	39
<i>Мамчур А.А., Васильева Ю.А., Гильмутдинова А.И., Рудакова Н.Л., Данилова Ю.В., Шарипова М.Р.</i>	
Новый ризосферный изолят <i>Bacillus subtilis</i> : характеристика биоконтрольных свойств	40
<i>Мишеева П.С., Мухтарова Г.И., Миннуллина Л.Ф.</i>	
Способность <i>Morganella morganii</i> секretировать гемолизин в составе внеклеточных мембранных везикул	42

<i>Морозова П.С., Надырова А.И., Дудкина Е.В.</i>	
Создание генетической конструкции на основе аденоассоциированного вируса и гена цитотоксичной биназы	44
<i>Нурасов Р.И., Хайруллина Л.Т., Харитонова М.А., Костенко В.В.</i>	
Показатели приспособленности природных и лабораторных линий дрозофилл в условиях инфицирования	46
<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Рудакова Н.Л., Данилова Ю.В., Васильева Ю.А., Хасанов Д.И., Гильмутдинова А.И., Шарипова М.Р.</i>	
Влияние PGP-штамма бацилл на индукцию системной защиты растений картофеля в присутствии фитопатогенного микромицета	48
<i>Рыжсенков Д.С., Мишеева П.С., Миннуллина Л.Ф.</i>	
Сравнительная характеристика культуральных и адгезивных свойств дикого штамма <i>Klebsiella oxytoca</i> и мутанта с делецией гена металлопротеиназы	50
<i>Симонов В.В., Туркина А.А., Николаева А.А., Лутфуллин М.Т.</i>	
Влияние абиотических стрессовых факторов на морфометрические параметры микrorастений картофеля	52
<i>Сокольникова Л.В., Бульмакова Д.С., Сулейманова А.Д., Шарипова М.Р.</i>	
Способность штамма <i>Pantoea brenneri</i> 3.2 с делетированным геном <i>ipdC</i> синтезировать индол-3-уксусную кислоту	54
<i>Субакаева Е.В.</i>	
Антимикробная и цитотоксическая активность функционализированных пиллар[5]аренов	55
<i>Сунагатова А.А., Каюруба Е.А., Яковлева Г.Ю., Данилаев М.П., Ильинская О.Н.</i>	
Использование полисилоксановых покрытий для борьбы с биоповреждениями памятников деревянного зодчества	57

<i>Супрунова Д.В., Яруллина Д.Р.</i>	
Кишечный изолят <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> LR-1 как перспективный пробиотический штамм	
<i>Тихонова Г.С., Харитонова М.А., Ширяк Т.Ю., Ильинская О.Н.</i>	
Особенности микрофлоры поверхности языка с гиперпигментацией	61
<i>Фадеева Е.В., Галицкая Л.В., Урясова М.Д.</i>	
Опыт работы лаборатории токсико-гигиенических исследований в Республике Татарстан	63
<i>Хайруллина Л.Т., Нурасов Р.И., Баранова Н.Б., Харитонова М.А., Костенко В.В.</i>	
Изменение экспрессии генов, кодирующих антимикробные пептиды дрозофил в условиях инфицирования <i>S. aureus</i>	65
<i>Хафизова Э.М., Надырова А.И.</i>	
Оценка антимиграционной активности биназы и ее мутантных форм	67
<i>Шарипова М.Р., Марданова А.М., Васильева Ю.А.</i>	
Механизмы сигнализации в ризосферных коммуникациях	69
<i>Яруллина Д.Р., Шакиров Р.Р., Маркелова М.И., Панкратова Ю.С., Сенина А.М., Хакимуллина М.Р., Григорьева Т.В., Карпухин О.Ю.</i>	
Микрофлора сигмовидной кишки при дивертикулярной болезни: влияние клинической формы заболевания, антибиотикотерапии и степени воспалительного поражения дивертикула	71

Сравнительная характеристика устойчивости изолятов *Alternaria spp.* к фунгицидам

A. Алюсев, М.Т. Лутфуллин, А.М. Марданова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Микромицеты рода *Alternaria* вызывают экономически важные заболевания картофеля, томатов и других растений семейства Пасленовые во всем мире и являются причиной значительной потери урожая и порчи продукции микотоксинами. Альтернариоз может поражать листья и стебли, вызывая отмирание ботвы. Кроме того, возбудитель поражает клубни, вызывая сухие гнили во время хранения. Понимание того, какие виды и штаммы являются возбудителями альтернариоза, их распространенности в разных регионах, а также механизмов развития резистентности к фунгицидам важно для поиска наилучшей стратегии борьбы с этим заболеванием и защиты важных сельскохозяйственных культур.

Цель – выделение из листьев картофеля с признаками ранней сухой пятнистости возбудителей альтернариоза и анализ их устойчивости к различным фунгицидам.

Материалы и методы. Для выделения изолятов *Alternaria spp.* кусочки листьев картофеля с признаками альтернариоза раскладывали на поверхность стерильной агаризованной среды Чапека или КГА. Посевы инкубировали в течение 5-7 сут при 28 °C. Выросшие колонии микроскопировали и отбирали колонии с морфологией конидий, характерных для *Alternaria*. Методом многократного пересева уколом на новые среды получали чистые культуры грибов. Использовали фунгициды (в конечных концентрациях): Раек (0,05, 0,1 и 0,2%), Каптан и Топсин (0,1, 0,2 и 0,4%), Ридомил Голд (0,25, 0,5 и 1,0%), Максим (0,2, 0,4 и 0,8%), Хом (0,4, 0,8 и 1,6%), Превикур (0,5, 1,0 и 2,0%).

Рост микромицетов в присутствии фунгицидов исследовали методом лунок.

Результаты. Всего из листьев картофеля с признаками альтернариозной инфекции было выделено 8 чистых культур, которые имели морфологию мицелия и конидий, характерную для грибов *Alternaria*. Установили, что оптимальной средой для культивирования грибов является среда КГА, на которой рост и пигментообразование микромицетов было значительно эффективнее, чем на среде Чапека.

Сравнительный анализ роста изолятов в присутствии фунгицидов показал, что эффективно подавляли рост микромицетов такие фунгициды как Раек, Максим и Ридомил Голд. Наиболее эффективную фунгистатическую активность проявлял препарат Раек (действующее вещество: дифеноконазол) в отношении всех выделенных изолятов. Фунгициды Каптан, Хом, Превикур и Топсин в использованных концентрациях не подавляли рост микромицетов. Установили, что выделенные изоляты *Alternaria spp.* различались по чувствительности к фунгицидам. 5 из восьми исследованных изолятов проявили высокую устойчивость. Так, к устойчивым штаммам относились изоляты А.К1, А.К9, А.К1.2, А.К3.2 – рост этих штаммов ингибировался незначительно относительно контроля. При этом рост штаммов А.К6, А.К4 и А.К7 ингибировался существенно (на 50% и более), что свидетельствует об их чувствительности к использованным фунгицидам.

Заключение. Выделены изоляты возбудителей альтернариоза картофеля и проведен сравнительный анализ их устойчивости к различным фунгицидам, который продемонстрировал резистентность большинства изолятов к широкому спектру фунгицидов, что свидетельствует о снижении эффективности многих фунгицидов, используемых в практике и необходимости поиска новых стратегий контроля этих фитопатогенов.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российской научного фонда № 25-76-20010, [https://rscf.ru/project/25-76-20010/»](https://rscf.ru/project/25-76-20010/).

Анти микробная и антибиоплёночная активность новых соединений терпенового ряда

A.B. Баклагина, Е.А. Соколова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Рост числа опасных инфекций, вызываемых антибиотико-резистентными бактериями, сделал исследование новых противомикробных соединений актуальной темой в области современной биомедицины. Терпены обладают потенциалом в качестве противомикробных средств благодаря таким механизмам воздействия на бактерии как: разрушение мембран, препятствование эффектам кворума, ингибирование синтеза белка и АТФ. Однако возможности их применения ограничены низкой биодоступностью вследствие недостаточной растворимости в физиологических средах. Решением данной проблемы может стать синтез и использование новых терпеновых производных с амфи菲尔ными свойствами.

Цель – оценка анти микробных и антибиопленочных свойств новых амфи菲尔ных производных терпенов.

Материал и методы. Характеризовали биологическую активность амфи菲尔ных производных миртенола, периллилового спирта, гераниола, фарнезола и фитола. Антимикробные свойства агентов оценивали при помощи резазуринового теста с использованием следующих микроорганизмов: *Salmonella typhimurium* TA 98, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, клинические изоляты *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida* sp. Антибиопленочную активность оценивали, воздействуя на растущие и зрелые биопленки тех же культур, в teste с кристаллическим фиолетовым.

Результаты. Производные цедрола и фитола не ингибировали развитие всех тест-культур. Из прочих наивысшей антимикробной

активностью обладало производное фарнезола. Полученные экспериментальные данные позволили расположить исследованные терпеноиды по степени выраженности antimикробных свойств в ряду (по терпеновому фрагменту): миртенол < гераниол < периллиловый спирт < фарнезол. Ни одно из исследованных терпеновых производных не обладало способностью ингибировать формирование биопленок клинического изолята *Candida* sp. Наибольшей способностью препятствовать формированию биопленок бактерий обладало производное периллилового спирта. Ни одно из соединений не обладало активностью в отношении зрелых биопленок тестерных бактерий во всём диапазоне исследованных концентраций (0.0625–0.5 МИК).

Заключение. Охарактеризована биологическая активность нового перспективного бактериостатика на основе амифильного производного терпеноида фарнезола, способный ингибировать развитие грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микроскопических грибов – потенциальных возбудителей оппортунистических инфекций.

Антагонистический потенциал штаммов *Pantoea brenneri* в отношении фитопатогена *Erwinia amylovora*

Д.С. Бульмакова, Л.В. Сокольникова, А.Д. Сулейманова
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

Введение. Бактериальный ожог плодовых культур – опасное некротическое заболевание растений семейства *Rosaceae*, вызываемое бактерией *Erwinia amylovora*. Основные методы борьбы с фитопатогеном сводятся к применению химических пестицидов, антибиотиков и проведению фитосанитарных мероприятий. Все более актуальным становится использование биопрепаратов. Показано, что представители родов *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Rahnella* про-

являют антагонистические свойства по отношению к *E. amylovora* и могут рассматриваться как эффективные биоконтрольные агенты.

Цель – оценка антагонистического потенциала штаммов *Pantoea brenneri* в отношении фитопатогена *E. amylovora*.

Материалы и методы. Антагонистическую активность изучаемых штаммов по отношению к *E. amylovora* определяли путем совместного культивирования на различных питательных средах (R2A, 925, SPA, YPGA, TSB) на чашках Петри и в жидкой культуре. Выращивали ночную культуру *E. amylovora*, доводили до ОП₆₀₀ = 0.1 и засевали газоном на чашки Петри. После подсыхания на поверхность среды наносили по 5 мкл ночной культуры штаммов *P. brenneri*. Посевы инкубировали при 30 °C в течение 3–5 суток, далее анализировали наличие и размер зон ингибирования роста патогена. Для проведения экспериментов по совместному культивированию на жидких средах выращивали ночные культуры штаммов *P. brenneri* и *E. amylovora* и доводили до ОП₆₀₀ = 0.02. Далее смешивали по 50 мкл культуры изучаемых штаммов и патогена, добавляли к 3 мл свежей среды и инкубировали в течение 3 суток при 30 °C и 150 об/мин. Путем серийных разведений смесь культур высевали на чашки Петри для подсчета числа колоний *P. brenneri* и *E. amylovora*, которые визуально различимы. Для выявления молекулярных механизмов антагонистической активности штаммов *P. brenneri* проводили биоинформационный поиск генетических детерминант, вовлеченных в данный процесс.

Результаты. При совместном культивировании штаммов *P. brenneri* и *E. amylovora* на чашках Петри наблюдали зоны задержки роста патогена на средах R2A, SPA и YPGA размером 12–21 мм в диаметре. При этом, на средах 925 и TSB антагонизма не обнаружили. Совместное культивирование изучаемых штаммов и патогена в жидкой культуре показало снижение числа колоний последнего в среднем в 1.8–2 раза. В геноме штаммов *P. brenneri* обнаружены гены биосинтеза предполагаемого антибиотического продукта *Pantoea*

Natural Product 3 (PNP-3), в частности, гены *rpr3a*, *rpr3d*, *rpr3e*, *rpr3f*, *rpr3g*, *rpr3h*. Проводится дальнейшая оценка экспрессии идентифицированных генов при совместном культивировании штаммов *P. brenneri* и патогена *E. amylovora*.

Заключение. Штаммы *P. brenneri* обладают практическим потенциалом и могут служить основой для разработки экологически безопасных средств защиты растений от фитопатогена *E. amylovora*.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 23-76-01078.

Устойчивость штаммов *Pantoea brenneri* к тяжелым металлам

Е.С. Васильева, Р.Р. Исламов, А.Д. Сулейманова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Постоянное использование химикатов в сельском хозяйстве имеет негативные последствия, ведет к эвтрофикации водоемов и загрязнению подземных вод. Загрязнение водной и наземной среды тяжелыми металлами и ксенобиотическими загрязнителями сильно увеличивается в мире, особенно в последнее десятилетие. Тяжелые металлы относятся к числу токсичных элементов, которые могут попасть в пищевую цепь путем поглощения корнями растений в результате процесса, называемого транслокацией. Бактерии, стимулирующие рост растений, которые способны переносить высокие уровни тяжелых металлов, используются и в биоремедиации. Поэтому детоксикация почв, орошаемых сточными водами, загрязненными тяжелыми металлами, с помощью устойчивых к тяжелым металлам PGP-бактерий является актуальным направлением в экологизации агропроизводства.

Цель – тестирование штаммов на устойчивость к тяжелым металлам (медь, цинк и хром) на твердых синтетических питательных

средах с определением минимальной ингибирующей концентрации тяжелого металла.

Материалы и методы. Для определения способности штаммов *P. brenneri* переносить кадмий, медь, цинк и хром, 10 мкл свежей бактериальной культуры вносили на поверхность твердой питательной среды TSA с высокими концентрациями тяжелых металлов, и инкубировали в течение 48 ч при 30 °С. После инкубации оценивали рост бактерий и зоны просветления вокруг бактериальных колоний. Из исходных растворов тяжелых металлов готовили серийные двукратные разведения. Концентрации хлорида меди ($CuCl_2$), сульфата цинка ($ZnSO_4$) и дихромата калия ($K_2Cr_2O_7$) - от 0 до 1600 мг/л.

Результаты. Тестирование штаммов *P. brenneri* на устойчивость к тяжелым металлам на твердой питательной среде показало, что штаммы устойчивость к ионам меди во всех исследуемых концентрациях (до 1600 мг/л). Штаммы проявляли толерантность к ионам цинка и хрома – рост наблюдался вплоть до достижения концентрации ионов в среде 400 мг/л. При этом на среде, содержащей цинк с концентрацией 400 мг/л, рост штамма 3.5.2 не наблюдается. Вероятно, это связано с редуцированностью генома штамма *P. brenneri* 3.5.2. Все исследуемые штаммы *P. brenneri* были способны расти и образовывать гало-зоны на среде с нерастворимым $ZnCO_3$ и $ZnPO_4$, однако, рост бактериальных культур полностью отсутствовал на среде с оксидом цинка

Заключение. Таким образом, наличие у штаммов *P. brenneri* устойчивости к тяжелым металлам, позволяет проводить дальнейшие исследования с оценкой перспективы использования данных штаммов в качестве альтернативой биоремедиации загрязненных тяжелыми металлами почв и сточных вод, а также кандидатами на роль биоудобрения, действующего в условиях абиотического стресса.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 24-26-00289.

Анализ противомикробных лечебных грязей, применяемых в Татарстане

**Л.Ф. Гафарова^{1,2}, У.Курди¹, Г.Ю. Яковлева¹, А.И. Колпаков¹,
О.Н. Ильинская¹**

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

² Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан, Казань,
Российская Федерация

Введение. Лечебные грязи (пелоиды) представляет собой полу-коллоидное вещество, образующееся из водной смеси неорганических и органических соединений под действием различных физических и химических факторов. Использование пелоидов в оздоровительных целях имеет многовековую историю. Современные экспериментальные исследования биофизических свойств кожи показали, что пелоиды снижают усталость и повышают эластичность и упругость кожи. Бактерицидные свойства пелоидов важны для лечения дерматозов микробной этиологии; показан губительный эффект пелоидов по отношению к некоторых патогенных микроорганизмов. Пелоиды могут также оказывать успокаивающее действие, не вызывая гибели бактерий. В то же время стимуляция пролиферации кожных бактерий относится к нежелательным последствиям применения грязей.

Цель – характеристика микробного сообщества лечебных грязей, применяемых в республике Татарстан, и оценка их воздействия на микроорганизмы.

Материалы и методы. Объектом исследования служили микробные сообщества лечебных грязей, используемые для пелоидтерапии в санаториях Республики Татарстан: 1) сапропелевые грязи месторождения «Бакирово»; 2) грязи торфяного месторождения «Таборли-3». Метагеномный анализ образцов проб воды проводили методом секвенирования гена 16S рРНК с использованием технологий ILLUMINA MiSeq.

Данные секвенирования были обработаны и проанализированы с использованием программного обеспечения Mothur. Выделение с поверхности кожи рук чистых культур бактерий проводилось на LB-агаре. Чистые культуры бактерий идентифицировались с помощью метода прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии. Для оценки бактериостатического действия грязей по отношению к условно патогенным бактериям использовали коллекционные штаммы: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* 27/99 B-4892 и *Candida albicans* ATCC 1023.

Результаты. Наибольшее таксономическим биоразнообразие отмечали в сообществе лечебной грязи «Таборли-3». Количество операционных таксономических единиц в образце составляло 394, в образце месторождения «Бакирово» – 166. Менее половины видов являлись общими для исследуемых сообществ лечебных грязей (индекс Соренсена составил 0.462). В образцах пелоидов преобладали филы *Proteobacteria* и *Firmicutes*. В образце «Бакирово» количество бактерий, отнесенных к филуму *Proteobacteria* в 1.6 раз выше, а количество бактерий, принадлежащих к филуму *Firmicutes*, в 1.5 ниже, чем в образце «Таборли-3». С поверхности кожи рук выделено и идентифицировано до вида 9 бактерий, 5 из которых принадлежат к роду *Bacillus*, 2 – к роду *Staphylococcus* и 2 – к роду *Kocuria*. Установлено бактериостатическое действие всех грязей по отношению к коллекционным штаммам *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* 27/99 B-4892 и *C. albicans* ATCC 1023. Статистически достоверное бактерицидное действие торфяной грязи зарегистрировано по отношению к *P. aeruginosa*. Грязи также обладали бактериостатическим эффектом по отношению к бактериям, выделенным с кожи рук здорового волонтера.

Заключение. Проведен метагеномный анализ сообщества лечебных грязей, используемые для пелоидтерапии в санаториях Республики Татарстан. Показан бактериостатический эффект грязей как по отношению к условно патогенным, так и к выделенным с поверхности кожи рук бактериям.

Комплекс минерального сорбента с противоопухолевой РНКазой

**М.С. Глухов^{1,2}, А.Г. Галеева³, Г.Ю. Яковлева¹, А.И. Колпаков¹, О.Н.
Лопатин¹, О.Н. Ильинская¹**

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

² Институт геологии и геохимии УрО РАН, Екатеринбург,
Российская Федерация

³ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологиче-
ской безопасности ФГБНУ "ФЦТРБ-ВНИВИ", Казань,
Российская Федерация

Введение. Цеолиты-содержащие породы зарекомендовали себя как эффективные сорбенты, способные поглощать тяжелые металлы, радионуклиды и токсины. Трибомеханическая и термическая обработка цеолитов повышает их сорбционные свойства. Иммобилизация терапевтических белков в цеолите приводит к сохранению их целевых свойств при поступлении в организм и позволяет обеспечить пролонгированный выход белка на протяжении всего желудочно-кишечного тракта. Для проявления противоопухолевой активности бактериальной РНКазы, способной ингибиривать МАРК-сигнальный путь за счет прямого блокирования рецептора EGFR и онкогена RAS, необходимо обеспечить ее поэтапное высвобождение из минерального носителя с сохранением каталитической активности фермента в жидкостях желудочно-кишечного тракта.

Цель – создание органоминерального комплекса РНКазы и клиноптилолит-содержащей породы с его морфометрической характеристикой, подтверждающей сорбцию фермента в мезопорах носителя, микрогранулярной и термически обработанной породы Татарско-Шатрашанского месторождения. Будет проанализирована динамика выхода РНКазы из комплекса и оценена ее устойчивость в модельных жидкостях желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. РНКазу *Bacillus pumilus* инкубировали совместно с клиноптилолитом размерностью частиц до 60 мкм (28 °C, 180 об/мин, 3 ч). После центрифугирования осадок высушивали в термостате при 37 °C и помещали в стерильные пробирки по 10 мг. Визуализацию носителя проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа "Hitachi HT 7700 Exalens" (Япония) при разрешении 1.4 Å. Рентгеновскую микротомографию носителя осуществляли на микрофокусной рентгеновской системе General Electric V|tome|X S 240 (Германия), при напряжении 100 кВ и силе тока 100 мА. Изображения анализировали в компьютерной программе Avizo. Выход фермента измеряли по поглощению инкубационного раствора при 280 нм. Каталитическую активность определяли по уровню кислоторастворимых продуктов гидролиза высокомолекулярной дрожжевой РНК.

Результаты. Подобраны оптимальные условия получения органического комплекса с полнотой сорбции фермента 56 % в течение 3 час. Анализ пористости носителя выявил наличие микропор с эквивалентным диаметром до 10 мкм при разрешении съемки образцов 2 мкм и макропор диаметром до 90 мкм, что подтверждает возможность сорбции белка, размер частиц которого не превышает 7 нм в диаметре, в порах носителя. При ежечасной смене водной среды фермент поэтапно выходил из носителя; в течение 20 час достигался практически полный выход фермента (94 % от загруженного). Каталитическая активность РНКазы в течение этого времени сохранялась на уровне 95 % от исходной в модельных жидкостях желудка и кишечника.

Заключение. Сочетание детоксицирующей активности клиноптилолита и противоопухолевой активности РНКазы позволяет рассматривать полученный комплекс не только как фактор неспецифической защиты организма, но и как перспективный противоопухолевый препарат, дополняющий известные химиотерапевтические сред-

ства, применяемые при лечении новообразований желудочно-кишечного тракта.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 24-14-00059.

Угроза распространения в кишечном микробиоме генов устойчивости к тетрациклину от лактобактерий

E.A. Громова, Д.Р. Яруллина

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Распространение антимикробной резистентности является одной из самых острых угроз современности, сопряженной с серьезными биологическими и экономическими проблемами. По современным оценкам, комменсальная микробиота человека является важным резервуаром распространения генов антибиотикорезистентности (АР), а кишечник – вероятным местом, где осуществляется горизонтальный перенос генов между бактериями нормобиоты и оппортунистическими патогенами.

Цель – оценка *in vivo* горизонтального переноса генов АР от лактобактерий к другим бактериям.

Материалы и методы. В качестве доноров генов АР рассмотрены выделенные нами из ряженки, силоса и коммерческих пробиотиков четыре штамма лактобактерий, в геномах которых мы обнаружили гены устойчивости к ванкомицину *vanX* (все штаммы), цефалоспоринам *blaTEM*, эритромицину *ermB* и тетрациклину *tetK* (по два штамма), ципрофлоксацину *parC*, стрептомицину *aadE* и ген *tetM* (по одному штамму), причем *tet*-гены были плазмидные, а остальные гены АР были локализованы на хромосомах. Мыши опытной группы ($n = 4$) в течение двух недель получали *per os* смесь данных лактобактерий. В 1, 7, 14 дни эксперимента и через неделю после отмены вве-

дения лактобацилл определяли МПК антибиотиков для культивируемой части микробиоты фекалий мышей, а также содержание генов *tetM*, *tetK*, *ermB*, *vanX*, *aadE*, *parC* и *blaTEM* в фекалиях методом ПЦР и ПЦР-РВ. По результатам ПЦР-РВ амплификации гена *vanX*, присутствующего в хромосомной ДНК всех лактобацилл-доноров, оценивали выживаемость вводимых лактобацилл в ЖКТ мышей, а по количеству видоспецифичной для лактобацилл межгенной спейсерной области 16S-23S рРНК судили об общей численности лактобактерий. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом КФУ (протокол №8 от 5.05.2015).

Результаты. Введение лактобацилл привело к повышению устойчивости к тетрациклину у культивируемой части микробиоты мышей в 16 раз. Относительная копийность гена *tetM* в тотальной ДНК фекалий мышей, получавших лактобациллы, была выше, чем в контрольной группе, получавшей физраствор ($n = 4$), и сохранялась на высоком уровне после отмены введения лактобацилл. Мы показали, что это обусловлено распространением и амплификацией гена *tetM* в бактериях кишечной микробиоты мышей, а не в лактобактериях. Наличие гена *tetM* в фекалиях опытной группы мышей также подтвердили методом ПЦР и секвенированием полученного ампликона, который оказался на 99 % гомологичен генам *tetM* базы данных GenBank. Перенос других генов АР, присутствовавших в штаммах-донорах, не детектирован.

Заключение. Экспериментально *in vivo* продемонстрирована возможность горизонтального переноса гена устойчивости к тетрациклину *tetM* от лактобактерий к другим бактериям кишечной микробиоты мышей.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-16-00040).

Характеристика нового полиэкстремофильного эндолитного штамма *Exiguobacterium chiriqhucha* S12

Е.Н. Деханова, И.В. Хиляс

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Бактерии рода *Exiguobacterium* представляют собой уникальную группу микроорганизмов, способных выживать в экстремальных условиях благодаря своей высокой адаптационной способности. *Exiguobacterium* обладают устойчивостью к широкому диапазону температур за счет наличия белков холодового и теплового шока. Для поддержания pH и ионного баланса в условиях высокой солёности бактерии используют натрий-протонные антипортеры. Генетические и физиологические особенности бактерий рода *Exiguobacterium* обеспечивают их универсальность и устойчивость к различным стрессовым условиям, что открывает широкие возможности для применения в биотехнологии, сельском хозяйстве и биоремедиации.

Цель – изучение физиологических свойств эндолитного штамма *Exiguobacterium chiriqhucha* S12.

Материалы и методы. Изучение морфологических признаков проводили путем окрашивания штамма *E. chiriqhucha* S12 по Граму. Исследование типа подвижности штамма *E. chiriqhucha* S12 проводили методом посева на полужидкую среду Мюллер-Хинтона. Для изучения культуральных признаков штамма *E. chiriqhucha* S12 использовали жидкую среду Мюллера-Хинтона с диапазоном pH 3–13, концентрацией NaCl 0–14 % и температуру для роста от +4 до +55 °C. Измерения роста культуры проводились спектрофотометрически при длине волны 600 нм.

Результаты. Штамм *E. chiriqhucha* S12 на агаризованной питательной среде образует пигментированные (оранжевые), блестящие

колонии округлой формы. Клетки имеют форму коротких палочек и чаще всего располагаются одиночно, однако могут образовывать скопления. Клетки не образуют спор, грамположительные. Для определения подвижности по типу плавания штамм культивировали на 0.3 % агаризованной среде. Через 24 часа наблюдали рост колонии штамма, что может указывать на его способность к плаванию, которое обеспечивается наличием жгутиков. Культивирование штамма *E. chiriqhucha* S12 в жидкой среде Мюллера-Хинтона в диапазоне значений pH 3–13 показало, что предельными значениями кислотности среды для роста является pH 5.0 и 11.0, оптимальным – pH 9.0. Штамм S12 выдерживает максимальную концентрацию NaCl в среде 9 %. Штамм S12 устойчив к высоким (+42 °C) и низким температурам (+4 °C), оптимальной температурой роста является 30 °C.

Заключение. *Exiguobacterium chiriqhucha* S12 демонстрирует высокую адаптивность к разнообразным условиям окружающей среды. Штамм является полиэкстремофилом, проявляя свойства алкалифильного, галотolerантного и психрофильного микроорганизма. Кроме того, *E. chiriqhucha* S12 обладает подвижностью, что может свидетельствовать о наличии двигательного аппарата в форме жгутиков. Род *Exiguobacterium* также известен другими важными свойствами, включая способность синтезировать полезные ферменты и метаболиты. Дальнейшее изучение свойств бактерий этого рода позволит раскрыть их полный потенциал и расширить области применения.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 24-24-00473.

Новые молекулярные мишени цитотоксического действия биназы

E.В. Дудкина, А.Д. Пестов, А.И. Надырова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Сигнальный каскад митоген-активируемых протеин-киназ (МАРК) регулирует важнейшие процессы жизнедеятельности клетки, поэтому нарушения в его сигнализации часто приводят к канцерогенезу. Поиск агентов, способных модулировать активность данного сигнального пути, представляет собой приоритетное направление в противоопухолевой терапии. Для цитотоксичной рибонуклеазы (РНКазы) *Bacillus pumilus* – биназы показана способность взаимодействовать с основным компонентом МАРК каскада – рецептором эпидермального фактора роста EGF, что указывает на потенциальную возможность РНКазы влиять на нижележащие компоненты МАРК.

Цель – оценка уровня фосфорилирования основных тирозинкиназ МАРК каскада – ERK, JNK и p38 в опухолевых клетках эпидермоидной карциномы A431 после обработки биназой.

Материалы и методы. Опухолевые клетки рассевали в 48-луночный планшет плотностью по 15000 клеток/лунку. Клетки выращивали на среде DMEM (ПанЭко, Россия) с добавлением 10 %-ной эмбриональной телячьей сыворотки в течение 24 часов, далее среду заменяли на бессывороточную. Клетки культивировали с биназой в концентрации 100 мкг/мл в течение 1 мин, 15 мин и 60 мин. Фосфорилированные формы тирозинкиназ выявляли с использованием первичных антител к phospho-ERK1/2 (AP0974, Abclonal), phospho-p38 (AP0526, Abclonal) и phospho-JNK (AP0473, Abclonal) на инвертированном микроскопе Olympus IX83 (Olympus Corporation, Япония). Для визуализации белков использовали вторичные антикроличьи антитела козы, конъюгированные с Alexa Fluor 555 (ab150118; Abcam,

США) в соотношении 1:200. Клетки контрастно окрашивали 40,6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) для визуализации ядер.

Результаты. Методом иммунофлуоресцентного анализа была оценена способность биназы влиять на уровень фосфорилирования основных киназ МАРК каскада: ERK 1/2, JNK и p38 в опухолевых клетках эпидермоидной карциномы человека А431 после их обработки биназой. Так, было показано, что при обработке клеток в течение 15 мин биназа вызывает снижение уровня фосфорилирования киназы ERK 1/2, предварительно индуцированной фактором роста EGF. При этом, начиная с 1 мин инкубации и вплоть до 60 мин под действием биназы в клетке активировались стрессовые киназы JNK и p38. Максимальный уровень фосфорилирования белков детектировался на 15 мин инкубации. Таким образом, показано, что апоптоз-индуцирующее действие биназы на опухолевые клетки А431 опосредовано ее взаимодействием с рецептором EGF, что приводит к ингибированию МАРК/ERK сигналинга, и запуску в клетке стрессовых сигнальных путей.

Заключение. Взаимодействие биназы с рецептором EGF приводит к модулированию МАРК каскада, которое проявляется ингибированием тирозинкиназной активности ERK1/2 и индукцией фосфорилирования стрессовых киназ JNK и p38, что, вероятно, инициирует запуск апоптоза в опухолевых клетках А431 и их гибель.

Финансирование. «Работа выполнена за счет предоставленного в 2024 году Академией наук Республики Татарстан гранта на осуществление фундаментальных и прикладных научных работ в научных и образовательных организациях, предприятиях и организациях реального сектора экономики Республики Татарстан».

Перспективы конструирования противоопухолевых препаратов на основе РНКаз

П.В. Зеленихин

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Накопление новых данных о роли РНКаз в жизненных процессах живых организмов позволило сформировать понимание их места в регуляции метаболизма клетки, включая их потенциальную антиплифративную и цитотоксическую активность, что особенно важно в контексте непрекращающегося поиска новых эффективных противоопухолевых препаратов. К настоящему времени описана цитотоксичность в отношении малигнизированных клеток млекопитающих для ряда РНКаз амфибий, грибов, а также бактерий, охарактеризованы основные паттерны свойств, которыми должны обладать эти ферменты для проявления ими антинеопластических свойств. К подобным агентам относятся секреируемые гуанилспецифичные РНКазы бацилл, в частности биназа – РНКаза *Bacillus rimilus*,

Цель – характеристика способности биназы оказывать цитотокическое и апоптозиндуцирующее действие в отношении ряда малигнизованных и нормальных клеток млекопитающих, включая человека в вариантах монообработки и в комбинации с противоопухолевыми антибиотиками.

Материалы и методы. При помощи комплекса колориметрических и флуориметрических методов характеризовали способность биназы угнетать жизнеспособность и индуцировать апоптоз нормальных и озлокачествленных клеток соединительнотканного, эпителиального происхождения, а также системы кроветворения.

Результаты. Установлено, что биназа в диапазоне концентраций 10-300 мкг/мл эффективно снижает пролиферацию и вызывает апоптоз

клеток миелоидного лейкоза человека K562, а также клеток-предшественников миелоидных клеток мыши с эктопической экспрессией активированного онкогена *c-kit*. В то же время, моноциты периферической крови здоровых доноров и нетрансформированные клетки-предшественники миелоидных клеток мыши были нечувствительны к действию РНКазы. Среди клеток соединительнотканного происхождения биназа эффективно подавляла жизнеспособность фибробластов, трансформированных онкогенами *K-ras* и *AML/ETO*, клеток глиомы мышей С6; клетки фибробластов, трансформированных онкогенами *src* и *fms*, а также клетки фибросаркомы человека HT1080 не снижали жизнеспособности в присутствии РНКазы. Большинство из протестированных линий малигнизированных клеток эпителиального происхождения имели высокую чувствительность к цитотоксическому действию фермента, биназа снижала жизнеспособность и вызывала апоптоз клеток карциномы легких человека A549, клеток карцином молочной железы MCF-7, BT-20, ZR-75-1, BT-474, Hs 578 T, карциномы мочевого пузыря T24, карцином различных отделов кишечника Colo-320, CaCo-2, НиТи-80, SW837. При этом неизлокачествленные клетки эпителиев человека и животных LEK, VERO, PK-15, MDCK, HEK 293, HUVEC слабо отвечали на цитотоксическую и апоптогенную активность препарата. Показано, что биназа обладала сочетанной противоопухолевой активностью в отношении линий клеток карцином легких и молочной железы человека в комбинации с противоопухолевыми антибиотиками доксорубицином и блеомицином.

Заключение. Охарактеризована цитотоксическая и апоптозиндуцирующая активность РНКазы *B. rutilus* – биназы. Фермент проявил значительные возможности к избирательному подавлению жизнеспособности широкого спектра злокачественных клеток. Способность к взаимному усилению целевой активности при комбинированном применении с противоопухолевыми антибиотиками позволяет снижать действующие концентрации агентов, что важно для снижения выраженности побочных эффектов противоопухолевой терапии.

Влияние экстракта листьев *Polianthes tuberosa* на миграцию опухолевых клеток HuTu 80

Я.Н. Камалова, Н.С. Карамова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Способность опухолевых клеток к направленному движению является важнейшим условием их инвазии в другие органы и образования метастазов. Следовательно, становится актуальным поиск терапевтических агентов, способных ингибировать миграцию злокачественных клеток. Особое внимание исследователи уделяют веществам растительного происхождения.

Цель – оценить антимиграционный эффект экстракта листьев *Polianthes tuberosa* на клетки adenокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80.

Материалы и методы. Для постановки эксперимента клетки adenокарциномы двенадцатиперстной кишки HuTu 80 выращивали в среде DMEM в 6-луночном планшете при 37 °C. При достижении перекрытия площади дна лунки на 90 % проводили несколько линий (царапин) с помощью наконечника пипетки на 1000 мкл, затем тщательно промывали буфером для удаления обломков клеток. В лунки вносили полную среду DMEM с содержанием экстракта листьев *P. tuberosa* в концентрации 10, 50 и 70 мкг/мл и культивировали при 37 °C. Сравнение проводили с клетками в лунках без добавления экстрактов. Перемещение клеток отслеживали сразу после нанесения царапины и через 24 часа, изображения получали с использованием объектива 5x на фазово-контрастном микроскопе (Axio observer, Австрия). Полученные изображения предварительно обрабатывали в графическом редакторе для достижения максимального контраста. Оценку изменений площади царапины производили при помощи программы BioFilmAnalyser.

Результаты. Было установлено, что при действии исследуемого экстракта в минимальной концентрации 10 мкг/мл через 24 ч наблюдается снижение миграции опухолевых клеток, по сравнению с негативным контролем (клетки без обработки экстрактом). В лунках, содержащих максимальную концентрацию экстракта 70 мкг/мл наблюдался лишь незначительный прирост клеток на линию царапины. С помощью программы BioFilmAnalyser были просчитаны изменения площади царапины. Так, после 24 ч инкубирования клеток НиТи 80 с растительным экстрактом в концентрации 10-70 мкг/мл площадь царапины без клеток равнялась от 64 до 96 %, соответственно. В то же время, в негативном контроле площадь царапины, свободная от клеток, была меньше и составила 60 %, по сравнению с исходной площадью. Таким образом, экстракт листьев *Polianthes tuberosa* вызывает дозозависимое ингибирование миграции клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека НиТи 80.

Заключение. Для образования метастазов требуется изменение клеточной адгезии, повышенная миграция клеток, управляемая протрузивной активностью клеточной мембранны и ее прикреплением к внеклеточному матриксу. Несмотря на то, что механизмы антимиграционного эффекта различных соединений остаются не до конца изученными, результаты эксперимента по оценке изменения миграции опухолевых клеток НиТи 80 под действием экстракта листьев *P. tuberosa* методом скрэтч-анализа могут быть использованы при разработке новых лекарственных средств для онкотерапии, в особенности, опухолей кишечника.

Анти mutagenная активность штамма *Lactobacillus plantarum* B578

H.C. Карамова, О.Н. Ильинская

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Молочнокислые бактерии являются привлекательным объектом многочисленных исследований в силу разнообразных профилактических и терапевтических воздействий на организм человека. Способность пробиотических бактерий снижать уровень индуцированного мутагенеза должна рассматриваться как один из важнейших критериев при отборе пробиотических штаммов, что, в свою очередь открывает перспективы создания комбинированных препаратов, обладающих геропротекторными и антиканцергенными эффектами.

Цель – оценить анти mutagenную активность штамма *L. plantarum* B578 в отношении известных химических мутагенов.

Материалы и методы. В работе использован штамм *L. plantarum* B578, полученный из Всероссийской коллекции микробов, г. Пущино. Культуру лактобацилл инкубировали в MRS бульоне в течение 30 ч при 37 °C. Пробы отбирали через 6 ч и 30 ч культивирования, что соответствует экспоненциальной и стационарной фазам роста данных бактерий. Для проведения экспериментов использовали бактериальную суспензию и супернатант культуральной жидкости. Исследование анти mutagenного эффекта проводили с применением штаммов *Salmonella typhimurium* TA100 и TA98 в тесте Эймса. В качестве известных мутагенов использовали азид натрия, NaN₃ и 2-нитрофлуорен, 2-НФ («Sigma-Aldrich»).

Результаты. Согласно полученным результатам, суспензия живых клеток и супернатант культуральной жидкости штамма *L. plantarum* B578 вызывают подавление мутагенного эффекта тестерных химических соединений, как в экспоненциальной, так и стационарной фазе роста бактерий. Анти mutagenный эффект (АЭ) в от-

ношении NaN₃ и 2-НФ составил от 18.9 % до 45.6 % и от 25.0 % до 43.5 % соответственно. Следует подчеркнуть, что значительное ингибирования действия обоих мутагенов происходит в стационарной фазе роста культуры и активность наиболее выражена для супернатанта культуральной жидкости (АЭ составил 45.6 % в отношении NaN₃ и 43.5 % – 2-НФ). По всей видимости, антимутагенное действие штамма *L. plantarum* B578 в отношении исследованных мутагенов обусловлено экзометаболитами, накапливающимися на поздних стадиях роста культуры.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о значительном антимутагенном потенциале секретируемых метаболитов штамма *Lactobacillus plantarum* B578 и перспективности использования данного штамма при разработке препаратов для профилактики негативных последствия воздействия генотоксичных факторов окружающей среды.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 24-14-00059.

Сравнительная оценка действия различных концентраций Cu₂O и ZnO на рост *Aspergillus niger*

E.A. Кацюруба, Е.С. Фуфыгина, Г.Ю. Яковлева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,

Российская Федерация

Введение. Одним из способов повышения стойкости полимерных композитов (ПК) к биоповреждениям является внесение в них токсичных для микроорганизмов дисперсных, в том числе субмикронных частиц наполнителя (например, частиц серебра, нитрата серебра, оксидов меди и цинка, хромата ртути и др.). Использование капсулированных субмикронных частиц в качестве позволяет повысить некоторые их механические характеристики за счет выбора ма-

териала и толщины оболочки. Полилактид, как капсулирующий частицы материал, может не только улучшить механические характеристики ПК, но и служить источником питания для микроорганизмов. Оксиды меди и цинка проявляют повышенную antimикробную активность, обусловленную выработкой активных форм кислорода, что в свою очередь приводит к нарушению целостности мембранны и, как следствие, к гибели клеток.

Цель – сравнить влияние различных концентраций Cu_2O и ZnO , находящихся в некапсулированной и капсулированной полилактидом форме, на рост *Aspergillus niger* на агаризованной и в жидкой питательной среде.

Материалы и методы. Оксид меди и оксид цинка в некапсулированной и капсулированной полилактидом форме вносили в жидкую и в агаризованную среды Чапека-Докса в концентрации 2.0, 5.5 и 9.0 г/л. Культивирование *A. niger* и приготовление суспензии спор проводились согласно ГОСТ 9.048-89. Для оценки роста микромицета на агаризованной среде в центр чашки Петри на поверхность среды вносили 0.01 мл водной суспензии спор *A. niger* (титр $10^5 - 10^6$ спор/мл), инкубировали при 30 °C в течение 14 суток. О росте микромицетов судили по увеличению диаметра колонии, измеренном в восьми взаимно перпендикулярных направлениях. Рассчитывали радиальную и среднюю радиальную скорость роста. Для оценки роста в жидкой среде *A. niger* в 20 мл среды вносили 0.2 мл водной суспензии спор микромицета (титр $10^5 - 10^6$ спор/мл) и культивировали 7 суток при 30 °C с принудительной аэрацией на шейкере-инкубаторе BS-3011 при 200 об/мин. Концентрацию биомассы определяли по сырому весу. В обоих случаях в качестве контроля использовали среду, не содержащую оксид меди и цинка. Математическую обработку данных проводили в стандартной компьютерной программе «Excel 7.0.».

Результаты. Внесение Cu_2O и ZnO в среду Чапека-Докса привело к снижению средней скорости роста *A. niger* на поверхности питательной среды. Хорошо прослеживается дозозависимый эффект как

при добавлении биоцидов в капсулированной, так и в некапсулированной формах. При концентрации Cu₂O и ZnO 9.0 г/л отмечали зависимость подавления роста *A. niger* от формы внесения биоцидов. Cu₂O и ZnO в капсулированной форме снижали средней скорости роста микромицета по сравнению с контролем в 4.5±0.03 и в 3.21±0.08 раз, а в некапсулированной – в 6.2±0.05 и 2.64±0.10 раза, соответственно. Концентрация биомассы *A. niger* на 7 сутки культивирования при росте в жидкой среде Чапека-Докса с добавлением различных концентраций Cu₂O и ZnO в некапсулированной форме снижалась по сравнению с контролем в среднем в 24.3±8.1 и 16.8±7.1 раза, в капсулированной форме – в 30.9±5.2 и 21.4±9.4, соответственно.

Заключение. Оксид меди, внесенный в некапсулированной и капсулированной полилактидом форме, проявил большую фунгицидную активность в отношении *A. niger*, подавляя рост микромицета как на агаризованной, так и в жидкой среде Чапека-Докса. Cu₂O подавлял рост *Aspergillus niger* на агаризованной питательной среде Чапека-Докса в среднем в 1.80±0.10 раз, а на жидкой питательной среде – в среднем 1.55±0.32 сильнее, а чем ZnO.

Мутационный анализ рибонуклеазы *Bacillus pumilus* 7P *in silico*

A.C. Коснырев, В.В. Ульянова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,

Российская Федерация

Введение. Секретируемая рибонуклеаза *Bacillus pumilus*, биназа, известна своим дозозависимым цитотоксическим действием по отношению к опухолевым клеткам. Известно, что биологические эффекты рибонуклеаз обусловлены зарядом, каталитической активностью, а также их четвертичной структурой. И хотя отдельные взаимодействия аминокислотных остатков в димере биназы уже описаны,

остаётся невыясненным влияние N- и C-терминальных участков, а также аминокислот активного центра биназы на димеризацию белка.

Цель – оценка параметров и характера образования димеров мутантными формами биназы на основе молекулярного моделирования.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования выбрали мутантные формы биназы с заменами аминокислот активного центра K26A и H101E, а также с делециями 22, 38, 48 N-концевых и 7 C-концевых аминокислотных остатков. Третичные структуры нативной биназы и её мутантов смоделировали с помощью алгоритма AlphaFold3. В веб-сервисе GalaxyWeb Homomer сконструировали гомодимеры полученных моделей и выбрали комплексы с наиболее высокими показателямистыковки. Визуализировав модели в молекулярном редакторе Swiss-PdbViewer, проанализировали схожесть мутантных форм с нативной, а также особенности четвертичной структуры. Затем в исследуемых димерах с помощью сервиса PPCheck вычислили свободную энергию белок-белковых взаимодействий.

Результаты. Третичные структуры полученных моделей мутантных форм биназы практически неотличимы от нативной формы, также аналогично и взаимное расположение аминокислот активного центра. У нативной формы биназы среди наиболее устойчивых димеров был обнаружен вариант, опосредованный обменом N-концов, в то время как делеционные мутанты биназы образовывали димеры преимущественно за счёт гидрофобного взаимодействия между β -листами. Значения свободной энергии взаимодействий у мутантных форм $\Delta 22N$ и $\Delta 48N$ в среднем выше (766 и 844 кДж/моль, соответственно), а у $\Delta 38N$ и $\Delta 102C$ – ниже (299 и 54 кДж/моль, соответственно), чем у биназы дикого типа (596 кДж/моль). Точечные мутанты биназы чаще всего принимали конформацию с закрытыми активными центрами, причём свободная энергия взаимодействий оказалась ниже, чем у аналогичного димера нативной формы (316 кДж/моль у K26A и -14 кДж/моль у H101E против 998.03 кДж/моль у биназы дикого типа).

Заключение. *In silico* анализ димеризации биназы и её мутантов показал, что влияние делеций элементов третичной структуры на образование комплексов неоднозначно. Варианты $\Delta 22N$ и $\Delta 48N$ будут образовывать менее устойчивые димеры, в то время как $\Delta 38N$ и $\Delta 102C$ имеют большую склонность к димеризации. Мутантные формы биназы с точечными заменами имеют более устойчивые димеры в закрытой конформации по сравнению с димерами нативного белка, причём как с закрытыми, так и открытыми активными центрами.

Финансирование. Работа выполнена за счет предоставленного в 2024 году Академией наук Республики Татарстан гранта на осуществление фундаментальных и прикладных научных работ в научных и образовательных организациях, предприятиях и организациях реального сектора экономики Республики Татарстан.

Биоразнообразие воды Голубого озера (г. Казань)

**У. Курди, К.М. Киселева, Г.Ю. Яковлева, А.И. Колпаков,
О.Н. Ильинская**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Микробные сообщества играют важнейшую роль в функционировании пресноводных водоёмов. Более того, микробиота каждого водоёма уникальна. Исследование микробных сообществ способствует развитию таких важных отраслей, как биотехнология, фармацевтика и пищевая промышленность, именно поэтому эта тема вызывает большой интерес у учёных. Голубое озеро, в результате притока сульфатных подземных вод, обладает высоким разнообразием микробных сообществ, участвующих в круговороте серы. Кроме того, донные отложения Голубого озера обладают высокой бальнеологической ценностью, что также подтверждает уникальность экосистемы этого озера. Рибонуклеазы (РНКазы) являются ферментами,

катализирующими гидролиз фосфодиэфирных связей в молекулах РНК. Они выполняют множество функций: контролируют экспрессию генов, участвуют в превращении предшественников РНК в зрелые формы, контролируют процессы роста и дифференцировки клеток, вызывают апоптоз. Изучение водных микробных сообществ является важным вкладом в поиск новых продуцентов РНКаз.

Цель – характеристика сообщества микроорганизмов Голубого озера г. Казани.

Материалы и методы. Пробы воды большого Голубого озера отбирали в трех точках, расположенных на разном расстоянии от берега, на глубине около 14 метров. Метагеномный анализ образцов проб воды проводили методом секвенирования гена 16S рРНК с использованием технологий ILLUMINA MiSeq. Данные секвенирования были обработаны и проанализированы с использованием программного обеспечения Mothur. Выделение чистых культур бактерий проводилось на средах LB-агар и R2A. Выделенные чистые культуры микроорганизмов идентифицировались с помощью метода прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии. Для оценки активности РНКазы использовали бесфосфорную среду (БФС) с добавлением дрожжевой РНК. Об РНКазной активности судили по зонам просветления после того, как чашки были залиты 1N раствором HCl.

Результаты. В усредненном образце воды Голубого озера было выявлено 813 операционных таксономических единиц (ОТЕ). Образец обладал высоким видовым разнообразием (индекс Шеннона-Винера составил 3.684, индекс Симпсона – 0.8978). В исследуемом образце воды преобладали представители фила Proteobacteria (32 %) и Bacteroidota (11 %). Среди филы Proteobacteria в образце преобладали представители порядков *Gammaproteobacteria* и *Alphaproteobacteria*. Среди порядков *Gammaproteobacteria* преобладающими оказались семейства *Comamonadaceae* (15 %) и *Steroidobacteraceae* (4 %), среди *Alphaproteobacteria* – представители семейства *Rhodobacteraceae* (9

%). Из представителей фила Bacteroidota доминирующими являлись бактерии семейства *Flavobacteriaceae* (17 %), *Chitinophagaceae* (11 %), *Microscillaceae* (6 %), *Cyclobacteriaceae* (6 %). Из образца воды Голубого озера было выделено 25 бактерий, 18 из которых были идентифицированы методом прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии до вида. Среди изолятов преобладали бактерии родов *Bacillus* и *Pseudomonas*. Из 25 изолятов 9 оказались способными секretировать РНКазу. Максимальной РНКазной активностью обладали *Bacillus subtilis* (коэффициент 2.5) и *Bacillus megaterium* (коэффициент 2.1).

Заключение. Получены данные о составе микробного сообщества воды Голубого озера г. Казани. Выделены штаммы бактерий, способные секretировать РНКазу, что открывает возможности для дальнейшего исследования их биологических свойств и возможного применения в противовирусной и противоопухолевой терапии.

Молекулярно-филогенетический анализ барстар-подобного семейства ингибиторов рибонуклеаз рода *Bacillus*

С.А. Лугинская, В.В. Ульянова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Бактериальные рибонуклеазы давно известны своими противовирусными и противоопухолевыми свойствами, что делает их привлекательными объектами для исследователей, в то время как ингибиторы рибонуклеаз стали предметом повышенного внимания лишь в последние десятилетия. Наиболее изученный ингибитор рибонуклеазы барназы *Bacillus amyloliquefaciens* – барстар находит применение в разработке противовирусной терапии и таргетной терапии рака, создании мультивалентных комплексов, получении стерильности у растений. Известно, что барстар является не единствен-

ным представителем семейства ингибиторов прокариотических рибонуклеаз: литературные данные свидетельствуют о наличии еще одного потенциального ингибитора, названного YrdF. Гомологи этого белка встречаются и у других видов бацилл, демонстрируя высокий уровень сходства первичных структур.

Цель – реконструкция эволюционных взаимоотношений между ингибиторами рибонуклеаз рода *Bacillus*.

Материалы и методы. Аминокислотные последовательности были взяты из базы данных UniProrKB. В качестве референсной была использована последовательность барстара *B. amyloliquefaciens* (P11540). Попарное выравнивание последовательностей проводили в программе MEGA12, применяя алгоритм ClustalW. Затем осуществляли тримминг с помощью программного обеспечения TrimAl. Филогенетическое дерево строили методом максимального правдоподобия. Для оценки возможного горизонтального переноса генов и дупликации составляли филогенетическую сеть в программе SplitsTree с помощью алгоритма Neighbor-Net.

Результаты. Филогенетическая реконструкция на основе попарного выравнивания аминокислотных последовательностей показала сложные эволюционные взаимоотношения между ингибиторами рибонуклеаз у представителей рода *Bacillus*. На филограмме отмечено четкое разделение на 3 основные клады, которые условно можно обозначить как барстар-подобные ингибиторы (*B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*), YrdF-подобная группа (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*) и дивергировавшая группа (*B. pumilus*, *B. safensis*, *B. altitudinis*). Эволюционная близость YrdF *B. licheniformis* к барстару может свидетельствовать о горизонтальном переносе генов, а наличие двух ингибиторов у *B. amyloliquefaciens* – о дупликации. Для подтверждения этой теории была построена филогенетическая сеть, которая показала выраженные недревовидные сигналы, проявляющиеся в виде циклических структур между барстаром и ингибитором *B. licheniformis*. Эта топо-

логическая особенность указывает на возможный горизонтальный перенос или рекомбинацию между данными линиями. При этом ключевые аминокислотные остатки идентичны у двух белков. YrdF-подобная клада, вероятно, является промежуточной группой, в пользу этого предположения свидетельствуют уникальные замены ключевых аминокислотных остатков и структурная близость белков к барстару. Можно предположить, что развитие YrdF *B. amylolyquefaciens* и ингибитора *B. subtilis* остановилось на промежуточной стадии эволюции. Наиболее отдаленной группой оказался кластер, включающий ингибиторы *B. pumilus*, *B. altitudinis* и *B. safensis* и демонстрирующий признаки направленной эволюции с модификацией ключевых аминокислотных остатков.

Проведенный анализ эволюционных взаимоотношений ингибиторов бациллярных рибонуклеаз выявил сложную картину их диверсификации. Наблюдаемое разделение указывает на важную роль процессов дупликации генов и последующей специализации и требует дальнейшего изучения.

Заключение. Полученные данные подчеркивают, что эволюция ингибиторов рибонуклеаз бацилл происходила через сложное сочетание различных механизмов, включая дупликации генов, функциональную специализацию и возможные события горизонтального переноса. Полученные результаты создают основу для дальнейшего изучения молекулярной эволюции бактериальных ингибиторов и их биотехнологического применения.

Выделение и идентификация суммарной фракции липопептидов *Bacillus subtilis* GM5 методом масс-спектрометрического анализа

Г.Ф. Лутфуллина, А.М. Абубакирова, А.В. Лайков, А.М. Марданова
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

Введение. Антимикробные липопептиды (АМП) – амфи菲尔ные поверхностно-активные вторичные метаболиты бактерий. АМП являются альтернативой обычным противомикробным препаратам за счет низкой скорости развития микробной устойчивости. Эти внеклеточные и внутриклеточные метаболиты микроорганизмов действуют с меньшим количеством побочных эффектов, обладают лучшей биодеградируемостью и меньшей токсичностью по сравнению с синтетическими поверхностно-активными веществами. АМП обладают антимикробной, противогрибковой, иммунодепрессантной и противоопухолевой активностью. Антимикробные липопептиды бактерий рода *Bacillus* активны против широкого спектра микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам.

Цель – выделение, концентрирование, очистка и идентификация суммарной фракции липопептидов штамма-пробиотика *Bacillus subtilis* GM5.

Материалы и методы. Суммарную фракцию липопептидов выделяли из культуральной жидкости *B. subtilis* GM5, культивированной на среде Soybean Medium Nutrition (SMN) в течение 96 ч при температуре 37 °C методом кислотного осаждения. Сухой продукт суммарной фракции липопептидов получали концентрированием с использованием вакуумного испарителя. Предварительную очистку липопептидов проводили путем двухступенчатой ультрафильтрации на трубчатой полисульфоновой ультрафильтрационной сепарационной установке Millipore с молекулярным отсеканием мембран менее 30 000 Да. Фракцию липопептидов анализировали на масс-спектрометре с

тройным квадруполем QTRAP 6500 (Sciex, Сингапур), комбинированном с жидкостным хроматографом Infinity 1290.

Результаты. Полная хроматограмма, снятая в режиме multiple reaction monitoring (MRM) показала основные пики от 3.5 до 12 мин. В диапазоне 3.5-12 мин основные пики сурфактина и его аналогов элюировались при времени удерживания (*tR*) 10,10; 11,31; 11,45; 11,01; 10,49; 9,62; 10,07; 10,18; 10,46 и 9,65 мин, что соответствует ионам $[M + H]^+$ с *m/z* 1022; 1022; 1008; 994; 1036; 1026; 1040; 1040; 1054; 1050 в положительном режиме ионизации. Соединения, выявленные в суммарной фракции липопептидов *B. subtilis* GM5 на среде SMN, охарактеризовали по следующим параметрам: родительская и дочерняя массы, время выхода.

Заключение. Таким образом, согласно результатам массспектрометрического анализа на приборе QTRAP6500 в суммарной фракции липопептидов, выделенной из культуральной жидкости *B. subtilis* GM5, идентифицировали сурфактин, линейный сурфактин и сурфактин/эсперин (соединения, не отличающиеся по молекулярной массе).

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 24-26-00272.

Новый ризосферный изолят *Bacillus subtilis*: характеристика биоконтрольных свойств

**Мамчур А.А., Васильева Ю.А., Гильмутдинова А.И., Рудакова Н.Л.,
Данилова Ю.В., Шарипова М.Р.**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение: *Bacillus subtilis* выступают важным биотическим агентом ризосферных сообществ, где проявляют антагонистические и фитопротекторные свойства. Благодаря широкому спектру метаболи-

ческих путей штаммы *B. subtilis* относят к функциональной группе PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). В частности, секреция протеаз играет ключевую роль в улучшении доступности питательных веществ для растений в ризосфере. Наличие протеолитической активности у *B. subtilis* способствует лучшей адгезии на корневой системе и повышению плодородия почвы. Второй важной характеристикой бацилл является их антагонистическая активность в отношении представителей рода *Fusarium*, которые вызывают экономически значимое заболевание сельскохозяйственных культур. Эти характеристики делают *B. subtilis* перспективным кандидатом для применения в качестве эффективного биологического удобрения и биопестицида. Отбор штаммов *Bacillus* с данными свойствами имеет большое значение для разработки действенных биологических методов защиты сельскохозяйственных растений.

Цель – оценка протеолитической активности, характеристика антагонистической активности по отношению к фитопатогенным микромицетам *Fusarium oxysporum* ризосферного изолята *B. subtilis* AM7.

Материалы и методы. Почвенный изолят *B. subtilis* AM7 был выделен в чистую культуру из ризосферы *Solanum tuberosum*. Исследование антагонистической активности проводили на картофельном агаре по отношению к возбудителям фузариозного увядания картофеля - микромицетам *Fusarium oxysporum* DR40 и DR57. Для определения протеолитической активности штамма проводили его выращивание на молочном агаре в течение двух суток.

Результаты. По измерению радиуса зон подавления определили, что *B. subtilis* AM7 эффективно сдерживает рост фитопатогенов *Fusarium oxysporum* DR40 и DR57 на 53% и 62% соответственно. При определении протеолитической активности штамма *B. subtilis* AM7 были обнаружены зоны просветления с радиусом 1,4 см, что указывает на наличие протеолитической активности.

Заключение. Таким образом изолят *B. subtilis* AM7 обладает антигистическими свойствами против микромицетов *F. oxysporum* DR40 и DR57, а также высокой протеолитической активностью, что делает его перспективным для использования в качестве биоудобрения.

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ №25-16-00143.

Способность *Morganella morganii* секretировать гемолизин в составе внеклеточных мембранных везикул

П.С. Мишеева, Г.И. Мухтарова, Л.Ф. Миннуллина

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) относятся к группе хронических заболеваний, затрагивающих большую часть населения. Около 80 % случаев ИМП вызваны уропатогенными штаммами *Escherichia coli* (UPEC), хотя также могут стать и *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Morganella morganii*. UPEC способны секрецировать токсины, такие как альфа-гемолизин (HlyA), который обнаруживается в супернатантах в свободной и связанной с внеклеточными мембранными везикулами (OMVs) формах. Оба типа токсина взаимодействуют с эритроцитами человека и вызывают их лизис, но гемолизин, ассоциированный с OMVs, более стабилен и сохраняет свою активность дольше. Гомологи HlyA были обнаружены у *M. morganii*, но данные о способности формировать OMVs отсутствуют.

Цель – определить способность *Morganella morganii* секрецировать гемолизин в составе внеклеточных мембранных везикул на разных стадиях роста.

Материалы и методы. Выделение OMVs из культуры *M. morganii* на экспоненциальной и стационарной фазах роста проводили методом ультрафильтрации. В качестве дополнительного этапа культуры подвергали холодовому шоку. Клетки осаждали центрифугированием, культуральную жидкость последовательно пропускали через стерильные шприцевые фильтры, после чего фильтрат сконцентрировали с помощью центрифужных концентраторов на 100 кДа. Визуализация OMVs проводили с помощью просвечивающего электронного микроскопа Hitachi HT7700 Exalens (Япония). Гемолитическую активность оценивали с использованием 2 % суспензии эритроцитов.

Результаты. Показали, что во всех пробах были обнаружены сферические мембранные структуры, размер и количество которых различались в зависимости от фазы роста и способа получения. Многочисленные OMVs были обнаружены в образцах, полученных из стационарных культур, размер их варьировал от 5 до 50 нм. Тем временем, в образцах, полученных из экспоненциальных культур, OMVs были редки и размер их не превышал 20-30 нм, хотя встречались отдельные везикулы размером до 50 нм в образцах после холодового шока. В целом, препараты OMVs из экспоненциальных культур, несмотря на идентичную методику выделения, были гораздо менее чистыми, чем для стационарных культур, что вероятно связано с активным метаболизмом первых. Уровень гемолитической активности наблюдали в диапазоне от 91.2 до 93.1 %. Холодовой шок увеличивал степень гемолиза всего на 3 %. Везикулы, полученные из экспоненциальных культур, обладали в 3-4 большей гемолитической активностью.

Заключение. Впервые показано, что *M. morganii* способна секретировать внеклеточные мембранные везикулы, размер которых варьирует от 5 до 200 нм. Больше всего везикул бактерии образуют на стационарной фазе роста, однако наибольший уровень гемолитической активности в лизатах везикул обнаруживается на экспоненциальной фазе, что согласуется с экспрессией гена гемолизина.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-75-00017.

**Создание генетической конструкции на основе
аденоассоциированного вируса и гена цитотоксичной биназы**

П.С. Морозова, А.И. Надырова, Е.В. Дудкина

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Генная терапия – совокупность методов, направленных на лечение заболеваний различной этиологии путем внедрения в клетки-мишени терапевтических геноконструкций. Терапевтический потенциал данного подхода реализуется за счет исправления генных дефектов, индукции апоптоза в патологических клетках или придания клеткам новых свойств. Суициdalная генотерапия рака – метод лечения онкологических заболеваний путем введения генных конструкций с суициальными генами, способствующих гибели опухолевых клеток. Среди перспективных цитотоксичных агентов выделяют рибонуклеазу *Bacillus pumilus* – биназу. Преимуществом биназы является наличие различных молекулярных механизмов, способствующих инициации апоптоза в опухолевых клетках. РНКаза способна расщеплять внутриклеточную РНК с образованием регуляторных микроРНК, запускающих экспрессию апоптотических генов, а также ингибировать пути передачи сигналов, способствующих клеточной пролиферации. Помимо выбора цитотоксичного агента, особое внимание уделяется носителю, который должен быть не токсичен и обеспечивать высокую эффективность доставки трансгена в клетки-мишени. Вирусные системы доставки, несмотря на наличие существенных недостатков, являются наиболее перспективными носителями. При этом вектора на основе аденоассоциированных вирусов (AAV) зарекомендовали себя как одни из самых эффективных и относительно безопасных

вирусных систем, обеспечивающих высокую степень трансдукции и длительную экспрессию трансгена.

Цель – создание генотерапевтической конструкции рAAV-Bi на основе аденоассоциированного вектора рAAV и суициdalного гена цитотоксичной рибонуклеазы – биназы.

Материалы и методы. Для создания генотерапевтической конструкции на основе гена биназы использовали коммерческий вектор рAAV-MCS (4650 п.н. Addgene). Ген биназы оптимизировали на основе алгоритма Optimum Gene с помощью химического синтеза нуклеотидной последовательности *de novo* и амплифицировали с использованием праймеров F-Bi-ad-EcoRI и R-Bi-ad-BamH. Полученные вставку и вектор рестриционными энзимами EcoRI и BamHІ, очищали с использованием коммерческих наборов diaGene (Диаэм, Россия) по стандартным протоколам, и лигировали. Лигазной смесью трансформировали клетки *E.coli* B1829-brst, несущие ген барстара, ингибитора РНКазы *B. amyloliquefaciens*, в геноме. Отбор клонов проводили на среде L-агар с добавлением 0.2 % арабинозы и антибиотика ампициллина (200 мкг/мл).

Результаты. Для эффективной экспрессии гена биназы в клетках эукариот кодонный состав бактериального гена оптимизировали, учитывая такие факторы, как: смещение кодонов, вторичную структуру мРНК, GC-состав, содержание СрG-динуклеотидов и другие. Амплификация гена биназы позволила получить ПЦР-продукт размером 352 п.о., что соответствует размеру исследуемого гена. Рестрикционный анализ генетической конструкции, выделенной из клонов, полученных после трансформации, выявил наличие двух фрагментов размером 4625 п.о. и 352 п.о., характерных для клонируемого вектора и вставки. ПЦР-анализ подтвердил наличие вставки в составе созданной генетической конструкции. Корректность нуклеотидной последовательности клонированного гена биназы была подтверждена с помощью секвенирования по Сэнгеру.

Заключение. В ходе работы была получена генетическая конструкция рAAV-Bi на основе аденоассоциированного вируса и суицидального гена биназы, оптимизированного для экспрессии в клетках эукариот. Ген биназы был клонирован под контроль цитомегаловирусного промотора, экспрессия которого усиlena наличием интрона гена бета-глобина человека. Дальнейшие исследования позволят получить вирусные частицы, несущие созданную терапевтическую конструкцию, и оценить эффективность трансдукции и противоопухолевый эффект генетической системы на основе гена биназы.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Показатели приспособленности природных и лабораторных линий дрозофил в условиях инфицирования

Staphylococcus aureus

Р.И. Нурасов, Л.Т. Хайруллина, М.А. Харитонова, В.В. Костенко
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

Введение. Биополлютанты являются опасными загрязняющими агентами, представляющими собой живые организмы (бактерии, вирусы, простейшие) и продукты их жизнедеятельности (токсины и аллергены). Среди биополлютантов наиболее многочисленны и значимы условно-патогенные и патогенные бактерии, которые относят к патогенным биологическим агентам (ПБА). Многие виды бактерий способны длительное время сохраняться в окружающей среде, а менее устойчивые к неблагоприятным факторам могут оставаться жизнеспособными в составе микробиомов носителей и распространяться посредством таких переносчиков как насекомые.

Drosophila melanogaster – это распространенный и удобный модельный организм, широко используемый для изучения эффектов кишечной микробиоты. Кишечник дрозофил имеет структурное и функциональное сходство с кишечником млекопитающих. Мухи и млекопитающие имеют схожие сигнальные пути, такие как Toll и Toll-подобные рецепторы, а также схожие защитные иммунные механизмы. Поэтому сегодня *Drosophila* широко используется в качестве модели *in vivo* для изучения бактериальных инфекций.

Цель – на модели *Drosophila* оценить особенности формирования признаков приспособленности насекомых в условиях инфицирования *S. aureus*.

Материалы и методы. В работе использовали линии дрозофил – Canton-S, Harwich и Верхний Услон (ВУ) (представляет собой природную популяцию мух, собранных близ с. Верхний Услон Республики Татарстан в августе 2021 г.). Мух инфицировали перорально супензией клеток *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 29213 ($\sim 1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл), которую вносили на поверхность питательной среды. Наличие и количество жизнеспособных стафилококков оценивали путем гомогенизации инфицированных дрозофил и последующего высея 10-кратных серийных разведений на питательную среду для выделения стафилококков (Стафилококк-агар).

Результаты. Показано, что у мух, инфицированных штаммом *S. aureus* наблюдается значимое снижение количества отложенных самками яиц: в линии Canton-S на 66 %, в линии Harwich на 29 %, в линии ВУ на 92 % по сравнению с данными для интактных особей. Инфицирование дрозофил золотистым стафилококком увеличивает количество умерших потомков на стадии эмбриогенеза и на стадии куколки. В результате инфицирования мух всех трех генотипов наблюдалось достоверное снижение нейромышечной активности (снижение двигательной активности фиксируется в диапазоне от 30 % до 75 %). По завершению эксперимента стафилококки были обнаружены у инфицированных дрозофил всех исследуемых линий, при этом

наибольшее их количество наблюдалось у Harwich (613 ± 29 КОЕ/муха), наименьшее у ВУ (10 ± 3 КОЕ/муха), промежуточные значения у Canton-S (310 ± 17 КОЕ/муха).

Заключение. Таким образом, на модели *D. melanogaster* получены данные о формировании приспособленности насекомого в условиях инфицирования *S. aureus*, которое характеризуется снижением комплекса адаптивных признаков.

Влияние РГР-штамма бацилл на индукцию системной защиты растений картофеля в присутствии фитопатогенного микромицета

Н.Л. Рудакова, Ю.В. Данилова, Ю.А. Васильева, Д.И. Хасанов,

А.И. Гильмутдинова, М.Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,

Российская Федерация

Введение. Один из основных системных защитных механизмов растений при контакте с патогеном – это продукция активных форм кислорода (АФК). Для защиты от АФК собственных клеток растения производят ферменты пероксидазу и супероксид дисмутазу (СОД). Детекция уровня активности данных ферментов позволяет оценить готовность растения к борьбе с патогеном. Ризосферные бактерии-симбионты могут способствовать более эффективному АФК-ассоциированному ответу растения на заражение.

Цель – оценить влияние ризосферного изолята *Bacillus subtilis* GM5 на активность пероксидазы и СОД растений картофеля при последующем заражении *Fusarium oxysporum*. Оценить роль сидерофора бациллибактина в процессе формирования АФК-ассоциированного ответа растений картофеля на заражение *F. oxysporum*.

Материалы и методы. Анализировали активность СОД и пероксидазы в листьях картофеля в присутствии ризосферного изолята

B. subtilis GM5 и его мутанта с делецированным геном сидерофора бациллибактина *B. subtilis* GM5 ΔdhbF в присутствии микромицета *Fusarium oxysporum*. Инокуляция штаммами бактерий ($5 \cdot 10^7$ КОЕ/мл) проводилась в течение 24 часов при 28 °С. Инокуляцию спорами *F. oxysporum* DR57 ($5 \cdot 10^6$ конидий/мл) проводили в течение 1.5 часов при 28 °С. По завершению совместного культивирования отделяли стебель с листьями, взвешивали, гомогенизировали и определяли активность пероксидазы и СОД.

Результаты. В присутствии *Fusarium* уровень активности СОД в экстрактах картофеля вдвое превышает таковой для образцов, выращенных в присутствии ризосферного изолята. При обработке растения мутантным штаммом, лишенным бациллибактина уровень активности СОД почти втрое превышает таковой для растений, инфицированных *Fusarium*. Для образцов растений, зараженных фитопатогеном после предварительной обработки бактериальными штаммами уровень активности СОД в среднем на 30 % превышали таковой для контроля с патогеном. Образцы, предварительно обработанные мутантным штаммом, имели уровень активности СОД на 25 % выше, чем образцы после обработки исходным изолятом. Активность пероксидазы была выше в образцах с исходным изолятом, а не с мутантом. Предварительное праймирование растений бациллярными культурами повысило уровень активности пероксидазы после контакта с *Fusarium* относительно такового при заражении на 10-15 %. При этом уровень пероксидазы после обработки изолятом GM5 был выше, чем после обработки мутантным штаммом.

Заключение. Предварительная «иммунизация» растений картофеля бациллярными изолятами повышает уровень активности их антиоксидантных ферментов. Это указывает на общее повышение уровня АФК в тканях «иммунизированных» растений при контакте с патогеном, чем у растений без предварительной обработки бациллярными штаммами. Показано, что бациллярные штаммы в качестве фитопротекторов усиливают ответ ISR системы растений. При этом реакция

растений на бациллибактин в случае различных ферментов утилизации АФК неоднозначна. Присутствие делеционного мутанта вызывало как усиление функции антиАФК ферментов (СОД), так и ослабление (пероксидаза). Вероятно, бациллибактин не играет ключевой роли в реакциях защиты растения от собственных АФК, но при этом он определенно детектируется системами защиты от АФК.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № № 25-16-00143.

Сравнительная характеристика культуральных и адгезивных свойств дикого штамма *Klebsiella oxytoca* и мутанта с делецией гена металлопротеиназы

Д.С. Рыженков, П.С. Мишеева, Л.Ф. Миннуллина

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. *Klebsiella oxytoca* является как членом комменсальной микрофлоры, так и важным условным патогеном человека, вызывающим большое разнообразие инфекций, начиная от легкой диареи и заканчивая опасным для жизни сепсисом. Ввиду своей патогенности *K. oxytoca* обладает целым рядом факторов вирулентности, одними из которых являются металлопротеиназы. Эти ферменты активно участвуют в патогенезе, разрушая иммуноактивные белки организма хозяина, активируя предшественники цитокинов, а также способствуя инвазии возбудителей в клетки эукариот.

Целью данной работы было установление особенностей роста и адгезивных свойств дикого штамма *K. oxytoca* и мутанта с инактивированным геном металлопротеиназы класса М4, а также морфологическое сравнение их клеток.

Материалы и методы. В данной работе использовались выделенный с поверхности мочеточникового стента штамм *K. oxytoca* NK-

1 и его мутант с инактивированным геном термолизиновой металло-протеиназы (*prtKO*). Для определения динамики роста оба штамма культивировались в течение 48 ч на среде LB с аэрацией при температуре 37 °C. Культуры отбирались каждые 4 ч и с помощью спектрофотометра измерялась их оптическая плотность при длине волн 590 нм. Для сравнения морфологии клеток штаммов на разных этапах роста культуры, отобранные на 8, 24 и 48 ч, были окрашены по Граму и исследованы под световым микроскопом при увеличении 100х. Адгезивные свойства штаммов оценивались по их способности прикрепляться к абиотическим поверхностям: ночные культуры бактерий были разведены до оптической плотности OD₅₉₀ ≈ 0.05, посажены в пластиковые стерильные чашки Петри малого диаметра и инкубировались в течение 2 ч при 37 °C в стационарных условиях. После чего питательную среду сливали, чашки промывали стерильной водопроводной водой и окрашивали 0.1 % раствором генцианового фиолетового в течение 15 мин. Способность к адгезии у двух штаммов оценивали при помощи светового микроскопа при увеличении 100х.

Результаты. В ходе исследования было обнаружено, что более интенсивный рост наблюдается у дикого типа *K. oxytoca* NK-1 в отличие от штамма с инактивированным геном металлопротеиназы. Однако данные различия наблюдались лишь с 24 ч культивирования, на котором скорость роста дикого штамма была на 7 % выше, чем у мутанта, а к 48 ч разница составила 9 %. При этом, мутантный штамм примерно в 3 раза лучше адгезировал на поверхности чашек Петри: в среднем в поле зрения микроскопа насчитывалось около 240 клеток мутанта напротив 72 клеток дикого типа. Морфологических различий между клетками штаммов не наблюдалось, оба представляли собой грамотрицательные палочковидные формы с закругленными концами.

Заключение. Таким образом, мы показали, что инактивация гена металлопротеиназы привела к небольшому замедлению роста мутантного штамма по сравнению с диким типом. Данная мутация так-

же способствовала увеличению адгезивных свойств штамма, что может свидетельствовать об ее влиянии на экспрессию генов адгезинов.

Влияние абиотических стрессовых факторов на морфометрические параметры микrorастений картофеля

В.В. Симонов, А.А. Туркина, А.А. Николаева, М.Т. Лутфуллин
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

Введение. Картофель является важной сельскохозяйственной культурой, используемой в продовольственных, кормовых и технических целях. Неблагоприятные абиотические факторы окружающей среды, такие как засоленность, высокая или низкая температура, влияют на морфометрические параметры растений картофеля, что приводит к снижению урожайности культуры.

Цель – исследование влияния абиотических факторов (засоленность, высокая и низкая температуры) на морфометрические параметры микrorастений картофеля сорта Жуковский ранний.

Материалы и методы. Асептические микrorастения картофеля сорта Жуковский ранний получали *in vitro* на жидкой питательной среде Мурасига-Скуга из стеблевых черенков. Для экспериментов *in vivo* корни двухнедельных микrorастений отмывали от остатков питательной среды. Микrorастения картофеля контрольного варианта инкубировали в течение 7 сут в нормальных (стерильная водопроводная вода) и стрессовых условиях (при температурах 37 °C, 4 °C; в стерильном солевом растворе NaCl в концентрации 2 %) в ростовой камере при температуре 22±2°C, 16 ч световом периоде и интенсивности освещения 2000 люкс/м². Определение морфометрических параметров (длина, влажная и сухая масса корней и стеблей) микrorастений картофеля проводили на 5 сутки инкубирования.

Результаты. Культивирование микрорастений картофеля в условиях солевого стресса оказывало влияние на длину стеблей и массу корней. Показали, что солевой стресс приводил к снижению длины стеблей на 31.1 % и влажной массы корней на 65.8 %. Повышение температуры (37 °C) культивирования микрорастений картофеля не оказывало влияния на длину и массу корней, однако приводило к снижению длины стеблей на 36.4 % и влажной массы – 77.2 %. Низкая температура (4 °C) снижала длину стеблей микрорастений картофеля на 12.6 %, при этом не установили достоверную разницу в показателях длины и массы корней, массы стеблей.

Заключение. Установили, пониженная температура меньше всего оказывала влияние на морфометрические параметры растений картофеля. Это свидетельствует о том, что картофель сорта Жуковский ранний наиболее устойчив к такому виду абиотического стресса. Солевой стресс и повышенная температура негативно влияли на морфометрические параметры растений картофеля. Полученные результаты позволили установить влияние абиотических факторов (засоленность, высокая и низкая температуры) на культивирование микрорастений картофеля сорта Жуковский ранний, что свидетельствует о перспективности данных исследований для сельскохозяйственной биотехнологии.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 24-76-00059.

Способность штамма *Pantoea brenneri* 3.2 с делетированным геном *ipdC* синтезировать индол-3-уксусную кислоту

**Л.В. Сокольникова, Д.С. Бульмакова, А.Д. Сулейманова,
М.Р. Шарипова**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Ризобактерии при взаимодействии с растениями способны вызывать у них состояние индуцированной системной резистентности (ISR), при котором повышаются защитные способности. Однако молекулярные основы возникновения ISR до конца не изучены. Известно, что фитогормоны принимают активное участие в этом процессе. Одним из наиболее часто продуцируемых фитогормонов является индол-3-уксусная кислота (ИУК). Ключевой этап биосинтеза ИУК по индол-3-пируватному пути осуществляет индол-3-пируватдекарбоксилаза, кодируемая геном *ipdC*. Оценить вклад в развитие ISR определенных генетических локусов можно путем их инактивации и последующего анализа взаимодействия бактерий с растениями.

Цель – получить безмаркерный мутантный штамм с делетированным геном индол-3-пируватдекарбоксилазы и оценить его способность синтезировать ИУК.

Материалы и методы. Инактивацию гена *ipdC* в геноме штамма *Pantoea brenneri* 3.2 проводили с помощью системы рекомбинации фага Lambda Red с использованием векторов pKD4, pKD46-Gm и pCP20. Способность нативного и мутантного штаммов синтезировать ИУК оценивали на среде LB с добавлением 4 mM L-триптофана. Аликвоты культуры отбирали каждые 2 часа первые 12 часов, а затем каждые 12 часов в течение 3 суток. Бесклеточный супернатант смешивали с Реактивом Сальковского ($0.5\text{ M FeCl}_3 + 35\% \text{ HClO}_4$) в соотношении 1:4, инкубировали 30 минут в темноте, а затем измеряли

оптическую плотность OD₅₃₀ на спектрофотометре при длине волны 530 нм. Для построения калибровочной кривой использовали синтетическую ИУК с концентрацией от 0 до 100 мкг/мл с шагом в 10 мкг.

Результаты. С помощью системы рекомбинации фага Lambda Red был получен безмаркерный штамм *P. brenneri* 3.2 Δ*ipdC* с делетированным геном индол-3-пируватдекарбоксилазы. При изучении динамики биосинтеза ИУК нативным и мутантным штаммами *P. brenneri* 3.2 было установлено, что оба штамма продуцировали максимальное количество ИУК на 10 час роста. При этом нативный штамм синтезировал 29.02 мкг/мл ИУК, а мутантный штамм – 19.96 мкл/мл. Таким образом, способность мутантного штамма *P. brenneri* 3.2 Δ*ipdC* продуцировать ИУК снизилась на 31.2 % по сравнению с нативным штаммом. Полученные результаты можно объяснить наличием в геноме штамма *P. brenneri* 3.2 компенсаторных путей биосинтеза ИУК.

Заключение. Получен мутантный штамм *P. brenneri* 3.2 Δ*ipdC*, который синтезирует на 31.2 % ИУК меньше по сравнению с нативным штаммом. Дальнейшие эксперименты по взаимодействию нативного и мутантного штаммов с растениями позволяют оценить вклад ИУК в развитие состояния ISR.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 25-16-00143.

Антимикробная и цитотоксическая активность функционализированных пиллар[5]аренов

E.B. Субакаева

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Препараты на основе сульфаниламидов в настоящее время применяются как в медицинской, так и в ветеринарной практи-

ке благодаря их системному и местному действию. Однако, несмотря на то, что данные антимикробные препараты имеют широкое применение, растущая проблема устойчивости бактерий к этим агентам актуализирует разработку специальных подходов к решению данной проблемы. Включение сульфаниламидных фрагментов в качестве заместителей в макроциклическую структуру может помочь повысить биодоступность антибактериального агента для микроорганизма-мишени, а также преодолеть бактериальную резистентность.

Цель – оценка антимикробного и цитотоксического действия функционализированного остатками стрептоцида пиллар[5]арена.

Материалы и методы. В работе был использован водорастворимый деказамещенный пиллар[5]арен, функционализированные фрагментами стрептоцида. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) макроциклов и сульфаниламида определяли с помощью Резазурин-теста. Для выявления биопленко-подавляющих концентраций (БПК) применяли метод окрашивания кристаллическим фиолетовым. Мутагенность пиллар[5]аренов оценивали с помощью теста Эймса. Цитотоксичность соединений по отношению к культурам клеток A549 и LEK проверяли в МТТ-тесте.

Результаты. Пиллар[5]арен, содержащий 10 остатков стрептоцида, проявил более высокую антибактериальную активность в отношении ряда микроорганизмов по сравнению с чистым сульфаниламидом. МИК данного макроцикла для *Salmonella typhimurium* TA 98, а также клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, а также *Staphylococcus aureus* ATCC29213 и находились в диапазоне 75–150 мкМ, в то время как МИК стрептоцида для них составлял 2400–4800 мкМ. Базовый пилларарен, на основе которого был создан новый препарат, собственным антимикробным действием не обладал. Функционализированный макроцикл также показал способность ингибировать образование биопленок *S. aureus* ATCC29213 и *P. aeruginosa*, БПК были равны 20 мкМ и 50 мкМ, соответственно. В teste Эймса было установлено, что

макроциклические агенты не обладают мутагенностью. МТТ-тест показал, что функционализированный пиллар[5]арен не обладал способностью значительно снижать жизнеспособность клеток эпителия легкого эмбриона коровы LEK и adenокарциномы легких человека A549 в диапазоне исследуемых концентраций 3–300 мкМ.

Заключение. Включение фрагментов стрептоцида в структуру пиллар[5]арена позволило на порядок усилить antimикробные свойства сульфаниламида по отношению к тест-культурам микроорганизмов. Новый агент не проявлял мутагенной активностью и имел низкую токсичность для клеток эукариот. Полученные результаты позволяют рассматривать модификацию макроциклов классическими противомикробными препаратами как возможность дать им «вторую жизнь» и вернуться в практику с улучшенными свойствами.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 22-13-00070.

Использование полисилоксановых покрытий для борьбы с биоповреждениями памятников деревянного зодчества

**A.A. Сунагатова¹, Е.А. Кацюруба¹, Г.Ю. Яковлева¹, М.П. Данилаев²,
О.Н. Ильинская¹**

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

² Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева, Казань, Российская Федерация

Введение. Троицкая церковь XVI века в Свияжске является единственным памятником деревянного зодчества Поволжья. Построенная из сосновых бревен церковь в течение длительного времени подвергается влиянию биологических факторов, действие которых может проявляться в изменении структуры и качества дерева. Наиболее агрессивными биодеструкторами являются микромицеты родов

Aspergillus, *Penicillium* и *Trichoderma*, на долю которых приходится более 40 % всех биоповреждений. Микромицеты вызывают биоповреждения материалов не только напрямую, но и косвенно, синтезируя ферменты и органические кислоты, высокий уровень которых приводит к образованию и углублению микротрешин. Покрытия на основе полисилоксана (лак) нашли широкое применение для защиты органических стекол, используемых для остекления транспортных средств, зданий и сооружений от агрессивного воздействия на них микроскопических грибов.

Цель – оценка возможности использования полисилоксановых покрытий для защиты памятников деревянного зодчества от биоповреждений.

Материалы и методы. Объектом исследования служили небольшие фрагменты конструктивного элемента Троицкой церкви XVI века. Лак, содержащий смесь линейных и циклических метилметоксиполисилоксанов и 10 % винильных групп, наносили на поверхность образцов методом окунания. В качестве контроля использовали образцы, не обработанные лаком. Анализ образцов на грибоустойчивость проводили в условиях, имитирующих минеральные и органические загрязнения. Для этого образы опрыскивали спорами чистых культур *Aspergillus niger*, *Penicillius chrysogenum*, *Fusarium graminearum* и *Aspergillus puulaauensis* в концентрации 10^6 шт./мл в среде Чапек-Докса. Обработанные образцы помещали во влажную стерильную камеру и инкубировали в течении 21 суток при температуре 30 °С и относительной влажности воздуха более 90 %. Количество выросших на поверхности образцов конидиеносцев микроскопических грибов, а также площадь поражения образцов микромицетами рассчитывалась по фотографиям с использованием программы ImageJ версия 1.53. Количество конидиеносцев пересчитывали на 1 см² образца. Площадь поражения выражали в процентах к общей площади поверхности образца.

Результаты. Нанесение на поверхность образцов полисилоксанных покрытий привело к увеличению их грибостойкости в условиях имитирующих минеральное и органическое загрязнение. На 14 и 21 сутки инкубирования количество кониединоносцев на 1 см² образца, покрытого лаком, было в среднем в 10.6 ± 0.6 раза меньше количества конидиеносцев на контрольном образце. Процент обрастаания образцов микромицетами на 21 сутки инкубирования снизился в среднем в 5.6 ± 0.2 раза по сравнению с необработанными лаком образцами. На образце, обработанном лаком, на протяжении всего эксперимента отмечался рост только *A. niger*, в то время как на контрольном образце присутствовал и *F. graminearum*.

Заключение. Обработка полисилоксановым покрытием фрагмента конструктивного элемента Троицкой церкви XVI века подавляла рост *F. graminearum*, *P. chrysogenum* и *A. puulaauensis*, нанесенных на поверхность образца, и снизила количество конидиеносцев *A. niger* на поверхности фрагмента. Следовательно, полисилоксановые покрытия могут быть использованы для защиты памятников деревянного зодчества от биоповреждений.

Кишечный изолят *Lacticaseibacillus rhamnosus* LR-1 как перспективный пробиотический штамм

Д.В. Супрунова, Д.Р. Яруллина

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Пробиотики – это полезные бактерии, которые при употреблении в адекватном количестве оказывают благотворное действие на организм. Они нормализуют микробиоту хозяина, укрепляют эпителиальный барьер, обеспечивая колонизационную резистентность, а также воздействуют на иммунную систему и метаболизм хозяина.

Цель – оценка пробиотического статуса штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus* LR-1, выделенного из кишечника человека.

Материалы и методы. Таксономическая идентификация выполнена с помощью MALDI Biolyper (Bruker, Германия). Для оценки выживаемости в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), клетки плотностью 3×10^8 КОЕ/мл ресуспендировали в HCl (рН 2.0), 2 % желчи или симулированном желудочном соке (СЖС), инкубировали 1 ч на качалке при 37 °C, после чего клетки окрашивали йодидом пропидия (Fluka). Флуоресценцию оценивали с помощью проточного цитофлуориметра BD FACS Canto II (США). В качестве контроля использовали клетки лактобацилл, не подвергшиеся воздействию агрессивных факторов ЖКТ и ресуспендированные в 0.9 % NaCl. Для оценки адгезивной способности использовали MATS метод (микробная адгезия к растворителю). Антагонистическую активность лактобацилл оценивали методом агаровых блоков. Чувствительность к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом.

Результаты. У *L. rhamnosus* LR-1 обнаружили высокую выживаемость в средах, имитирующих условиях ЖКТ: в HCl выживаемость составила $36.01 \pm 14.82\%$, в 2 % желчи – $86.18 \pm 2.03\%$, в СЖС – $96.02 \pm 10.16\%$. Методом агаровых блоков обнаружили антагонистическую активность *L. rhamnosus* LR-1 в отношении *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* и *Serratia marcescens*. Адгезия на н-гексадекане и этилацетате была невысокой, следовательно, клетки *L. rhamnosus* LR-1 обладают гидрофильной поверхностью со слабыми электрон-акцепторными свойствами. У *L. rhamnosus* LR-1 обнаружен нетипичный для лактобацилл профиль антибиотикорезистентности к 12 антибиотикам, относящимся к различным классам, и безопасность в фокусе участия в распространении генов антибиотикорезистентности.

Заключение. Получен штамм *L. rhamnosus* LR-1, обладающий пробиотическими свойствами и потенциалом практического использования в биомедицине и пищевой промышленности.

Финансирование. Работа поддержана грантом Академии наук Республики Татарстан, предоставленным молодым кандидатам наук (постдокторантам) (55/2024-ПД).

Особенности микрофлоры поверхности языка с гиперпигментацией

Г.С. Тихонова¹, М.А. Харитонова¹, Т.Ю. Ширяк², О.Н. Ильинская¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России (Казань),
Российская Федерация

Введение. Симбиотическая микробиота играет важную роль в поддержании здоровья полости рта и организма в целом, при этом дисбаланс микробиоты является как следствием, так и причиной многих заболеваний. Нарушения микробиоты полости рта связаны с диабетом, ожирением, сердечно-сосудистыми заболеваниями, раком и другими системными заболеваниями. Будучи важной частью полости рта, микробиота, покрывающая язык, может способствовать развитию гастрита и опухолей пищеварительной системы, влияя на возникновение и развитие множества хронических заболеваний. Сдвиг в структуре микробных сообществ ротовой полости может произойти под влиянием таких повреждающих агентов как механические и термические воздействия, различные химические вещества и антибиотики. Так, оперативные вмешательства, особенно с применением антибиотиков широкого спектра действия, могут привести к гиперпигментации языка и кандидозному поражению ротовой полости.

Цель – проанализировать состав микрофлоры поверхности языка с гиперпигментацией

Материалы и методы. Идентификация изолятов микроорганизмов проводилась методом белкового профилирования MALDI-TOFF масс-спектрометрии. Метагеномный анализ образцов налета по генам 16S рРНК проводили на платформах MiSeq (Illumina, США) в Центре коллективного пользования Казанского федерального университета.

Результаты. С поверхности языка с гиперпигментацией после установки имплантов и антибиотикотерапии было выделено и идентифицировано при помощи метода белкового профилирования MALDI-TOFF масс-спектрометрии 9 бактериальных изолятов. Видовая принадлежность была установлена у четырех изолятов (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Levilactobacillus brevis*, *Kocuria rhizophila*). Два изолята были определены как *Lacticaseibacillus casei/paracasei/rhamnosus*. Два представителя рода *Streptococcus* были определены как *Streptococcus salivarius* ssp *salivarius/vestibularis/salivarius* ssp *thermophiles* и *Streptococcus mitis/oralis*. Кроме того, в образцах налета поверхности языка были выявлены штаммы грибов морфология колоний и клеток которых характерна для представителей рода *Candida*.

Установлено, что изоляты способны образовывать биопленки, плотность и толщина которых увеличивается в ряду: *Kocuria rhizophila*, *Lacticaseibacillus casei*, *Streptococcus mitis*, *Levilactobacillus brevis*, *Streptococcus salivarius*, *Limosilactobacillus fermentum*. Наиболее плотными совместными биопленками являются биопленки, состоящие из изолятов молочнокислых бактерий и *Candida*.

Результаты анализа 16S рРНК показали, что в микробиоте, колонизирующей язык в норме преобладали представители *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*, В образцах налета с поверхности языка с гиперпигментацией доминировали представители *Firmicutes* и *Proteobacteria*. Сравнительный метагеномный анализ показал, что

сложность структуры и видовое разнообразие у образцов с поверхности гиперпигментированного языка было ниже, чем у образцов с поверхности языка пациента после выздоровления (индекс Шеннона составил 3.10 и 4.29, соответственно).

Заключение. Таким образом, микробиота налета языка в норме характеризуется большим разнообразием. Вместе с тем, представители рода *Candida* были выявлены только в образцах налета поверхности гиперпигментированного языка.

Опыт работы лаборатории токсико-гигиенических исследований в Республике Татарстан

Е.В. Фадеева¹, Л.В Галицкая², М.Д. Урясова¹

¹ *ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан
(Татарстан)», Казань, Российская Федерация*

² *Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Обеспечение химической безопасности является важным направлением в деятельности надзорных органов. По поручениям Управления Роспотребнадзора РТ по плану и вне плана в связи с обращениями государственных учреждений, организаций, жалобами частных лиц, с угрозой возникновения чрезвычайных ситуаций Центр гигиены и эпидемиологии осуществляет токсикологическую оценку продукции.

Цель – провести анализ объема исследований, выполненных классическими и альтернативными методами за период 2020-2024 год в зависимости от типов объектов.

Материалы и методы. Проводился анализ экспериментальных данных и отчетов, полученных в лаборатории лаборатории.

Результаты. Лаборатория токсико-гигиенических исследований Испытательного Лабораторного Центра ФБУЗ «Центр гигиены и эпи-

демиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» выполняет исследования в соответствии с Техническими Регламентами Таможенного Союза и Единых Санитарных Требований товаров непродовольственного назначения, химической и нефтехимической продукции производственного назначения, воды, почвы, отходов производства на лабораторных животных и альтернативных моделях.

За отчетный период лаборатория провела 8559 исследований. Объектами исследований являлись материалы, контактирующие с пищевыми продуктами, товары детского ассортимента, в том числе игрушки; парфюмерно-косметическая продукция, товары бытовой химии, строительно-отделочные материалы, материалы медицинского назначения и средства личной гигиены, товары легкой промышленности, средства индивидуальной защиты, химическая и нефтехимическая продукция производственного назначения, вода, почва. На лабораторных животных проведено 5891 исследование, включающих определение острой токсичности (DL50, CL50) при различных путях поступления, раздражающее действие на кожу и слизистые, сенсибилизирующее действие, кожно-резорбтивное действие, кумуляцию.

В настоящее время для токсикологической оценки применяют биотестирование. В качестве тест-объектов используют зеленую протококковую водоросль хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) и низших ракообразных дафний (*Daphnia magna Straus*). Биотестирование, в первую очередь, используется при проведении токсикологической оценки промышленных, сточных бытовых, сельскохозяйственных, дренажных, загрязненных природных и прочих вод с целью выявления потенциальных источников загрязнения. Данный метод можно применять для контроля аварийных сбросов высокотоксичных сточных вод, определения уровня безопасного разбавления сточных вод для гидробионтов и экологической экспертизы новых материалов, технологий очистки, проектов очистных сооружений. Количество исследований на гидробионтах составляет 1691, что соответствует 19.8 % от общего количества проведенных исследований.

Заключение. Таким образом, лаборатория токсико-гигиенических исследований Республики Татарстан сохраняя проведение классических исследований на животных, на протяжении девятнадцати лет применяет альтернативные методы и расширила свои возможности путем внедрения современных методов биотестирования. Каждый из указанных методов обладает своими достоинствами и ограничениями и по возможности должен использоваться в комбинации, сочетании.

Изменение экспрессии генов, кодирующих антимикробные пептиды дрозофил в условиях инфицирования *S. aureus*

**Л.Т. Хайруллина, Р.И. Нурасов, Н.Б. Баранова, М.А. Харитонова,
В.В. Костенко**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. *Drosophila melanogaster* широко используется в качестве модели *in vivo* для изучения бактериальных, вирусных и даже грибковых инфекций. Насекомое используется в качестве модели при изучении взаимоотношений хозяина и микроорганизма.

Цель – изучение специфических особенностей иммунного ответа дрозофилы при инфицировании *S. aureus*.

Материалы и методы. В исследовании использованы линии *Drosophila* из коллекции кафедры генетики ИФМиБ КФУ – лабораторные линии *Canton-S* и *Harwich*, а также линия из природной популяции Республики Татарстан – Верхний Услон. Культивирование мух проводили в пробирках объемом 50 мл на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре 24°C. Инфицирование мух проводили *per os* суспензией клеток штамма *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 29213 ($1.5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл), которую вносили на поверхность питательной среды. Наличие и

количество жизнеспособных стафилококков оценивали путем гомогенизации инфицированных дрозофил и последующего высеива 10-кратных серийных разведений на питательную среду для выделения стафилококков (Стафилококк-агар). По завершению эксперимента стафилококки были обнаружены у инфицированных дрозофил всех исследуемых линий. РНК выделяли с помощью набора PN-100 согласно протоколу фирмы-изготовителя (Биолабмикс, Россия). Для проведения ОТ-ПЦР использовали набор «Синтол» (Россия). Для определения относительных уровней мРНК генов, связанных с иммунным ответом (*Drosocin*, *Metchnicowin*, *Defensin*, *Cecropin A1*, *Drosomycin*) и генов стресс-ответа (*Peroxyredoxin5*) использовали набор реагентов ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green 1 («Синтол», Россия).

Результаты. В работе проведён комплексный анализ механизмов antimикробной защиты дрозофилы при заражении *Staphylococcus aureus* – грамположительным патогеном, представляющим серьёзную проблему в связи с растущей антибиотикорезистентностью.

Инфицирование мух штаммом *S. aureus* приводит к изменениям экспрессии генов, кодирующих antimикробные пептиды – *Metchnikowin*, *Cecropin A1*, *Defensin*, *Drosocin*, *Drosomycin*, а также оказывает влияние на такие клеточные реакции, как фагоцитоз и продукция реактивных форм кислорода, происходит модуляция сигнальных каскадов.

Заключение. Дальнейшее изучение иммунного ответа дрозофилы в данных условиях может способствовать пониманию специфических особенностей иммунной системы дрозофилы и разработке новых подходов к профилактике и лечению инфекций, вызываемых *S. aureus*.

Оценка антимиграционной активности биназы и ее мутантных форм

Э.М. Хафизова, А.И. Надырова

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Одним из ключевых механизмов, индуцирующим миграцию и инвазию опухолевых клеток из первичного очага в отдаленные ткани является EGFR-зависимая активация нисходящих сигнальных каскадов МАРК/ERK и Р13/АКТ. Рибонуклеаза, секретируемая *Bacillus pumilus* 7р (ранее *B. intermedius*) – биназа оказывает избирательное цитотоксическое действие по отношению к опухолевым клеткам с активированными онкогенами *RAS*, *KIT*, *AML/ETO*, *FLT3*, *E6*, *E7* и ингибирует процессы онкогенеза как *in vitro*, так и *in vivo*.

Цель – оценить антимиграционную активность биназы дикого типа и ее мутантных форм со сниженной каталитической активностью на модели эпидермоидной карциномы А431, характеризующейся гиперэкспрессией EGFR.

Материалы и методы. В работе использовали биназу – РНКазу *B. pumilus* дикого типа (ЕС 3.1.27.3, 109 а.о., M_r 12.3 кДа), мутантные формы биназы со сниженной каталитической активностью Lys26Ala (11 %) и His101Glu (0.02 %). Цитотоксичность препаратов биназы в концентрации 300 мкг/мл и цетуксимаба в концентрации 300 мкг/мл по отношению к клеткам эпидермоидной карциномы А431 через 48 часов инкубации определяли по восстановлению МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид). Тест на зарастание царапины проводили на питательной среде, не содержащей сыворотки в диапазоне концентраций РНКаз 10-100 мкг/мл в течение 24 и 48 ч.

Результаты. Через 48 часов инкубации с биназой в концентрации 50 мкг/мл скорость миграции клеток А431 снижалась на 50 %,

обработка клеток мутантным вариантом Lys26Ala снижала их миграционную активность на 30 %. После инкубации с мутантным вариантом His100Glu клетки не теряли своей миграционной активности. Биназа и мутантные варианты Lys26Ala в концентрации 300 мкг/мл снижали пролиферативную активность клеток А431 на 45 %. Предварительная обработка клеток анти-EGFR моноклональным антителом цетуксимабом в концентрации 300 мкг/мл снижала цитотоксичность биназы и ее мутантных форм на 20 %.

Обсуждение. Ранее было продемонстрировано, что биназа способна взаимодействовать с мутантным белком K-RAS, запуская апоптоз, а также напрямую связываться с EGFR, вызывая снижение уровня фосфорилирования киназы ERK1/2 и других тирозинкиназ МАРК каскада. Клетки А431 характеризуются аномально высоким уровнем экспрессии EGFR, а его блокирование анти-EGFR моноклональным антителом цетуксимабом понижало цитотоксический эффект биназы и ее мутантных форм со сниженной каталитической активностью. По-видимому, наблюдаемый нами антимиграционный и антипролиферативный эффект данных РНКаз может быть следствием некatalитического взаимодействия с рецептором EGF и нижележащими компонентами сигнального пути МАРК/ERK.

Заключение. Таким образом, нами подтверждена способность биназы и ее мутантных форм снижать миграционный и пролиферативный потенциал клеток эпидерmoidной карциномы А431, что может быть обусловлено блокированием EGFR-опосредованного сигналинга.

Финансирование. Работа выполнена за счет предоставленного в 2024 году Академией наук Республики Татарстан гранта на осуществление фундаментальных и прикладных научных работ в научных и образовательных организациях, предприятиях и организациях реального сектора экономики Республики Татарстан (грант № 0236/023620357.001)

Механизмы сигнализации в ризосферных коммуникациях

М.Р. Шарипова, А.М. Марданова, Ю.А. Васильева

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация*

Введение. Почвенные микроорганизмы способны выполнять ту же роль, что и химические удобрения и пестициды. Ризосферные бактерии, стимулирующие рост растений (PGPR), представляют взаимополезное взаимодействие микроорганизмов и растений. Среди PGPR виды *Bacillus* являются основным типом бактерий, которые образуют споры, способные выживать в почве в течение длительного периода времени. Взаимодействие в ризосфере происходит через сложный набор сигнальных молекул, которые контролируют поведение микроорганизмов в сообществах. Хемотаксис, адгезия, агрегация и образование биопленки – это четыре основных этапа колонизации корней ризобактериями для выполнения биоконтрольных функций. PGPR усиливают рост растений за счет индукции системной резистентности ISR, которая реализуется разными механизмами (синтез вторичных метаболитов, гормонов, ферментов и антиоксидантов, которые помогают растению защищаться от атаки патогенов, фосфатмобилизации, фиксации азота, продукции сидерофоров, которые способствуют росту растений и подавляют рост фитопатогенов). Бациллы повышают стрессоустойчивость растений-хозяев, индуцируя экспрессию генов реакции на стресс, фитогормонов и связанных со стрессом метаболитов. Состав ризомикробиома динамичен и зависит от хозяина растения и факторов окружающей среды. Одним из ключевых факторов являются ризодепозиты, состоящие из клеток тканей, выделяемых корнями экссудатов, лизатов, метаболитов, летучих соединений и др., влияющих на структуру ризомикробиома. Внутривидовая и межвидовая коммуникация между микробами происходит посредством различных сигнальных молекул, которые координируют и контролируют

поведение микроорганизмов в смешанных сообществах. Обмен сигналами между растениями и микроорганизмами происходит посредством высвобождения корневых выделений из растений-хозяев. Разнообразные химические вещества, выделяемые клетками корней, воздействуют на структурную и физическую гетерогенность почвы, а также запускают в микробных популяциях различные сигнальные пути, которые влияют на биологию ризосфера.

Цель – расшифровка языка сигнальной коммуникации и описание задействованных механизмов на основе анализа данных транскриптомов и протеомов, выяснения путей сигнальной трансдукции, необходимы для разработки фундаментальной основы новых инновационных и многообещающих подходов к улучшению производства сельскохозяйственных культур в устойчивом сельском хозяйстве.

Заключение. Формирование ризомикробиома, контроль его структуры и функций в ризосфере через расшифровку механизмов коммуникации позволяют направленно использовать полезные взаимодействия растений и микроорганизмов для повышения продуктивности культур на малоплодородных землях, преодоления дефицита азота и/или фосфора, сокращения использования химических удобрений в сельском хозяйстве, что имеет экономическое, социальное и экологическое значение. Прогресс знаний в понимании коммуникаций и молекулярных взаимодействий между растениями и микроорганизмами, экспрессии генов, механизмов колонизации, поглощения питательных веществ и устойчивости к вредителям и болезням, повышения стрессоустойчивости у растений важен для увеличения производительности растительных экосистем и ведения устойчивого сельского хозяйства.

Финансирование. Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 25-76-20010

Микробиота сигмовидной кишки при дивертикулярной болезни: влияние клинической формы заболевания, антибиотикотерапии и степени воспалительного поражения дивертикула

**Д.Р. Яруллина¹, Р.Р. Шакиров^{2,3}, М.И. Маркелова¹,
Ю.С. Панкратова^{2,3}, А.М. Сенина¹, М.Р. Хакимуллина¹,
Т.В. Григорьева¹, О.Ю. Карпухин^{2,3}**

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

² ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская
Федерация

³ ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ, Казань,
Российская Федерация

Введение. В последние десятилетия дивертикулярная болезнь (ДБ) становится одной из основных причин экстренной и плановой хирургии толстой кишки. При этом частота встречаемости заболевания продолжает расти во всех возрастных группах. Несмотря на известные различия в кишечной микробиоте между здоровыми людьми и пациентами с ДБ и эффективность антибиотиков в терапии ДБ, этиологическая значимость кишечного микробиома в патогенезе ДБ остается дискуссионной.

Цель – характеристика пристеночной микробиоты дивертикулов сигмовидной кишки пациентов с осложненным течением ДБ.

Материалы и методы. Проведено клинико-лабораторное исследование резецированных препаратов сигмовидной кишки 13 пациентов, оперированных по поводу острых воспалительных осложнений ДБ (перфорации, перитонит); хронических осложнений ДБ (свищи, стриктуры); рецидивирующего течения ДБ (дивертикулиты, инфильтраты). 6 пациентов не получали лечение антибиотиками перед операцией. Вариабельные регионы V3-V4 генов 16S рРНК секвенировали на платформе Illumina MiSeq. Для анализа библиотек последова-

тельностей генов использовали программное обеспечение QIIME2 и базу данных SILVA v.138. Для оценки биоразнообразия и проведения сравнительного анализа сообществ рассчитали параметры альфа- и бета-разнообразия.

Результаты. На фоне выраженного индивидуального характера микробиоты каждого пациента отмечено представительство таксонов, способных оказывать влияние на формирование и персистенцию симптомов ДБ, а именно: *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides*, *Proteobacteria*, бутират-продуцирующих бактерий родов *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Coprococcus*, *Roseburia* и *Subdoligranulum*, *Clostridium* кластера IV, *Akkermansia muciniphila*, *Enterococcus faecalis*, а также соотношения *Firmicutes* к *Bacteroidetes* и *Prevotella* к *Bacteroides*. Сравнение препаратов с разной степенью воспалительного поражения дивертикулов, полученных от пациентов с различными клиническими формами ДБ, позволило выявить определенные сдвиги в кишечном микробиоме, которые могут способствовать возникновению, хронизации и прогрессированию воспалительного процесса.

Заключение. Полученные данные представляют клинический интерес и позволяют рассматривать микробиоту как важный аспект патогенеза и одну из терапевтических мишеней при ДБ.

Финансирование. Работа поддержана грантом Академии наук Республики Татарстан, предоставленным молодым кандидатам наук (постдокторантам) (55/2024-ПД).

Научное издание

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ РЕГИОНАЛЬНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ, ПОСВЯЩЕННОЙ
90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ И. Б. ЛЕЩИНСКОЙ**

Сборник тезисов

Научный редактор
доктор биол. наук, проф. О.Н. Ильинская

Подписано к использованию 26.05.2025
Формат 60×84 1/16. Гарнитура «Times New Roman». Усл. печ. л. 4,2

Казанский (Приволжский) федеральный университет